

INSTYTUT BADAWCZY LEŚNICTWA

UKD 630*4
PKT 601900
LKO 453; 459

Nr tematu: **BLP-366**

Sprawozdanie końcowe

z tematu **pt.**

**ŻERDZIANKI WYSTĘPUJĄCE W DRZEWOSTANACH SOSNOWYCH JAKO POTENCJALNE
WEKTORY WĘGORKA SOSNOWCA *BURSAPHELENCHUS XYLOPHILUS* (STEINER ET BUHRER)
NICKLE ORAZ OPRACOWANIE METOD OGRANICZANIA ICH POPULACJI W PRZYPADKU
WYSTĄPIENIA NICIENIA NA TERENIE POLSKI**



Narodowy Fundusz
Ochrony Środowiska
i Gospodarki Wodnej

Zrealizowano w trzech etapach:
etap I - sfinansowano ze środków Narodowego Funduszu Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej na zamówienie Ministra Środowiska zgodnie z umową nr 103/10/Wn50/NE-PR-Tx/D z dnia 15.03.2010 r.
etap II i III – sfinansowano przez Dyрекcję Generalną Lasów Państwowych zgodnie z umową nr OR-2717/22/11 z dnia 23.02.2011 r.

Główni autorzy: **dr hab. Lidia Sukovata, prof. dr hab. Andrzej Kolk, dr inż. Tomasz Jaworski, mgr inż. Radosław Plewa – IBL**
prof. dr hab. Marek Tomalak, dr Anna Filipiak – IOR-PIB

Osoby współpracujące: **Wojciech Janiszewski, Teresa Kurkowska, Danuta Smyklińska – IBL**

Kierownik Zakładu

Dyrektor Instytutu

Sękocin Stary, grudzień 2012 r.

Spis treści

1. Wprowadzenie	4
2. Żerdzianki związane z sosną na terenie Polski	7
2.1. Stanowisko systematyczne rodzaju <i>Monochamus</i> sp.	7
2.2. Rozmieszczenie żerdzianek występujących na sosnie zwyczajnej.....	8
2.2.1. Rozmieszczenie <i>Monochamus galloprovincialis</i> w Polsce	8
2.2.2. Rozmieszczenie <i>Monochamus saltuarius</i> w Polsce.....	11
3. Biologia, ekologia i behavior żerdzianki sosnowki	14
3.1. Wstęp	14
3.2. Metodyka	14
3.2.1. Badanie wybranych aspektów biologii i ekologii.....	14
3.2.2. Badanie preferencji pokarmowych imagines.....	16
3.3. Wyniki i dyskusja	18
3.3.1. Wybrane aspekty biologii i ekologii	18
3.3.2. Preferencje pokarmowe imagines	23
4. Regiony o największym zagrożeniu powstania szkód w przypadku zawleczenia węgorka sosnowca do Polski	25
4.1. Wstęp	25
4.2. Metodyka	26
4.3. Wyniki	26
4.4. Podsumowanie	29
5. Atraktanty wabiące chrząszcze żerdzianki sosnowki	30
5.1. Wstęp	30
5.2. Metodyka	30
5.2.1. Badanie związków chemicznych wydzielanych przez sosnę zwyczajną – 2010 r.	30
5.2.2. Poszukiwanie nowego składu atraktanta bazowego (bez feromonu płciowego) – 2011 r.	33
5.2.3. Poszukiwanie nowego feromonu płciowego – 2011 r.	34
5.2.4. Poszukiwanie optymalnego składu atraktanta – 2012 r.	34
5.2.5. Testowanie wybranych związków chemicznych w warunkach terenowych w latach 2010-2012	36
5.2.6. Analiza statystyczna	44
5.3. Wyniki	45
5.3.1. Związki chemiczne wydzielane przez sosnę zwyczajną.....	45
5.3.2. Odłowy żerdzianki sosnowki i innych owadów do pułapek z różnymi kombinacjami związków chemicznych w 2010 r.	48
5.3.3. Odłowy żerdzianki sosnowki i innych owadów do pułapek z różnymi typami atraktantów (bez feromonu płciowego) w 2011 i 2012 r.....	56
5.3.4. Odłowy żerdzianki sosnowki i innych owadów do pułapek z różnymi typami feromonu płciowego w 2011 i 2012 r.....	57
5.3.5. Efektywność dispenserów binarnych i pojedynczych	59
5.4. Dyskusja.....	59
6. Ocena efektywności różnych typów pułapek i ustalenie optymalnej wysokości ich zawieszenia	61
6.1. Metodyka	61
6.1.1. Poszukiwanie optymalnego typu pułapek do odłowu imagines żerdzianki sosnowki ...	61
6.1.2. Ocena wpływu wysokości zawieszenia pułapek na odłowy imagines żerdzianki sosnowki	63
6.1.3. Analiza statystyczna	64
6.2. Wyniki	65

6.2.1. Efektywność różnych typów pułapek	65
6.2.2. Odłowy żerdzianek do pułapek wywieszonych na różnych wysokościach.....	67
7. Jakościowa i ilościowa ocena nicieni w ciałach chrząszczy żerdzianki sosnówki ...	70
7.1. Metodyka	70
7.1.1. Materiał badawczy	70
7.1.2. Wstępna analiza żerdzianek pod kątem obecności nicieni	71
7.1.3. Analiza morfologiczna nicieni	71
7.1.4. Analiza molekularna nicieni	72
7.1.5. Analiza restrykcyjna	74
7.2. Wyniki	74
7.2.1. Skład gatunkowy i liczebność nicieni w ciałach żerdzianek zebranych w Nadl. Wronki w 2011 r.	74
7.2.2. Skład gatunkowy i liczebność nicieni w ciałach żerdzianek zebranych w nadleśnictwach: Parciaki, Ostrołęka, Gostynin i Kozienice w 2012 r.	79
7.2.3. Skład i liczebność nicieni w ciałach żerdzianek odłowionych do pułapek na różnych wysokościach	82
7.3. Dyskusja.....	84
8. Nicienie zasiedlające żerdzianki i ich materiał lęgowy	89
8.1. Metodyka	89
8.1.1. Powierzchnie doświadczalne i materiał badawczy	89
8.1.2. Ekstrakcja nicieni z owadów i drewna	89
8.2. Wyniki	90
8.3. Dyskusja.....	95
9. System monitoringu żerdzianki sosnówki i nicieni przy użyciu pułapek	99
9.1. Wstęp	99
9.2. Wybór obszarów, w których należy prowadzić monitoring	101
9.3. Wybór gatunków drzew do kontroli	102
9.4. Rodzaj i ilość materiału pobieranego do analiz – wykorzystanie pułapek	102
10. Metody ograniczania liczebności populacji żerdzianek, potencjalnych wektorów <i>B. xylophilus</i>, w drzewostanach sosnowych w Polsce.....	110
10.1. Wstęp	110
10.2. Zapobieganie zawleczeniu i rozprzestrzenianiu się węgorka sosnowca w różnych krajach.....	110
10.3. Metody ograniczania liczebności populacji żerdzianek	116
11. Podsumowanie.....	118
Literatura	121

1. Wprowadzenie

Węgorek sosnowiec *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhner) Nickle jest groźnym szkodnikiem drzew iglastych powodującym tzw. „chorobę więdnienia sosen” (ang. *pine wilt disease*). Nicień ten poraża przede wszystkim różne gatunki sosen, w tym sosnę zwyczajną *Pinus sylvestris* L., limbę *P. cembra* L., sosnę czarną *P. nigra* Arn. i kosodrzewinę *P. mugo* Turra, a ostatnio wykazano także wysoką podatność modrzewia europejskiego *Larix decidua* Mill. (Final Report 2007).

Węgorek sosnowiec należy do grupy „*xylophilus*” w obrębie rodzaju *Bursaphelenchus* Fuchs. Do grupy tej należy również m.in. *B. mucronatus* Mamiya et Enda, 1979 (Braasch 2001), który jednak nie wykazuje patogenicznych właściwości względem rodzimych gatunków drzew.

Bursaphelenchus xylophilus pochodzi z Ameryki Północnej, gdzie rozwija się głównie na różnych gatunkach sosen, nie wyrządzając jednak poważniejszych szkód. Na początku XX w. gatunek ten rozprzestrzenił się, prawdopodobnie wraz z importowanym drewnem drzew iglastych, do Japonii, gdzie zainfekował ok. 20% lasów (Evans i in. 1996, Brzeski 1997, Kozłowski 2003). Po krótkim czasie dotarł również do kilku innych krajów Azji (np. Chiny, Tajwan). W 1999 r. stwierdzono po raz pierwszy występowanie węgorka sosnowca na kontynencie europejskim, w Portugalii (Mota i in. 1999). W 2008 r. wykryto go w Hiszpanii (EPPO 2010a). Po wydawałoby się skutecznej akcji zwalczania stwierdzono go w tym kraju ponownie w 2010 r. (EPPO 2010b, Abelleira i in. 2011). W 2009 r. węgorek pojawił się także na Maderze (European Commission 2010, Fonesca i in. 2012). W Polsce, pomimo szeregu badań i kontroli, nie stwierdzono dotychczas występowania *B. xylophilus* (Wolny 1995, Brzeski 1997, Filipiak i in. 2007, Karnkowski 2008, Tomalak 2010). Szczegółowa kontrola przeprowadzona w latach 2002-2010 wykazała (Tomalak 2010), że na sośnie pospolitej w Polsce występuje siedem gatunków nicieni z rodzaju *Bursaphelenchus*:

- *B. eggersi* Rühm,
- *B. glochis* Brzeski et Baujard,
- *B. mucronatus* Mamiya et Enda,
- *B. naujaci* Baujard,
- *B. piniperdae* (Fuchs),
- *B. pinophilus* Brzeski et Baujard,
- *B. sexdentati* (Rühm) Hunt.

Powiązania z żerdzianką sosnówką znane są tylko dla jednego z nich – *B. mucronatus* (Brzeski 1997, Brzeski i Brzeski 1997, Tomalak 2010).

Podstawowym wektorem węgorka sosnowca są chrząszcze z rodzaju żerdzianka *Monochamus* Megerle in Dejean. Larwy dyspersyjne nicieni „transportowane” są w tchawkach, do których dostają się w okresie wykształcania się postaci doskonałej owada na etapie poczwarki. Część larw przenoszona jest także pod pokrywami skrzydłowymi wylęgających się osobników dorosłych. Wniknięcie nicienia do rośliny odbywa się poprzez uszkodzoną tkankę kory, zarówno podczas składania jaj, jak i w trakcie prowadzenia żeru uzupełniającego przez owady-wektory. W Europie jedynym znanym dotychczas wektorem węgorka sosnowca jest żerdzianka sosnówka *M. galloprovincialis* (Oliv.).

Na terenie Polski występują 2 gatunki chrząszczy z rodzaju żerdzianka, mogące być potencjalnymi wektorami węgorka sosnowca. Są to: wspomniana wyżej żerdzianka sosnówka i żerdzianka plamista *M. saltuarius* (Geb.), która jako wektor węgorka sosnowca znana jest obecnie tylko w Azji (Sato i in. 1987). Oba gatunki żerdzianek są do siebie bardzo zbliżone, zarówno pod względem morfologicznym, jak i genetycznym (Cesari i in. 2004). W Polsce żerdzianka sosnówka jest gatunkiem pospolitym rozwijającym się na sośnie, podczas gdy żerdzianka plamista należy do gatunków stosunkowo rzadko spotykanych i związana jest głównie ze świerkiem, a jej występowanie na sośnie ma charakter sporadyczny.

Żerdzianka sosnówka zasiedla głównie drzewa osłabione i zamierające, rzadziej zupełnie martwe lub nie mające widocznych oznak osłabienia. Specyficzna biologia omawianego gatunku sprawia, że może on być zaliczony do kilku grup szkodników, tj.:

- szkodników wtórnych – rozwój larw odbywa się na drzewach osłabionych przez inne czynniki biotyczne, abiotyczne lub antropogeniczne,
- szkodników technicznych – na skutek żerowania larw następuje silne uszkodzenie drewna, prowadzące do obniżenia jakości technicznej i deprecjacji surowca,
- szkodników fizjologicznych – w przypadku masowego wystąpienia żer uzupełniający chrząszczy na igłach i korze pędów może doprowadzić do obniżenia kondycji drzew.

W związku z rosnącym zagrożeniem rozprzestrzenienia się węgorka sosnowca w Europie, Instytut Badawczy Leśnictwa we współpracy z Instytutem Ochrony Roślin-Państwowym Instytutem Badawczym rozpoczął w 2010 r. badania, których realizację podzielono na trzy etapy:

- I. Badania nad biologią i ekologią żerdzianek związanych z sosną oraz określenie regionów Polski, które są najbardziej narażone na powstanie szkód w przypadku zawleczenia węgorka sosnowca do Polski (sfinansowany przez NFOŚiGW);

- II. Ocena żerdzianek występujących na sośnie jako potencjalnych wektorów węgorka sosnowca (sfinansowany przez DGLP);
- III. Opracowanie systemu monitoringu i metod ograniczania liczebności populacji żerdzianek (sfinansowany przez DGLP).

Zakres prac obejmował w szczególności:

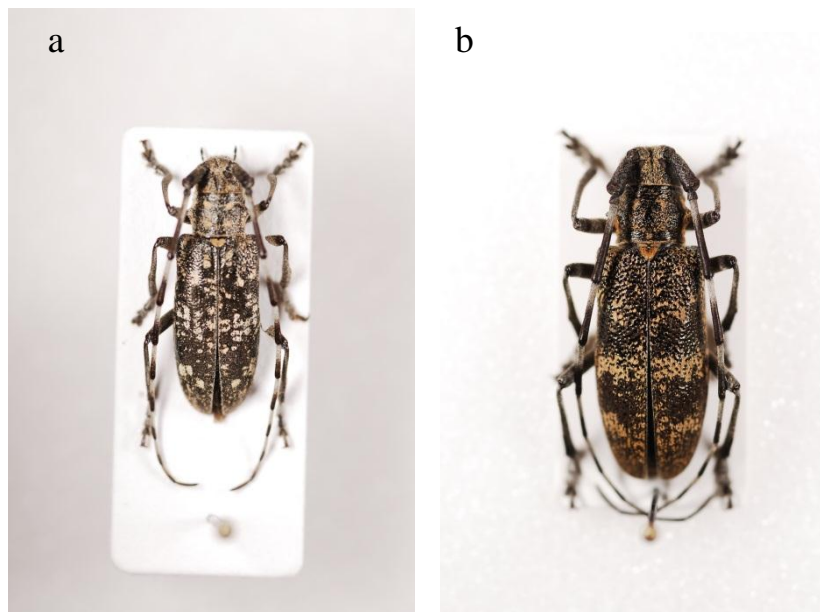
- 1) wykonanie oceny przestrzennego rozmieszczenia żerdzianek na terenie Polski,
- 2) wykonanie laboratoryjnych i terenowych badań nad biologią, ekologią i behawiorem żerdzianek,
- 3) określenie regionów, w których warunki klimatyczne są sprzyjające powstaniu szkód w przypadku zawleczenia węgorka sosnowca do Polski,
- 4) testowanie atraktantów zawierających różne związki chemiczne o potencjalnych właściwościach wabiących chrząszcze żerdzianki sosnówki,
- 5) ocenę efektywności różnych typów sztucznych pułapek z atraktantami do odłowu chrząszczy żerdzianki sosnówki i ustalenie optymalnej wysokości ich zawieszenia,
- 6) opracowanie optymalnego zestawu pułapki i atraktanta do odłowu żerdzianki sosnówki,
- 7) jakościową i ilościową analizę nicieni występujących w ciałach dorosłych żerdzianek na terenie Polski,
- 8) porównanie składów gatunkowych nicieni wyizolowanych z żerdzianek odłowionych do pułapek z atraktantem i z drewna pobranego w drzewostanie, w którym wywieszono pułapki,
- 9) opracowanie systemu monitoringu żerdzianki sosnówki i nicieni przy użyciu pułapek z atraktantem,
- 10) opracowanie metod ograniczania liczebności populacji żerdzianek.

2. Żerdzianki związane z sosną na terenie Polski

2.1. Stanowisko systematyczne rodzaju *Monochamus* sp.

W Palearktyce rodzaj *Monochamus* Megerle in Dejean 1821 dzieli się na dwa podrodzaje: *Monochamus*, do którego zalicza się 39 gatunków (wyluczając podgatunki), oraz azjatycki *Opepharus* Pascoe 1868 z jednym gatunkiem. W Europie występuje sześć gatunków żerdzianek, z czego cztery znane są z terenu Polski. Trzy z nich: *M. sartor* (Fabricius 1787), *M. sutor* (Linnaeus 1758) i *M. saltuarius* (Gebler 1830) (fot. 1a) w naszych warunkach klimatycznych związane są ze świerkiem pospolitym *Picea abies* (L.) H. Karst., choć tę ostatnią sporadycznie spotyka się również na sośnie (Plewa i in. 2011). *M. galloprovincialis* (Oliv.) (fot. 1b) należy do kambioksylofagów sosny zwyczajnej *Pinus sylvestris* L.

Do niedawna przyjmowano, że w północno-wschodniej Polsce występuje także piąty gatunek żerdzianki, tj. *M. urussovii* (Fischer-Waldheim 1805), który związany jest ze świerkiem. Analiza okazów dowiodła jednak, że jest to *M. sartor* (Danilevsky 2012). *Monochamus urussovii* występuje na wschód od granic Polski aż do Korei Północnej.



Fot. 1. Żerdzianka plamista *Monochamus saltuarius* (a) i żerdzianka sosnówka *M. galloprovincialis* (b) - samice

Stanowisko systematyczne poszczególnych podgatunków żerdzianki sosnówki uległo w ostatnich latach zmianie. Do niedawna uważano, że w obrębie gatunku *M. galloprovincialis* występują dwa podgatunki: *M. g. pistor* (Germar 1818) i *M. g. galloprovincialis* (Olivier 1795). Ostatnio wyłoniony został trzeci podgatunek: *M. g. cinerascens* Motschulsky 1860, wcześniej uznawany za formę. Z kolei w najnowszym opracowaniu katalogowym *Cerambycidae* Palearktyki (CPC) (Löbl i Smetana 2010), wszystkie wymienione podgatunki

zostały zsynonimizowane w jeden gatunek nominatywny: *M. galloprovincialis* (Oliv.). Autorzy wspomnianej pracy nie dostrzegli różnic między podgatunkami żerdzianki sosnówki np. z Portugalii czy Syberii. Dopiero po powstaniu korekty CPC (Danilevsky 2012), powrócono do poprzedniego podziału, wyodrębniając dodatkowo czwarty podgatunek *M. g. tauricola* Pic, 1912, który występuje we wschodnim Kaukazie (Gruzja, Armenia, Azerbejdżan), w południowej części Rosji i w Turcji.

2.2. Rozmieszczenie żerdzianek występujących na sośnie zwyczajnej

Rozmieszczenie żerdzianki sosnówki na świecie jest bardzo szerokie i przebiega od Półwyspu Iberyjskiego, przez całą Europę, zachodnią Syberię, Kazachstan, Mongolię, północno-wschodnie Chiny do Dalekiego Wschodu. Obecna jest również w krajach Afryki Północnej. W Europie gatunek występuje prawie we wszystkich krajach (Löbl i Smetana 2010).

Zasięg występowania żerdzianki sosnówki i żerdzianki plamistej w Polsce przyjęto za podziałem na krainy zaproponowanym w Katalogu Fauny Polski (Burakowski i in. 1990). Dane te przedstawiają stan poznania rozmieszczenia gatunku do roku 1990. Dane o występowaniu obu gatunków po roku 1990 zebrano z rozproszonych źródeł literaturowych. W niektórych publikacjach lub materiałach niepublikowanych dotyczących *M. galloprovincialis* autorzy podają jedynie nazwę krainy, gdzie gatunek ten stwierdzono. W tych przypadkach nie nanoszono danych na mapę Polski, a jedynie wskazywano źródło rekordu.

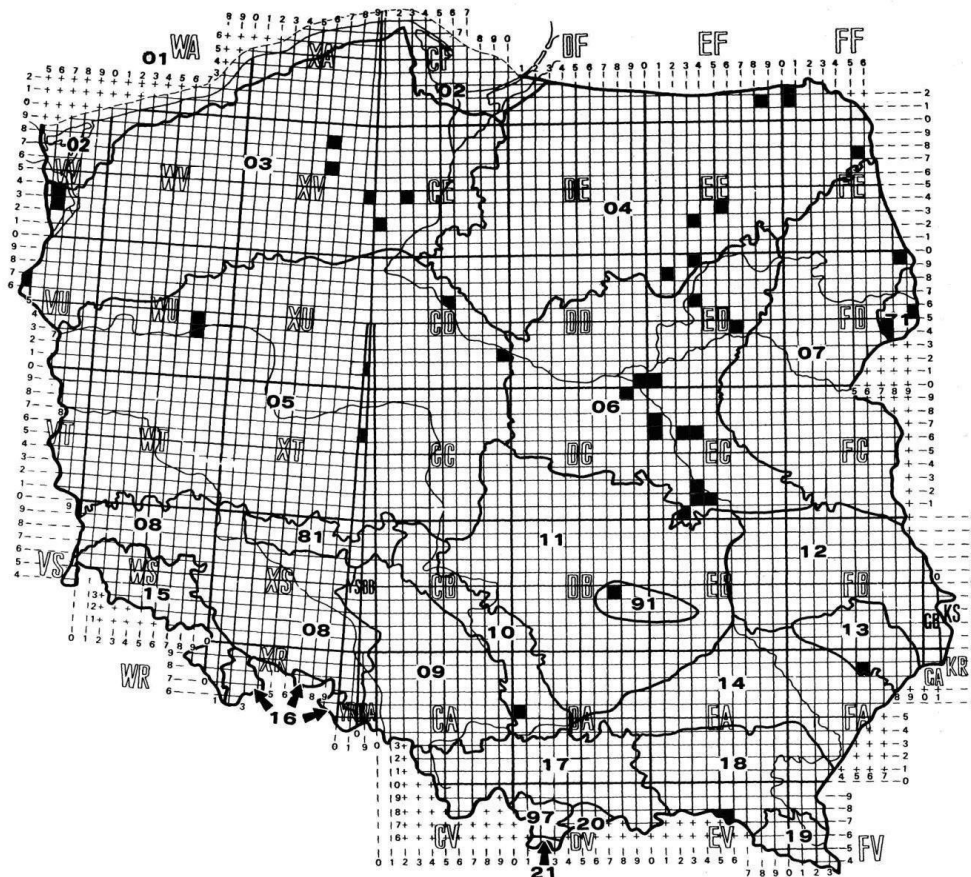
2.2.1. Rozmieszczenie *Monochamus galloprovincialis* w Polsce

W Polsce zasięg żerdzianki sosnówki pokrywa się z arealem sosny zwyczajnej Według wspomnianej wcześniej pracy gatunek nie występuje jedynie w krainach górskich i podgórskich tj.: Wzgórza Trzebnickie, Góry Świętokrzyskie, Sudety Zachodnie, Sudety Wschodnie, Kotlina Nowotarska, Bieszczady, Pieniny i Tatry (ryc. 1). We wszystkich pozostałych krainach gatunek został stwierdzony, choć w niektórych od wielu lat jego obecność nie jest potwierdzona.

Najnowsze nieopublikowane rekordy o rozmieszczeniu żerdzianki sosnówki, jak również dane literaturowe opublikowane już po wydaniu KFP przedstawiono poniżej:

- Pojezierze Pomorskie: Puszcza Wkrzańska: Nadleśnictwo Trzebież: Pilchowo (VV62): 25.VII.1999, 2 exx. ♀, 07.VII.2000, 1ex. ♀, 16.VII.2000, 1ex. ♂, 26.VIII.2000, 1ex. ♂, Rafał Kondrat; leg.; Dobieszyn (VV63): 22.VI.2003, 1ex. ♂ i

16.VII.2003, 1ex. ♂, Rafał Kondrat; leg.; Nadleśnictwo Zamrzenia: Leśnictwo Bruchniewo (CE02): 04.VIII.2009, obserwowano 1ex. ♂ i 1ex. ♀, 02.VIII.2010, obserwowano 1ex. ♂, Przemysław Tokarski; leg.; Nadleśnictwo Przymuszewo, ad Laska (XV68), Nadleśnictwo Osie, ad Osie (CE24), Park Narodowy „Bory Tucholskie”, ad Bachorze (XV66), Tuchola (XV94): imagines odławiano za pomocą pułapek typu IBL-2bis bez użycia feromonów (Gutowski i in. 2005).



Ryc. 1. Rozmieszczenie *Monochamus galloprovincialis* w Polsce po 1990 r.

Podział Polski na kraje: 01-Baltyk, 02-Pobrzeże Bałtyku, 03-Pojezierze Pomorskie, 04-Pojezierze Mazurskie, 05-Nizina Wielkopolsko-Kujawska, 06-Nizina Mazowiecka, 07-Podlasie, 71-Puszcza Białowieska, 08-Dolny Śląsk, 81-Wzgórza Trzebnickie, 09-Górny Śląsk, 10-Wyżyna Krakowsko-Wieluńska, 11-Wyżyna Małopolska, 91-Góry Świętokrzyskie, 12-Wyżyna Lubelska, 13-Roztocze, 14-Nizina Sandomierska, 15-Sudety Zachodnie, 16-Sudety Wschodnie, 17-Beskid Zachodni, 97-Kotlina Nowatorska, 18-Beskid Wschodni, 19-Bieszczady, 20-Pieniny, 21-Tatry.

- Puszcza Białowieska: Nadleśnictwo Hajnówka: Topiło (FD73): VI.2004, 1 ex. ♀ odłowiony na korowinie sosny, R. Plewa; leg.; Nadleśnictwo Hajnówka i Białowieża (FD84) i Obszar Ochrony Ścisłej Białowieskiego Parku Narodowego (FD94): odłowiono do pułapek (Gutowski 1995a); Obszar Ochrony Ścisłej BPN (FD94):

odłowiono 2 exx. do pułapek, Nadleśnictwo Hajnówka (FD74): odłowiono do pułapki 1 ex. (Mokrzycki 2001).

- Podlasie: Nadleśnictwo Krynki: Kruszyniany (FD89): 27.VII.2010, liczne, zeszłoroczne żerowiska i otwory wylotowe imagines.
- Pojezierze Mazurskie: Nadleśnictwo Płaska: Gorczyca (FE57): VI.2010, liczne czynne żerowiska z otworami wejściowymi (prowadzono hodowle laboratoryjne); Nadleśnictwo Myszyniec: Leśnictwo Warmiak: Dudy Puszczańskie (EE32): 2012, zasiedlony przez larwy materiał drzewny, R. Plewa; leg.; Nadleśnictwo Ostrołęka: Leśnictwo Łodziska: Lelis (ED39): 2012, odłowiono do pułapek 38 exx. ♂ i 42 exx. ♀; L. Sukovata; leg.; Nadleśnictwo Parciaki: Leśnictwo Majdan: Majdan (ED18): 2012, odłowiono do pułapek 6 exx. ♂ i 14 exx. ♀; T. Jaworski; leg.; Nadleśnictwo Pisz: Leśnictwo Szast (EE53): odłowiono do pułapek imagines; J.M. Gutowski; leg. (Gutowski i in. 2010); Puszcza Romincka: Rezerwat Dziki Kąt (FF02), Rezerwat Mechacz Wielki (EF81), Rezerwat Struga Żytkiejmska (FF01) (Gutowski i in. 2011).
- Góry Świętokrzyskie: Kielce: Karczówka i Biesak (DB74): odłowione na sośnie na dwóch stanowiskach (Bidas 2002).
- Dolny Śląsk: Bory Dolnośląskie: Nadleśnictwa: Chocianów, Bolesławiec, Szprotawa, Świętoszów, Żagań: 2009 i 2010, obserwowano i pozyskano liczne okazy; Krzysztof Sztaba; leg.
- Nizina Wielkopolsko-Kujawska: Nadleśnictwo Gniezno: Ostrowo ad Przybrodzin (YU01): 28.VI.2009, 1 ex.; Przemysław Żurawlew; leg.; Nadleśnictwo Grodziec: Józefów ad Gizałki (YT06): 22.VI.2010, około 40 exx. i 19.VIII.2009 ponad 100 exx.; Paweł Kostuj et Piotr Paluszkiewicz; leg.; Nadleśnictwo Wronki: Leśnictwo Gogolice (WU74): 2010-2011, odłowiono do pułapek 456 exx.; L. Sukovata; leg.; Nadleśnictwo Sieraków, Leśnictwo Kukułka (WU73): 2012, odłowiono do pułapek 16 exx. ♂ i 24 exx. ♀; L. Sukovata; leg.; Nadleśnictwo Gostynin: Leśnictwo Duninów: Nowy Duninów (CD92): odłowiono do pułapek 3 exx. ♂ i 5 exx. ♀; T. Jaworski; leg.; Nadleśnictwo Dobrzejewice: Osiek nad Wisłą (CD56): 23.VIII.2009, 1ex.; Joanna Kowalczyk; leg.; Nadleśnictwo Chojna: Rez. *Bielinek nad Odrą*: Kotlina Wielka, oddz. 96f (VU46): 26.VI.1999, 1 ex. wyhodowany z gałęzi sosnowych; Andrzej Łabędzki; leg. (Gutowski 2006); wzmiankowany z licznych stanowisk z Ziemi Lubuskiej (Najbar 1998).

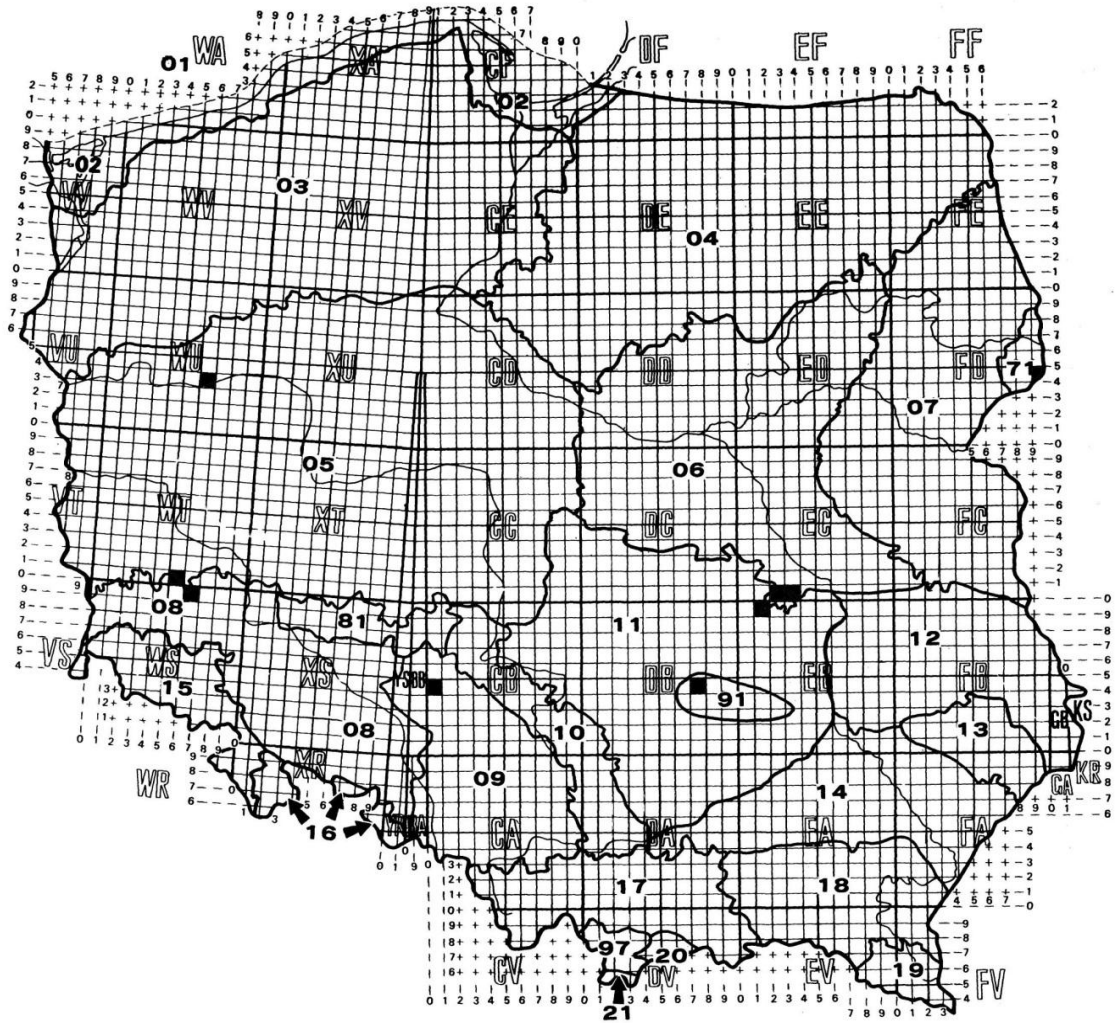
- Nizina Mazowiecka: Nadleśnictwo Chojnów: Pilawa (EC06): 14.IX.2010, obserwowano liczne czynne żerowiska na różnej grubości materiale sosnowym, który pozyskano z miejsca zainfekowanego opieńką, R. Plewa, leg; Warszawa: Marysin (ED00): 22.VI.1992, obserwowano kilka imagines, Nadleśnictwo Celestynów: Kołbiel (EC36): 1994, obserwowano kilka imagines, Puszcza Kampinoska: Szczukówek (DC89): 1 ex. na sośnie, Nadleśnictwo Celestynów: Celestynów (EC26) obserwowano 1ex., Nadleśnictwo Ostrołęka: Leśnictwo Kruszewo: Jawory-Podmaście (ED36): 2012, odłowiono do pułapek 11 exx. ♂ i 35 exx. ♀; L. Sukovata; leg.; Nadleśnictwo Drewnica: Michałów ad Legionowo (DD90): 25.VII.2000: obserwowano kilka imagines, Warszawa: Las Kabacki (EC07): 13.VI.2001 i 06.VII.2006: obserwowano kilka imagines, Paweł Górski; leg. (Górski 2004); Nadleśnictwo Ostrów Mazowiecka: Leśnictwo Orło (ED64): 15.VII.2003, odłowiono 2 exx. ♂ i 1 ex. ♀, Ładowisko Grądy (ED55): 03.VIII.2008, odłowiono 28 exx. ♂ i 25 exx. ♀; Przemysław Tokarski; leg.; Puszcza Kozienicka: Nadleśnictwo Kozienice i Zwoleń (EC20, EC31, EC32 i EC41): odławiano imagines w latach 1988-2003 (Miłkowski 2004) oraz Leśnictwo Chinów: Nowa Wieś (EC32): 2012, odłowiono do pułapek 2 exx. ♀; T. Jaworski; leg.
- Wyżyna Krakowsko-Wieluńska: Tenczyński Park Krajobrazowy, ad Tenczynek (DA05): odławiano imagines w latach 1999-2002 z sosny i świerka (Michalcewicz 2010),
- Roztocze: (Gutowski 1995b); Nadleśnictwo Józefów, miejscowość Rybnica (FA58): 19.X.2010. czynne żerowiska na leżącej sośnie, L. Sukovata, leg.; Roztoczański PN, miejscowość Florianka: 19.X.2010. stare żerowiska na martwym drewnie sosny, L. Sukovata, leg.
- Beskid Wschodni: Beskid Niski: Rezerwat „Modrzyna” (EV47): 1987-1988, oznaczanie żerowisk na wałkach sosnowych (Kubisz i in. 1991); Barwinek i Przełęcz Dukielska (EV57): 26.VII.-01.VIII.1987-1992, 4 exx. (Kubisz i Hilszczański 1992).

2.2.2. Rozmieszczenie *Monochamus saltuarius* w Polsce

Monochamus saltuarius należy w Polsce do gatunków rzadkich, a przez to niezbyt często wykazywanych. Według danych KFP (Burakowski i in. 1990) znany był zaledwie z siedmiu krain: Pojezierza Mazurskiego, Niziny Mazowieckiej, Puszczy Białowieskiej, Górnego Śląska, Wyżyny Krakowsko-Wieluńskiej, Wyżyny Małopolskiej i Bieszczadów. W większości tych krain występowanie gatunku nie było potwierdzone od wielu lat.

Doniesienia po roku 1990 można uzupełnić o nowe rekordy w naszym kraju (ryc. 2):

- Nizina Wielkopolsko-Kujawska: Nadleśnictwo Międzychód: miejscowość Mierzynek (WU63): 07.-10.VI.2010 zebrano materiał sosnowy do hodowli i uzyskano 7 exx., L. Sukovata et T. Jaworski; leg.; Gatunek nie był dotychczas znany z tego rejonu kraju.
- Nizina Mazowiecka: Puszcza Kozienicka: Nadleśnictwo Kozienice (EB19, EC20 i EC30): uzyskano imagines ze świerka w latach 1988-2003 (Miłkowski 2004).
- Puszcza Białowieska: Białowieża (FD94): 13.II.2005, wyhodowano 2 exx., larwy zebrano 25.XII.2004 na cienkich gałęziach sosnowych, R. Plewa; leg. (Gutowski 1995b). Rezerwat Wysokie Bagno (FD94): 18.V.2006, chrząszcze wyhodowano z cienkich gałęzi świerkowych zebranych 17.IV.2006, R. Plewa; leg. (Plewa 2008).
- Góry Świętokrzyskie: Kielce: Piaski, Tumlin (DB74): 1997, Zagnańsk (DB74): 20.VI.1999, wyhodowane ze świerka (Bidas 2002).
- Górny Śląsk: Jasienie ad Kluczbork (CB04): 13.XII.1997, hodowla 1 ex. z *Picea abies*, Marek Mażewski; leg.
- Dolny Śląsk: Bory Dolnośląskie (WT50): 10.IV.-30.IV.2004, hodowla z 2-5cm gałęzi *P. abies* zebranych 28.III.2004, około 80 exx.; Rezerwat „Czarne Stawy” ad Chocianów (WS59 i WS69): liczne żerowiska na świerkach w 2004 roku; Krzysztof Sztaba; leg.



Ryc. 2. Rozmieszczenie *M. saltuarius* w Polsce po 1990 r. (oznaczenia krain jak na ryc. 1)

Podziękowania

Autorzy składają serdeczne podziękowania osobom wymienionym w podrozdziałach 2.2.1 i 2.2.2 za możliwość wykorzystania ich informacji o występowaniu żerdzianek na terenie kraju.

3. Biologia, ekologia i behawior żerdzianki sosnowki

3.1. Wstęp

Celem badań było poszerzenie wiedzy z zakresu biologii, ekologii i behawioru żerdzianki sosnowki. Weryfikacji poddano dane literaturowe, m.in. o sposobie żerowania żerdzianki sosnowki oraz zbadano preferencje pokarmowe żerdzianek względem pędów sosny zwyczajnej różniących się pod względem liczby kanałów żywicznych w igliwiu. Z jednej strony, liczba kanałów żywicznych w igłach może być skorelowana z liczbą kanałów żywicznych w pędach, co potencjalnie może mieć wpływ na łatwość porażania drzew przez nicienie, które rozwijają się w komórkach epitelu. Z drugiej strony, liczba kanałów żywicznych w igliwiu może mieć wpływ na intensywność wydzielania się olejków eterycznych zawierających m.in. monoterpeny, które często decydują o atrakcyjności poszczególnych drzew jako roślin pokarmowych dla owadów, w tym dla żerdzianek będących wektorami nicieni.

3.2. Metodyka

3.2.1. Badanie wybranych aspektów biologii i ekologii

W celu poznania niektórych cech biologii i ekologii żerdzianki sosnowki pobrano do hodowli zasiedlone fragmenty drewna z trzech regionów Polski:

- 1) zachodniego, tzn. z terenu Puszczy Noteckiej – nadleśnictwa: Międzychód (RDLP Szczecin) oraz Wronki i Potrzebowice (RDLP Piła),
- 2) centralnego, tzn. Nadl. Drewnica (RDLP Warszawa),
- 3) północno-wschodniego, tzn. Puszczy Augustowskiej – Nadl. Płaska (RDLP Białystok).

Drewno w Nadleśnictwach Międzychód, Płaska i Drewnica zebrano 7-10 czerwca, a w pozostałych nadleśnictwach – 24 czerwca 2010 r. Drewno z poszczególnych lokalizacji umieszczono na osobnych stołach (fot. 2) w szklarni Instytutu Badawczego Leśnictwa. Stoły przykryto siatką w celu uniemożliwienia ucieczki wychodzącym z drewna żerdziankom oraz innym owadom. Kontrolę wylęgu prowadzono co 1–2 dni. Polegała ona na określeniu gatunków i liczby wylęgłych owadów, a w przypadku żerdzianek także płci oraz wykonaniu pomiarów długości ich ciała. Jako rozmiar ciała przyjęto długość odcinka od czoła do końca pokryw osobnika. Opisany parametr, jak również średnicę otworów wejściowych i wylotowych pomierzono z dokładnością do 0,1 mm za pomocą suwmiarki. Grubość materiału lęgowego pomierzono w połowie długości średnicomierzem z dokładnością do 0,5 cm.



Fot. 2. Drewno z żerującymi larwami żerdzianki sosnówki z Nadl. Płaska (a) i Nadl. Międzychód (b) w szklarni IBL

Populacje żerdzianek pochodzące z dwóch wybranych lokalizacji (P. Notecka i P. Augustowska) porównano ze sobą pod względem rozmiarów ciała. Z uwagi na nieznaczne różnice pomiędzy średnimi rozmiarami ciała samców i samic w obrębie populacji (w obu przypadkach różnice nie przekraczały 0,1 mm), analizy przeprowadzono dla obu płci łącznie. Do określenia różnic między średnimi długościami ciała, po sprawdzeniu normalności rozkładów i jednorodności wariancji, wykorzystano test *t*. Obliczenia wykonano z wykorzystaniem programu Statistica 8 (StatSoft, Inc. 2007).

Obserwacje zachowania osobników dorosłych żerdzianki sosnówki, kopulacji, składania jaj i rozwoju larw prowadzono w warunkach laboratoryjnych. Wykorzystano w tym celu osobniki wyhodowane z zebranego materiału lęgowego. W przygotowanych hodowlarkach (fot. 3), tj. obszernych akwariach zakrywanych siatką, umieszczano po 2 osobniki samców i samic żerdzianki.



Fot. 3. Hodowlarka do obserwacji zachowania żerdzianek w czasie rójki i składania jaj

W akwariach umieszczano świeże pędy sosny, na których chrząszcze prowadziły żer uzupełniający i regeneracyjny. Jako materiał do składania jaj i rozwoju larw wykorzystano wyrzynki sosnowe o długości około 1 m i średnicy do 15 cm.

Fotografie jaj i młodych larw wykonano za pomocą mikroskopu stereoskopowego Zeiss Stemi 2000-C sprzężonego z cyfrowym aparatem fotograficznym Canon.

3.2.2. Badanie preferencji pokarmowych imagines

Na plantacji nasiennej sosny zwyczajnej w Nadl. Pniewy (RDLP Poznań) wybrano 8 klonów (4806, 5042, 5044, 5046, 5048, 5049, 5057, 5077), dla których wcześniej określono liczbę kanałów żywicznych w igliwiu (materiały niepubl.). Pędy sosny do doświadczeń z żerdziankami pobrano z klonów z najmniejszą i największą ich liczbą w młodym igliwiu (średnio 5,9 i 9,8 odpowiednio dla klonów 5048 i 5057). Po ścięciu pędy umieszczono w pojemnikach z wodą, a następnie przechowywano w szafie klimatycznej SANYO (fot. 4) przy temperaturze 10°C i wilgotności powietrza 70%, w celu zapobieżenia utraty wody i parowania olejków eterycznych. Doświadczenia z wykorzystaniem pędów wykonywano w dwojaki sposób – w akwariach oraz w olfaktometrze.



Fot. 4. Szafa klimatyczna produkcji firmy SANYO

Celem badań przeprowadzonych w akwariach było określenie preferencji pokarmowej żerdzianek, tzn. akceptacji i wyboru pędu do żerowania. Akwaria (razem 14 sztuk – fot. 5a) dezynfekowano 70% alkoholem etylowym, po czym w przeciwległych ich końcach umieszczano pędy klonów 5048 i 5057 zanurzone w szklanych kolbach (fot. 5b) wypełnionych wodą. Do akwariów wpuszczano po jednym osobniku żerdzianki sosnowki z odnotowaniem płci i pochodzenia populacji. Żerdzianki przetrzymywano do momentu

rozpoczęcia żerowania na którymkolwiek z klonów lub, w przypadku braku żerowania, do śmierci owada. W trakcie kontroli doświadczenia odnotowywano numer klonu wybranego do żerowania i sposób żerowania. Po uzyskaniu tych informacji, doświadczenie powtarzano według wcześniej opisanego schematu. Ogółem testowanie preferencji pokarmowych żerdzianek w akwariach wykonano na 35 osobnikach (21 samców i 14 samic) z terenu pięciu nadleśnictw: Drewnica, Płaska, Międzychód, Wronki i Potrzebowice.



Fot. 5. Doświadczenie dotyczące preferencji pokarmowych żerdzianki sosnowki: a) akwaria z testowanymi pędami sosen, b) pędy sosen z różną liczbą kanałów żywicznych w igłach

W odrębnym doświadczeniu, którego celem było określenie wpływu zapachu pędów, jako pierwotnego źródła informacji o potencjalnej roślinie pokarmowej, wykorzystano szklany olfaktometr własnej konstrukcji. Olfaktometr (fot. 6) składał się z centralnej areny, czterech komór bocznych, oraz korytarzy łączących obydwie wymienione elementy. W dwóch naprzeciwległych komorach (za każdym razem wybieranych losowo) umieszczano po jednym pędzie klonów 5048 i 5057, dwie pozostałe natomiast pozostawiano puste. Do każdej komory dostarczano, przy użyciu pompki akwarystycznej i plastikowych przewodów, powietrze pod jednakowym ciśnieniem. Uzyskano w ten sposób strumienie powietrza przepływające przez komory boczne w kierunku areny. Żerdziankę umieszczano w centralnej części olfaktometru, a zachowanie owada rejestrowano w ciągu jednej doby przy pomocy kamery cyfrowej Ikegami 49E-ICD (fot. 7). Ogółem w olfaktometrze testowano 4 żerdzianki.



Fot. 6. Olfaktometr do badań preferencji zapachowych u żerdzianki sosnówki



Fot. 7. Kamera wideo Ikegami 49E-ICD do obserwacji zachowania żerdzianki sosnówki w olfaktometrze

3.3. Wyniki i dyskusja

3.3.1. Wybrane aspekty biologii i ekologii

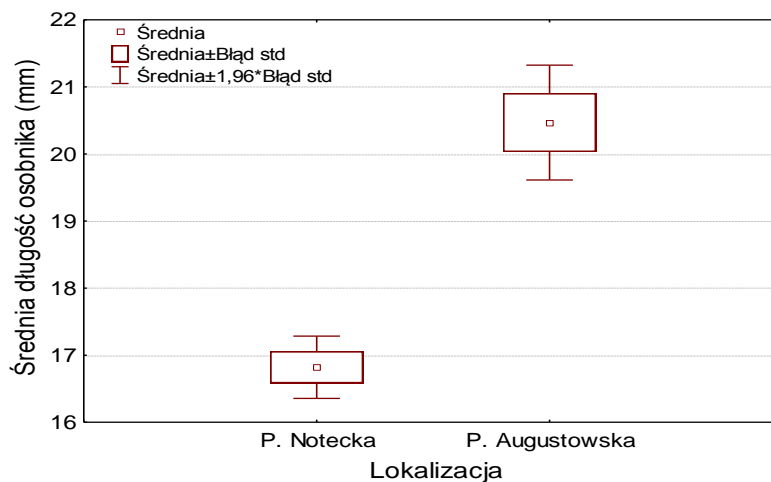
Osobniki dorosłe żerdzianek opuszczały kolebki poczwarkowe wygryzając w zewnętrznej warstwie drewna i korowinie okrągły otwór wylotowy o średnicy 4 – 8 mm (fot. 8), przy czym średnica otworu wylotowego zależała wprost od wielkości chrząszcza.

Analiza różnic w średnich rozmiarach ciała chrząszczy wykazała, że osobniki z Puszczy Noteckiej były mniejsze od osobników z Puszczy Augustowskiej ($t=-6,6076$, $df=89$, $P<0,00001$; ryc. 3). Chrząszcze uzyskane ze stosunkowo cieniokiego materiału lęgowego zebranego w Puszczy Noteckiej (3,5 – 9 cm, średnia grubość 5,2 cm), osiągały średnio 16,8 mm (samice) i 16,9 mm (samce), podczas gdy żerdzianki z żerowisk zebranych na materiale

grubszym w Puszczy Augustowskiej (15–33 cm, średnia grubość 21,1 cm) odpowiednio 20,5 mm i 20,4 mm.



Fot. 8. Otwór wylotowy imago żerdzianki sosnówki



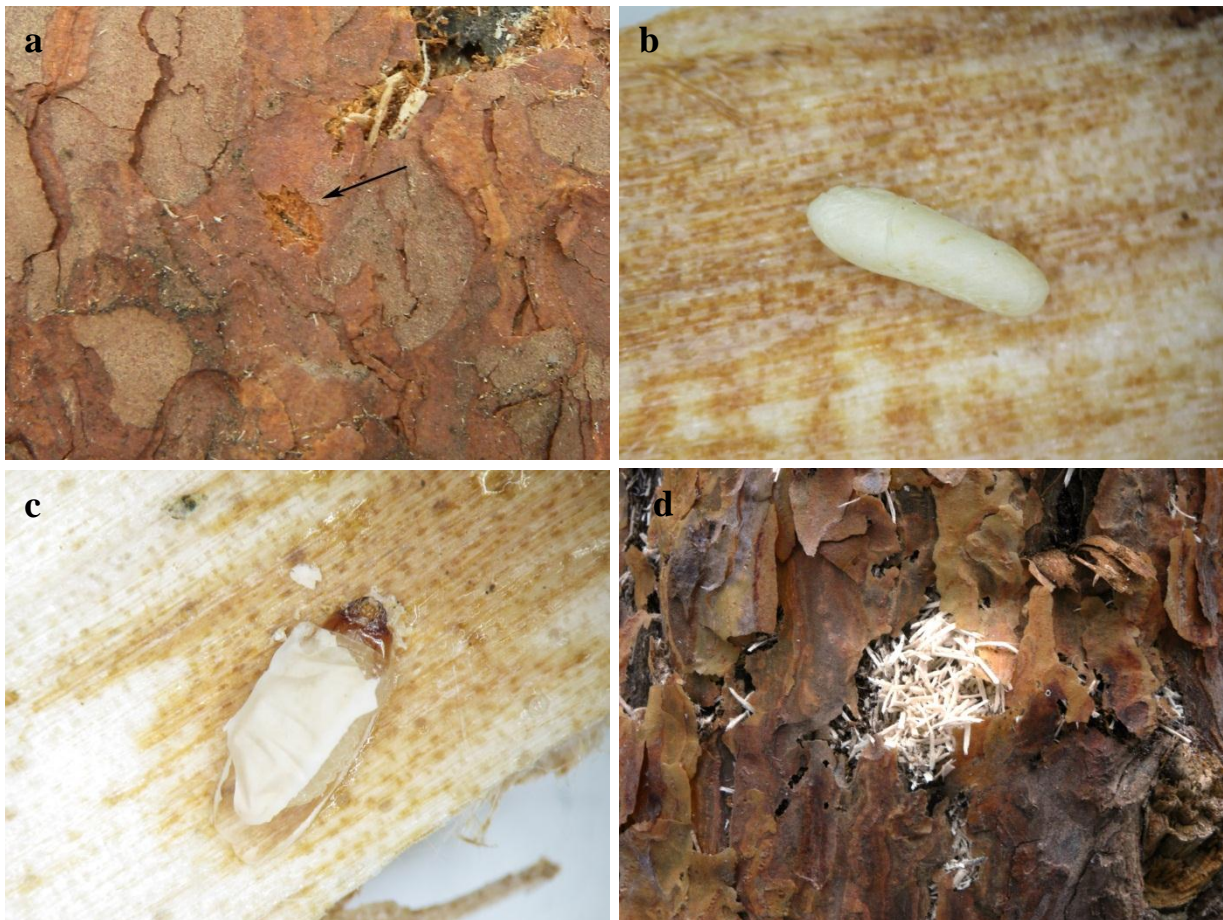
Ryc. 3. Średnia wielkość osobników żerdzianek z Puszczy Noteckiej i Puszczy Augustowskiej

Przyczyną dużych rozbieżności w rozmiarach ciała chrząszczy zebranych w obu porównywanych regionach były prawdopodobnie wymiary materiału lęgowego. Podobne wyniki uzyskiwali na przykład autorzy badań nad biologią żerdzianki sosnówki w Portugalii (Naves i in. 2008). Większe rozmiary ciała osobników wyhodowanych z grubszej materiału lęgowego można tłumaczyć większą ilością pokarmu przypadającą na jedną larwę oraz mniejszą konkurencją pomiędzy żerującymi osobnikami.

Po opuszczeniu żerowiska chrząszcze prowadziły żer uzupełniający, który odbywał się głównie na korze młodych pędów oraz na najmłodszym roczniku igieł. Korowina ogryzana była przez chrząszcze płatkami, natomiast igły uszkodzane były przy nasadzie, co doprowadzało do ich opadania. Jeden osobnik podczas żeru uzupełniającego uszkadzał od 3

do 25 igieł. Pobieranie pokarmu przez chrząszcze jest prawdopodobnie bardzo istotnym elementem w biologii żerdzianek. W ciałach niezapłodnionych samic, które nie odbywały żeru uzupełniającego, nie stwierdzono obecności jaj, podczas gdy u samic, którym podawano pokarm, stwierdzono jaja wykształcone w różnym stopniu. Zaobserwowano, że pokarm pobierany był przez samice także po złożeniu jaj, co prawdopodobnie umożliwia im ponowną owipozycję. W ten sposób samica przez całe swoje życie składa jaja w różnych miejscach, zasiedlając kolejne fragmenty drewna. Jedna samica może złożyć łącznie od 30 do 45 jaj (Szujewski 1995). Podczas rójki w warunkach naturalnych imagines mogą odbywać loty na odległość 3 – 9 km (Bilczyński 1974). Umożliwia to im znajdowanie dogodnych miejsc do żerowania i składania jaj.

Samice przystępowały do składania jaj w kilka dni po kopulacji. Przed złożeniem jaj nagryzają one korę zuwaczkami tworząc szczelinę (fot. 9a), przez którą do wnętrza drewna wciskane jest pokładelko.



Fot. 9. Rozwój żerdzianki sosnowki: a) wygryziona przez samicę szczelina, przez którą do wnętrza drewna składane jest jajo, b) jajo, c) wylęgająca się larwa, d) trocinki usuwane z żerowiska

Jaja umieszczane są pojedynczo w strefie łyka, zwykle około 0,5 cm poniżej miejsca nagryzienia korowiny. Jaja są lekko spłaszczone i osiągają wymiary: długość 3 – 3,5 mm i szerokość 1,0–1,5 mm. Są one białawe, w zarysie eliptyczne, pokryte skórzastym chorionem (fot. 9b). Wylęgające się larwy (fot. 9c) początkowo żerują w łyku drążąc chodniki brunatnej barwy. Na tym etapie rozwoju larwy charakteryzują się dość silnym spłaszczeniem ciała. W miarę rozwoju larwy żerowiska zaczynają coraz bardziej naruszać powierzchnię drewna. Charakterystyczne jest wówczas pojawianie się na powierzchni drewna długich, białobrazowych trocinek, które larwy usuwają poza obszar żerowisk (fot. 9d). Dorosłe larwy osiągają długość do 40 mm, zaś szerokość ich przedtułowia dochodzi do 7 mm (fot. 10a). Głowa jest żółta, błyszcząca z brunatną przednią krawędzią (fot. 10b). Przedplecze w przedniej części błyszcząca, drobno i rzadko punktowane, w tylnej części matowe, pokryte podłużnymi zmarszczkami i wzgórkami. Skrajnie boczne brodawki ruchowe segmentów odwłokowych mają pojedyncze, mikroskopijne kolce lub niekiedy są ich pozbawione. Brodawki ruchowe na grzbietowych poduszkach segmentów odwłoka tworzą dwie koncentryczne elipsy, natomiast na poduszkach brzusznych rozmieszczone są w dwóch równoległych łukach, połączonych po bokach półokrągłym rzędem brodawek. Obok tego połączenia występuje luźno od 3 do 5 brodawek. Przetchlinki małe, barwy jasnożółtej. Pierwsza z nich jest 1,5 razy dłuższa i szersza od drugiej. Dokładny opis i klucz do larw sporządził Klausnitzer (2001).



Fot. 10. Larwa żerdzianki sosnowki (widok z góry):
a) pokrój ogólny, b) głowa

Starsze larwy wygryzają w drewnie owalne otwory wejściowe o wymiarach 3,5 – 4 na 7-9 mm. Od tego momentu żer odbywa się wyłącznie w drewnie, a poza obszar żerowiska

usuwane są długie, białawe trocinki. Z uwagi na endofagiczny tryb życia, dokładne prześledzenie rozwoju larw żerdzianki sosnówki, jak również określenie liczby stadiów rozwojowych okazało się niemożliwe.

Po zakończeniu rozwoju larwy przygotowują w drewnie kolebki poczwarkowe (fot. 11a). Mają one hakowaty kształt i położone są na różnej głębokości, w zależności od grubości zasiedlanego materiału. Gdy materiał lęgowy jest gruby, to wydrążony korytarz, może sięgać nawet do 6 cm w głąb drewna. Sama poczwarka znajduje się około 1cm od powierzchni drewna. Poczwarki żerdzianki sosnówki są białawe, lekko grzbietobrzusznie spłaszczone. Czułki zwinięte są spiralnie po brzusznej stronie ciała. Na kremasterze znajduje się wyraźny, zagięty ku górze kolec. Stadium poczwarki w warunkach naturalnych trwa około 3 – 4 tygodni.



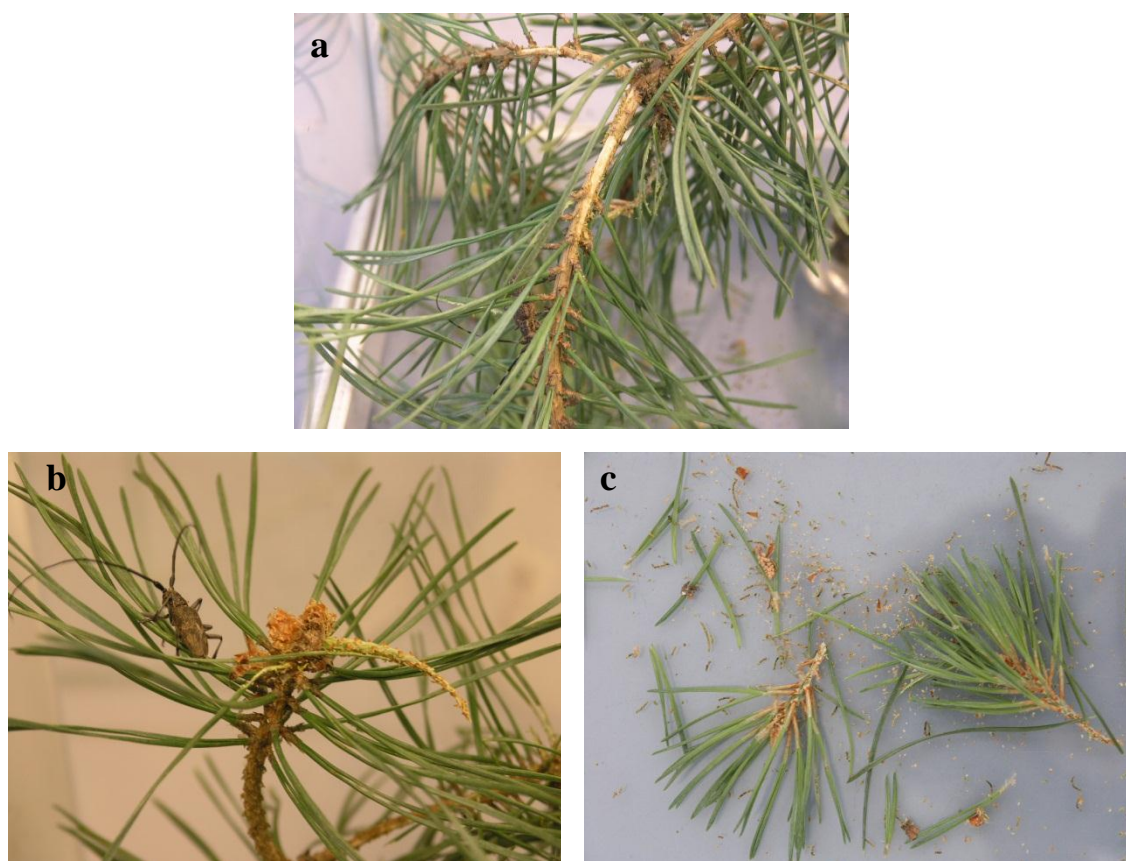
Fot. 11. Kolebka poczwarkowa żerdzianki sosnówki (a) oraz imago opuszczające żerowisko (b)

Imago opuszcza żerowisko wygryzając cienką warstwę drewna wraz z korowiną tuż nad kolebką poczwarkową (fot. 11b). Otwór wylotowy położony jest w odległości 10 – 15 cm od otworu wejściowego larwy. Często można zaobserwować, że liczba otworów wylotowych jest mniejsza, aniżeli liczba otworów wejściowych larw. Przyczyną tej dysproporcji jest zamieranie części larw, spowodowane istniejącymi w danym miejscu niekorzystnymi warunkami atmosferycznymi, pasożytnictwem itp. Zdarzają się również przypadki kanibalizmu, co ma miejsce szczególnie u młodych larw żerujących jeszcze pod korą (Dominik i Starzyk 2004).

3.3.2. Preferencje pokarmowe imagines

Główną rośliną żywicielską żerdzianki sosnowki w Polsce, jak i w całej Europie, jest sosna pospolita *Pinus sylvestris*. Rzadziej rozwijać się ona może na sośnie czarnej *P. nigra*, sośnie nadmorskiej *P. pinaster* i podgatunku sosny górskiej – *Pinus mugo uncinata* (Sláma 1998, Dominik i Starzyk 2004). Plavilščíkov (1958) podaje, że atakować może także sosnę limbę *P. cembra*, a także jodłę *Abies* sp. Stwierdzono jej rozwój również na świerku *Picea* sp. i modrzewiu *Larix* sp.

W trakcie doświadczeń stwierdzono, że dorosłe żerdzianki żerują głównie na korze tegorocznych i jednorocznych pędów (fot. 12a, b), obcinając igły u nasady. W wyniku intensywnego żerowania również młode pędy często były przegryzane u nasady (fot. 12c). Na starszych pędach oraz igliwiu żerowanie było mniej intensywne.



Fot. 12. Żerowanie chrząszczy żerdzianki na jednorocznym (a) i tegorocznym (b) pędzie oraz opadłe resztki pędów, igły i ekskrementy (c)

W doświadczeniu przeprowadzonym przy użyciu akwariów stwierdzono brak preferencji pokarmowej żerdzianek pod względem pędów pobranych z sosen z igliwem o dużej lub małej liczbie kanałów żywicznych. Wśród 35 żerdzianek 10 osobników żerowało na pędach z klonu 5057 (o dużej liczbie kanałów żywicznych), 9 – na pędach z klonu 5048 (o

małej liczbie kanałów żywicznych) i 2 – na pędach obydwu klonów. Czternaście chrząszczy zamarło jeszcze przed rozpoczęciem żerowania. Płeć owadów nie miała wpływu na wybór pokarmu. Wśród 10 chrząszczy żerujących na klonie 5057 stosunek samców do samic wynosił 6 do 4, a wśród 9 osobników żerujących na klonie 5048 – 4 do 5.

Badania z zastosowaniem olfaktometru nie dały jednoznacznej odpowiedzi na pytanie jaki jest potencjalny wpływ zapachu pędów na wybór pokarmu przez żerdzianki. W większości przypadków obserwowano losowe przemieszczanie się osobników wewnątrz olfaktometru; początkowo chrząszcze zazwyczaj wchodziły do pustych komór. Jednocześnie jednak, obserwacje te potwierdziły wyniki doświadczeń w akwariach, świadczące o braku preferencji pokarmowej żerdzianek, które wybierały do konsumpcji oba rodzaje klonów sosny.

4. Regiony o największym zagrożeniu powstania szkód w przypadku zawleczenia węgorka sosnowca do Polski

4.1. Wstęp

Na terenie Polski w drewnie sosny zwyczajnej dotychczas stwierdzono 7 gatunków nicieni z rodzaju *Bursaphelenchus*. Są to: *B. eggersi* Rühm, *B. glochis* Brzeski et Baujard, *B. mucronatus* Mamiya et Enda, *B. naujaci* Baujard, *B. piniperdae* (Fuchs), *B. pinophilus* Brzeski et Baujard, *B. sexdentati* (Rühm) Hunt (Tomalak 2010). Natomiast nie wykazano obecności *B. xylophilus* (Karnkowski 2008, Tomalak 2010).

Pojawienie się *B. xylophilus* jest jednak możliwe i powinno być stale brane pod uwagę, zwłaszcza w warunkach zmieniającego się klimatu. Obecnie przyjmuje się, że zamieranie drzew i drzewostanów powodowane działalnością węgorka sosnowego dotyczy jedynie obszarów charakteryzujących się ciepłym klimatem (Evans i in. 1996, Kozłowski 2003). Dla przykładu w Japonii epidemiologiczne rozmiary zjawiska notowano jedynie w rejonach o średniej temperaturze sierpnia powyżej 24°C, a w Finlandii przyjęto, że mogą to być rejony, gdzie temperatura sierpnia przewyższa 20°C (Contingency plan 2007). Dotychczas nie zaobserwowano zjawiska zamierania sosny powodowanego przez węgorka sosnowca w regionach Europy, Północnej Ameryki czy Japonii, gdzie średnie temperatury powietrza w miesiącach letnich nie przekraczają 20°C (Rutherford i Webster 1987). Jest to próg, powyżej którego następuje spadek tempa wzrostu drzew (Rutherford i in. 1990), a osłabiona kondycja drzewa uważana jest za jeden z niezbędnych warunków do jego skutecznego zasiedlenia i porażenia przez węgorka (Final Report 2007). Poza tym, jak wykazały badania laboratoryjne przeprowadzone przy temperaturach 15, 20 i 25°C, liczba zamierających sadzonek sosny zwyczajnej przy wyższych temperaturach nie różniła się istotnie i wyniosła 100% po 60 dniach od inokulacji nicieniem, natomiast nie stwierdzono zamierania zainfekowanych sadzonek przy temperaturze 15°C (Final Report 2007).

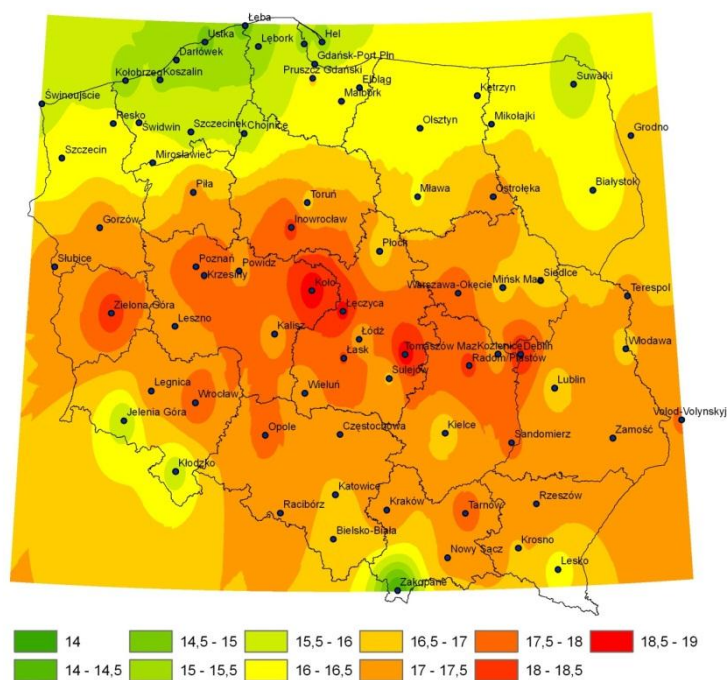
Celem podjętych badań było przeprowadzenie analizy warunków meteorologicznych w różnych regionach Polski w najcieplejszych miesiącach roku (tzn. w czerwcu, lipcu i sierpniu) do określenia regionów, w których rozwój nicienia, w przypadku jego zawleczenia do kraju, mógłby spowodować zamieranie drzew i drzewostanów. Należy podkreślić, że na większą uwagę zasługują temperatury lipca i sierpnia, ponieważ w tych miesiącach odbywa się główna rójka żerdzianki sosnowki, w czasie której samce i samice żerują na pędach sosny oraz mogą przenosić nicienie na nowe drzewa żywicielskie.

4.2. Metodyka

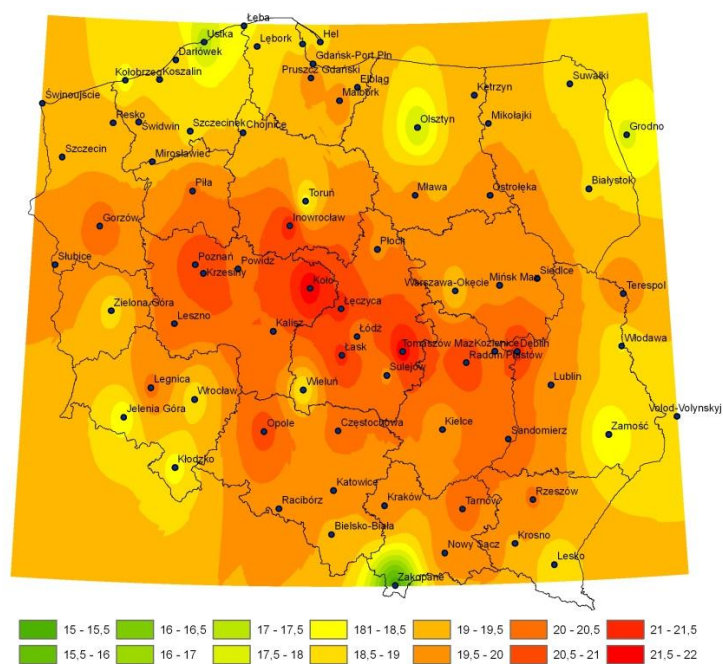
Do oceny warunków meteorologicznych w różnych regionach Polski zebrano dane dotyczące średniej miesięcznej, minimalnej i maksymalnej temperatury w czerwcu, lipcu i sierpniu z 75 stacji meteorologicznych dla lat 2005-2010. Średnie wartości z sześciu lat przedstawiono następnie na mapach w postaci izolinii. W tym celu wykorzystano oprogramowanie ArcGIS 9.2. Dla stacji, na której odnotowano najwyższe temperatury, wykonano dodatkowo analizę zmian średniej miesięcznej temperatury powietrza lipca i sierpnia za okres 1991-2010.

4.3. Wyniki

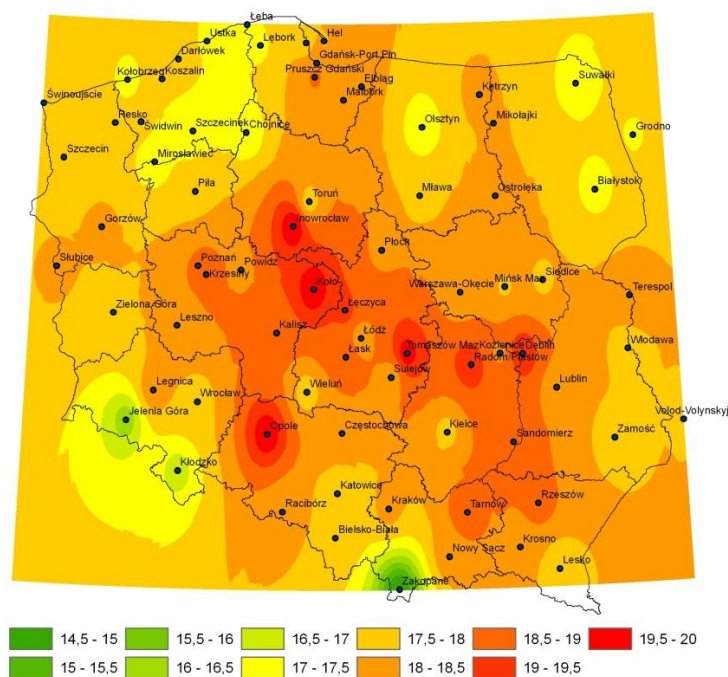
Izolinie średniej miesięcznej temperatury czerwca, lipca i sierpnia za lata 2005-2010 przedstawiono odpowiednio na rycinach 4-6.



Ryc. 4. Izolinie średniej miesięcznej temperatury powietrza w czerwcu dla obszaru Polski na podstawie danych za 6-letni okres (lata 2005-2010) z 75 stacji meteorologicznych



Ryc. 5. Izolinie średniej miesięcznej temperatury powietrza w lipcu dla obszaru Polski na podstawie danych za 6-letni okres (lata 2005-2010) z 75 stacji meteorologicznych



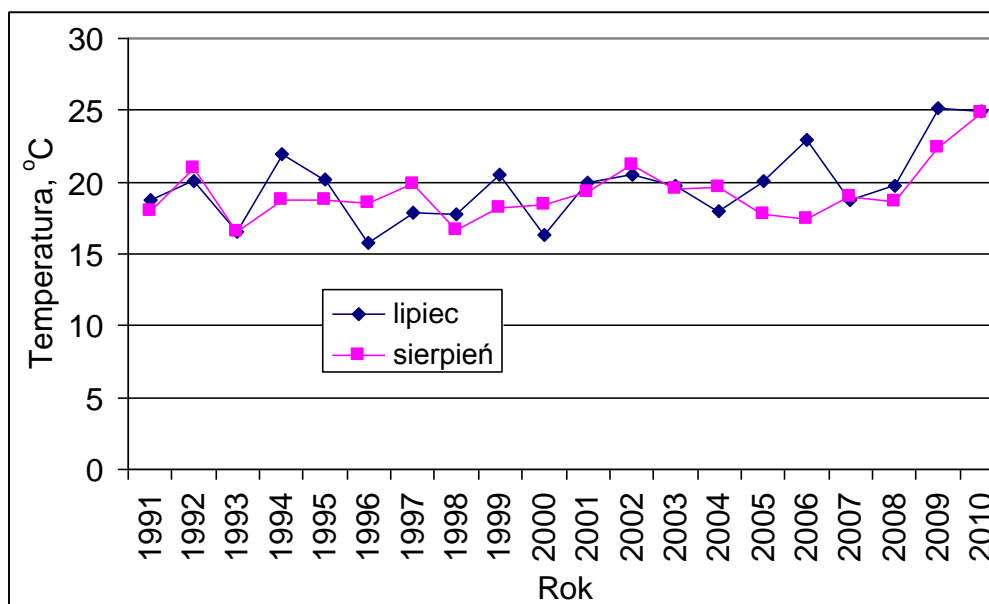
Ryc. 6. Izolinie średniej miesięcznej temperatury powietrza w sierpniu dla obszaru Polski na podstawie danych za 6-letni okres (lata 2005-2010) z 75 stacji meteorologicznych

W analizowanym okresie 2005-2010 r. średnia miesięczna temperatura czerwca nie przekroczyła 19°C na żadnej ze stacji meteorologicznych (ryc. 4). Wahala się ona między 14,1 a 18,9°C.

Lipiec okazał się najcieplejszym miesiącem letnim z temperaturami od 15,3 do 21,9°C. Średnia miesięczna temperatura powietrza przekroczyła próg 20°C na 26 stacjach meteorologicznych, a na 7 z nich stwierdzono temperaturę powyżej 21°C (ryc. 5). Wszystkie te stacje są zlokalizowane głównie w centralnej części kraju.

Sierpień jest drugim pod względem ciepła letnim miesiącem, ale różnice temperatury między stacjami są znacznie mniejsze niż w pozostałych miesiącach lata. Najniższą temperaturę (17,8°C) w analizowanym okresie zanotowano w Pile, a najwyższą (20°C) – na dwóch stacjach: w Inowrocławiu i Kole (ryc. 6). Podobnie jak w przypadku średnich temperatur lipca i czerwca, stacje z najwyższymi temperaturami znajdują się w centralnej części Polski.

Analiza zmian średniej miesięcznej temperatury lipca w latach 1991-2010 na stacji w Kole charakteryzującej się najwyższymi temperaturami letnimi wykazała, że od 2001 r. wartość ta nie spadła poniżej 18°C i ma trend narastający z amplitudą zmian w granicach od 18,0 do 25,1°C (ryc. 7). We wcześniejszym okresie wartości niższe od 18°C odnotowano w 5 z 10 lat, a temperatura wahała się od 15,8 do 21,9°C. Różnica między średnią wieloletnią z okresów 1991-2000 i 2001-2010 wynosi 2,4°C.



Ryc. 7. Średnia miesięczna temperatura powietrza w lipcu i sierpniu w okresie od 1991 r. do 2010 r. na stacji meteorologicznej w Kole

Zmiany temperatury sierpnia nie były tak duże jak w przypadku lipca, ale i tak można zauważyć wyraźne różnice. Przede wszystkim, zauważalne są bardzo wysokie wartości temperatury w dwóch ostatnich latach: 25,1 i 24,9°C odpowiednio w 2009 i 2010 r. (ryc. 7). W ostatniej dekadzie temperatura sierpnia przekroczyła próg 20°C trzykrotnie, a w poprzedniej dekadzie tylko raz. Średnia temperatura ostatniej dekady wzrosła w porównaniu z poprzednią o 1,5°C.

4.4. Podsumowanie

Analiza danych meteorologicznych z 75 stacji wykazała, że najcieplejszym regionem Polski w miesiącach letnich jest centralna część kraju. Średnie miesięczne temperatury lipca i sierpnia za okres 2005-2010 przekroczyły tu 20°C, temperaturę uważaną za próg wyznaczający warunki sprzyjające do rozwoju węgorka sosnowca. Należy zauważyć, że temperatury lata w ostatniej dekadzie wzrosły w porównaniu z poprzednim dziesięcioleciem. Oznacza to, że wcześniej w Polsce nie występowały warunki, które sprzyjałyby rozwojowi nicienia, jednak ocieplenie klimatu powoduje, że w centralnej części kraju warunki te się zmieniają na jego korzyść. Uzyskane wyniki sugerują, że obecnie należy wzmocnić wysiłki związane z monitorowaniem występowania nicieni w Polsce, choć region monitoringu można ograniczyć do centralnej części kraju. Do podobnego wniosku, o możliwości optymalizacji monitoringu występowania węgorka sosnowca poprzez skupienie działań tylko w regionach wysokiego ryzyka, doszli także wykonawcy projektu PHRAME „Plant Health Risk and Monitoring Evaluation” finansowanego przez Unię Europejską i zakończonego w 2007 r. (Final Report 2007). Kluczowymi warunkami osłabienia drzew, predysponującymi je do porażenia przez *B. xylophilus*, są: wysoka temperatura, niskie opady oraz duże zagęszczenie drzew. W regionach, gdzie nicień występuje, ale warunki środowiskowe nie powodują znaczącego osłabienia drzew, węgorek sosnowiec nie przyczynia się do zamierania sosny.

5. Atraktanty wabiące chrząszcze żerdzianki sosnowki

5.1. Wstęp

Jedną z metod wykrywania węgorka sosnowca na określonym obszarze jest analiza jego wektorów, tzn. imagines żerdzianki sosnowki, pod kątem obecności nicienia w ich ciałach. Stosunkowo najbardziej efektywnym sposobem uzyskania dużej liczby żerdzianek może być zwabienie ich do sztucznych pułapek z atraktantem.

Pajares i in. (2004) przetestowali w Hiszpanii różne kombinacje związków chemicznych i wykazali dość dobrą atrakcyjność kombinacji takich substancji jak ipsenol, α -pinen i etanol. Inni badacze hiszpańscy stwierdzili, że lepsze wyniki daje mieszanina, w której zamiast etanolu zastosowano 2-metylo-3-buten-2-ol (dalej „metylobutenol”) (Ibeas i in. 2007, Francardi i in. 2009). Część tych związków wydzielana jest przez drzewa żywicielskie, a pozostałe wchodzi w skład feromonów niektórych korników. W 2009 r. został zidentyfikowany feromon agregacyjny wydzielany przez samce żerdzianki sosnowki, na który reagują osobniki obu płci (Pajares i in. 2010). W testach laboratoryjnych i terenowych potwierdzono jego aktywność, a skuteczność odłowów chrząszczy do pułapek z mieszanką α -pinenu, ipsenolu i metylobutenolu z dodatkiem feromonu wzrosła prawie dwukrotnie.

Z kolei w Niemczech przeprowadzono badania laboratoryjne z wykorzystaniem elektroantenografu połączonego z chromatografem gazowym (GC-MS/EAD) i wykazano, że *M. galloprovincialis* preferuje monocykliczne lub acykliczne substancje lotne i w największym stopniu reaguje na myrcen, 3-karen, p-cymen, γ -terpinen i myrtenol/kamforę, ale także na α -pinen (Weißbecker i in. 2006). Związki te nie były jednak badane w warunkach terenowych.

Celem naszych doświadczeń było testowanie atraktantów zalecanych przez hiszpańskich naukowców oraz związków wykrytych przez niemieckich naukowców, a także poszukiwanie nowych kombinacji atrakcyjnych dla żerdzianki sosnowki w Polsce.

5.2. Metodyka

5.2.1. Badanie związków chemicznych wydzielanych przez sosnę zwyczajną – 2010 r.

Badania wykonał Zakład Doświadczalny Chemipan Instytutu Chemii Fizycznej PAN (ZD Chemipan) na zlecenie Instytutu Badawczego Leśnictwa.

Material

Próbki drewna z cienką korą (preferowaną przez imagines żerdzianki sosnowki do zasiedlenia) o długości 20-30 cm i o średnicy od 3 do 8 cm, łącznie 8 fragmentów, pobrano ze stosu drewna oraz resztek pozrębowych po wykonaniu trzebieży w drzewostanie sosnowym na terenie Nadleśnictwa Międzychód (RDLP Szczecin). Fragmenty o średnicy mniejszej niż 3 cm używano do prób w całości. Fragmenty o większej średnicy okorowywano i całą korę z 2-3 mm warstwą drewna umieszczano w aparacie do mikroekstrakcji.

Aparatura

Do pobierania próbek związków z otoczenia fragmentów drzew wykorzystano metodę mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME). Po potwierdzeniu skuteczności ekstrakcji metodą chromatografii gazowej i wstępnej identyfikacji na podstawie czasów retencji, wykonywano pełną identyfikację wybranych pików metodą spektrometrii masowej.

Zasadnicza część aparatu do pobierania lotnych związków była wykonana ze szkła. Próbki drewna lub kory umieszczano w komorze o długości 25 cm i średnicy 4 cm. W jednym końcu komory znajdował się króciec (wlotowy) połączony węzłem elastycznym z pompką (sprężarką) powietrza o płynnie regulowanym wydatku. Przeciwny koniec komory był połączony z nasadką, w której powietrze po opuszczeniu komory przepływało przez kapilarę o średnicy 2 mm i długości 30 mm. Nad kapilarą znajdował się króciec o średnicy 10 mm zamknięty wymienialną przegrodą (septum) z gumy silikonowej, przez którą w czasie próby była wprowadzana igła urządzenia do mikroekstrakcji. Długość króćca (50 ml) była tak dobrana, że część aktywna urządzenia do mikroekstrakcji, po wysunięciu z otaczającej ją igły, znajdowała się w środkowej części kapilary. Powietrze po opuszczeniu kapilary i króćca przechodziło elastycznym przewodem do płuczki z wodą, która umożliwiała kontrolę przepływu i przybliżony pomiar jego natężenia. Dla przyspieszenia w razie potrzeby szybkości uwalniania związków z badanej próbki, nad komorą umieszczono promiennik podczerwieni, umożliwiając jej ogrzewanie w granicach 30 - 80°C.

Jako urządzenie do mikroekstrakcji zastosowano standardowy aparat do SPME firmy Supelco nr katalogowy 57330-U z elementem sorbującym pokrytym warstwą polidimetylosiloksanu o grubości 30 µm, nr katalogowy 57318.

Mikroekstrakcja związków lotnych

Przed każdą próbą element aktywny urządzenia do mikroekstrakcji wygrzewano w strumieniu gazu obojętnego w temperaturze 250°C.

W komorze aparatu do pobierania próbek umieszczano badany fragment pnia lub paski zdjętej z niego kory. W króćcu wylotowym umieszczano wprowadzoną przez septum igłę urządzenia do mikroekstrakcji i wysuwano z niej element aktywny w taki sposób, żeby część pokryta sorbentem znajdowała się w pobliżu środka kapilary. Po uruchomieniu pompki powietrza ustalano jego przepływ na poziomie około $4 \text{ cm}^3/\text{min}$, czemu odpowiada prędkość liniowa przepływu w pobliżu warstwy sorbenta w kapilarze około 2 cm/s . W tych warunkach utrzymywano układ przez 24 godziny. W kilku przypadkach podnoszono temperaturę w komorze do 60°C , wówczas czas trwania próby wynosił 6 godzin. Po tym czasie zatrzymywano przepływ powietrza, i po schowaniu elementu aktywnego do wnętrza igły wyjmowano urządzenie do SPME z króćca, po czym umieszczano je w szczelnym pojemniku i przekazywano – bez kontaktu z otoczeniem – do pracowni chromatograficznej.

Chromatografia gazowa

W próbach wstępnych, których celem było określenie warunków dla desorpcji lotnych składników z próbek kory (czas trwania operacji, temperatura w komorze, przepływ powietrza nad próbką) oraz warunków rozdziału chromatograficznego, desorpcję związków z urządzenia do mikroekstrakcji i ich rozdział wykonywano w chromatografii gazowej Hewlett-Packard model HP 6890+ z kolumną HP35 o średnicy $250 \mu\text{m}$, długości 30 m i grubości filmu $0,25 \mu\text{m}$.

Przepływ gazu nośnego (azotu) 1 ml/min .

Temperatura początkowa kolumny 80°C

Przyrost temperatury 10°C/min

Temperatura końcowa 220°C

Temperatura w dozowniku 220°C

Detektor FID

Temperatura w detektorze 220°C

Potwierdzenie identyczności wstępnie określonych związków i identyfikację pozostałych uzyskano w badaniach wykonanych metodą chromatografii gazowej połączonej ze spektrometrią masową, przeprowadzonych w Zakładzie Katalizy na Metalach Instytutu Chemii Fizycznej PAN. Rozdział i identyfikację prowadzono w zestawie GC/MS składającym się z chromatografu gazowego Hewlett-Packard HP6890 oraz spektrometru masowego.

Kolumna: HP-5MS – 5% Fenylometrylosiloksan

Średnica kolumny – $0,25 \text{ mm}$

Długość kolumny – 30,0 m
Grubość filmu – 0,25 μm
Gaz nośny – hel 1,0 ml/min
Temperatura początkowa 70°C, końcowa 220°C

5.2.2. Poszukiwanie nowego składu atraktanta bazowego (bez feromonu płciowego) – 2011 r.

Na podstawie wyników badań przeprowadzonych w 2010 r. oraz danych z literatury do dalszych doświadczeń wytypowano 9 związków chemicznych: gwajakol, γ -terpinen, trans-werbenol, longifolen, nonanal, pentadeka-2-on, izowalerianian izobornylu, 4-metoksybenzoesan metylu i beta-kariofilen.

Pierwszy związek – gwajakol – zastosowano w związku z informacjami literaturowymi o zasiedlaniu przez żerdziankę obszarów leśnych objętych występowaniem pożarów. Przyjęto, że zjawisko to może mieć charakter analogiczny, jak ma to miejsce w przypadku przypłaszczka granatka (*Phaenops cyanea*), którego zasiedlanie nadpalonych drzew wiązano z tworzeniem się m.in. gwajakolu w wyniku pirolizy drewna (A. Sowińska przy współpracy z ZD Chemipan).

Dwa związki, γ -terpinen oraz trans-werbenol, wykazały pewną aktywność w pierwszym etapie badań przeprowadzonym w 2010 r. przez IBL we współpracy z ZD Chemipan.

Pozostałych sześć związków: longifolen, nonanal (jako przedstawiciel grupy aldehydów C7-C11), pentadeka-2-on, izowalerianian izobornylu, 4-metoksybenzoesan metylu oraz beta-kariofilen wykryto i zidentyfikowano z wysokim prawdopodobieństwem wśród związków wydzielanych przez korę wałków sosnowych, stanowiących dla żerdzianki sosnowki atrakcyjny materiał lęgowy. Spośród kilkunastu innych wyizolowanych związków, wyróżniały się one stosunkowo niską masą cząsteczkową i lotnością, warunkującą występowanie w powietrzu w odpowiednio dużym stężeniu, a niekiedy dostępnością i ceną, istotną w przypadku zastosowania w praktyce.

Wymienione związki wprowadzono do standardowych dispenserów torebkowych w postaci roztworów w 1 ml etanolu. Dispensery te pojedynczo łączono z przygotowanymi przez ZD Chemipan dispenserami bazowymi (również torebkowymi), nasączonymi mieszaniną związków o składzie: etanol, ipsenol, BHT, metylobutenol (atraktant-3), i dispenserami zawierającymi α -pinen.

5.2.3. Poszukiwanie nowego feromonu płciowego – 2011 r.

Poszukując feromonu płciowego żerdzianki sosnowki, zwiększającego atrakcyjność kompozycji aktywnej, ZD Chemipan przygotował cztery rodzaje dyspenserów: jeden zawierający opisany w literaturze (również w dokumentacji patentowej) feromon żerdzianki oraz trzy – zawierające analogi strukturalne tego feromonu.

Feromon płciowy żerdzianki sosnowki został zidentyfikowany jako 2-undecyloksyetanol (Pajares i in. 2010), a później opatentowany przez hiszpańską firmę Sociedad Española de Desarrollos Químicos, S.L. (SEDQ). Do celów porównawczych zsyntetyzowano, a następnie sporządzono roztwór 25 mg tego związku w 1 ml etanolu, którym nasączono dyspensery torebkowe, oznaczone jako „feromon-1”.

Poszukując nowych, alternatywnych związków o działaniu wabiącym żerdziankę sosnowkę wzięto pod uwagę trzy substancje o budowie zbliżonej do 2-undecyloksyetanolu:

- jego analog chemiczny o znacznie krótszym łańcuchu grupy alkoksylowej, tj. 2-oktyloksyetanol, który zsyntetyzowano z halogenku oktylu i glikolu etylenowego (oznaczono jako „feromon-2”);
- tetradekanol – alkohol alifatyczny o liczbie węgli równej liczbie atomów w łańcuchu feromonu-1 (oznaczono jako „feromon-3”);
- octan dodecyłu (związek będący składnikiem kompozycji feromonowej dyspensera dla zwojki *Cydia funebrana*), jako związek o tej samej liczbie atomów w łańcuchu co w feromonie-1 (oznaczono jako „feromon-4”).

Z trzech wymienionych związków wykonano torebkowe dyspensery feromonowe zawierające po 25 mg substancji w roztworze w 1 ml etanolu.

W doświadczeniach terenowych feromony łączono (każdy osobno) z atraktantem-3 i α -pinenem.

Poza tym, do celów porównawczych zakupiono 10 oryginalnych dyspenserów produkowanych przez firmę SEDQ („feromon-5”).

5.2.4. Poszukiwanie optymalnego składu atraktanta – 2012 r.

Na podstawie wyników badań terenowych wykonanych w latach 2010-2011 w 2012 r. przeprowadzono doświadczenia mające na celu:

- 1) sprawdzenie atrakcyjności 5 wybranych związków chemicznych o potencjalnie największej sile zwabiania żerdzianek, jako substancji dodatkowej do podstawowego składu atraktanta;

- 2) poddanie testom 4 związków, które mogłyby zastąpić oryginalną substancję działającą jako feromon (2-undecyloksy-1-etanol);
- 3) ocenę wpływu na efektywność odłowów rozdzielania kompozycji wabiącej na dwa zestawy i umieszczenia ich na różnych wysokościach powierzchni łownej pułapki.

Ad 1.

Jako dyspensery bazowe do przygotowania zestawów do testowania posłużyły substancje, wchodzące w podstawowy skład oryginalnego atraktanta na żerdziankę: DMWK (2-metylo-3-buten-2-ol), ipsenol (2-metylo-6-metyleno-7-okten-4-ol), inhibitor polimeryzacji (BHT) oraz feromon płciowy żerdzianki (2-undecyloksy-1-etanol). W dyspenserze zwiększono, w porównaniu z 2011 rokiem, zawartość DMWK kosztem etanolu, a ilość ipsenolu zwiększono z 30 do 50 mg. Każda torebka zawierała więc dwie kształtki celulozowe nasycone kompozycją 1,5 ml DMWK, 50 mg ipsenolu, 50 mg BHT i 100 mg 2-undecyloksy-1-etanolu. Stosowano DMWK i BHT o czystości odczynnikowej (min. 98%), ipsenol firmy Bedoukian (95%) oraz zsyntetyzowany w ZD Chemipan 2-undecyloksy-1-etanol o czystości 95%. Dyspensery były pakowane indywidualnie w szczelne torebki z folii aluminiowej powlekanej polietylenem, które należało otworzyć bezpośrednio przed zastosowaniem w doświadczeniach.

Do dyspenserów bazowych dodano 5 testowanych związków (po jednym na każdy dyspenser bazowy): aldehyd nonylowy (nonanal), pentadeka-2-on, 4-metoksybenzoesan metylu (MBE), γ -terpinen oraz trans-werbenol. Dla każdego związku wykonano 10 dyspenserów torebkowych, zawierających po 50 mg związku w postaci roztworu w 1 ml etanolu. W przypadku trans-werbenolu (syntetyzowanego w ZD Chemipan, zawierającego 75% składnika głównego) użyto 75 mg. Dyspensery pakowano jak wyżej.

Jako wariant kontrolny posłużył dyspenser bazowy bez dodawania żadnej innej substancji.

Ad 2.

W doświadczeniu nad zamiennikami oryginalnego feromonu jako bazę wykorzystano dyspenser podobny jak w poprzednim doświadczeniu, ale bez feromonu płciowego żerdzianki. Jako wariant kontrolny wykorzystano oryginalny atraktant zakupiony w Hiszpanii („feromon-1”). Związkami, które łączono z dyspenserem bazowym, były:

- 1) 2-decyloksy-1-etanol („feromon 2”) - zsyntetyzowany w ZD Chemipan z glikolu etylenowego i bromku decylu. Surowy produkt wyodrębniono przez destylacje i oczyszczano chromatograficznie;

- 2) tetradekanol („feromon-3”) – handlowy produkt firmy Aldrich;
- 3) octan dodecyłu („feromon-4”) – składnik dyspensera feromonowego owocówki śliwkóweczki zsyntetyzowany w ZD Chemipan;
- 4) 3-decyloksy-1-propanol („feromon-5”) – otrzymany w ZD Chemipan w reakcji bromku decyłu z glikolem trimetylenowym.

Z każdego ze związków wykonano 12 dyspenserów torebkowych, z których każdy zawierał roztwór 100 mg substancji w 1 ml DMWK. Dyspensery pakowano indywidualnie jak wyżej.

Ad 3.

Dla sprawdzenia, jaki wpływ na atrakcyjność kompozycji wabiącej i skuteczność działania dyspensera ma rozdzielenie go na dwa elementy, wykonano 5 tzw. dyspenserów binarnych, w których feromon płciowy znajdował się tylko w jednym elemencie.

W tym celu wyekstrahowano metanolem, zważono i zanalizowano zawartości obydwu elementów dyspensera produkcji hiszpańskiej. Stwierdzono, że jeden z elementów zawiera DMWK, ipsenol (większą część) i inhibitor polimeryzacji, zaś drugi – DMWK, ipsenol (mniejsza część), inhibitor i feromon. Elementy różniły się też rodzajem nośnika substancji aktywnej; w pierwszym przypadku była to kształtka z celulozy, w drugim – mikroporowata gąbka z nieznanego materiału.

Do doświadczeń wykonano 5 zestawów dwuelementowych („polski-2”), z których każdy składał się z dwóch dyspenserów torebkowych z kształtką celulozy, która zawierała:

Dyspenser A: 1 ml DMWK, 200 mg ipsenolu, 250 mg inhibitora BHT,

Dyspenser B: 1,5 ml DMWK, 50 ml ipsenolu, 50 mg BHT i 100 mg 2-undecyloksy-1-etanolu.

Dyspensery pakowano parami w opakowania z folii aluminiowej. Do porównania wykorzystano jednoczęściowy dyspenser wyprodukowany przez ZD Chemipan („polski-1”) oraz oryginalny (binarny) dyspenser zakupiony w Hiszpanii (hiszpański-2).

5.2.5. Testowanie wybranych związków chemicznych w warunkach terenowych w latach 2010-2012

Doświadczenia w 2010 r.

Do testowania różnych kombinacji związków chemicznych posłużyły pułapki IBL-3 (fot. 13).



Fot. 13. Pułapka IBL-3 produkcji Z.D.Chemipan

Zarówno kombinacje związków, jak i pułapki dostarczył Z.D. Chemipan Instytutu Chemii Fizycznej PAN. Pułapki z poszczególnymi atraktantami zawieszano przy użyciu syntetycznego sznura w kolejności losowej między drzewami lub na gałązkach drzew na wysokości 1,5-2,0 m. Badania trwały od 24 czerwca do 26 sierpnia. Podczas kontroli, przeprowadzanych w odstępach 6 lub więcej dni, owady z poszczególnych pułapek umieszczano w ponumerowanych plastikowych pojemnikach. Następnie w warunkach laboratoryjnych zliczano osobniki żerdzianki z uwzględnieniem płci. Pozostałe owady oznaczano do gatunku, rodzaju lub rodziny.

Pierwsze doświadczenia z atraktantami założono 24 czerwca na terenie Nadl. Wronki (oddz. 138a – fot. 14) i Międzychód (oddz. 117d – fot. 15) oraz 29 czerwca na terenie Nadl. Drewnica (fot. 16). W pierwszych dwóch nadleśnictwach wywieszono po 7 pułapek z następującymi wariantami mieszanin substancji chemicznych:

- 1 – α -pinen,
- 2 – α -pinen, etanol, ipsenol, metylobutenol,
- 3 – ipsenol, MB,
- 4 – α -pinen, etanol, ipsdienol, metylobutenol,
- 5 – α -pinen, ipsenol, metylobutenol,
- 6 – α -pinen, ipsdienol, metylobutenol,
- 7 - α -pinen (x2), etanol, ipsenol, ipsdienol, metylobutenol, cis-werbenol



Fot. 14. Powierzchnia doświadczalna na terenie Nadl. Wronki (RDLP Piła), 2010 r.



Fot. 15. Powierzchnia doświadczalna na terenie Nadl. Międzychód (RDLP Szczecinek), 2010 r.



Fot. 16. Powierzchnia doświadczalna na terenie Nadl. Drewnica (RDLP Warszawa), 2010 r.

W Nadl. Drewnica wywieszono 30 pułapek z 10 wariantami mieszanin substancji chemicznych w 3 powtórzeniach:

- 1 – α -pinen, ipsenol, metylobutenol,
- 2 – α -pinen, ipsenol, metylobutenol, feromon,
- 3 – α -pinen, γ -terpinen, p-cymen, p-ksylen,
- 4 – α -pinen, etanol, myrcen, terpinolen (w wężyku), ipsenol, metylobutenol (w torebce),
- 5 – α -pinen, etanol, myrcen, terpinolen (w buteleczce), ipsenol, metylobutenol (w torebce),
- 6 – α -pinen, etanol, ipsenol, metylobutenol, trans-werbenol,
- 7 – α -pinen, ipsenol, metylobutenol, γ -terpinen,
- 8 – α -pinen, ipsenol, metylobutenol, p-cymen,
- 9 – α -pinen, ipsenol, metylobutenol, p-ksylen,
- 10 – bez atraktanta

Kontrolę pułapek w Nadl. Drewnica przeprowadzono 6 lipca, a w Nadl. Międzychód i Wronki – 12 lipca. Po kontroli w Nadl. Drewnica testowane mieszaniny substancji pozostawiono bez zmian, a drugą (ostatnią) kontrolę przeprowadzono 19 lipca.

W pozostałych dwóch nadleśnictwach kombinacje związków chemicznych we wszystkich pułapkach zamieniono na nowe (tab. 1), przygotowane na podstawie wstępnej analizy wcześniej odłowionych owadów, oraz zainstalowano dodatkowe pułapki. W oddz. 132a w Nadl. Wronki założono nową powierzchnię, gdzie wywieszono zestawy atraktantów podobne do wywieszonych w oddz. 138a w tymże nadleśnictwie i oddz. 117d w Nadl. Międzychód. We wszystkich pułapkach umieszczono fragment płytki nasączonej insektycydem w celu uniemożliwienia ucieczki odłowionych owadów. Kontrolę pułapek przeprowadzono 16 lipca. W czasie kontroli atraktanty pozostawiono bez zmian, a na obydwu powierzchniach na terenie Nadl. Wronki dowieszono po jednej pułapce (nr 41 i 74) zawierającej jako substancję wabiącą jedynie feromon. Wyniki odłowów posłużyły do przygotowania nowych zestawów atraktantów (tab. 2), które wywieszono podczas kolejnej kontroli pułapek w Puszczy Noteckiej przeprowadzonej 27 lipca. Ostatnia kontrola pułapek miała miejsce 26 sierpnia.

Tabela 1. Wykaz atraktantów testowanych w pułapkach IBL-3 na terenie Puszczy Noteckiej w okresie 12-27 lipca 2010 r.

Atraktant	Nr pułapki w nadleśnictwie i wydzieleniu		
	Międzychód 117d	Wronki 138a	Wronki 132a
α -pinen, etanol, myrcen, terpinolen (but.), ipsenol, metylobutenol	1	23	51
α -pinen, ipsenol, metylobutenol, feromon	2	22	52
α -pinen, etanol, ipsenol, metylobutenol, trans-werbenol	3	21	53
α -pinen, etanol, terpinolen, 3-karen	4	24	54
α -pinen, etanol, ipsenol, metylobutenol, terpinolen, 3-karen	5	25	55
α -pinen, etanol, myrcen, terpinolen (but.)	6	26	56
α -pinen (x2), etanol, ipsenol, ipsdienol, metylobutenol, cis-werbenol	7	27	57
α -pinen, ipsenol, metylobutenol, γ -terpinen	8	28	58
α -pinen, ipsenol, metylobutenol, p-cymen	9	29	59
α -pinen, ipsenol, metylobutenol, p-ksylen	10	30	60
α -pinen, etanol, ipsenol, metylobutenol, trans-werbenol, feromon	11	31	61
α -pinen, etanol, ipsenol, metylobutenol (x2), ipsdienol,	12	32	62
α -pinen, etanol, myrcen, terpinolen (węz.), ipsdienol, metylobutenol,	13	33	63
ipsenol, metylobutenol, myrcen	14	34	64
α -pinen, etanol, terpinolen, 3-karen, ipsdienol, metylobutenol	15	35	65
α -pinen, ipsenol, ipsdienol, metylobutenol, cis-werbenol	16	36	66
α -pinen, ipsdienol, metylobutenol	17	37	67
α -pinen, ipsenol, metylobutenol, myrcen	18	38	68
α -pinen, ipsenol, metylobutenol, myrcen, feromon	19	39	69
bez atraktanta	20	40	70
γ -terpinen, p-cymen, feromon		40a	
α -pinen, ipsenol, metylobutenol (atraktant włożono do pojemnika w pułapce, do którego wpadają zwabione owady)	-	-	71, 72, 73

Tabela 2. Wykaz atraktantów testowanych w pułapkach IBL-3 na terenie Puszczy Noteckiej w okresie 27 lipca-26 sierpnia 2010 r.

Atraktant	Nr pułapki w nadleśnictwie i wydzieleniu		
	Międzychód 117d	Wronki 138a	Wronki 132a
α -pinen, ipsenol, metylobutenol, terpinolen	1	23	51
α -pinen, ipsenol, metylobutenol, feromon	2	22	52
α -pinen, ipsenol, metylobutenol, trans-werbenol (x2)	3	21	53
ipsdienol, metylobutenol	4	24	54
α -pinen, ipsenol, metylobutenol, terpinolen, feromon	5	25	55
ipsdienol, metylobutenol, feromon	6	26	56
α -pinen, ipsenol, ipsdienol, metylobutenol, cis-werbenol, feromon	7	27	57
α -pinen, ipsenol, metylobutenol, γ -terpinen, feromon	8	28	58
α -pinen, ipsenol, metylobutenol	9	29	59
α -pinen, ipsenol, metylobutenol, feromon (x2)	10	30	60
α -pinen, etanol, ipsenol, metylobutenol, trans-werbenol, feromon	11	31	61
α -pinen, ipsenol, metylobutenol, 3-karen	12	32	62
ipsdienol, metylobutenol, feromon (x2)	13	33	63
α -pinen, ipsenol, metylobutenol, 3-karen, feromon	14	34	64
α -pinen, ipsenol, ipsdienol, metylobutenol (x2)	15	35	65
α -pinen, ipsenol, ipsdienol, metylobutenol, cis-werbenol	16	36	66
α -pinen, ipsenol, metylobutenol (x2), feromon	17	37	67
α -pinen, ipsenol (x2), metylobutenol (x2)	18	38	68
α -pinen, ipsenol, metylobutenol, myrcen (x2), feromon	19	39	69
α -pinen, ipsenol (x2), metylobutenol (x2), feromon	20	40	70
α -pinen, ipsenol, metylobutenol, trans-werbenol (x2), feromon	21a	41	71
α -pinen, ipsenol, metylobutenol, cis-werbenol (x2)	22a	42	72
α -pinen, ipsenol, metylobutenol, cis-werbenol, feromon	23a	43	73

Doświadczenia w 2011 r.

Doświadczenia mające na celu ocenę właściwości wabiących przygotowanych mieszanin związków chemicznych założono 14 lipca 2011 r. Na terenie Nadl. Wronki, Leśn. Gogolice wywieszono 107 pułapek IBL-5 pokrytych teflonem (optymalny typ pułapki - patrz rozdział 6). Testowano 9 wariantów mieszanin (jednego z 9 wybranych związków, atraktanta-3 i α -pinenu) oraz 5 typów feromonów (feromon-1 do feromon-5) w 4 powtórzeniach (walerianian – w 3 powtórzeniach) w oddz. 57c (10So, wiek 27 lat, Bśw) i te same warianty w 3 powtórzeniach w oddz. 132a (10So, wiek 30 lat, Bśw). Kontrolę pułapek przeprowadzono 20 lipca.

Po analizie uzyskanych wyników podjęto decyzję o wykorzystaniu części pułapek z oddz. 132a do badań na wpływem wysokości ich zawieszenia na odłowy żerdzianek (patrz

rozdział 6). W tym celu zdjęto tu 27 pułapek, a resztę 15 (z różnymi typami feromonów) pozostawiono bez zmian do 9 sierpnia. W tym dniu, po wykonaniu kontroli, z powierzchni w oddz. 57a zdjęto 19 pułapek, pozostawiając tylko te, w których mieszaniny związków wykazywały się większą atrakcyjnością dla żerdzianki sosnowki, tzn. wszystkie pułapki z feromonem-1, 2, 3, 4 i 5 oraz z trans-werbenolem, g-terpinenem, metoksybenzoesanem i nonanalem.

Wszystkie zdjęte pułapki, oprócz jednej, wykorzystano do założenia nowego doświadczenia, opartego na uzyskanych dotychczas wynikach. Do 9 pułapek włożono atraktant-3 w połączeniu z feromonem-1, -2 lub -4. Zawieszono je na wysokości 4-5 m w oddz. 132a. Do pozostałych 9 pułapek włożono następujące mieszaniny w trzech powtórzeniach:

- atraktant-1+metoksybenzoesan+nonanal,
- atraktant-1+trans-werbenol+ γ -terpinen,
- atraktant-1.

Pułapki wywieszono również w oddz. 132a, ale na wysokości 1,5-2 m.

Kontrolę wszystkich pułapek przeprowadzono 24 sierpnia i 14 września. W ostatnim terminie doświadczenie zakończono.

Doświadczenia w 2012 r.

W 2012 r. testowanie różnych kombinacji związków wabiących przeprowadzono przy użyciu pułapek IBL-5 pokrytych teflonem na terenie 4 leśnictw w 3 nadleśnictwach: Leśn. Warmiak, oddz. 20f (Nadl. Myszyniec, RDLP Olsztyn), Leśn. Łodziska, oddz. 190b i Leśn. Kruszewo, oddz. 350b (Nadl. Ostrołęka, RDLP Olsztyn) oraz Leśn. Kukułka, oddz. 135f i 135g (Nadl. Sieraków).

W Leśn. Warmiak, w drzewostanie sosnowym w wieku 48 lat na siedlisku Bśw (fot. 17) 19 czerwca wywieszono 30 pułapek z dyspenserami zawierającymi sam atraktant bazowy z feromonem (wariant kontrolny) lub z dołączoną jedną z pięciu testowanych substancji (ogółem 6 wariantów x 5 powtórzeń). Pułapki zawieszono przy pomocy tyczki teleskopowej na gałązkach sosnowych na wysokości ok. 6 m w pięciu rzędach (po 6 pułapek w 1 rzędzie, w układzie podobnym do kwadratu łańciskiego) w odległości ok. 20 m od siebie. Pułapki kontrolowano 4-krotnie: 5, 19 i 31 lipca oraz 27 sierpnia.



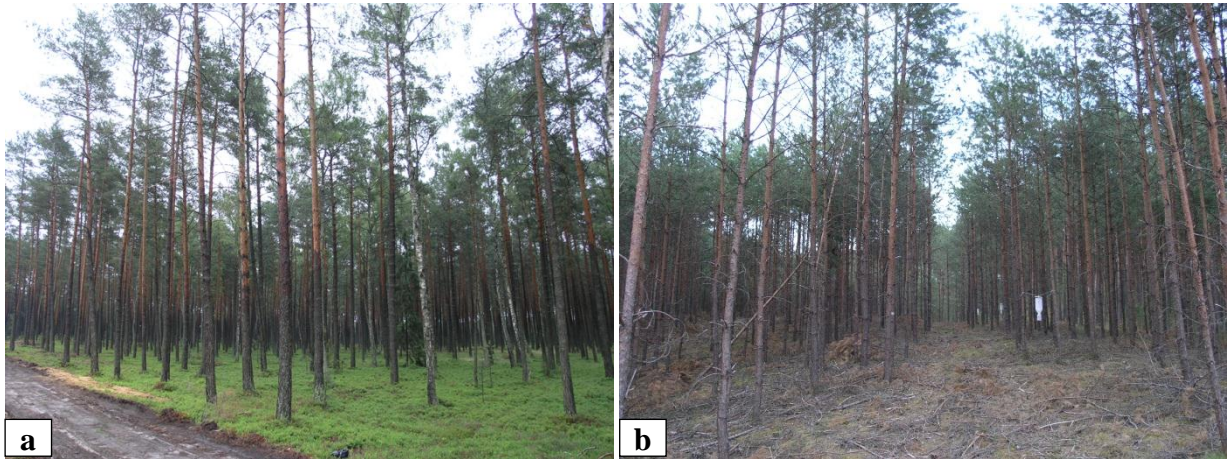
Fot. 17. Powierzchnia doświadczalna w Nadl. Myszyniec, Leśn. Warmiak

Testowanie różnych wariantów feromonów (zamienników oryginalnego feromonu) przeprowadzono w Leśn. Łodziska, a następnie w Leśn. Kukułka. W Leśn. Łodziska doświadczenie założono 20 czerwca w drzewostanie sosnowym w wieku 85 lat na siedlisku Bśw (fot. 18a). Wywieszono 30 pułapek (5 typów feromonów x 6 powtórzeń) w jednym rzędzie w układzie całkowicie losowym. Sposób i wysokość zawieszania pułapek były podobne jak w poprzednim doświadczeniu. Kontrolę pułapek przeprowadzono 3-krotnie: 5 i 19 lipca oraz 1 sierpnia. Ze względu na brak odłowów, podjęto decyzję o przeniesieniu doświadczenia na teren Puszczy Noteckiej, tzn. do Leśn. Kukułka. W dniu 2 sierpnia wywieszono 25 pułapek w dwóch drzewostanach w wieku ok. 30 lat na siedlisku Bśw (fot. 18b), znajdujących się w odległości ok. 100 m od siebie. W jednym z nich zlokalizowano 10 pułapek (5 wariantów x 2 powtórzenia) w 3 rzędach, a w drugim – 15 pułapek (5 wariantów x 3 powtórzenia) w 2 rzędach. Pułapki zawieszono między drzewami na wysokości 2 m w odległości ok. 20 m od siebie. Kontrolę pułapek przeprowadzono 23 sierpnia, a po uwzględnieniu wyników kontroli, w celu przetestowania najbardziej obiecujących kombinacji związków, wykorzystano 6 nowych kombinacji substancji zapachowych:

- 1) atraktant oryginalny (feromon-1 zakupiony w Hiszpanii),
- 2) dispenser bazowy + 2-undecyloksy-1-etanol (zsyntetyzowany przez ZD Chemipan) + nonanal,
- 3) dispenser bazowy + feromon-2 (zsyntetyzowany przez ZD Chemipan) + nonanal,
- 4) dispenser bazowy + feromon-4 (zsyntetyzowany przez ZD Chemipan) + nonanal,

- 5) dyspenser bazowy + nonanal + MBE,
- 6) dyspenser bazowy + 2-undecyloksy-1-etanol (zsyntetyzowany przez ZD Chemipan) + MBE.

Pułapki skontrolowano i zdjęto 29 września.



Fot. 18. Powierzchnia doświadczalna w Nadl. Ostrołęka, Leśn. Łodziska (a) i w Nadl. Sieraków, Leśn. Kukułka (b)

Doświadczenie dotyczące wpływu rozdzielania kompozycji wabiącej na dwa zestawy i umieszczenia ich na różnych wysokościach powierzchni łownej pułapki na efektywność odłowów żerdzianki sosnowki przeprowadzono w Leśn. Kruszewo. W tym celu 1 sierpnia wywieszono 15 pułapek w drzewostanie w wieku 73 lat na siedlisku Bśw – wykorzystano po 5 pułapek dla każdego z 3 wariantów dyspenserów: binarny produkcji hiszpańskiej, binarny produkcji ZD Chemipan i pojedynczy produkcji ZD Chemipan. Pułapki wywieszono w 3 rzędach, w odległości ok. 20 m od siebie, na gałęziach drzew na wysokości 4-6 m w układzie całkowicie losowym. Pułapki skontrolowano i zdjęto 28 sierpnia.

5.2.6. Analiza statystyczna

W doświadczeniach z różnymi mieszaninami związków bez udziału feromonów uzyskano niewielkie (z dużą liczbą wyników zerowych) odłowu żerdzianki sosnowki oraz dwóch gatunków przekrasków, w związku z czym statystyczna ocena wpływu rodzaju atraktanta na stopień wabienia wymienionych gatunków była niemożliwa. Wpływ rodzaju atraktanta na liczbę odłowionych imagines kłopotka czarnego określono w wykorzystaniem jednoczynnikowej analizy wariancji.

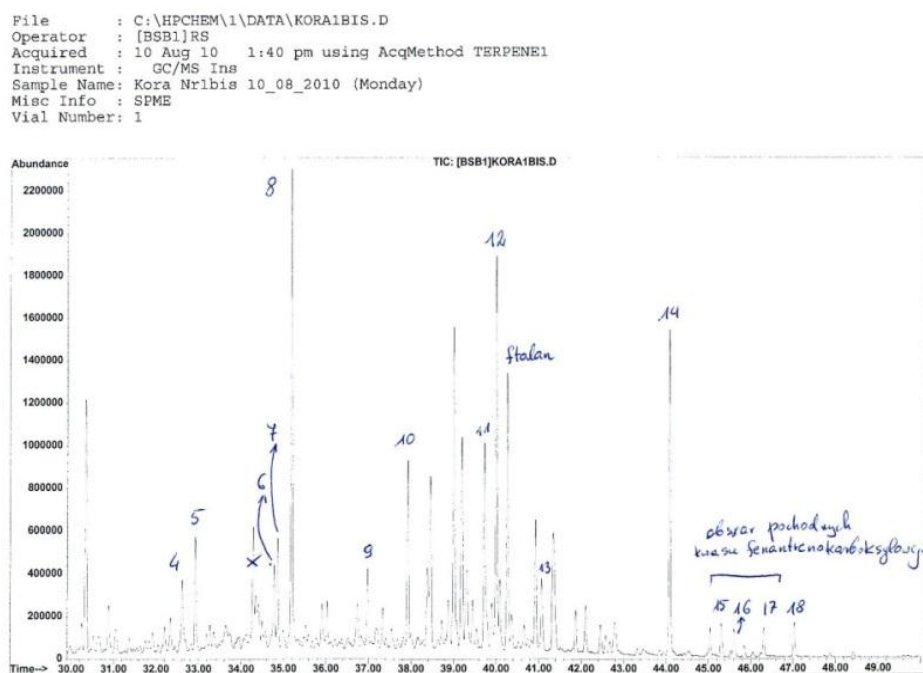
Wpływ typu feromonu na odłowu żerdzianki sosnowki oraz obu gatunków przekrasków określono za pomocą testu Kruskala-Wallisa. Do określenia różnic pomiędzy

poszczególnymi typami feromonów zastosowano test post-hoc wielokrotnych porównań średnich rang. Wpływ rodzaju feromonu na odłowy kłopotka czarnego określono za pomocą metod parametrycznych (spełnienie założeń o normalności rozkładu zmiennych i jednorodności wariancji). Wykorzystano do tego celu jednoczynnikową analizę wariancji. Do określenia różnic pomiędzy poszczególnymi typami feromonów wykorzystano test post-hoc Tukeya. Do obliczeń wykorzystano pakiet Statistica 8 (StatSoft, Inc.).

5.3. Wyniki

5.3.1. Związki chemiczne wydzielane przez sosnę zwyczajną

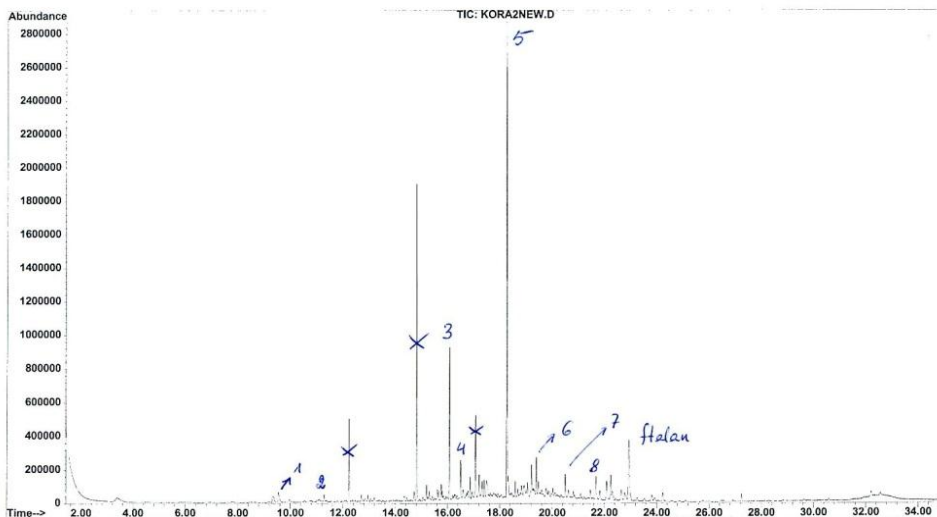
W pierwszym etapie badań, na podstawie porównania czasów retencji wykrytych pików z wzorcami, we wszystkich badanych przypadkach stwierdzono obecność – w nieco tylko różniących się proporcjach – następujących związków: α -pinenu, 3-karenu, α -terpinolenu, a w mniejszych ilościach: β -myrcenu, γ -terpinenu i p-cymenu obok różnych ilości innych, niezidentyfikowanych związków. Chromatogramy lotnych emisji z wybranych próbek kory przedstawiono na rycinach 8-13.



Ryc. 8. Chromatogram próbki nr 1 kory sosny pobranej w drzewostanie na terenie Nadl. Międzychód w 2010 r.

Symbole: 1 – toluen, 2 – undekan, 3 – longifolen, 4 – heksadekan, 5 – heksadekanal, 6 – acorenon, 7 – heptadekan, 8 – heptadekanal, 9 – oktadekan, 10 – pentadeka-2-on, 11 – rimuen, CAS [1686-67-5], 12 – entpimara-8(14),15-dien, CAS [1686-56-2], 13 – 1-metylideno-4- β -metylo-7-izopropyl-1,2,3,4,4a,9,10,10a- α -oktahydrofenantren, 14 – β -takson, 15 – sandarokopimaranian metylu, 16 – j.w., prawdopodobnie izomer, 17 – izopimeranian, 18 – kwas dehydroabietynowy

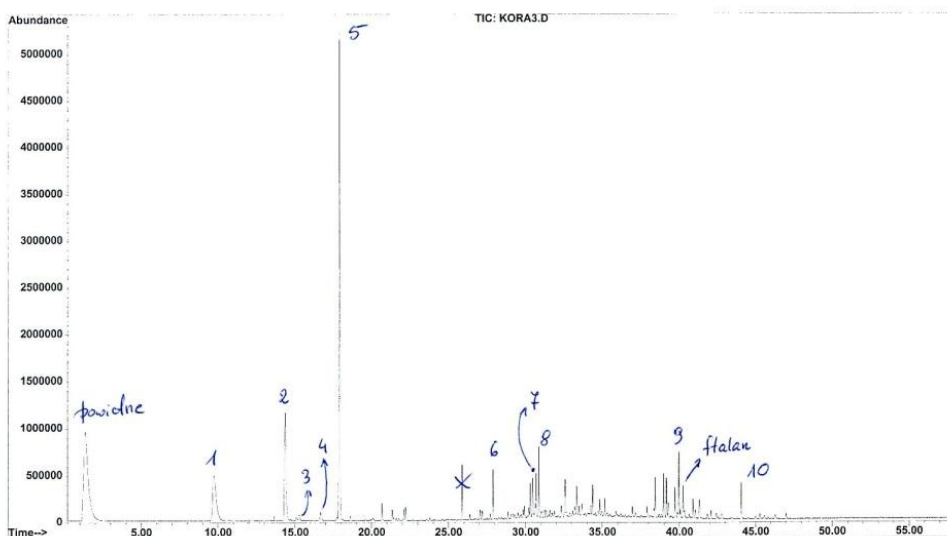
File : C:\HPCHEM\1\DATA\KORA2NEW.D
 Operator : RS
 Acquired : 30 Sep 10 1:40 pm using AcqMethod CHEMPAN
 Instrument : GC/MS Ins
 Sample Name : kora2 30_09_2010
 Misc Info : SPME
 Vial Number: 1



Ryc. 9. Chromatogram próbki nr 2 kory sosny pobranej w drzewostanie na terenie Nadl. Międzychód w 2010 r.

Symbole: 1 – 3-karen, 2 – undekan, 3 – juniperen/longifolen, 4 – guaia-3,7-dien, 5 – heksadekan, 6 – heptadekan, 7 – oktadekan, 8 – benz[a]antracen

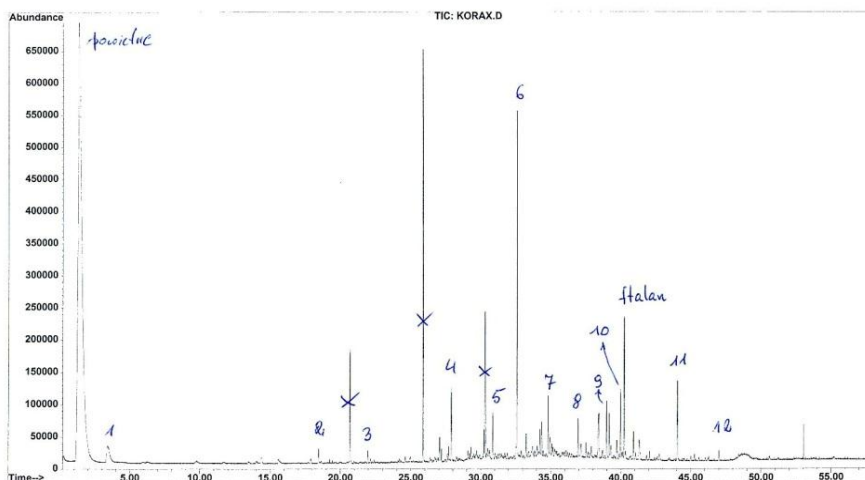
File : C:\HPCHEM\1\DATA\KORA3.D
 Operator : RS
 Acquired : 13 Sep 10 11:10 am using AcqMethod RAFAL
 Instrument : GC/MS Ins
 Sample Name : Kora3
 Misc Info : SPME; probka archiwizowana w lodowce 1 m-sc
 Vial Number: 1



Ryc. 10. Chromatogram próbki nr 3 kory sosny pobranej w drzewostanie na terenie Nadl. Międzychód w 2010 r.

Symbole: 1 – α -pinen, 2 – 3-karen, 3 – dl-limonen, 4 – γ -terpinen, 5 – α -terpinolen, 6 – longifolen, 7 – 3-metylobutanonian izobornylu, 8 – 1S-cis-kalamen, 9 – ent-pimara-8(14)15-dien, zob. ryc. 8, 10 - β -takson

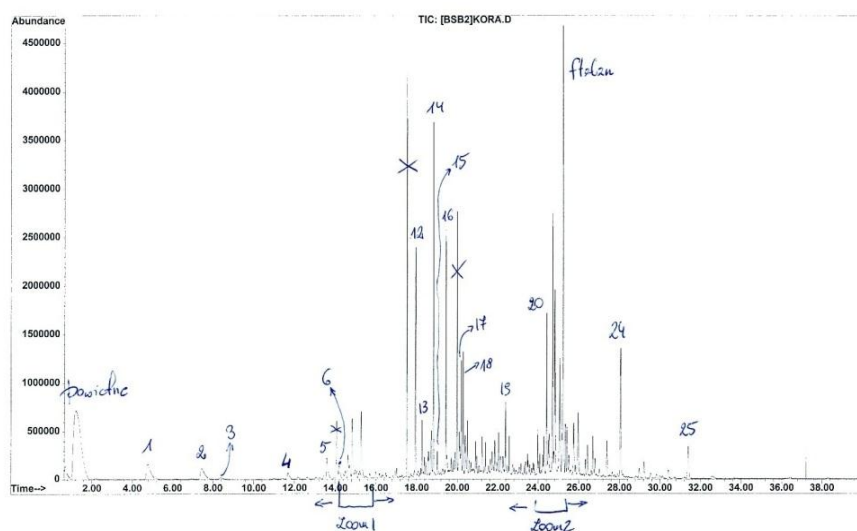
File : C:\HPCHEM\1\DATA\KORAX.D
 Operator : RS
 Acquired : 28 Sep 10 1:11 pm using AcqMethod TERPENE
 Instrument : GC/MS Ins
 Sample Name: Kora X - 28_09_2010 (TUESDAY)
 Misc Info : SPME
 Vial Number: 1



Ryc. 11. Chromatogram próbki nr 4 kory sosny pobranej w drzewostanie na terenie Nadl. Międzychód w 2010 r.

Symbole: 1 – toluen, 2 – undekan, 3 – dodekan, 4 – longifolen, 5 – cis-kalamen, 6 – heksadekan, 7 – heptadekan, 8 – oktadekan, 9 – nonadekan, 10 – ent-pimara-8(14),15-dien, 11 – β -takson, 12 – ester metylowy kwasu fenantrenokarboksylowego

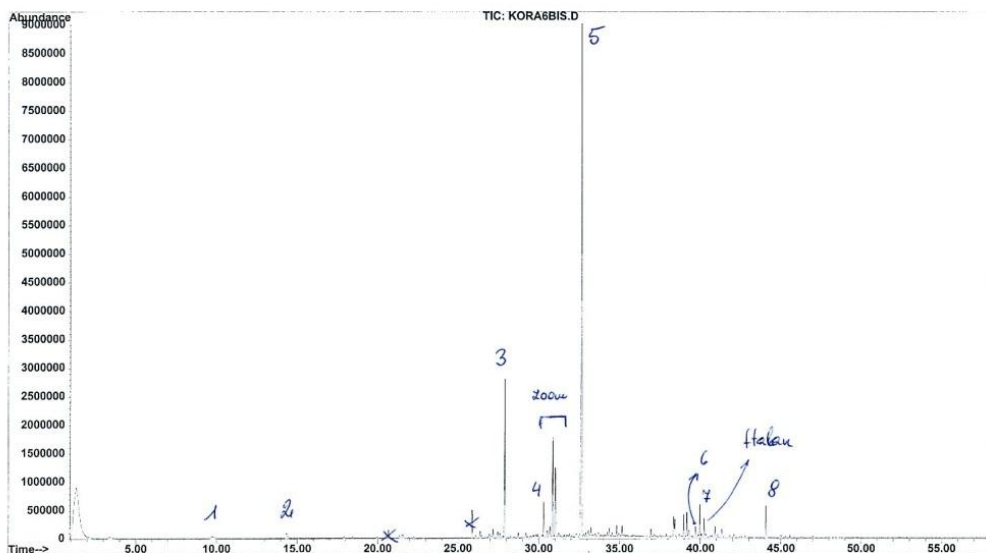
File : C:\HPCHEM\1\DATA\KORA.D
 Operator : [BSB2]RS
 Acquired : 30 Jul 10 12:59 pm using AcqMethod TERPENES
 Instrument : GC/MS Ins
 Sample Name: Kora-test sample
 Misc Info : SPME
 Vial Number: 1



Ryc. 12. Chromatogram próbki nr 5 kory sosny pobranej w drzewostanie na terenie Nadl. Międzychód w 2010 r.

Symbole: 1 – α -pinen, 2 – 3-karen, 3 – dl-limonen, 4 – p-cymen, 5 – kamfora, 6 – endo-borneol, 7A – cis-3-pinanon, 7B – 4-terpineol, 8 – p-cymen-8-ol, 9 – α -terpineol, 10 – werbenon, 11 – tridekan, 12 – longipinen, 13 – ester metylowy kwasu 4-metoksybenzoesowego, 14 – aromadendren, 15 – β -kariofilen, 16 – β -farnesen, 18 – γ -kadinen, 19 – heptadekan, 21 – rimuen, 22 – α -kauren, 23 – tlenek manoilu, 24 – β -takson, 25 – ester metylowy kwasu 1-fenantrenokarboksylowego

File : C:\HPCHEM\1\DATA\KORA6BIS.D
Operator : RS
Acquired : 21 Sep 10 2:14 pm using AcqMethod RAPAL
Instrument : GC/MS Ins
Sample Name : kora 6
Misc Info : SPME
Vial Number : 1

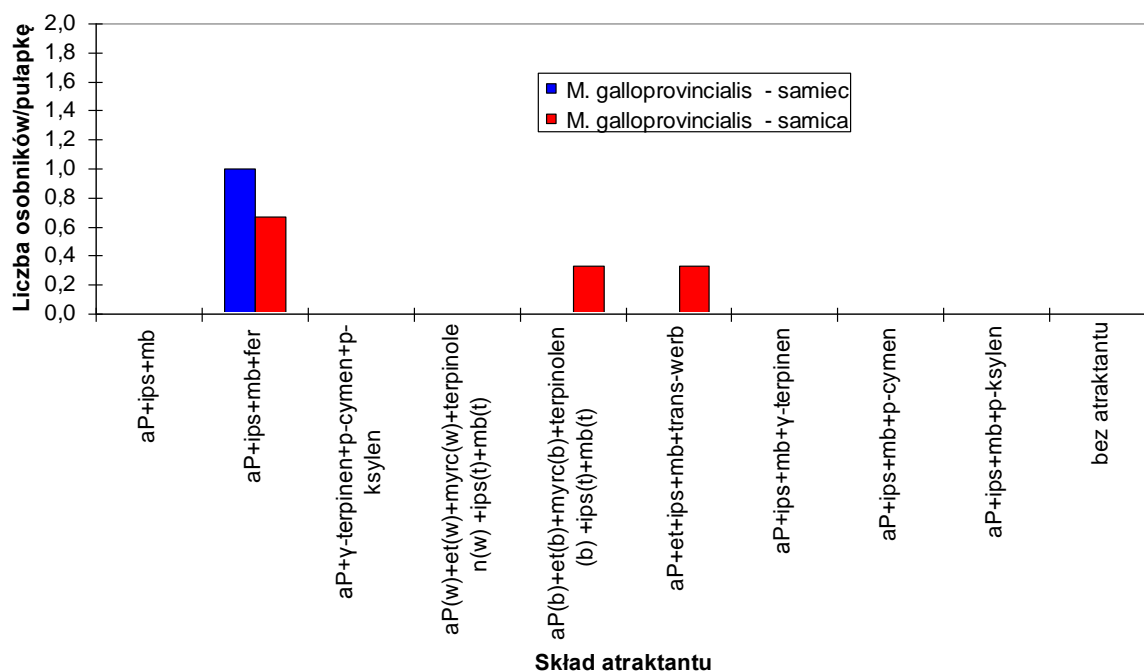


Ryc. 13. Chromatogram próbki nr 6 kory sosny pobranej w drzewostanie na terenie Nadl. Międzychód w 2010 r.

Symbole: 1 - α -pinen, 2 - 3-karen, 3 - longifolen, 4 - α -muurolen, 5 - heksadekan, 6 - rimuen, 7 - ent-pimara-8(14),15-dien, 8 - β -takson

5.3.2. Odłowy żerdzianki sosnowki i innych owadów do pułapek z różnymi kombinacjami związków chemicznych w 2010 r.

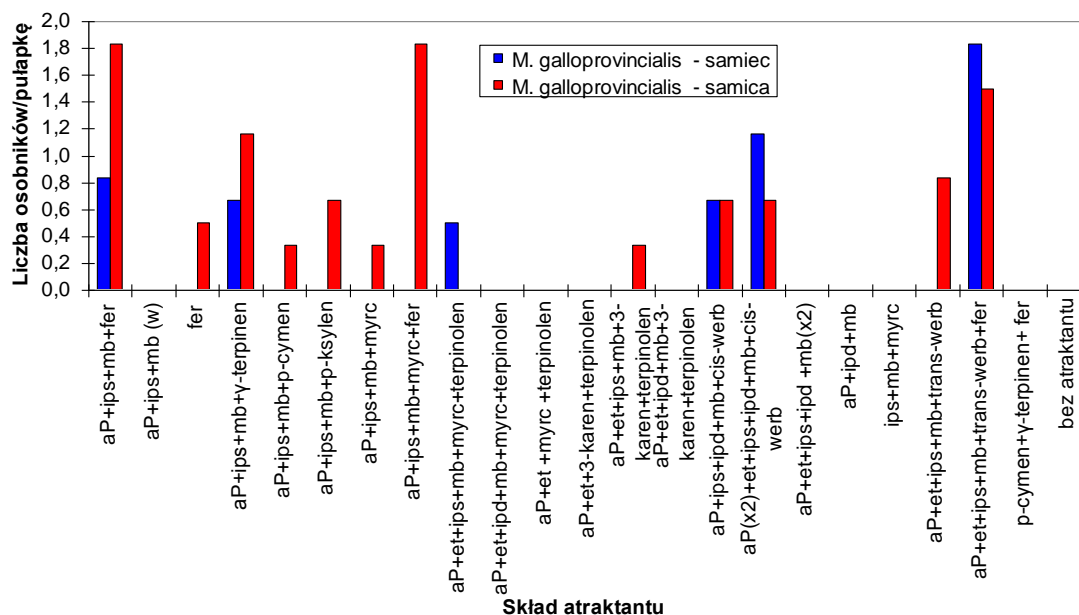
Na dwóch powierzchniach doświadczalnych w Puszczy Noteckiej w okresie od 24 czerwca do 12 lipca żaden z 7 atraktantów nie zwabił imagines żerdzianki sosnowki, oprócz jednego, zawierającego 7 związków chemicznych: α -pinen (x2), etanol, ipsenol, ipsdienol, metylobutenol, cis-werbenol. Do pułapki z tym atraktantem odłowić się średnio 1 samiec żerdzianki/pułapkę, a samic nie stwierdzono w ogóle. Natomiast na powierzchni doświadczalnej na terenie Nadl. Drewnica w okresie 29 czerwca - 19 lipca odłowić się maksymalnie 1 samiec i 0,7 samicy/pułapkę (ryc. 14). Obydwa te wyniki uzyskano w przypadku pułapki z atraktantem zawierającym α -pinen, ipsenol, metylobutenol i feromon żerdzianki. Średnio po 0,3 samicy/pułapkę odłowić się do pułapek z atraktantami zawierającymi etanol, myrcen i terpinolen lub etanol i trans-werbenol w dodatku do α -pinenu, ipsenolu, metylobutenolu.



Ryc. 14. Odłowcy samców i samic żerdzianki sosnowki do pułapek IBL-3 z różnymi atraktantami na terenie Nadl. Drewnica w okresie 29.06-19.07.2010 r.

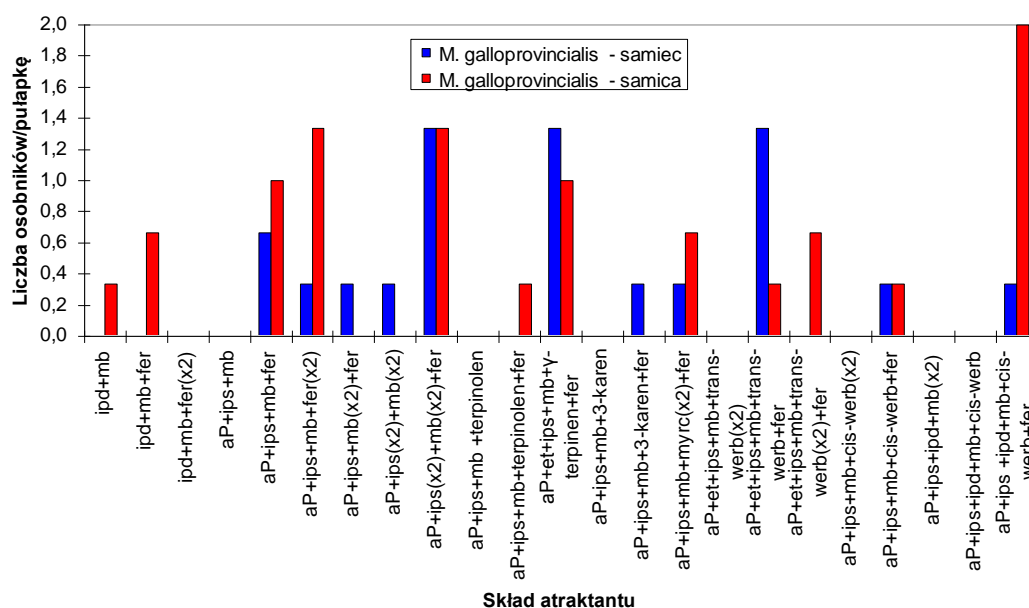
Symbole: aP – α -pinen, ips – ipsenol, mb – metylobutenol, et – etanol, fer – feromon, myrc – myrcen, trans-werb – trans-werbenol

Wyniki pierwszych testów posłużyły do wyboru mieszanin związków chemicznych do następnych badań. W okresie od 13 do 27 lipca przetestowano 22 rodzaje atraktantów, a wyniki odłowów porównano z kontrolą. Najbardziej efektywna okazała się kombinacja zawierająca: α -pinen, ipsenol, metylobutenol, etanol, trans-werbenol i feromon. Do pułapki z tym atraktantem odłowiono się 1,8 samca i 1,5 samicy w przeliczeniu na 1 pułapkę (ryc. 6.8). Liczby odłowionych imagines były wyższe od tych, uzyskanych w przypadku atraktanta o optymalnym składzie (Ibeas i in. 2007, Pajares i in. 2010), tzn. zawierającego α -pinen, ipsenol, metylobutenol i feromon. Dość wysokie odłowcy stwierdzono również w pułapkach z α -pinenem, ipsenolem, metylobutenolem i γ -terpinenem (średnio 0,7 samca i 1,2 samicy/pułapkę), a także w pułapkach z α -pinenem (x2), ipsenolem, metylobutenolem, etanolem, ipsdienolem i cis-werbenolem (średnio 1,2 samca i 0,7 samicy/pułapkę). Atraktant zawierający α -pinen, ipsenol, metylobutenol, myrcen i feromon był wysoce efektywny, ale wyłącznie względem samic żerdzianki (ryc. 15). Do pułapek z trójskładnikowym atraktantem zawierającym tylko α -pinen, ipsenol i metylobutenol nie odłowiono się żaden osobnik żerdzianki, a w pułapkach z samym feromonem stwierdzono 0,5 samicy/pułapkę. Pułapki bez atraktanta nie zwabiły żadnej żerdzianki.



Ryc. 15. Odłowy samców i samic żerdzianki sosnowki do pułapek IBL-3 z różnymi atraktantami na terenie Puszczy Noteckiej w okresie 12-27.07.2010 r. Symbole: ipd – ipsdienol, cis-werb – cis-werbenol, (w) – atraktant umieszczono w pojemniku dla odławianych owadów, pozostałe jak na ryc. 14

W kolejnym okresie (27 lipca-26 sierpnia) przetestowano 23 kombinacje związków chemicznych wykazujące największe właściwości wabiące w poprzednim teście. Najlepsze wyniki uzyskano w przypadku atraktanta zawierającego α -pinen, ipsenol (x2), metylobutenol (x2) i feromon (ryc. 16). Odłowy wyniosły średnio 2,6 imagines/pułapkę (1,3 samca i 1,3 samicy).



Ryc. 16. Odłowy samców i samic żerdzianki sosnowki do pułapek IBL-3 z różnymi atraktantami na terenie Puszczy Noteckiej w okresie 27.07-26.08.2010 r. (symbole jak na ryc. 14 i 15)

Nieco niższy wynik (2,3 osobnika/pułapkę) uzyskano w przypadku dwóch atraktantów. Jeden z nich zawierał α -pinen, ipsenol, metylobutenol, etanol, γ -terpinen i feromon, a drugi - α -pinen, ipsenol, metylobutenol, ipsdienol, cis-werbenol i feromon.

Wszystkie trzy wymienione składy były lepsze pod względem atrakcyjności od atraktanta optymalnego (Ibeas i in. 2007, Pajares i in. 2010), zawierającego α -pinen, ipsenol, metylobutenol i feromon, który zwabił średnio 1,7 osobnika/pułapkę (0,7 samca i 1 samicę). Podobny wynik, tzn. 1,7 osobnika/pułapkę, uzyskano w przypadku atraktanta o podobnym składzie, ale z podwójnym feromonem, a także atraktanta zawierającego: α -pinen, ipsenol, metylobutenol, etanol, trans-werbenol i feromon.

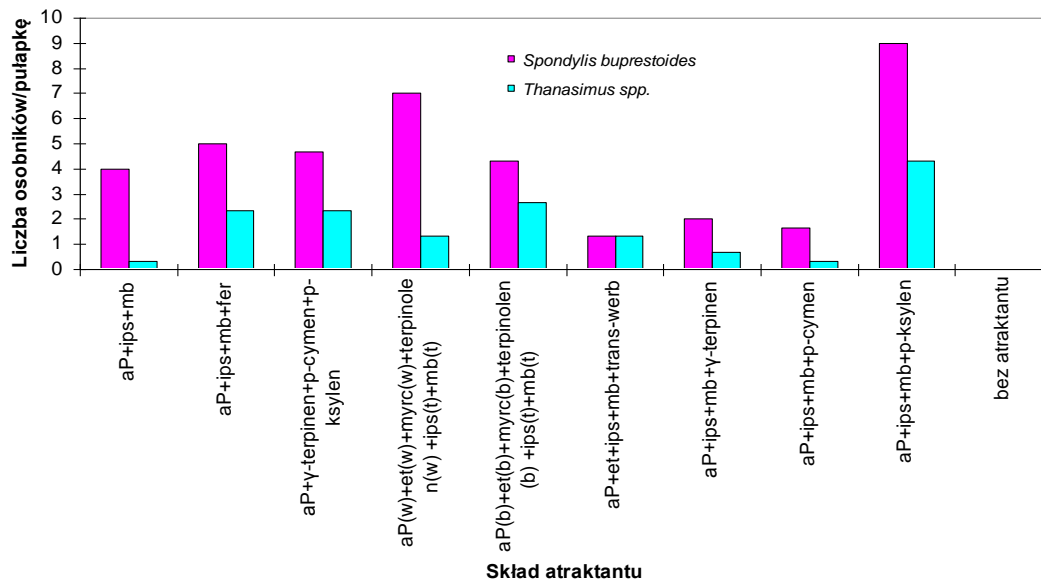
Generalnie odłowiony żerdzianek do pułapek z różnymi atraktantami były niskie – maksymalnie odłowiono 3,3 chrząszcza/pułapkę w ciągu dwóch tygodni. Jedną z głównych przyczyn może być niska efektywność zastosowanej pułapki IBL-3. W trakcie kontroli w wielu przypadkach obserwowano żerdzianki przebywające na powierzchni pułapek. Poza tym, na drzewach, na których zawieszono pułapki, widoczne były ślady obecności żerdzianek w postaci szczelin wygryzionych w korze przez samice (fot. 19), co sugeruje, że żerdzianki były zwabiane przez atraktant w sąsiedztwo pułapek, ale często nie były przez nie odławiane.



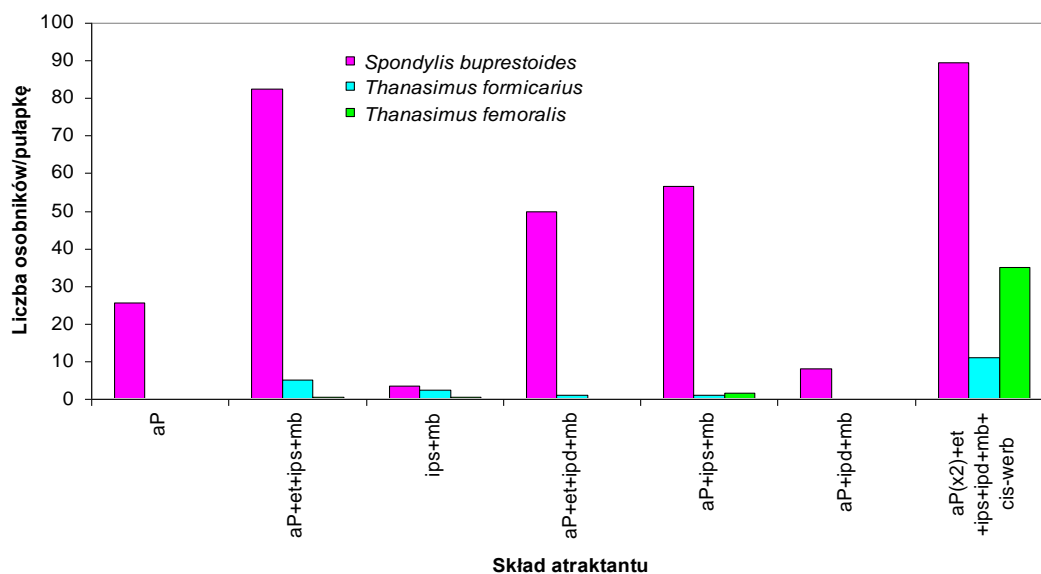
Fot. 19. Nacięcia na korze sosny wykonane przez samice żerdzianek w celu składania jaj

Wśród innych owadów odławianych do pułapek dominującymi gatunkami na wszystkich powierzchniach doświadczalnych były: kłopotek czarny *Spondylis buprestoides* i dwa gatunki przekrasków – *Thanasimus formicarius* i *T. femoralis*. Najmniejszą ich liczbę odłowiono na powierzchni w Nadl. Drewnica (od 1,3 do 9 osobników/pułapkę w przypadku kłopotka i od 0,3 do 4,3 osobnika/pułapkę w przypadku przekrasków) (ryc. 17). Na terenie Puszczy Noteckiej odłowiony tych owadów były znacznie wyższe. W okresie od 24 czerwca do

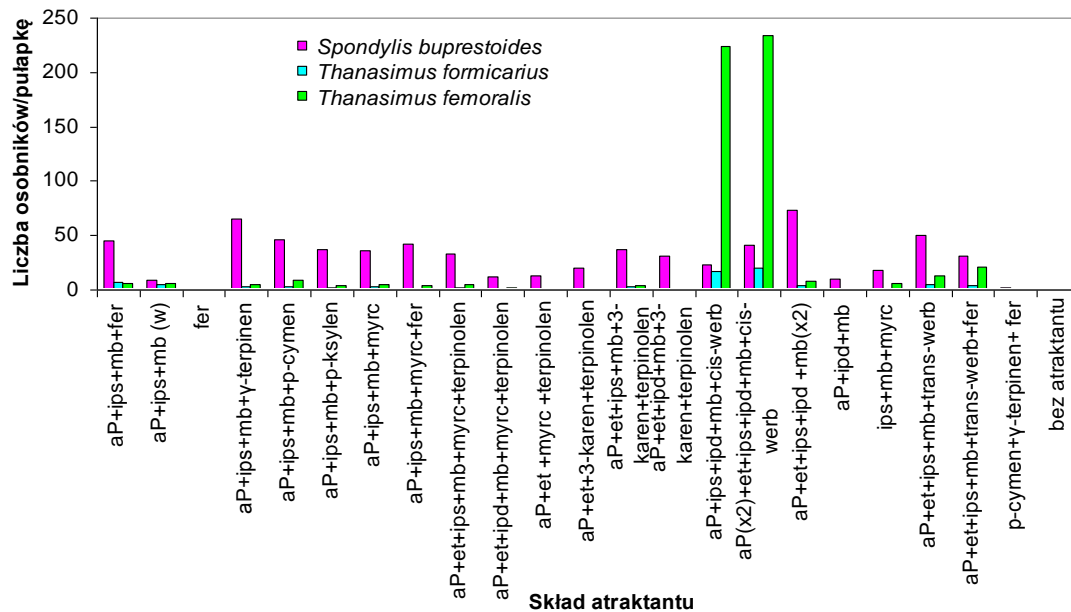
12 lipca liczba imagines kłopotka czarnego w pułapkach wahała się od 3,5 do 89,5 osobnika/pułapkę (ryc. 18). W kolejnych dwóch okresach, tzn. 12-27 lipca i 27 lipca-26 sierpnia, liczba ta wynosiła odpowiednio 1,0-73,2 osobnika/pułapkę (ryc. 19) i 0,7-21,7 osobnika/pułapkę (ryc. 20).



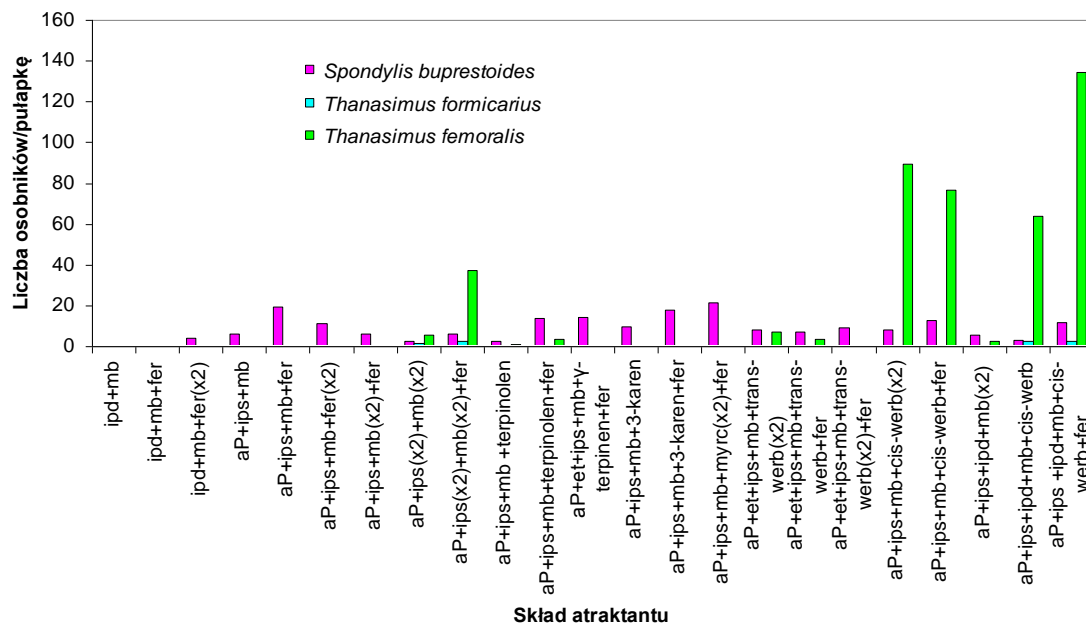
Ryc. 17. Odłowy imagines kłopotka czarnego *Spondylis buprestoides* i przekrasków *Thanasimus spp.* do pułapek IBL-3 z różnymi atraktantami na terenie Nadl. Drewnica w okresie 29.06-19.07.2010 r. Symbole jak na ryc. 14



Ryc. 18. Odłowy imagines kłopotka czarnego *Spondylis buprestoides* oraz przekrasków *Thanasimus formicarius* i *T. femoralis* do pułapek IBL-3 z różnymi atraktantami na terenie Puszczy Noteckiej w okresie 24.06-12.07.2010 r. Symbole jak na ryc. 14 i 15



Ryc. 19. Odłowy imagines kłopotka czarnego *Spondylis buprestoides* oraz przekrasków *Thanasimus formicarius* i *T. femoralis* do pułapek IBL-3 z różnymi atraktantami na terenie Puszczy Noteckiej w okresie 12-27.07.2010 r. Symbole jak na ryc. 14 i 15



Ryc. 20. Odłowy imagines kłopotka czarnego *Spondylis buprestoides* oraz przekrasków *Thanasimus formicarius* i *T. femoralis* do pułapek IBL-3 z różnymi atraktantami na terenie Puszczy Noteckiej w okresie 27.07-26.08.2010 r. Symbole jak na ryc. 14 i 15.

Analiza danych nie wykazała jakichkolwiek preferencji kłopotka czarnego co do składu testowanych kombinacji związków chemicznych, jednak wydaje się, że mniej osobników przylatuje do pułapek, w których nie ma α -pinenu i etanolu. W odróżnieniu od kłopotka czarnego, obydwie gatunki przekrasków *T. femoralis* i *T. formicarius* wyraźnie

reagowały na obecność cis-werbenolu w składzie testowanej mieszaniny związków (ryc. 18-20). Pierwszy z wymienionych gatunków był w pułapkach znacznie liczniejszy, co może wskazywać na liczniejsze jego występowanie w Puszczy Noteckiej lub na silniejszą reakcję względem cis-werbenolu. Maksymalnie odłowiono 233,7 osobnika *T. femoralis* i 20,3 osobnika *T. formicarius*.

Pozostałe owady odłowione do pułapek zostały zidentyfikowane do gatunku, rodzaju lub rodziny. Liczebność większości z nich nie przekroczyła 1 osobnika/pułapkę w poszczególnych okresach testowania różnych kombinacji związków chemicznych. Na terenie Nadl. Drewnica żaden nie przekroczył tego poziomu liczebności.

Na terenie Puszczy Noteckiej w okresie 24 czerwca-12 lipca zidentyfikowano 14 gatunków, rodzajów i rodzin owadów odłowionych do pułapek (tabela 3), wśród których najczęściej należało do rodzin *Elateridae* i *Nitidulidae* (średnio do 3 osobników/pułapkę), *Orthotomicus* sp. (do 2 osobników/pułapkę) i *Pityogenes quadridens* (do 1 osobnika/pułapkę).

W okresie od 12 do 27 lipca do pułapek odłowiły się, oprócz wymienionych już kłopotka i przekrasków, osobniki zaklasyfikowane do 47 jednostek systematycznych (tabela 3). Dominowały chrząszcze z rodziny *Lathrididae* (do 13 osobników/pułapkę). Mniej liczni (maksymalna średnia liczebność ≥ 1 osobnika/pułapkę) byli przedstawiciele: *Staphylinidae* (do 4,7 osobnika/pułapkę), *Ips typographus* (do 3,7 osobnika/pułapkę), *Scydmaenidae* i *Tenebrionidae* (do 2,2 osobnika/pułapkę), *Arhopalus rusticus* (do 1,8 osobnika/pułapkę), *I. sexdentatus* (do 1,5 osobnika/pułapkę), *Stictoleptura rubra* (do 1,3 osobnika/pułapkę) oraz *Orthotomicus* sp. i *Chrysobothris igniventris* (do 1 osobnika/pułapkę).

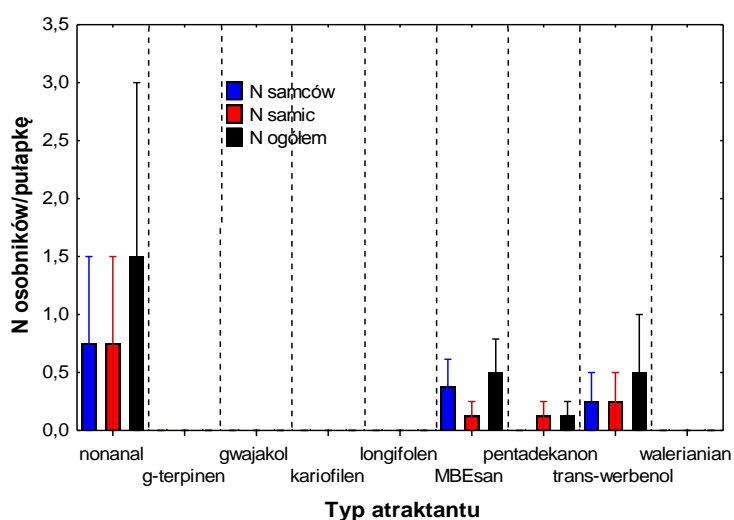
W okresie od 27 lipca do 26 sierpnia, podobnie jak i w poprzednim okresie, wśród owadów odłowionych do pułapek, poza kłopotkiem i przekraskami, dominowali przedstawiciele rodziny *Lathrididae* (do 4,3 osobnika/pułapkę). Pozostałe owady należały do 30 jednostek systematycznych (tabela 3). Maksymalną średnią liczebność ≥ 1 osobnika/pułapkę osiągnęły *I. typographus* i *I. sexdentatus* (po 1,3 osobnika/pułapkę) oraz owady z rodziny *Tenebrionidae* (1 osobnik/pułapkę).

Tabela 3. Maksymalna liczebność owadów (oprócz żerdzianki sosnowki, kłopotka czarnego i przekrasków) odłowionych do pułapek IBL-3 w doświadczeniach z różnymi atraktantami na żerdziankę sosnowkę przeprowadzonych na terenie Puszczy Noteckiej w trzech okresach czasowych

Rodzina, rodzaj lub gatunek owada	Liczba owadów / pułapkę odłowionych w okresie		
	24.06-12.07	12-27.07	27.07-26.08
Acanthocinus aedilis		0,3	
Acanthocinus griseus		0,3	
Anomala dubia	0,5		
Aphodius rufipes		0,3	0,3
Arhopalus rusticus		1,8	0,7
Buprestis octoguttata		0,5	
Byturidae		0,3	
Cantharidae	0,5		
Carabidae	0,5	0,3	0,3
Chrysobothris igniventris	0,5	1,0	0,3
Ciidae		0,5	
Cimberis sp.			0,3
Clambidae		0,3	0,3
Coccinellidae		0,3	
Cryptophagidae		0,5	
Crypturgus sp.		0,7	
Curculionidae	0,5	0,3	0,3
Dermestidae			0,3
Elateridae	3,0	0,5	0,3
Erotylidae		0,5	0,3
Histeridae		0,7	0,3
Hydrophilidae	0,5		
Hylastes sp.		0,3	0,7
Hyloicus pinastri			0,3
Ips amittinus		0,5	
Ips duplicatus		0,3	0,3
Ips sexdentatus	0,5	1,5	1,3
Ips typographus		3,7	1,3
Laemophloeidae		0,3	
Lathrididae		13,0	4,3
Leiodidae			0,7
Lymantria monacha			0,7
Magdalis sp.		0,3	
Melandryidae		0,3	0,3
Monotomidae		0,3	0,3
Mordellidae		0,5	
Nitidulidae	3,0	0,8	
Orthotomicus sp.	2,0	1,0	
Phaenops cyanea		0,5	
Phaenops sp.		0,5	
Pissodes piniphilus		0,7	0,3
Pityogenes bidentatus		0,5	0,3
Pityogenes chalcographus		0,5	
Pityogenes quadridens	1,0		0,3
Pityogenes sp.		0,3	0,7
Prionus coriarius		0,3	
Pselaphidae		0,5	
Rhizophagus sp.	0,5		
Scydmaenidae		2,2	0,7
Sirex noctilio		0,7	0,3
Staphylinidae		4,7	0,7
Stictoleptura rubra		1,3	0,3
Tenebrionidae	0,5	2,2	1,0
Troscidae		0,3	
Trypodendron lineatum		0,3	
Urocerus gigas		0,5	
Zopheridae		0,3	

5.3.3. Odłowy żerdzianki sosnówki i innych owadów do pułapek z różnymi typami atraktantów (bez feromonu płciowego) w 2011 i 2012 r.

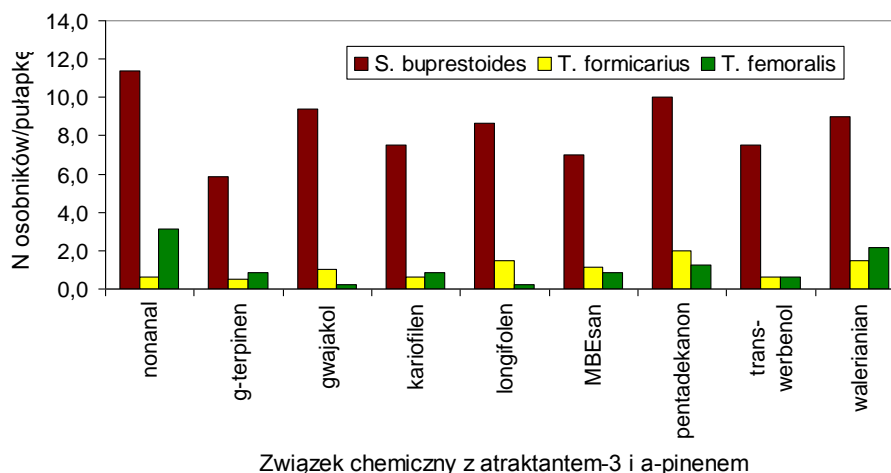
Ze względu na znikome odłowy imagines żerdzianki sosnówki do pułapek z wykorzystaniem różnych typów atraktantów, spowodowane niesprzyjającymi warunkami pogodowymi w lipcu i na początku sierpnia 2011 r., wykonanie analizy statystycznej uzyskanych wyników nie było możliwe. Na podstawie ryciny 21 można jednak stwierdzić, że istnieją pewne preferencje żerdzianki co do składu chemicznego atraktantów. Wśród 9 związków testowanych w połączeniu z atraktantem-3 i α -pinenem w okresie od 14.07 do 9.08.2011 r. największą atrakcyjnością charakteryzował się nonanal, metoksybenzoesan metylu, trans-werbenol i pentadekanon.



Ryc. 21. Średnie odłowy żerdzianki sosnówki (razem i każdej płci osobno) do pułapek feromonowych IBL-5 pokrytych teflonem z różnymi mieszaninami związków chemicznych w okresie 14.07-9.08.2011 r. w drzewostanach sosnowych w Nadl. Wronki (MBESan – metoksybenzoesan metylu)

W pozostałych doświadczeniach z różnymi związkami chemicznymi do pułapek odłowiono pojedyncze chrząszcze żerdzianki, na podstawie których trudno wyciągnąć jakiegokolwiek wnioski.

Liczby kłopotków odłowionych do pułapek z różnymi mieszaninami związków wahały się od 5,9 do 11,4 osobnika/pułapkę (ryc. 22) i różnice między odłowami nie były statystycznie istotne. Nie stwierdzono istotnych różnic także w odłowach przekrasków. Liczba chrząszczy *T. formicarius* w pułapkach wahała się od 0,5 do 2,0 osobnika/pułapkę, a chrząszczy *T. femoralis* – od 0,3 do 3,1 osobnika (ryc. 22).



Związek chemiczny z atraktantem-3 i a-pinenem

Ryc. 22. Średnie odłowy chrząszczy *Spondylis buprestoides*, *Thanasimus formicarius* i *T. femoralis* do pułapek feromonowych IBL-5 pokrytych teflonem z różnymi mieszaninami związków chemicznych w okresie 14.07-9.08.2011 r. w drzewostanach sosnowych w Nadl. Wronki (MBEsan – metoksybenzoesan metylu)

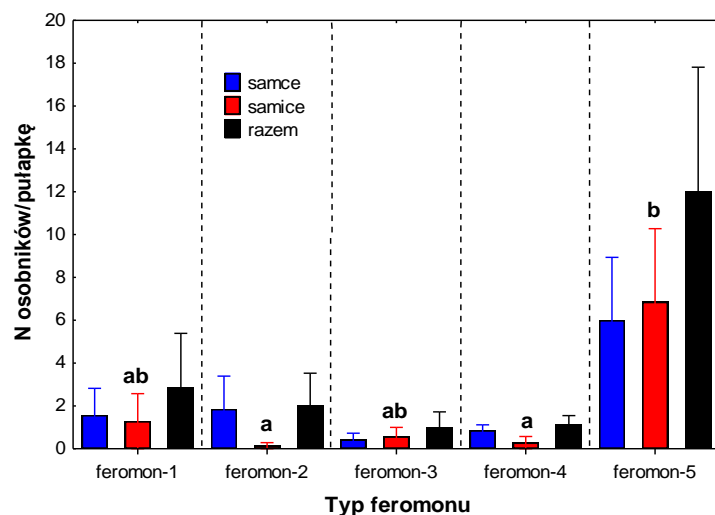
W 2012 r. w całym okresie badań w żadnej z 30 pułapek nie stwierdzono obecności żerdzianek, a spośród innych owadów pojedynczo odławiały się kłopotki.

5.3.4. Odłowy żerdzianki sosnówki i innych owadów do pułapek z różnymi typami feromonu płciowego w 2011 i 2012 r.

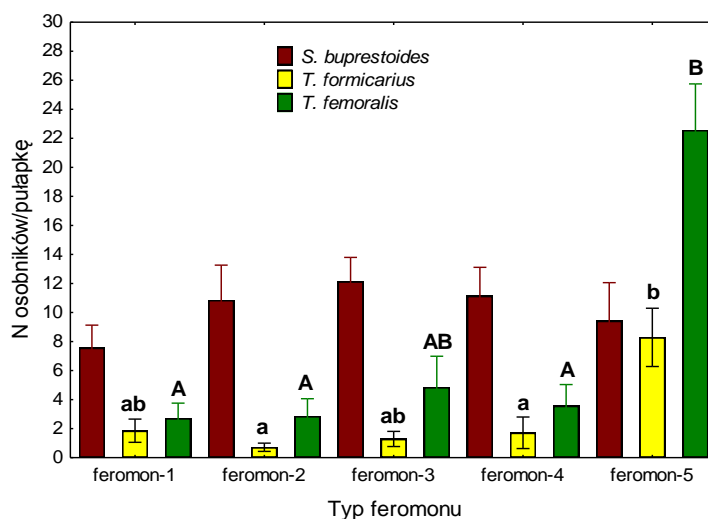
Spośród analizowanych 5 typów feromonów testowanych w 2011 r., największą atrakcyjność w stosunku do żerdzianki sosnówki stwierdzono w przypadku feromonu-5, który był oryginalnym atraktantem produkowanym w Hiszpanii. Różnice w odłowach chrząszczy były statystycznie istotne jedynie w przypadku samic ($H=17,00905$, $df=4$, $P=0,0019$) i zachodziły pomiędzy feromonami typu 2 i 5 oraz 4 i 5 (ryc. 23). Wśród pozostałych wariantów feromonów największą atrakcyjnością dla żerdzianek charakteryzowały się feromon-1 i feromon-2.

Nie wykazano istotnych różnic w odłowach kłopotka czarnego w zależności od typu testowanego feromonu. Zarówno w przypadku *T. formicarius*, jak i *T. femoralis*, stwierdzono różnice w odłowach z wykorzystaniem różnych typów feromonów żerdzianki ($H=14,42$, $df=4$, $P=0,0061$ i $H=16,48$, $df=4$, $P=0,0024$; odpowiednio dla obu gatunków). Różnice te w przypadku *T. formicarius* dotyczyły feromonu-2 i -5 oraz feromonu-4 i -5, a w przypadku *T. femoralis* – feromonu-1 i -5, -2 i -5 oraz -4 i -5 (ryc. 24).

W 2012 r. w żadnej z 30 pułapek wywieszonych w Leśn. Łodziska (Nadl. Ostrołęka) nie stwierdzono obecności żerdzianki sosnówki, a wśród innych gatunków sporadycznie odławiano pojedyncze chrząszcze kłopotków i przekrasków.

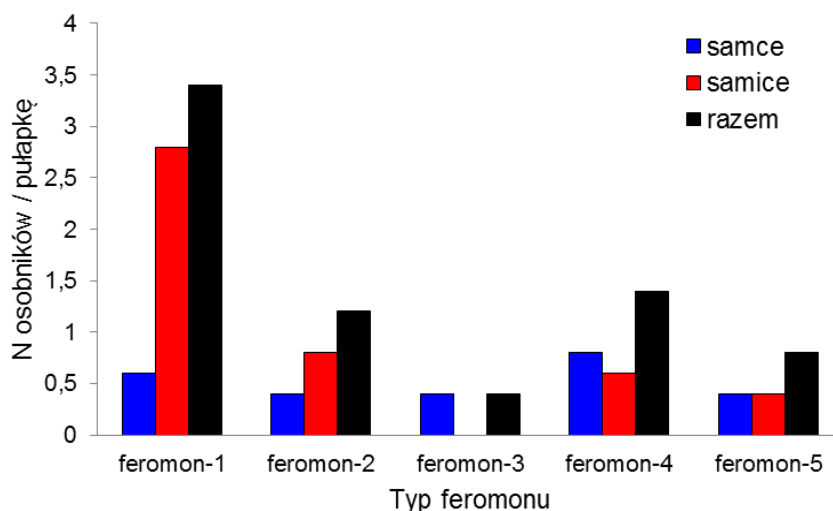


Ryc. 23. Średnie odłowy żerdzianki sosnowki (razem i każdej płci osobno) do pułapek feromonowych IBL-5 pokrytych teflonem z 5 typami feromonów płciowych w okresie 15.06-14.09.2011 r. w drzewostanach sosnowych w Nadl. Wronki



Ryc. 24. Średnie odłowy chrząszczy *Spondylis buprestoides*, *Thanasimus formicarius* i *T. femoralis* do pułapek feromonowych IBL-5 pokrytych teflonem z 5 typami feromonów płciowych w okresie 15.06-14.09.2011 r. w drzewostanach sosnowych w Nadl. Wronki

W doświadczeniu założonym na terenie Nadl. Sieraków odłowy do pułapek wahały się od 0 do 9 osobników/pułapkę. Najwięcej żerdzianek stwierdzono w pułapkach z oryginalnym hiszpańskim feromonem (feromon-1) – średnio 3,4 osobnika/pułapkę, w tym 0,6 samca i 2,8 samicy (ryc. 25). Ponad dwukrotnie mniej żerdzianek było w pułapkach z feromonem-2 (średnio 1,2 osobnika/pułapkę) i feromonem-4 (średnio 1,4 osobnika/pułapkę). Najmniejsze odłowy stwierdzono w pułapkach z feromonem-3 (0,4 osobnika/pułapkę).



Ryc. 25. Średnie odłowy żerdzianki sosnowki (razem i każdej płci osobno) do pułapek feromonowych IBL-5 pokrytych teflonem z 5 typami feromonów płciowych w okresie 2-23.08.2012 r. w drzewostanach sosnowych w Nadl. Sieraków

Przy analizie wyników zwrócono uwagę na stałość odłowów do poszczególnych pułapek w ramach każdego wariantu doświadczenia. W tym aspekcie najbardziej efektywnym był feromon-2 – w każdej z pięciu pułapek znaleziono co najmniej po jednym osobniku żerdzianki. W przypadku feromonu-1 i feromonu-4 chrząszcze stwierdzono w 3 z 5 pułapek, a w pozostałych przypadkach – w 2 z 5 pułapek.

Po zmianie układu doświadczenia w celu przetestowania najbardziej obiecujących kombinacji związków odłowy były bardzo małe (pojedyncze chrząszcze w pojedynczych pułapkach), prawdopodobnie ze względu na zakończenie rójki żerdzianki, więc nie jest możliwe porównanie ich działania.

5.3.5. Efektywność dyspenserów binarnych i pojedynczych

W doświadczeniu założonym z trzema typami dyspenserów, tzn. binarnego produkcji hiszpańskiej oraz pojedynczego i binarnego produkcji krajowej (Z.D. Chemipan), stwierdzono, że do pułapek z dyspenserami wyprodukowanymi w Polsce nie odłowiła się żadna żerdzianka, podczas gdy w pięciu pułapkach z dyspenserem zakupionym z Hiszpanii stwierdzono 12 osobników .

5.4. Dyskusja

Analizy chemiczne przeprowadzone przez ZD Chemipan wykazały w wulkach sosnowych pobranych z terenu Puszczy Noteckiej obecność wielu związków, wśród których dominowały: α -pinen, Δ -3-karen, β -myrcen, γ -terpinen, p-cymen i terpinolen. Badania z

wykorzystaniem elektroantenografu wykazały, że większość z nich wywołuje reakcję żerdzianki (Weißbecker i in. 2006). Na podstawie uzyskanych wyników oraz danych literaturowych do testów terenowych wybrano 26 związków, które badano w różnych kombinacjach.

Generalnie największe odłowy imagines żerdzianki sosnówki uzyskiwano w pułapkach z atraktantem uznanym za optymalny przez badaczy hiszpańskich (Pajares i in. 2010), w skład którego wchodziły: α -pinen, ipsenol, metylobutenol i feromon płciowy żerdzianki (2-undecyloksy-1-etanol). Dodanie γ -terpinenu, trans-werbenolu lub cis-werbenolu z ipsdienolem zazwyczaj nieco zwiększały wielkość odłowów, chociaż w przypadku cis-werbenolu wcześniej nie wykazano jego synergistycznego oddziaływania w połączeniu z pozostałymi związkami atraktanta (Francardi i in. 2009).

Należy zwrócić uwagę, że w Hiszpanii atraktant bez feromonu, tzn. zawierający tylko α -pinen, ipsenol i metylobutenol, również zwabiał do pułapek spore ilości żerdzianek (Ibeas i in. 2007), podczas gdy w Polsce nie jest on w ogóle atrakcyjny dla imagines tego gatunku. Może to oznaczać, że w Polsce żerdzianka sosnówka inaczej reaguje na bezferomonową mieszaninę substancji wabiących. W trakcie poszukiwania alternatywnej kombinacji związków stwierdzono, że oprócz wymienionych wyżej γ -terpinenu i trans-werbenolu, względnie duże odłowy uzyskano po dodaniu do podstawowego składu atraktanta nonanal, metoksybenzoesanu metylu lub pentadekanonu.

Wśród związków testowanych jako potencjalne zamienniki feromonu płciowego wykrytego przez Pajares'a i in. (2010) największą atrakcyjnością dla żerdzianki sosnówki charakteryzowały się: 2-oktyloksyetanol, 2-decyloksy-1-etanol i octan dodecyłu.

Zbyt małe odłowy żerdzianki, spowodowane chłodną i deszczową pogodą w lipcu i na początku sierpnia 2011 r., nie pozwoliły na jednoznaczne określenie optymalnego składu atraktanta. Można stwierdzić, że w jego składzie nie powinien być wykorzystywany cis-werbenol, ponieważ zwabia on do pułapek duże ilości przekrasków, głównie *Thanasimus femoralis*, które są pożytecznymi owadami drapieżnymi i należą do głównych wrogów korników. Pozostałe związki były względnie atrakcyjne dla kłopotka czarnego i obydwu gatunków przekrasków, ale odłowy tych owadów nie były tak wysokie, jak w przypadku cis-werbenolu.

6. Ocena efektywności różnych typów pułapek i ustalenie optymalnej wysokości ich zawieszenia

6.1. Metodyka

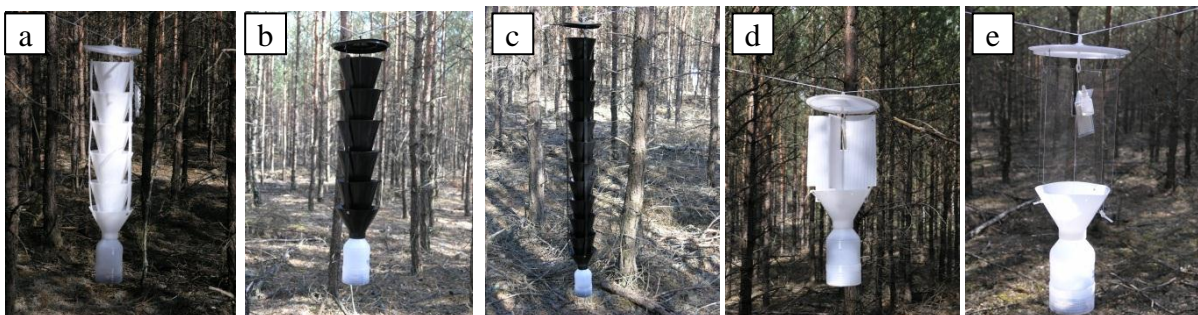
6.1.1. Poszukiwanie optymalnego typu pułapek do odłowu imagines żerdzianki sosnówki

Doświadczenia w 2011 r.

Celem przeprowadzonych badań była optymalizacja pułapki do odłowu żerdzianki sosnówki, tzn. znalezienie takiej pułapki, która z jednej strony byłaby skuteczna w odławianiu imagines, a z drugiej odławiałaby minimalne ilości innych gatunków owadów, zwłaszcza przekrasków (*Thanasimus* sp.), będących pożytecznymi owadami drapieżnymi, oraz kłopotka czarnego (*Spondylis buprestoides*).

Na zamówienie Instytutu Badawczego Leśnictwa ZD Chemipan przygotował i przekazał do doświadczeń 56 pułapek 7 typów:

- 1) lejkowa, 6-segmentowa, biała (IBL-3, biała) (fot. 20a),
- 2) lejkowa, 6-segmentowa, biała, z częścią chwytną powleczoną polietrafluoroetylenem, tzw. teflonem (60% emulsja w wodzie) (IBL-3, biała_teflon),
- 3) lejkowa, 6-segmentowa, czarna (IBL-3, czarna) (fot. 20b),
- 4) lejkowa, 12-segmentowa, czarna (fot. 20c),
- 5) barierowa, biała (IBL-5, biała) (fot. 20d),
- 6) barierowa, biała, z częścią chwytną powleczoną teflonem (IBL-5, biała_teflon),
- 7) barierowa z przezroczystą częścią chwytną wykonaną z tworzywa poliwęglanowego (IBL-5, przezroczysta) (fot. 20e).



Fot. 20. Testowane typy pułapek: a) lejkowa, 6-segmentowa, biała (IBL-3), b) lejkowa, 6-segmentowa, czarna, c) lejkowa, 12-segmentowa, czarna, d) barierowa, biała (IBL-5), e) barierowa z przezroczystą częścią chwytną wykonaną z tworzywa poliwęglanowego

Każdy typ pułapki był testowany w 8 powtórzeniach. Do każdej pułapki dołączono dispenser nasączony mieszaniną związków („atraktant-1”) o składzie: etanol, 2-metylo-6-

metyleno-7-okten-4-ol („iposenol”), 2,6-di-*tert*-butylo-4-metylofenol (BHT), 2-metylo-3-buten-2-ol („metylobutenol”) i feromon płciowy żerdzianki, oraz doczepiono dyspenser z α -pinenem. Pierwszy typ dyspensera (torebkowy) miał postać nasyconej substancjami aktywnymi inertej kształtki celulozowej, z której substancje dyfundują przez torebkę z folii polietylenowej o grubości 0,04 mm. Wielkość torebki została tak dobrana, że sumaryczna szybkość uwalniania wynosiła około 30 mg na dobę, co przy 2 ml roztworu kompozycji zapewniało działanie przez 2 miesiące. Skład kompozycji uzupełniony został o inhibitor polimeryzacji iposenolu – 2,6-di-*tert*-butylo-4-metylofenol (BHT). Drugim testowanym typem dyspensera był polietylenowy pojemnik o pojemności 10 ml zamknięty kapilarą o średnicy 0,2 mm, zawierający 4 ml α -pinenu (handlowy dyspenser „ α -pinen PLUS”, ZD Chemipan). W normalnych warunkach dyspenser uwalniał około 30 mg α -pinenu na dobę. W dyspenserach stosowano substancje o czystości odczynnikowej 98% firmy Aldrich, poza iposenolem otrzymanym z firmy Bedoukian.

Doświadczenie założono 15 czerwca 2011 r. na terenie Nadl. Wronki, Leśn. Gogolice. Połowę pułapek z atraktantem-1 (każdy typ pułapki w 4 powtórzeniach) wywieszono w drzewostanie sosnowym w oddz. 57c (powierzchnia 1, opis drzewostanu w Rozdziale 5), a drugą połowę – w oddz. 132a (powierzchni 2, opis drzewostanu w Rozdziale 5). Obydwa drzewostany charakteryzowały się obecnością materiału drzewnego pozostawionego po wykonanej trzebieży wczesnej. Pułapki zawieszono w odstępach co ok. 20 m, między drzewami, na wysokości ok. 1,5-2,0 m. Pułapki skontrolowano dwukrotnie: 4 i 14 lipca.

Doświadczenia w 2012 r.

W 2012 r. powtórzono doświadczenie z typami pułapek przeprowadzone w roku poprzednim z tą różnicą, że zamiast barierowej pułapki z przezroczystą częścią chwytaną wykonaną z tworzywa poliwęglanowego wykorzystano pułapkę trójkątną IBL-2, a jako atraktant wykorzystano oryginalny atraktant produkcji hiszpańskiej, zamiast jego krajowej kopii (atraktant-1 w 2011 r.) wyprodukowanej przez ZD Chemipan.

Przygotowano 70 zestawów pułapek z atraktantem, z których połowę wywieszono 19-20 czerwca w drzewostanie sosnowym (9So1Brz) w wieku 37 lat na siedlisku Bs (fot. 21) w oddz. 312d Leśn. Majdan (Nadl. Parciaki), a drugą połowę – w drzewostanie sosnowym (10So) w wieku 85 lat na siedlisku Bśw (fot. 18a) w oddz. 190b Leśn. Łodziska (Nadl. Ostrołęka). W pierwszym przypadku pułapki zawieszono między drzewami na wysokości ok. 2 m, a w drugim – na gałęziach sosny na wysokości ok. 6 m. W obydwu drzewostanach pułapki zawieszono w dwóch rzędach, w odległości ok. 20 m między rzędami i między

pułapkami. Pułapki kontrolowano 4-krotnie: 5 i 18-19 lipca, 31 lipca-1 sierpnia oraz 27 sierpnia.



Fot. 21. Powierzchnia doświadczalna w Nadl. Parciaki, Leśn. Majdan

6.1.2. Ocena wpływu wysokości zawieszenia pułapek na odłowy imagines żerdzianki sosnowki

Doświadczenia w 2011 r.

Doświadczenie dotyczące określenia optymalnej wysokości zawieszenia pułapek założono 21 lipca na terenie Nadl. Wronki (Leśn. Gogolice) w dwóch drzewostanach: „młodym” – drzewostanie w wieku 30 lat w oddz. 132a, i „starym” – w wieku 80 lat w oddz. 133a na siedlisku Bśw.

Do badań wykorzystano pułapki IBL-5 z częścią chwytą (krzyżakiem) powleczoną teflonem, do których dołączono atraktant-1+ α -pinen, i zainstalowano je w tych drzewostanach w jednym rzędzie na trzech różnych wysokościach:

- 1) w koronie drzewa,
- 2) na wysokości ok. 5 m,
- 3) na wysokości ok. 2 m.

W przypadku drzewostanu „młodego” pułapki zawieszono na wysokości 4-5 m również znajdowały się także w koronach drzew, ale w dolnej ich części.

Każdy wariant w każdym drzewostanie powtórzono 10-krotnie, a układ doświadczalny był całkowicie losowy. Kontrole pułapek przeprowadzono 28 lipca, 9 i 24 sierpnia oraz 14 września.

Doświadczenia w 2012 r.

W 2012 r. doświadczenie założono w drzewostanie sosnowym w wieku 85 lat w oddz. 190b, Leśn. Łodziska (Nadl. Ostrołęka) (fot. 22). Układ doświadczalny był bardzo podobny do układu z roku poprzedniego, z tą tylko różnicą, że jako atraktant wykorzystano oryginalny atraktant produkcji hiszpańskiej, zamiast jego kopii (atraktant-1) wyprodukowanej przez ZD Chemipan. Pułapki wywieszono 20 czerwca i kontrolowano 4-krotnie: 5 i 19 lipca oraz 1 i 27 sierpnia.



Fot. 22. Powierzchnia doświadczalna w Nadl. Ostrołęka, Leśn. Łodziska

6.1.3. Analiza statystyczna

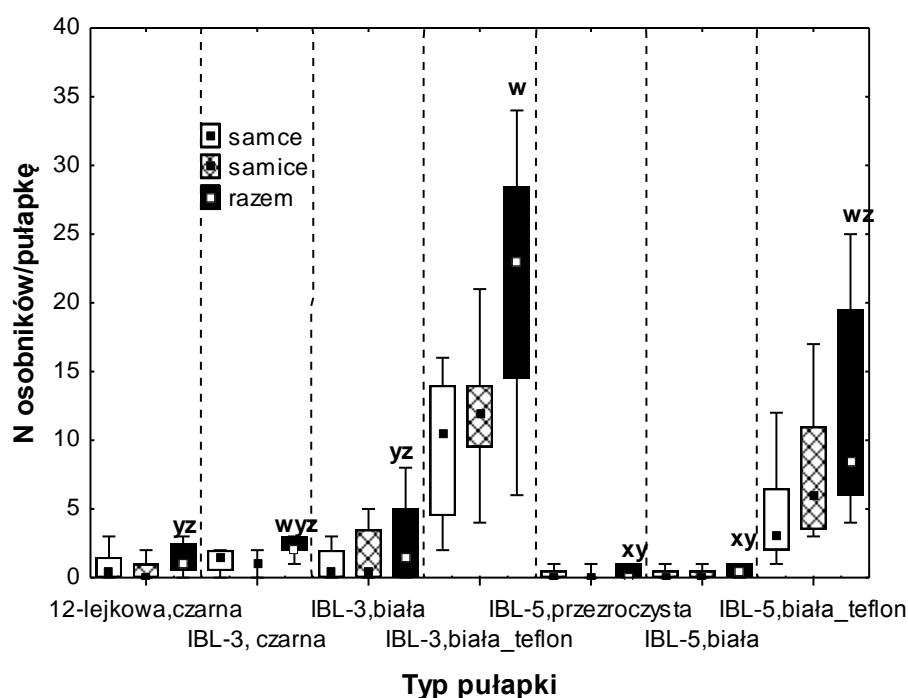
Wpływ typu pułapki na odłowienie żerdzianki sosnowki oraz wybranych gatunków owadów towarzyszących określono za pomocą testu Kruskala-Wallisa – nieparametrycznego odpowiednika jednoczynnikowej analizy wariancji. Zastosowanie metod parametrycznych okazało się niemożliwe z uwagi na brak normalności rozkładów liczebności odłowionych owadów i/lub braku spełnienia założenia o jednorodności wariancji. Do określenia różnic pomiędzy poszczególnymi typami pułapek zastosowano test wielokrotnych porównań średnich rang. Do obliczeń wykorzystano pakiet Statistica 8 (StatSoft, Inc.).

6.2. Wyniki

6.2.1. Efektywność różnych typów pułapek

Doświadczenia w 2011 r.

Pomiędzy efektywnością 7 badanych typów pułapek do odłowu żerdzianki sosnowki stwierdzono występowanie istotnych różnic ($H=40,37$, $df=6$, $P<0,0000$, $N=56$ – dla wszystkich odłowionych osobników; ryc. 26). Istotne różnice w liczbach odłowionych osobników wykazano także w przypadku każdej płci osobno: dla samców ($H=33,70$, $df=6$, $P<0,0000$) i samic ($H=39,47$, $df=6$, $P<0,0000$).



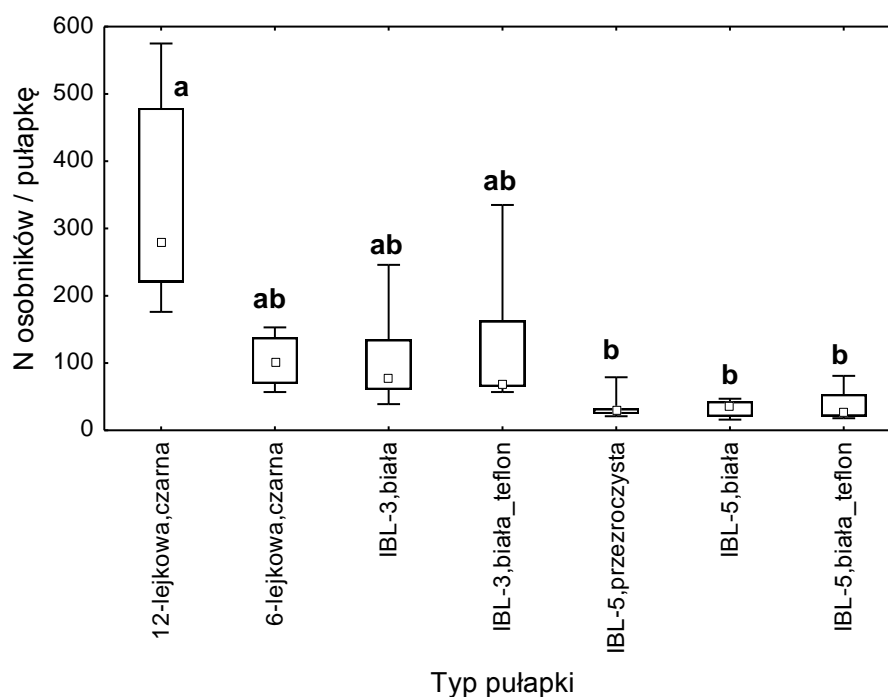
Ryc. 26. Odłow (mediana, percentyle 25-75%, min-maks) żerdzianki sosnowki obu płci i każdej osobno do pułapek feromonowych różnych typów z atraktantem-1 w okresie od 15.06 do 14.07.2011 r. w Nadl. Wronki

Największą łownością – zarówno w odniesieniu do samców, jak i samic – charakteryzowała się biała pułapka lejkowa (IBL-3), składająca się z 6 segmentów, w której powierzchnię elementów chwytnych pokryto teflonem. Do pułapek tego typu w okresie od 15 czerwca do 14 lipca 2011 r. odłowiono średnio $21,5 \pm 9,3$ (\pm odch. std.) żerdzianki, w tym $9,5 \pm 5,4$ samca i $12,0 \pm 5,0$ samicy. Liczba żerdzianek w tej pułapce istotnie się różniła od odłowów w 4 typach pułapek: 12-lejkowa czarna, IBL-3 biała, IBL-5 przezroczysta i IBL-5 biała (ryc. 26). Na drugim miejscu, pod względem liczby odłowionych chrząszczy, znajdowała się biała pułapka barierowa (IBL-5), pokryta teflonem (ryc. 26). Do tych pułapek odłowiono średnio $12,1 \pm 8,2$ żerdzianki, w tym $4,5 \pm 3,7$ samca i $7,6 \pm 5,1$ samicy. Pozostałe pułapki cechowały się niską łownością.

Na uwagę zasługują wyraźne różnice statystyczne pomiędzy pułapkami tego samego typu, różniącymi się jedynie pod względem użycia teflonu jako substancji zwiększającej śliskość powierzchni (ryc. 26). Zarówno pułapka typu IBL-3, jak i pułapka IBL-5, pokryte teflonem odławiały kilkakrotnie więcej osobników żerdzianki (obu płci) w porównaniu z wariantami tych pułapek bez teflonu ($P=0,0236$ i $P=0,0024$, odpowiednio dla pułapek IBL-3 i IBL-5).

Rozpatrując liczebność ważniejszych gatunków towarzyszących żerdziance sosnowce, statystycznie istotne różnice pomiędzy odłowami do różnych typów pułapek wystąpiły w przypadku kłopotka czarnego ($H=18,77$, $df=6$, $P=0,0046$). Największą łowność tego gatunku stwierdzono w przypadku czarnej pułapki 12-elementowej i była ona istotnie wyższa niż we wszystkich wariantach pułapki IBL-5 (ryc. 27).

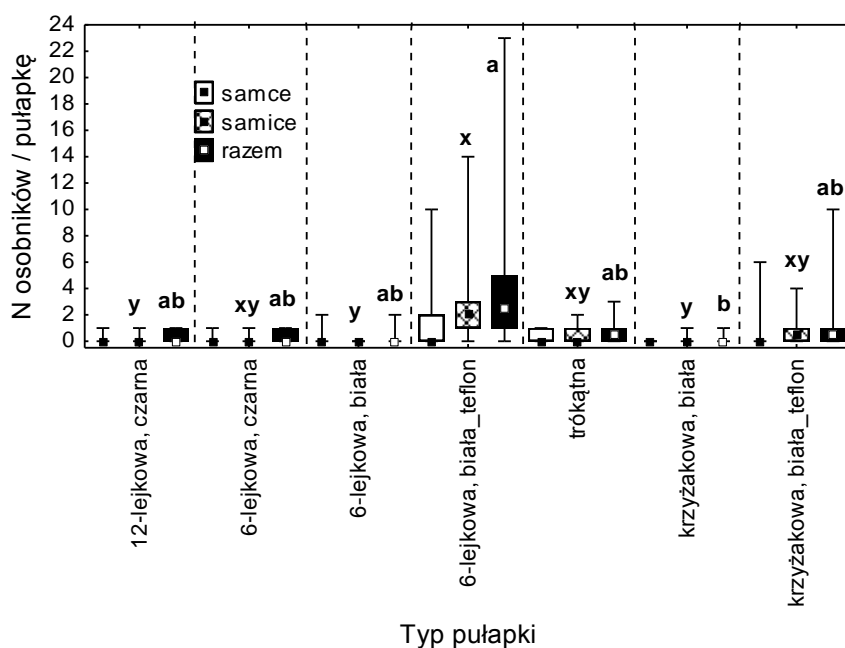
W przypadku obydwu gatunków przekrasków, tzn. *Thanasimus formicarius* i *Th. femoralis*, liczby chrząszczy odłowionych do pułapek różnych typów nie różniły się istotnie i wahały się w granicach odpowiednio 2-38 i 1-28 osobnika/pułapkę. Zależność odłowów od typu pułapki była podobna jak u żerdzianki. Najwięcej chrząszczy stwierdzono w pułapkach: IBL-3 białej i IBL-5 pokrytych teflonem oraz 6-lejkowej czarnej.



Ryc. 27. Odłowy (mediana, percentyle 25-75%, min-maks) *Spondylis buprestoides* do pułapek feromonowych różnych typów z atraktantem-1 w okresie od 15.06 do 14.07.2011 r. w Nadl. Wronki

Doświadczenia w 2012 r.

Odlowy żerdzianek do różnych typów pułapek w 2012 r. były ogólnie niskie. Liczby żerdzianek obu płci odłowionych do pułapek różnych typów różniły się istotnie ($H=18,49$ $df=6$ $N=70$ $P=0,0051$). Najbardziej efektywną była 6-lejkowa biała pułapka pokryta teflonem, a najmniej efektywną – pułapka krzyżakowa biała, i właśnie między tymi typami pułapek różnice w odłowach osobników były istotne (ryc. 28).



Ryc. 28. Odlowy (mediana, percentyle 25-75%, min-maks) żerdzianki sosnowki obu płci i każdej osobno do pułapek feromonowych różnych typów z hiszpańskim atraktantem w okresie od 20.06 do 27.08.2012 r. w Nadl. Parciaki i Ostrołęka

Analizując odlowy osobników każdej płci osobno można stwierdzić brak istotnego wpływu typu pułapki w przypadku odłowów samców, podczas gdy odlowy samic różniły się istotnie ($H=26,45$ $df=6$ $N=70$ $P=0,0002$). Najwięcej samic odłowiło się do 6-lejkowej białej pułapki pokrytej teflonem i odlowy te różniły się od odłowów do pułapek: 12-lejkowej czarnej, 6-lejkowej białej i krzyżakowej białej (ryc. 28).

Oprócz żerdzianek w pułapkach znajdowano głównie chrząszcze kłopotka czarnego, przekrasków i sprężyków (Elateridae), jednak ich średnia liczba nie przekraczała 5 osobników/pułapkę sumarycznie w całym okresie badań.

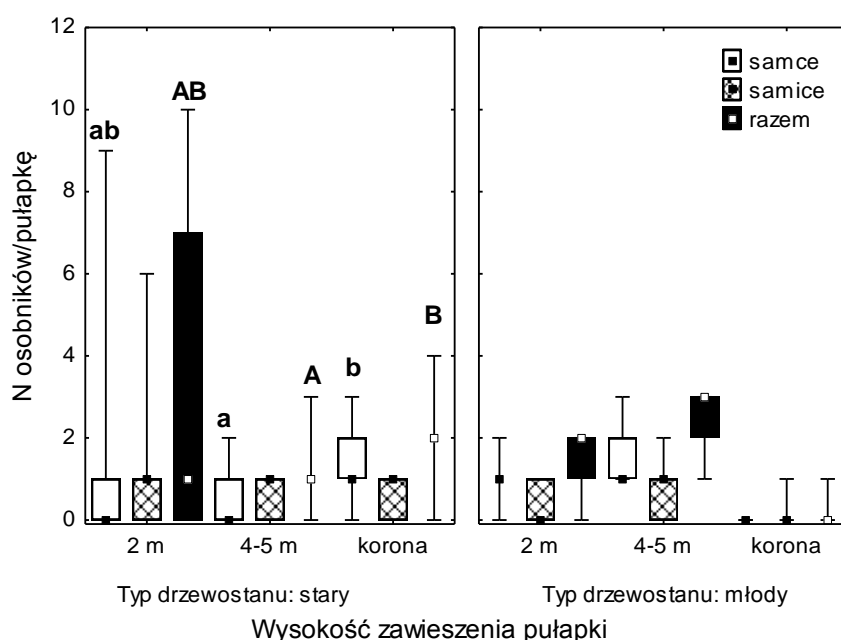
6.2.2. Odlowy żerdzianek do pułapek wywieszonych na różnych wysokościach

Doświadczenia w 2011 r.

W doświadczeniu dotyczącym oceny wpływu wysokości zawieszenia pułapek na odlowy żerdzianek stwierdzono, że były one zróżnicowane w zależności od wieku

drzewostanów. W starszym drzewostanie (80 lat) odłowów zarówno samców, jak i ogółem żerdzianek, były najwyższe gdy pułapki zawieszono na wysokości ok. 2 m nad ziemią, natomiast najmniej chrząszczy odłowiono do pułapek zawieszonych na wysokości 4-5 m (ryc. 29). Ze względu na dużą zmienność wyników odłowów do pułapek umieszczonych na wysokości 2 m, nie różniły się one statystycznie od pozostałych wariantów, ale istotne były różnice między odłowami na wysokości 4-5 m i w koronie drzewa ($H=9,45$, $df=2$, $P=0,0089$ dla samców, $H=8,83$, $df=2$, $P=0,0121$ dla ogółu żerdzianek). W przypadku samic nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między wariantami wysokościowymi.

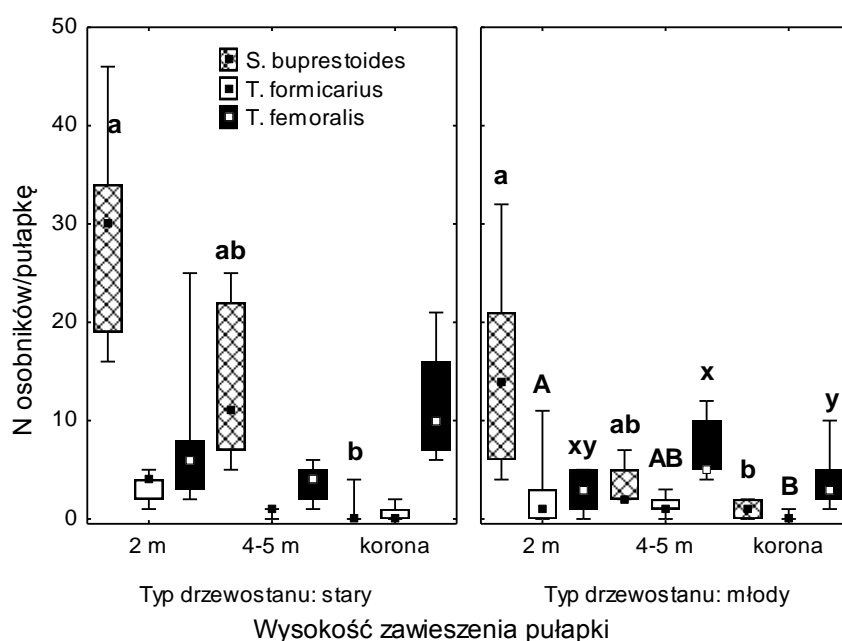
W drzewostanie młodym (30 lat) największe odłowów żerdzianek uzyskano w pułapkach zawieszonych na wysokości 4-5 m, a najmniejsze – w koronie, jednak różnice te nie były statystycznie istotne (ryc. 29).



Ryc. 29. Odłowów (mediana, percentyle 25-75%, min-maks) żerdzianki sosnowki obu płci i każdej osobno w okresie 14.07-9.08.2011 r. do pułapek feromonowych IBL-5 pokrytych teflonem z atraktantem-1 zawieszonych na różnych wysokościach w drzewostanach sosnowych w wieku 80 lat (stary) i 30 lat (młody) w Nadl. Wronki

Wśród innych owadów odławianych do pułapek dominowały kłopotek czarny oraz dwa gatunki przekrasków. Odłowów kłopotka miały podobną do żerdzianek istotną tendencję spadkową w obydwu grupach wiekowych drzewostanów sosnowych ($H=10,06$, $df=2$, $P=0,0065$ dla drzewostanu starszego, $H=11,02$, $df=2$, $P=0,0041$ dla drzewostanu młodego). Największe odłowów były na wysokości ok. 2 m, a najmniejsze – w koronach drzew i różnice między tymi wariantami były istotne statystycznie (ryc. 30).

Odłowy przekrasków w drzewostanie starszym nie różniły się istotnie, natomiast w młodym były różne w przypadku obydwu gatunków ($H=7,42$, $df=2$, $P=0,0245$ w przypadku *T. formicarius* i $H=6,01$, $df=2$, $P=0,0496$ w przypadku *T. femoralis*). Liczebność chrząszczy *T. formicarius* była najwyższa w pułapkach na wysokości 2 m i różniła się istotnie od pułapek zawieszonych w koronach (ryc. 30). W przypadku drugiego gatunku najczęściej chrząszczy odłowiono do pułapek na 4-5 m, a odłowy te różniły się istotnie od odłowów do pułapek w koronach drzew. Ogólnie, tendencję zmian w odłowach w zależności od wysokości zawieszenia pułapek w przypadku *T. formicarius* były bardziej podobne do tych u kłopotka (ryc. 30), podczas gdy w przypadku *T. femoralis* – bardziej zbliżone do tych u żerdzianki (ryc. 29).



Ryc. 30. Średnie odłowy chrząszczy *Spondylis buprestoides*, *Thanasimus formicarius* i *T. femoralis* w okresie 14.07-9.08.2011 r. do pułapek feromonowych IBL-5 pokrytych teflonem z atraktantem-1 zawieszonych na różnych wysokościach w drzewostanach sosnowych w wieku 80 lat (stary) i 30 lat (młody) w Nadl. Wronki

Doświadczenia w 2012 r.

W 2012 r. odłowy żerdzianek do pułapek wywieszonych na różnych wysokościach w Leśn. Łodziska (Nadl. Ostrołęka) były bardzo niskie. W całym okresie badań, tzn. ponad 2 miesiące, w 10 pułapkach znajdujących się na wysokości 2 m nie stwierdzono żadnego chrząszcza. Do 10 pułapek na wysokości 5 m odłowić się 1 osobnik, a do 10 pułapek zawieszonych w koronach drzew – sumarycznie 6 osobników.

7. Jakościowa i ilościowa ocena nicieni w ciałach chrząszczy żerdzianki sosnowki

7.1. Metodyka

7.1.1. Materiał badawczy

Badania dotyczące oceny żerdzianki sosnowki jako potencjalnego wektora węgorka sosnowca przeprowadzono w 2011 i 2012 r. Głównym celem tych badań było określenie stopnia zasiedlenia chrząszczy żerdzianki przez różne gatunki nicieni, w szczególności przez *Bursaphelenchus mucronatus*, który jest blisko spokrewniony z *B. xylophilus*, lecz nie jest patogeniczny w stosunku do drzew w Europie (Mamiya i Enda 1979). Poza tym, ocenie poddano dynamikę zasiedlenia żerdzianek przez nicienie w czasie trwania rójki. Podjęto także próbę odpowiedzi na pytanie, czy liczebność nicieni w ciałach chrząszczy wpływa na ich pionowe rozmieszczenie w drzewostanie, a tym samym na liczebność chrząszczy odławianych do pułapek zawieszonych na różnych wysokościach.

W 2011 r. analizą objęto 456 osobników dorosłych (imagines) żerdzianki sosnowki zebranych z pułapek feromonowych oraz stosów drewna sosnowego w Nadl. Wronki, na terenie Leśn. Gogolice. Materiał pobierany był okresowo przez 3 miesiące, tj. od 14 czerwca do 14 września 2011 roku, i dostarczany do Instytutu Ochrony Roślin – Państwowego Instytutu Badawczego głównie w formie martwych okazów, ale także niewielkie ilości (0-10% w poszczególnych partiach) osobników żywych. Do partii owadów dostarczonych 14 lipca dołączono również 10 żywych osobników kłopotka czarnego (*Spondylis buprestoides*) oraz 4 okazy wykarczaka sosnowca (*Arhopalus rusticus*), odłowione do pułapek wraz z żerdzianką sosnowką. Do momentu wykonania analizy, owady przechowywano w plastikowych pojemnikach w lodówce, w temperaturze 2°C.

W 2012 r. szczegółowej analizie sekcyjnej poddano 184 osobniki dorosłe żerdzianki sosnowki. Analizowane osobniki pochodziły z powierzchni badawczych rozmieszczonych w nadleśnictwach Parciaki, Ostrołęka, Kozienice i Gostynin. W Nadl. Parciaki i Ostrołęka (Leśn. Łodziska i Kruszewo) żerdzianki zbierano z pułapek wywieszonych w celu testowania różnych atraktantów i typów pułapek. W Nadl. Kozienice (Leśn. Chinów oddz. 27j, drzewostan w wieku 69 lat) i Nadl. Gostynin (2 powierzchnie: w Leśn. Jeżewo, oddz. 142c, wiek drzewostanu 40 lat, siedlisko BMśw, i w Leśn. Duninów, oddz. 134a, wiek drzewostanu 88 lat, siedlisko BMśw) na każdej powierzchni wywieszono 5 pułapek na wysokości 6-8 m w odległości ok. 20 m od siebie wzdłuż liniowego transektu. Próby, zebrane w okresie od lipca

do września w terenie przez personel IBL, dostarczone zostały głównie w formie martwych oraz nielicznych żywych osobników dorosłych żerdzianki.

Żerdzianki odłowione do pułapek zawieszonych na różnych wysokościach (2 m, 5 m i w koronie drzewa) były analizowane także pod kątem różnic udziału żerdzianek i stopnia ich opanowania przez *B. mucronatus*.

7.1.2. Wstępna analiza żerdzianek pod kątem obecności nicieni

Wszystkie dostarczone chrząszcze poddano indywidualnej, szczegółowej analizie sekcyjnej, obejmującej makroskopową ocenę obecności nicieni (a) na powierzchni ciała i pod pokrywami oraz (b) ocenę obecności nicieni w tchawkach i jamie ciała. W tym celu chrząszcze zanurzone w wodzie destylowanej, w płytkach Petri'ego (ø 9 cm), sekcjonowano indywidualnie przy użyciu mikroskopu stereoskopowego (Olympus SZX10). Po usunięciu pokryw i skrzydeł błoniastych oraz ocenie obecności nicieni na ich powierzchni ciało owada sekcjonowano na mniejsze fragmenty. Ponieważ większość owadów została dostarczona w formie suchej, po wstępnym ich rozdrobnieniu materiał pozostawiano w wodzie na ok. 15 - 30 min. w celu rozmiękczenia tkanek. W dalszej, szczegółowej analizie sekcyjnej badano kolejno zawartość tchawek oraz jamy ciała w obszarze tułowia i odwłoka. Wszystkie znajdowane nicienie ekstrahowano przy pomocy pipety automatycznej (martwe chrząszcze) lub przenoszono cały rozdrobniony materiał po dysekcji na sita nematologiczne o średnicy oczek 100 µm (żywe chrząszcze) i odławiano po 24 godzinach nicienie przechodzące do wody destylowanej. Po zagęszczeniu zawiesiny nicieni i jej oczyszczeniu w trakcie 3 cykli sedymentacji ich wodnej zawiesiny, uzyskane osobniki poddawano szczegółowej, morfologicznej analizie taksonomicznej.

7.1.3. Analiza morfologiczna nicieni

Nicienie przenoszone przez owady znajdują się zwykle w stadium przetrwalnikowej (foretycznej) larwy infekcyjnej, stąd możliwości ich dokładnej identyfikacji taksonomicznej ograniczone są jedynie do nielicznych, dobrze poznanych gatunków (jak np. poszukiwany tutaj *B. mucronatus*). Analiza głównie martwego materiału uzyskanego z martwych chrząszczy nie pozwalała niestety na dalszą hodowlę pozostałych grup nicieni, zebranych w czasie dysekcji larw, w celu uzyskania niezbędnych do precyzyjnej identyfikacji osobników dorosłych. Wobec powyższego, pozostałe grupy znajdowanych nicieni identyfikowane były tylko do poziomu rzędu, na co pozwalają cechy larw przetrwalnikowych.

Analizę morfologiczną nicieni pochodzących z martwych chrząszczy przeprowadzano na preparatach wodnych (nie trwałe), przy wykorzystaniu mikroskopu świetlnego (Olympus BX50) z optyką interferencyjnego kontrastu Nomarsky'ego. Część larw nicieni w stadium przetrwalnikowym, uzyskanych z żywych chrząszczy, poddawano procesowi utrwalenia w TAF i stopniowego odwodnienia metodą Seinhorst'a (1959) w celu przygotowania preparatów glicerynowych (trwałe).

W badaniach oceniano podstawowe cechy morfometryczne i morfologiczne (wymiary ciała, kształty struktur głowy i ogona). Reprezentacje (10-100 osobników) poszczególnych infrapopulacji żywych larw *B. mucronatus* ekstrahowanych z pojedynczych żywych chrząszczy żerdzianki poddawano również masowej hodowli *in vitro* na standardowych, laboratoryjnych kulturach PDA + *Botrytis cinerea* w płytkach Petri'ego (\varnothing 7 cm) w temperaturze 24°C (Tomalak i Filipiak 2010) w celu uzyskania wszystkich stadiów rozwojowych dla weryfikacji oznaczeń taksonomicznych opartych na cechach morfologicznych larw infekcyjnych oraz dla zgromadzenia odpowiedniej ilości materiału biologicznego do dalszych badań molekularnych. Uzyskane po 14 dniach populacje nicieni ekstrahowano z podłoża i poddawano (a) rutynowej procedurze utrwalania w TAF i odwadniania do gliceryny metodą Seinhorst'a oraz (b) ekstrakcji ich DNA i dalszej analizie molekularnej. Dokumentację mikrograficzną prowadzono przy wykorzystaniu cyfrowej kamery Olympus CX50 współpracującej z mikroskopem Olympus BX50.

7.1.4. Analiza molekularna nicieni

Izolacja DNA przy zastosowaniu zestawu QIAamp DNA Micro Kit (QIAGEN)

Odpowiednią ilość żywych nicieni (min. 100 osobników) przenoszono do probówki Eppendorf'a w objętości ok. 5 μ l wody, a następnie zamrażano w temp. $-20\pm 4^\circ\text{C}$ przez kilka godzin. Po rozmrożeniu do próby dodawano 10 μ l buforu ATL. Całość rozcierano przy użyciu mikrołuczka. Następnie dodawano 170 μ l buforu ATL i 20 μ l proteiny K (obydwa odczynniki wprowadzano do probówki poprzez polewanie mikrołuczka, aby splukać pozostałości, które na nim pozostały). Całość worteksowano przez ok. 15 sek. Następnie próbę poddawano inkubacji nocnej w temp. 56°C . Po zakończeniu inkubacji do probówki dodawano 200 μ l buforu AL (dla zapewnienia lepszej lizy dodatkowo rozpuszczano w buforze 1 μ l RNA). Całość worteksowano przez 15 sek., dodawano 200 μ l etanolu (96-100%) i ponownie worteksowano przez 15 sek. W celu uniknięcia skropleń na ścianie probówki, wirowano ją przez kilka sekund, po czym całość umieszczano w dołączonej do zestawu kolumnie. Próbę wirowano (8000 rpm, $t=1$ min), po czym zawartość z dolnej części kolumny

usuwano, a do górnej wprowadzano 500 µl buforu AW1. Ponownie wirowano (8000 rpm, t=1 min), usuwano zawartość z dolnej części, a do górnej wprowadzano 500 µl buforu AW2. Czynność wirowania powtarzano (8000 rpm, t=1 min), usuwano zawartość z dolnej części kolumny i ponownie ją wirowano (14 000 rpm, t=3 min). Po zakończeniu wirowania, górną część kolumny umieszczano w nowej probówce Eppendorf'a i ostrożnie dodawano (w zależności od ilości dodanych nicieni) od 30-100 µl buforu AE. Całość inkubowano w temperaturze pokojowej przez 10 min, po czym wirowano (14 000 rpm, t=1 min).

Pomiaru koncentracji wyizolowanego DNA dokonywano spektrofotometrycznie przy użyciu NanoDrop 1000 (Thermo Scientific).

Reakcja PCR przy użyciu starterów uniwersalnych

Reakcję PCR przeprowadzano wg procedury opisanej przez Burgermeistera i in. (2005) w termocyklerze wykorzystując zamiennie odczynniki firmy Novazym lub Fermentas, każdorazowo stosując się do specyficznych wskazówek producenta. Mieszanina reakcyjna zawierała 1-100 ng matrycowego DNA, 0.2 mM dNTP, 0,6 µM każdego ze starterów (starter forward F194 5'-CGTAACAAGGTAGCTGTAG-3' (Ferris i in. 1993); starter reverse 5368 5'-TTTCACTCGCCGTTACTAAGG-3' (Vrain 1993), 1 U/µl Taq polimerazy, 10 x stężony bufor do PCR (4.7.3) i uzupełniano wodą do końcowej objętości 25 µl. Reakcję prowadzono przez 40 cykli w następujących warunkach: (a) denaturacja wstępna w temp. 94°C przez 2.5 min., (b) denaturacja w temp. 94°C przez 1 min. (c) przyłączanie starterów do matrycy w temp. 55°C przez 1 min., (d) elongacja nici w temp. 72°C przez 2 min., (e) końcowa elongacja 72°C przez 5 min. Reakcję kończono w temp. 4°C

Po zakończeniu procesu do każdego produktu reakcji PCR dodawano 4 µl 6x barwnika obciążającego, a następnie rozdzielano w 1,5% żelu agarozowym z dodatkiem Midori Green Stain (1 µg/ml) w buforze 0,5 x TBE.

Elektroforezę przeprowadzano przy napięciu 50–70 V przez ok. 1 godz., a uzyskane produkty wizualizowano w świetle UV.

Oczyszczanie produktu PCR

Fragmety rozdzielonego DNA na żelu agarozowym wycinano skalpelem z żelu i umieszczano w 1.5 ml probówce Eppendorf'a. Wycięty, badany fragment DNA oczyszczano z użyciem zestawu Qiaex II Gel Extraction Kit (Qiagen), stosując się do zaleceń producenta. Do próbki dodawano 300 µl buforu QX1 oraz od 10 do 30 µl kuleczek wiążących DNA (Qiaex II). Probówkę inkubowano w temp. 50°C przez 10 min, a następnie wirowano 30 s w

temperaturze pokojowej przy 130 000 rpm. Bufor z nad osadu usuwano i dodawano 500 μ l buforu QX1, po czym ponownie mieszano i wirowano (130 000 rpm, 30 sek.). Bufor z nad osadu usuwano i dodawano buforu PE zawierającego alkohol etylowy (500 μ l). Czynność tę wykonywano dwukrotnie, za każdym razem mieszając i wirując próbę (130 000 rpm, 30 sek.). Osad, następnie, suszono i dodawano odpowiednią ilość wody w zależności od objętości Qiaex II. Całość inkubowano w temp. pokojowej przez 5 min, a następnie wirowano przez 90 sek. przy 130 000 rpm. Wymyte z kuleczek DNA przenoszono do świeżej próbki.

Pomiaru koncentracji wyizolowanego DNA dokonywano spektrofotometrycznie przy użyciu NanoDrop 1000 (Thermo Scientific).

7.1.5. Analiza restrykcyjna

Produkt PCR uzyskany przy pomocy zestawu Qiaex II Gel Extraction Kit (Qiagen) poddawano trawieniu restrykcyjnemu. W tym celu przygotowywano mieszaninę reakcyjną składającą się z: 7 μ l oczyszczonego produktu PCR, 1 μ l buforu dostarczonego wraz z enzymem restrykcyjnym, 0.8 μ l każdego z enzymów restrykcyjnych oraz 1.2 μ l wody.

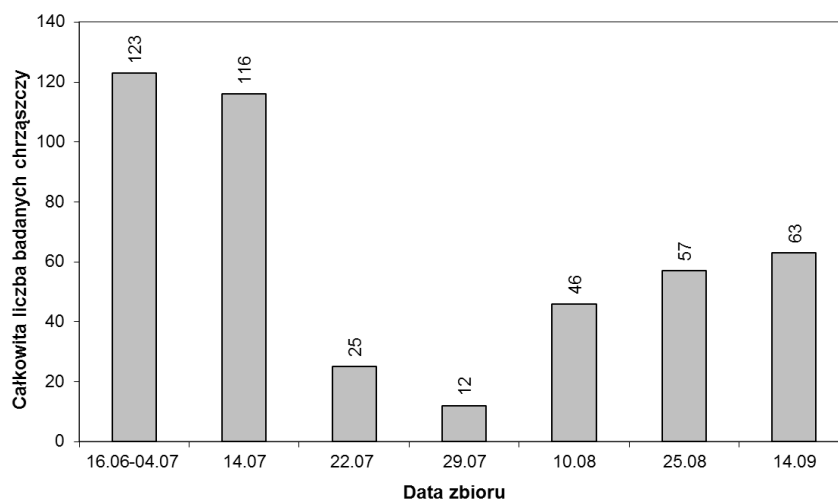
Każdy oczyszczony produkt trawiono oddzielnie pięcioma różnymi enzymami (*RsaI*, *HaeIII*, *MspI*, *HinfI* i *AluI*) przez 5 h w temp. 37°C. Po upływie tego czasu do każdego produktu trawienia restrykcyjnego DNA dodawano 4 μ l 6x barwnika obciążającego, a następnie rozdzielano w 1,5% żelu agarozowym z dodatkiem Midori Green Stain (2 μ l/100ml) w buforze 0,5 x TBE.

Elektroforezę przeprowadzano przy napięciu 50–70 V przez ok. 1 godz., a uzyskane produkty wizualizowano w świetle UV.

7.2. Wyniki

7.2.1. Skład gatunkowy i liczebność nicieni w ciałach żerdzianek zebranych w Nadl. Wronki w 2011 r.

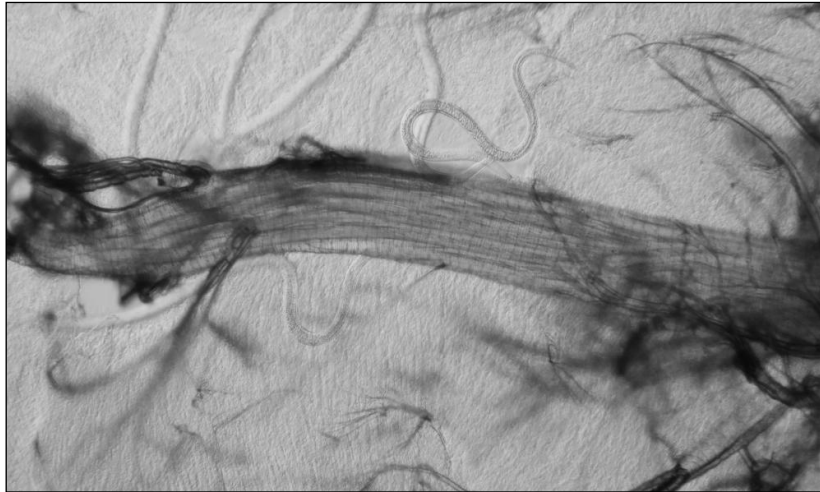
W okresie od 15.06 do 14.09.2011 r. liczba odławianych chrząszczy żerdzianki sosnówki, a następnie przekazywanych do analiz pod względem obecności nicieni była zmienna. Najwyższe wartości odnotowano od połowy czerwca do połowy lipca, najniższe w drugiej połowie lipca (22.07 i 29.07), po czym ponownie nieco wyższe odłowienia wystąpiły w sierpniu i w pierwszej połowie września (ryc. 31).



Ryc. 31. Zmiany liczebności chrząszczy żerdzianki sosnowki odławianych łącznie na obu powierzchniach doświadczalnych w trakcie sezonu badawczego

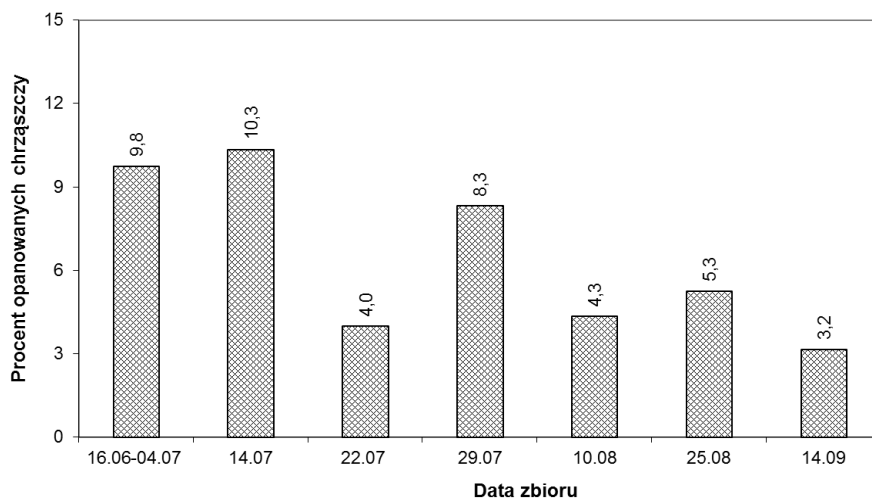
Analiza sekcyjna odłowionych chrząszczy żerdzianki sosnowki wykazała obecność na ich powierzchni ciała (pod pokrywami), na wewnętrznej powierzchni pokryw oraz w tchawkach obecność larw nicieni z rzędu Aphelenchida oraz z rzędu Rhabditida. Nicienie z rzędu Rhabditida reprezentowały trzy rodziny: Rhabditidae, Panagrolaimidae i Diplogasteridae. Ze względu na znajdowanie wyłącznie larwalnych stadiów tych nicieni, ich dalsza identyfikacja do gatunku była niemożliwa. Nicienie te należą do grupy saprobiontów odżywiających się bakteriami rozwijającymi się w chodnikach larwalnych chrząszczy ksylofagicznych.

W tchawkach części badanych chrząszczy i pod ich pokrywami spotykano również larwy infekcyjne (dauer) gatunku *B. mucronatus* (Aphelenchida). Okazyjnie nicienie te całkowicie wypełniały kanały tchawek (fot. 23). Ich liczebność w poszczególnych chrząszczach wahała się w przedziale od 1 do 19 500 larw. Nie stwierdzono ścisłej zależności pomiędzy liczebnością *B. mucronatus* notowaną w indywidualnych chrząszczach, a okresem zbioru. Jednakże, przypadki najwyższej liczebności (np. 19 500, 18 000, 5 580, 5100) larw nicieni w poszczególnych chrząszczach obserwowano wyłącznie w okresie od połowy czerwca do połowy lipca. W okresie późniejszym liczebność ta nigdy nie przekraczała 600 osobników (7-590 larw w chrząszczu).



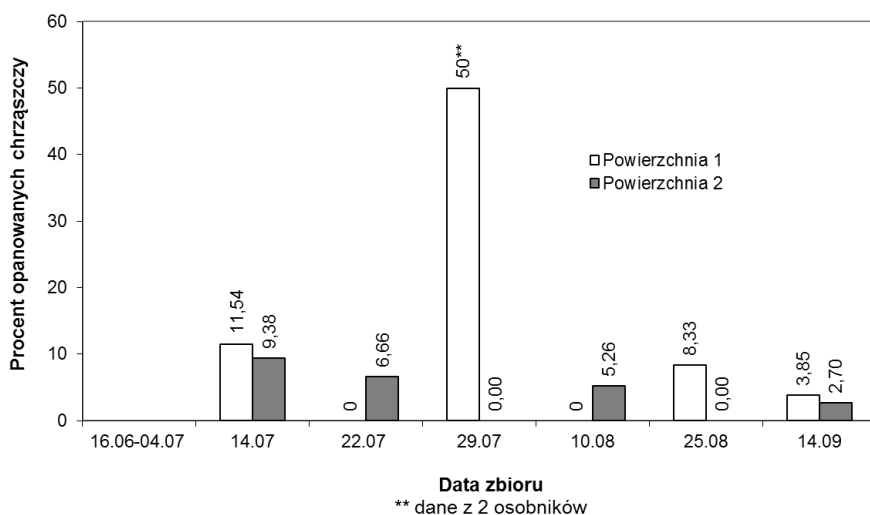
Fot. 23. Larwy infekcyjne *Bursaphelenchus mucronatus* wypełniające tchawki wektora - chrząszcza żerdzianki sosnówki

Poziom opanowania badanych populacji żerdzianki sosnówki przez larwy *B. mucronatus* był stosunkowo niski. W trakcie całego sezonu badawczego nie przekraczał on 10,34% wszystkich owadów analizowanych w poszczególnych próbach (ryc. 32). Średnio dla obu badanych powierzchni poziom opanowania chrząszczy żerdzianki przez nicienie malał w trakcie sezonu letniego z 9,76 i 10,34%, odpowiednio w drugiej połowie czerwca i pierwszej połowie lipca, do 4,36, 5,26 i 3,17%, odpowiednio na początku i pod koniec sierpnia oraz w pierwszej połowie września.



Ryc. 32. Zmiany średniego poziomu opanowania chrząszczy żerdzianki sosnówki przez larwy infekcyjne nicienia *Bursaphelenchus mucronatus* na dwóch powierzchniach badawczych (łącznie), w kolejnych okresach odłowu chrząszczy

Porównanie wyników analizy sekcyjnej chrząszczy żerdzianki sosnówki odłowionych na obu powierzchniach badawczych wykazało brak ukierunkowanych tendencji w zmianach poziomu ich opanowania przez larwy *B. mucronatus* (ryc. 33).



Ryc. 33. Porównanie poziomu opanowania chrząszczy żerdzianki sosnowki przez larwy infekcyjne nicienia *Bursaphelenchus mucronatus* na powierzchniach 1 i 2, w kolejnych okresach odłowu chrząszczy

Procent chrząszczy opianowanych przez nicienie był zbliżony na obu powierzchniach zarówno na początku, jak i na końcu sezonu (odpowiednio 14.07 i 14.09). W okresie pomiędzy tymi zbiorami nicienie były notowane okazjnie w owadach odławianych na jednej lub na drugiej powierzchni. Bardzo wysoki poziom opianowania chrząszczy zebranych 29 lipca na powierzchni 1 (tj. 50%) może być mylący, gdyż prezentowany wynik oparty został na analizie sekcyjnej tylko 2 osobników zebranych w tym czasie na powierzchni 1.

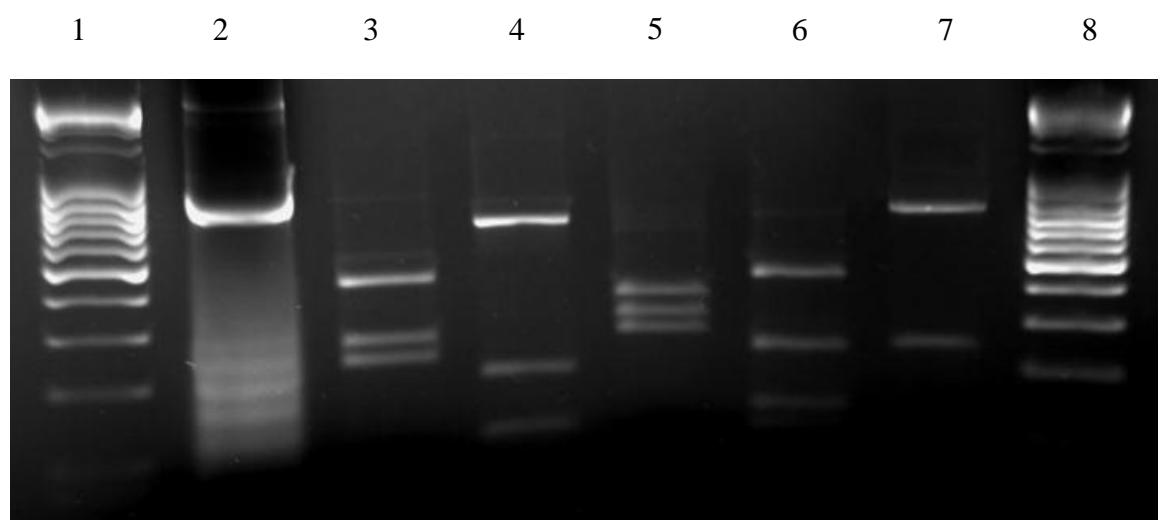
Analiza sekcyjna prób odłowionych chrząszczy wykazała na początku sezonu (tj. od połowy czerwca do połowy lipca) obecność larw infekcyjnych *B. mucronatus* w tchawkach zarówno samic, jak i samców. W pozostałym okresie zaś nicienie były znajdowane wyłącznie z samcami.

Larwy infekcyjne *B. mucronatus* ekstrahowane z ciała nielicznych żywych żerdzianek z łatwością podejmowały dalszy rozwój na laboratoryjnych kulturach grzyba *Botrytis cinerea*. Morfologia uzyskanych w ten sposób osobników dorosłych pozwoliła na jednoznaczne potwierdzenie ich przynależności taksonomicznej do gatunku *B. mucronatus*. Charakterystycznymi cechami tego gatunku są: (a) obecność wydłużonej wargi przedniej pochwy, przykrywającej otwór płciowy, ogon cylindryczny z wyraźnym, 3-5 μm mukronem, pola boczne z 4 bruzdami u samicy, oraz (b) charakterystyczny kształt spikuli z wyraźnym, dyskowatym zakończeniem (cucullus), liczba (7 sztuk) oraz charakterystyczne rozmieszczenie brodawek ogonowych u samca (Mamiya i Enda 1979).

W przeprowadzonych badaniach nie stwierdzono ścisłych zależności pomiędzy wysokością umiejscowienia pułapek na strzale a poziomem opanowania przez nicienie odławianych chrząszczy.

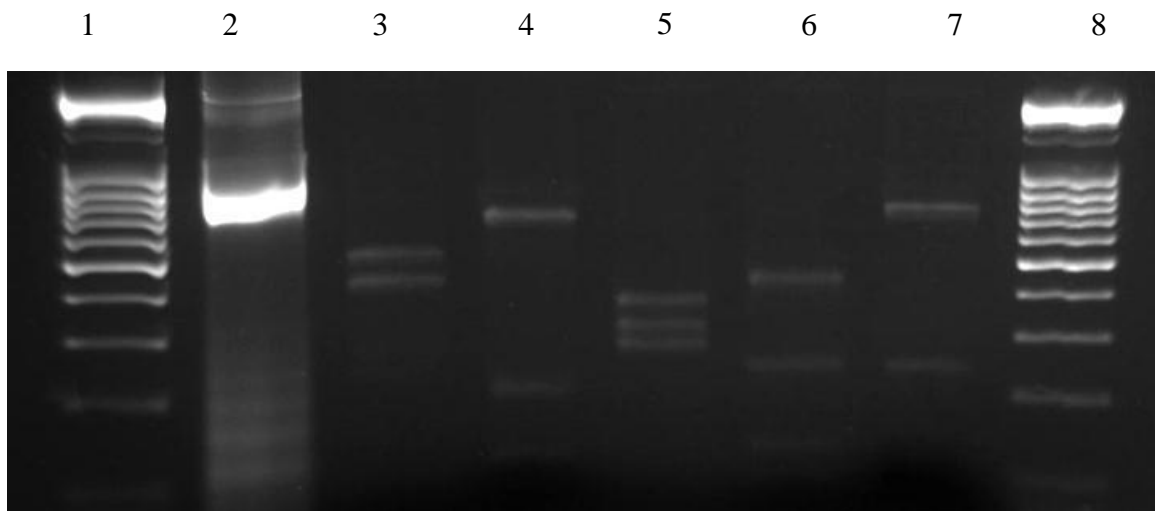
Analiza sekcyjna chrząszczy kłopotka czarnego i wykarczaka sosnowca nie wykazała obecności nicieni z rodzaju *Bursaphelenchus* na powierzchni lub we wnętrzu ich ciała. Okazyjnie, pod pokrywami stwierdzano foretyczne formy larw nicieni z rzędu Rhabditida.

Analiza molekularna DNA uzyskanego z poszczególnych infracpopulacji *B. mucronatus*, izolowanych z pojedynczych chrząszczy i dalej odrębnie rozmnażanych w kulturach in vitro potwierdziła prawidłowość wcześniejszej identyfikacji taksonomicznej tego gatunku na podstawie morfologii. Reakcja PCR z wykorzystaniem starterów niespecyficznych dla nicieni z rodzaju *Bursaphelenchus* (Ferris i in. 1993, Vrain 1993) skutecznie amplifikowała region ITS rDNA, powodując we wszystkich badanych próbach powstanie produktu o wielkości 930 pz. Dalsza analiza restrykcyjna ITS-RFLP wykazała jednak wyraźne zróżnicowanie genetyczne w badanych populacjach, ujawniające się obecnością dwóch odrębnych genotypów, przedstawionych na załączonych profilach restrykcyjnych (ryc. 34 i ryc. 35). Obserwowana zmienność dotyczyła głównie fragmentów restrykcji uzyskanych z wykorzystaniem enzymów RsaI i HaeIII.



Ryc. 34. Profile ITS-RFLP uzyskane w wyniku analizy restrykcyjnej DNA infracpopulacji nicieni *Bursaphelenchus mucronatus* izolowanych z pojedynczych chrząszczy żerdzianki sosnówki – genotyp europejski

Pionowe kolumny 1 i 8 = DNA marker (100 bp ladder, MassRuler™, Fermentas, Kaunas, Lithuania); kolumna 2 = produkt amplifikacji rDNA; kolumny 3-7 = fragmenty restrykcyjne: kolumna 3 = RsaI; kolumna 4 = HaeIII; kolumna 5 = MspI; kolumna 6 = HinfI; kolumna 7 = AluI.



Ryc. 35. Profile ITS-RFLP uzyskane w wyniku analizy restrykcyjnej DNA infrac populacji nicieni *Bursaphelenchus mucronatus* izolowanych z pojedynczych chrząszczy żerdzianki sosnówki (*Monochamus galloprovincialis*) – genotyp wschodnio-azjatycki
 Pionowe kolumny 1 i 8 = DNA marker (100 bp ladder, MassRuler™, Fermentas, Kaunas, Lithuania); kolumna 2 = produkt amplifikacji rDNA; kolumny 3-7 = fragmenty restrykcyjne: kolumna 3 = RsaI; kolumna 4 = HaeIII; kolumna 5 = MspI; kolumna 6 = HinfI; kolumna 7 = AluI.

7.2.2. Skład gatunkowy i liczebność nicieni w ciałach żerdzianek zebranych w nadleśnictwach: Parciaki, Ostrołęka, Gostynin i Kozienice w 2012 r.

W okresie prowadzenia badań od lipca do września 2012 roku szczegółowej analizie sekcyjnej poddano 184 osobniki dorosłe żerdzianki sosnówki. Pod pokrywami i w tchawkach części sekcjonowanych chrząszczy stwierdzano obecność larw nicieni, w tym *B. mucronatus* oraz okazynie niezidentyfikowanych gatunków z rzędu Rhabditida, które jako organizmy bakterio- i grzybożerne, rozwijają się w żerowiskach różnych ksylofagów i są przenoszone przez nie na nowe drzewa.

Wstępna identyfikacja taksonomiczna *B. mucronatus* na podstawie morfologii larw infekcyjnych izolowanych z pojedynczych, żywych chrząszczy została potwierdzona w wyniku powtórnego badania morfologii osobników dorosłych uzyskanych z ekstrahowanych larw po ich dalszym rozwoju i rozmnożeniu w kulturach *in vitro*.

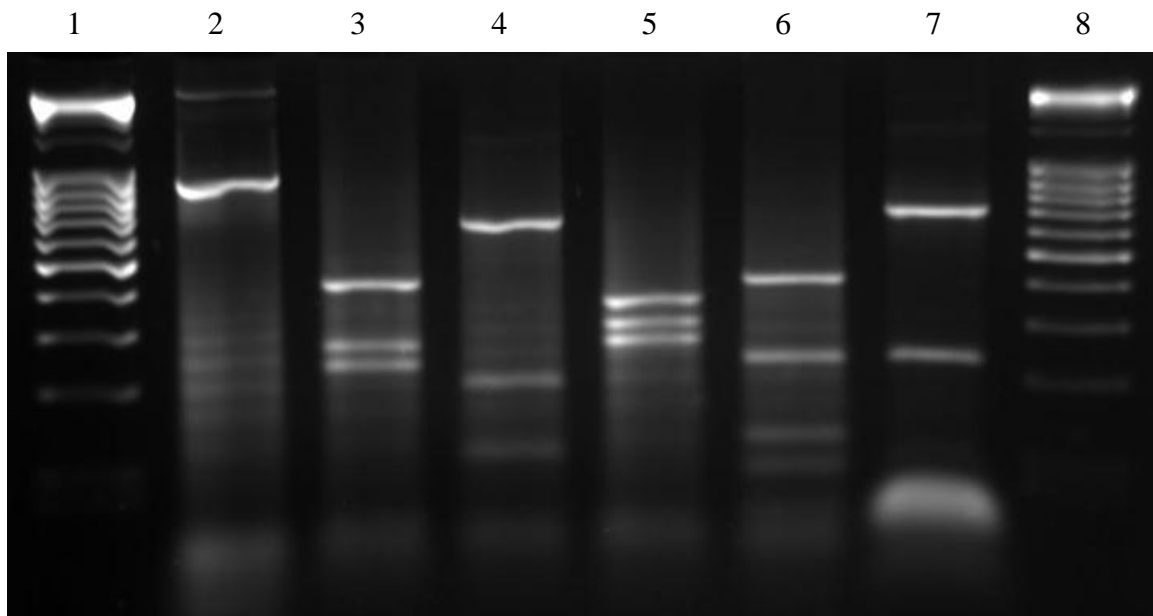
Analiza molekularna DNA uzyskanego z *B. mucronatus*, izolowanych z pojedynczych chrząszczy i dalej odrębnie rozmnażanych w kulturach *in vitro* potwierdziła prawidłowość wcześniejszej identyfikacji taksonomicznej tego gatunku na podstawie morfologii. Reakcja PCR z wykorzystaniem starterów niespecyficznych dla nicieni z rodzaju *Bursaphelenchus* (Ferris i in. 1993, Vrain 1993) skutecznie amplifikowała region ITS rDNA, powodując we wszystkich badanych próbach powstanie produktu o wielkości 930 pz. Dalsza analiza

restrykcyjna ITS-RFLP wykazała obecność wyłącznie europejskiego genotypu wśród badanych populacji tego nicienia (ryc. 36).

Ogólna charakterystyka materiału pochodzącego z poszczególnych nadleśnictw

Nadleśnictwo Parciaki

W próbach chrząszczy 12 samic i 2 samców z 5 lipca; 3 samic z 18 lipca i 2 samic z 27 sierpnia (sumarycznie 19 osobników) obecność nicienia *B. mucronatus* stwierdzono w jednej samicy odłowionej 18 lipca (5,3%). Liczebność nicienia w jej ciele wynosiła ok. 100 szt. Poza tym, pod pokrywami jednego z samców stwierdzono larwy niezidentyfikowanego gatunku z rzędu Tylenchida (z grupy nicieni przenoszonych przez owady, a odżywiających się grzybami rozwijającymi się w drewnie).



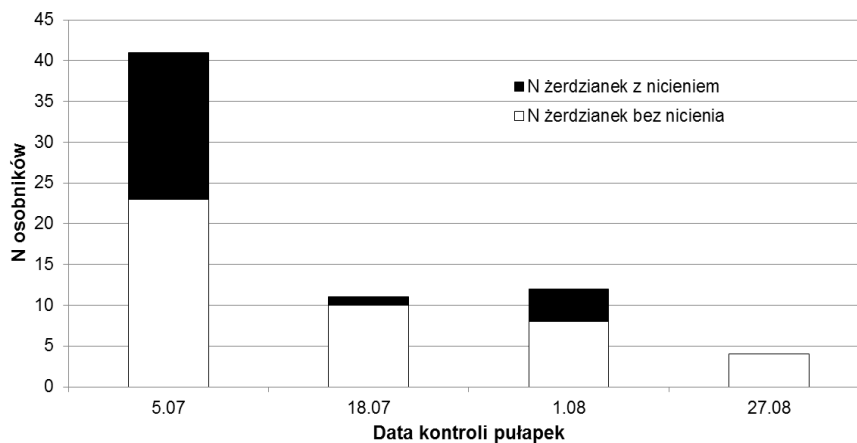
Ryc. 36. Profile ITS-RFLP uzyskane w wyniku analizy restrykcyjnej DNA populacji nicienia *Bursaphelenchus mucronatus* izolowanych z pojedynczych chrząszczy żerdzianki sosnowki (*Monochamus galloprovincialis*) – Genotyp europejski.

Pionowe kolumny 1 i 8 = DNA marker (100 bp ladder, MassRuler™, Fermentas, Kaunas, Lithuania); kolumna 2 = produkt amplifikacji rDNA; kolumny 3-7 = fragmenty restrykcyjne: kolumna 3 = *RsaI*; kolumna 4 = *HaeIII*; kolumna 5 = *MspI*; kolumna 6 = *HinfI*; kolumna 7 = *AluI*.

Nadleśnictwo Ostrołęka:

Leśnictwo Łodziska: Analizowane próby chrząszczy wykazały wysoki udział osobników opanowanych przez nicienia *B. mucronatus* (27,3%). Udział ten zmieniał się w trakcie sezonu badań. Na początku lipca obecność larw infekcyjnych tego nicienia wykazano u 15 spośród 37 sekcjonowanych osobników chrząszczy (40,5%). W kolejnych próbkach udział żerdzianek przenoszących larwy *B. mucronatus* wynosił 9,1, 20,0 i 0% (ryc. 37). Liczba larw w

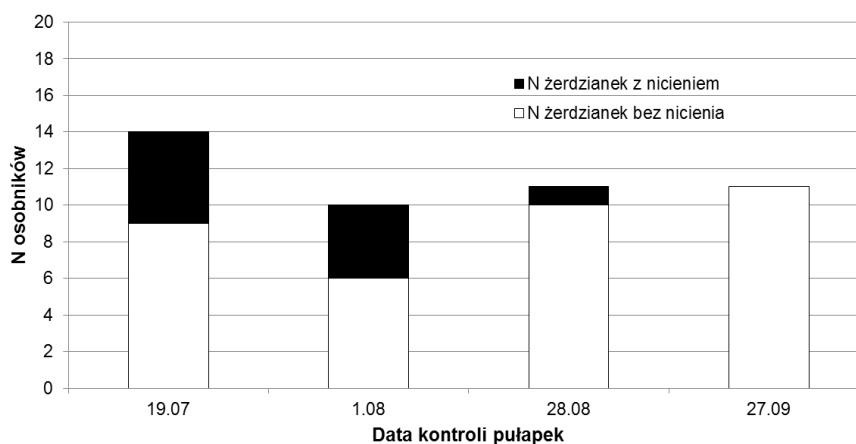
poszczególnych chrząszczach wynosiła od 10 do 19 400 osobników i w każdym z okresów pobierania prób wartości te wykazywały znaczną zmienność, z ogólną tendencją spadkową. Prawidłowość identyfikacji ekstrahowanych z chrząszczy larw nicienia *B. mucronatus* potwierdzona została na podstawie morfologii osobników dorosłych uzyskanych z tych larw w wyniku ich hodowli *in vitro*, na kulturach *Botritis cinerea* oraz dalszej analizy molekularnej ich DNA. Pod pokrywami i na powierzchni tergitów ciała chrząszczy okazjonalnie stwierdzano również skupiska larw przetrwalnikowych saprobiotycznych nicieni z rzędu Rhabditida.



Ryc. 37. Liczba analizowanych chrząszczy żerdzianki sosnowki odłowionych do pułapek feromonowych w Leśn. Łodziska, Nadl. Ostrołęka, oraz udział osobników przenoszących larwy nicienia *B. mucronatus*

Leśnictwo Kruszewo: Podobnie jak w próbkach z Leśn. Łodziska, u chrząszczy żerdzianki sosnowki odłowionych do pułapek feromonowych w Leśn. Kruszewo wykazano wysoki udział osobników opanowanych przez nicienia *B. mucronatus* (21,7%). Charakteryzował się on także tendencją spadkową wraz z czasem. W połowie lipca obecność larw infekcyjnych tego nicienia wykazano u 5 z 14 sekcjonowanych osobników chrząszczy (35,7%). Podobny, a nawet nieco wyższy (40%) udział osobników z nicieniami stwierdzono na początku sierpnia, podczas gdy pod koniec sierpnia i września ich udział spadł odpowiednio do 9,1 i 0% (ryc. 38). Liczba larw w poszczególnych chrząszczach wynosiła od 47 do 1600 osobników

Pod pokrywami i na powierzchni tergitów ciała 3 chrząszczy stwierdzono również skupiska larw nicieni z rzędu Rhabditida.



Ryc. 38. Liczba analizowanych chrząszczy żerdzianki sosnowki odłowionych do pułapek feromonowych w Leśn. Kruszewo, Nadl. Ostrołęka, oraz udział osobników przenoszących larwy nicienia *B. mucronatus*

Nadleśnictwo Gostynin

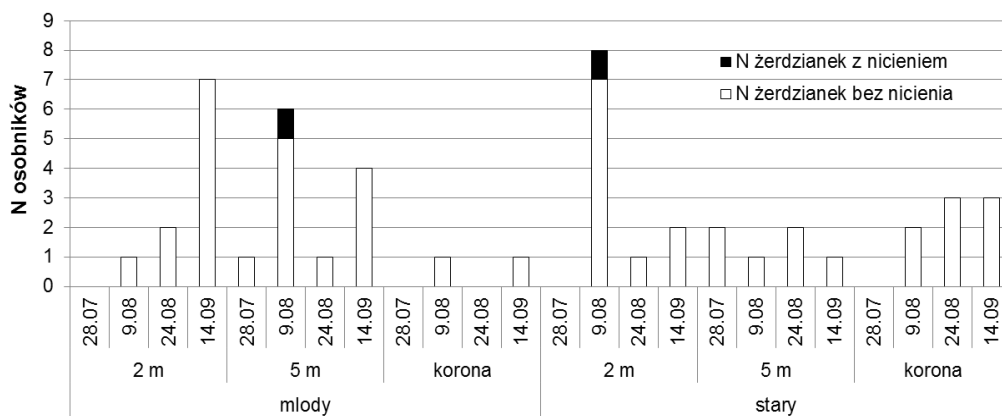
Ogólna liczba chrząszczy zebranych i przekazanych do badań z tego nadleśnictwa była niewielka (5 samic i 3 samce). Larwy infekcyjne nicienia *B. mucronatus* stwierdzono w ciele tylko jednej samicy żerdzianki (12,5%), pochodzącej z odłowu 17.07.2012. Ich liczba wynosiła ok. 800 szt.

Nadleśnictwo Kozienice

W próbach chrząszczy przekazanych do analizy sekcyjnej znajdowały się tylko 2 osobniki, tj. 1 samica z 10.07 i 1 samica z 21.09. 2012. Żaden z tych owadów nie był zasiedlony przez nicienie.

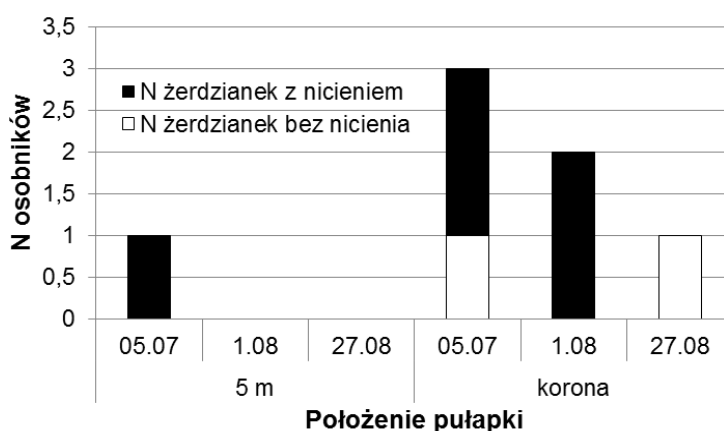
7.2.3. Skład i liczebność nicieni w ciałach żerdzianek odłowionych do pułapek na różnych wysokościach

W żerdziankach odłowionych do pułapek zawieszonych na 2 m, 5 m i w koronach drzew w drzewostanie „młodym” (30-letnim) i starym (80-letnim) w 2011 r. praktycznie nie stwierdzono nicieni *B. mucronatus* (ryc. 39). Jedynie dwie z 49 żerdzianek przenosiły w sobie nicienie w liczbie 260 i 590 larw/chrząszcza. Tak mały udział chrząszczy z nicieniami można tłumaczyć w pewnym stopniu późnym okresem odłowów. Uzyskane wyniki nie pozwoliły na przeprowadzenie analizy pod kątem różnic udziału żerdzianek i stopnia ich opanowania przez *B. mucronatus* w pułapkach zawieszonych na różnych wysokościach.



Ryc. 39. Liczba żerdzianek przenoszących i nieprzenoszących nicienie *B. mucronatus* odłowionych w okresie od 28.07 do 14.09.2011 r. do pułapek feromonowych zawieszonych na różnych wysokościach w Nad. Wronki

Spośród 30 pułapek feromonowych zawieszonych na wysokości 2 i 5 m i w koronie drzew w 2012 r. tylko w 6 odłowiły się chrząszcze żerdzianki sosnowki. Była to jedna pułapka umieszczona na wysokości 5 m i pięć pułapek – na poziomie koron. W pułapkach tych odłowiło się odpowiednio 1 i 6 żerdzianek. Analiza sekcyjna wykazała obecność licznych larw infekcyjnych *Bursaphelenchus mucronatus* (od 430 do 2300 osobników/żerdziankę) w pięciu spośród odłowionych owadów, z czego 1 pochodził z wysokości 5 m (850 larw w chrząszczu), a pozostałe – z koron (ryc. 40). Tak wysoki udział osobników opanowanych przez nicienie (71,43%) wyraźnie przewyższa wyniki uzyskane dla chrząszczy odławianych na niższych wysokościach i z innych powierzchni. Jednakże, nicienie stwierdzono w tylko w owadach odłowionych do 1 sierpnia. W próbach zebranych w drugiej połowie sierpnia lub później, podobnie jak u osobników z innych powierzchni, a także w próbkach z ubiegłego roku, nicieni już nie stwierdzono.



Ryc. 40. Liczba żerdzianek przenoszących i nieprzenoszących nicienie *B. mucronatus* odłowionych w okresie od 20.06 do 27.08.2012 r. do pułapek feromonowych zawieszonych na różnych wysokościach w Nad. Ostrołęka

7.3. Dyskusja

Przeprowadzone w 2011 r. badania wykazały, że na powierzchniach doświadczalnych w Leśnictwie Gogolice, należącym do Nadleśnictwa Wronki chrząszcze żerdzianki sosnówki są wektorami niepatogenicznych nicieni *Bursaphelenchus mucronatus* oraz szeregu niezidentyfikowanych taksonomicznie gatunków z rzędu Rhabditida – rodzin: Rhabditidae, Panagrolaimidae i Diplogasteridae. Wcześniejsze prace przeprowadzone przez pracowników IOR-PIB na terenie Nadleśnictwa Wronki, obejmujące nematologiczną analizę drewna sosny opianowanego przez larwy żerdzianki sosnówki, wykazały raczej wyspowy charakter występowania tego nicienia na badanym obszarze. W obecnych analizach wykazano również, że żaden z pozostałych, występujących na sosnie gatunków nicieni z rodzaju *Bursaphelenchus*, jak m. in. powszechne w Polsce *B. piniperdae*, *B. pinophilus* (Brzeski i Baujard 1997, Tomalak 2010), na badanym obszarze nie jest przenoszony przez chrząszcze żerdzianki sosnówki.

W sekcjonowanych chrząszczach stwierdzano obecność wyłącznie foretycznych larw przetrwalnikowych nicieni niebędących pasożytami tego gatunku owada. Poziom opianowania chrząszczy przez larwy *B. mucronatus* wahał się w ciągu sezonu od 3,2 do 10,3% (średnio 8,1%).

Nieco zaskakująca w porównaniu do naszych dotychczasowych doświadczeń z Puszczy Noteckiej była stosunkowo wysoka aktywność chrząszczy żerdzianki sosnówki jeszcze we wrześniu 2011 r. Zwykle o tej porze na stosach sosny i leżących czubach notowano tylko pojedyncze osobniki lub ich całkowity brak. Tegoroczna wysoka aktywność chrząszczy obserwowana również we wrześniu może być wynikiem:

- układu warunków pogodowych w okresie lata, tzn. chłodnego i deszczowego lipca, co mogło mieć wpływ na rozciągnięcie rójki żerdzianki;
- lepszego systemu monitorowania, dzięki zastosowaniu pułapek feromonowych, co podkreślałoby szczególne znaczenie tej metody dla celów przyszłej praktyki.

Dysekcja chrząszczy żerdzianki sosnówki odłowionych w 2012 r. do pułapek feromonowych w nadleśnictwach: Parciaki, Ostrołęka, Gostynin i Kozienice wykazała obecność larw infekcyjnych nicienia *B. mucronatus* we wszystkich owadach, oprócz osobników z Nadl. Kozienice, co można tłumaczyć zbyt małą analizowaną próbą z tego terenu (tylko 2 osobniki). Pod pokrywami pojedynczo stwierdzano również skupiska larw nicieni z rzędu Rhabditida. Jednoznacznie potwierdza to powszechny, ścisły związek foretyczny *B. mucronatus* z żerdzianką sosnówką.

W obydwu latach sezonowe tendencje w zmianach udziału owadów przenoszących larwy *B. mucronatus* były dość podobne. Wysoki udział chrząszczy zasiedlonych przez nicienie utrzymywał się w próbach pobieranych pod koniec czerwca i w lipcu, wyraźnie malał w sierpniu, a w próbach z września nie stwierdzono już obecności tych nicieni na/w chrząszczach. Podobny trend zaobserwowali Togashi i in. (2008) w przypadku *M. urusovi*. Wyniki te sugerują, że zagrożenie nowymi infekcjami maleje wraz z upływem czasu (okresu rójki). Bardziej szczegółowe badania pod tym kątem przeprowadzili Naves i in. (2007). Stwierdzili oni, że wysoka zdolność larw *B. xylophilus* do opuszczenia ciała *M. galloprovincialis* trwa przez ok. 6 tygodni, przy czym kulminacja następuje w drugim tygodniu od momentu wyjścia żerdzianki z drzewa. Jest to związane prawdopodobnie z utratą wilgotności i zapasów energii w ciałach larw nicieni (Stamps i Linit 1998). Po tym okresie nawet jeśli żerdzianki mają jeszcze w/na swoich ciałach larwy nicieni, nie przenoszą je do nowych drzew. Uzyskane w trakcie naszych badań wyniki, także dane literaturowe będą miały istotne znaczenie dla opracowania metod wykrywania nicieni, a także rozważań nad okresem największego zagrożenia ze strony *B. xylophilus* w przypadku jego przypadkowego zawleczenia i zdomowienia się w Polsce.

Dla żadnego z badanych rejonów (nadleśnictw) nie udało się określić szczegółowej dynamiki zmian liczebności omawianych nicieni w/na chrząszczach żerdzianki. Nawet w tej samej partii materiału z poszczególnych, zasiedlonych owadów ekstrahowano od kilku (1) do kilkunastu tysięcy (maksymalnie 19 400) larw *B. mucronatus* (Ostrołęka). Znacznie więcej nicieni ekstrahowano jednak w lipcu niż w sierpniu.

Szczególnie interesujący jest, stwierdzony w populacji żerdzianki w Nadl. Ostrołęka (Leśn. Łodziska i Kruszewo), stosunkowo wysoki procent chrząszczy opanowanych przez *B. mucronatus* – odpowiednio 33,8% (łącznie z doświadczeniem wysokościowym) i 21,7%, podczas gdy na pozostałych powierzchniach nie przekraczał on 12,5%. Wyjaśnienie, czy różnice te są wynikiem szczególnie korzystnych warunków środowiskowych sprzyjających wysokiej liczebności populacji *B. mucronatus* na tym terenie, wyjątkowej adaptacji lokalnej populacji do zasiedlania chrząszczy żerdzianki, czy też innych przyczyn wymagałoby dalszych badań. Jednak podobny, dość wysoki udział (24%) chrząszczy *M. galloprovincialis* opanowanych przez nicienie *B. mucronatus* stwierdził także Tomminen (1992) w badaniach przeprowadzonych w Finlandii. Udział zasiedlonych imagines *M. sutor* był mniejszy i osiągał 14%.

Ze względu na małe odłowy do pułapek w doświadczeniach dotyczących oceny różnic w udziale opanowanych przez nicienie żerdzianek odłowionych do pułapek wywieszonych na

różnych wysokościach nie udało się wykryć jakichkolwiek trendów. Mimo to, w tym doświadczeniu stwierdzono wyjątkowo bardzo wysoki udział chrząszczy zasiedlonych przez *B. mucronatus* (71,4%). W pozostałych doświadczeniach (powierzchniach) stopień opanowania żerdzianek odłowionych do pułapek feromonowych wahał się od 5,3% w Nadl. Parciaki do 27,3% w Nadl. Ostrołęka, Leśn. Łodziska. W 2011 r. w Nadl. Wronki zasiedlenie żerdzianek przez nicienie było na poziomie 8,1%. Jak wynika z tych doświadczeń, niższe wartości uzyskano dla chrząszczy odłowionych do pułapek zawieszonych na wysokości do 8 m, niż do pułapek w koronach drzew. Ten fakt można próbować wyjaśnić tym, że w koronach mogły znajdować się osobniki z początku okresu ich pojawu (tzn. krótko po wylęgu), które udały się tam w celu odbywania żeru uzupełniającego. Więc duża część żerdzianek mogła zawierać nicienie, które nie miały jeszcze możliwości emigracji z ciała wektora.

Bliskie związki nicieni z rodzaju *Bursaphelenchus* z chrząszczami ksylofagicznymi wynikają z wykorzystania tych ostatnich jako wektorów przenoszących nicienie na nowe drzewa – do nowych środowisk ich rozmnażania. Dotychczasowe badania przeprowadzone w IOR-PIB wykazały, że w przeciwieństwie do *B. xylophilus*, przenoszone przez żerdzianki larwy infekcyjne *B. mucronatus* nie są skutecznie uwalniane do drewna w trakcie żeru uzupełniającego owada na gałęziach w koronach żywych drzew. Na istnienie takiej możliwości wskazują jednak wyniki doświadczeń Schroedera i Magnussona (1992), którzy stwierdzili, że nicienie te skutecznie przechodziły z chrząszczy *M. sutor* zarówno na gałązki drzew, na których owady odbywały żer uzupełniający, jak i na wycinki pni drzew, na których samice składały jaja. W odróżnieniu od wysoce patogenicznego nicienia *B. xylophilus*, *B. mucronatus* cechuje się jednak słabą zdolnością do rozwoju w zdrowych drzewach, więc nicienie, które przeszły na gałązki w trakcie żerowania żerdzianek raczej giną. Rozwój populacji *B. mucronatus* jest możliwy jedynie w bardzo osłabionych lub zamierających drzewach po ich transmisji głównie w trakcie składania jaj przez samice lub ew. chrząszcze obydwu płci w trakcie odbywania żeru uzupełniającego na tych drzewach (Linit 1988). Transmisja nicieni może odbywać się nie tylko z owadów do drewna, ale także między owadami, głównie od samców do samic w trakcie kopulacji. Samice następnie stają się wektorami nicieni w ich drodze do drzewa (Togashi i Jikumaru 1996).

Wśród występujących w Europie populacji *B. mucronatus* stwierdzono obecność dwóch odrębnych genotypów, które określono jako „europejski” i „wschodnio-azjatycki” (Burgermeister i in. 2005). Nasze dotychczasowe badania wykazały, że również w Polsce na odrębnych stanowiskach występują populacje reprezentujące te dwa genotypy. Szczególnie

interesującym wynikiem obecnych badań jest jednak to, że występowanie obu genotypów stwierdzono na tym samym obszarze, w chrząszczach żerdzianki odławianych na obu powierzchniach badawczych. Poszczególne infrapopulacje nicieni ekstrahowane z pojedynczych, żywych chrząszczy i dalej odrębnie, masowo rozmnażane *in vitro* zawsze reprezentowały jednak tylko jeden z tych genotypów. Nie stwierdzono genotypów pośrednich (hybrydowych), co okazjnie stwierdzaliśmy w naszych wcześniejszych badaniach (Filipiak i Tomalak 2010). Wyniki te wskazują na istnienie w obrębie badanych stanowisk w Nadleśnictwie Wronki dwóch względnie niezależnych populacji *Bursaphelenchus mucronatus* o wyraźnie różnych genotypach (tj. „europejskim” i wschodnio-azjatyckim”). Brak na tym terenie infrapopulacji hybrydowych sugeruje, że nie następuje tutaj spontaniczne krzyżowanie się infrapopulacji o różnych genotypach, choć w warunkach sztucznych hodowli *in vitro* jest to stosunkowo łatwe. Mechanizmy i ekologiczne znaczenie zamiennego utrzymywania się dwóch różnych genotypów gatunku *B. mucronatus* na odległych geograficznie stanowiskach w Europie nie zostały do tej pory wyjaśnione. Równoczesne występowanie tych dwóch genotypów na tym samym, stosunkowo niewielkim obszarze, jak ma to miejsce w Leśnictwie Gogolice, stwarza zaś unikalne warunki do przeprowadzenia szczegółowych badań mogących wyjaśnić to zagadnienie. Jeśli ta sytuacja wynika ze szczególnych przystosowań chrząszczy lub nicieni, mechanizmy te powinny być szczegółowo poznane, gdyż mogą być istotne również dla naszego zrozumienia związków pomiędzy kwarantannowym nicieniem *Bursaphelenchus xylophilus* i żerdzianką sosnówką, będącą jego wektorem na nowych obszarach. Badania takie podejmowane są obecnie w ramach odrębnego projektu.

Jak wynika z badań przeprowadzonych w ramach tego tematu oraz doświadczeń prowadzonych w Instytucie Ochrony Roślin – PIB (Tomalak 2010), żerdzianka sosnówka jest jedynym znanym wektorem *B. mucronatus* w Polsce, jeśli chodzi o występowanie na sośnie zwyczajnej. Gatunek ten jest również jedynym, dotychczas potwierdzonym wektorem *B. xylophilus* w Portugalii i Hiszpanii. W odróżnieniu od *B. xylophilus*, wektorami *B. mucronatus* w Europie jest nie tylko żerdzianka sosnówka, ale także *M. sutor*, np. w Szwecji i Finlandii (Tomminen 1990, Schroeder i Magnusson 1992). Związane to jest prawdopodobnie z tym, że *B. mucronatus* może występować nie tylko na sośnie, ale także na jodle, modrzewiu i świerku (Kulinich i in. 1994, Braasch 2001, Braasch i in. 2001, Tomiczek i in. 2003), a główną rośliną żywicielską *M. sutor* jest świerk. W Japonii wykazano, że *B. mucronatus* może być przenoszony przez *M. alternatus* Hope, *M. urussovi* i *M. saltuarius* (Mamiya i Enda 1979, Jikumaru i Togaschi 1995, 2001, Togashi i in. 2008). Wśród tych

gatunków w Europie, tzn. do wschodnich granic Polski, występuje tylko *M. saltuarius*, którego główną rośliną żywicielską, podobnie jak *M. sutor*, jest świerk, a sosnę gatunki te zasiedlają bardzo sporadycznie. Z drugiej strony, trzeba też zauważyć, że w odróżnieniu od *B. mucronatus*, *B. xylophilus* nie znajduje w drewnie świerka, a także jodły, dogodnych warunków do rozwoju i praktycznie nie powoduje zamierania tych gatunków drzew (Final Report 2007). Oznacza to, że zawleczenie czy też rozprzestrzenianie się *B. xylophilus* w Polsce może odbywać się prawie wyłącznie za pośrednictwem *M. galloprovincialis*. Ze względu na bardzo bliskie pokrewieństwo morfologiczne, genetyczne i bionomiczne *B. mucronatus* oraz kwarantannowego szkodnika *B. xylophilus*, owad ten musi więc być uwzględniany, jako najważniejszy potencjalny wektor niciania *B. xylophilus*, w sytuacji jego przypadkowego zawleczenia i zadomowienia się w naszym kraju.

8. Nicienie zasiedlające żerdzianki i ich materiał lęgowy

8.1. Metodyka

8.1.1. Powierzchnie doświadczalne i materiał badawczy

Doświadczenia mające na celu porównanie składów gatunkowych nicieni występujących w ciałach żerdzianek odłowionych do pułapek i nicieni zasiedlających drewno sosny znajdujące się w pobliżu pułapek założono w nadleśnictwach: Ostrołęka (Leśn. Kruszewo), Kozienice (Leśn. Chinów) i Gostynin (Leśn. Jeżewo i Duninów). Opis powierzchni oraz sposób wywieszenia pułapek przedstawiono w rozdziałach 5.2.5 i 7.1.1. Pod koniec czerwca lub w pierwszych dniach lipca na każdej powierzchni wyłożono „żywe pułapki” na żerdziankę w postaci 5-7 wałków drewna z cienką korą o długości ok. 2 m i średnicy 10-15 cm. Wałki te pochodziły z cięć pielęgnacyjnych wykonanych w danym nadleśnictwie w okresie od marca do maja 2012 r., ponieważ taki materiał jest najbardziej preferowany przez żerdzianki do zasiedlenia. Do wałków doczepiono po jednym atraktancie żerdzianki sosnowki wyprodukowanym przez ZD Chemipan w celu zwiększenia ich atrakcyjności dla tego owada.

Kontrole pułapek, polegającą na zebraniu odłowionych żerdzianek, policzeniu, a następnie wysłaniu do Instytutu Ochrony Roślin – PIB do analiz na obecność nicieni, wykonywano od początku lipca do drugiej połowy września co 2-3 tygodnie. Pobór próbek drewna, tzn. odcięcie od wałków fragmentów drewna o długości ok. 10-15 cm z objawami zasiedlenia przez żerdziankę przeprowadzono 3-krotnie: w połowie i pod koniec lipca (początek okresu potencjalnego zasiedlenia wałków) oraz w drugiej połowie września (okres pojawiania się widocznych śladów żerowania larw żerdzianki). Próbkę wysyłano do analiz do IOR-PIB.

8.1.2. Ekstrakcja nicieni z owadów i drewna

Procedura ekstrakcji nicieni z żerdzianek została opisana w rozdziale 7.1.2. W celu wyekstrahowania nicieni z wałków drewna dostarczone wałki łupano (indywidualnie) na części o wielkości nie przekraczającej wymiarami 1 x 2 x 5 cm. Materiał ten umieszczano na głębokich sitach nematologicznych (h=15 cm) o średnicy 15 cm i wielkości oczek 2 mm. Przed włożeniem drewna na dnie sita umieszczano ręcznik papierowy w celu ograniczenia ilości zanieczyszczeń przedostających się przez sito. Sito wkładano do większego pojemnika plastikowego i w całości zalewano wodą. Całość pozostawiano w temperaturze pokojowej ok. 20±1°C. Wychodzące z drewna nicienie przechodziły przez sita do zewnętrznego

naczynia. Po 24 godzinach z zewnętrznego naczynia wyjmowano sito z drewnem, a pozostającą zawiesinę wodną, zawierającą nicienie, zagęszczano przez stopniową sedymentację i usuwanie nadmiaru wody. Po serii płukań i ostatecznym zredukowaniu objętości zawiesiny do ok. 20 ml, nicienie przechowywano w płytkach Petri'ego w wodzie, w temperaturze ok. 2°C, do momentu podjęcia dalszych analiz taksonomicznych.

Metody identyfikacji nicieni opisano w rozdziałach 7.1.3-7.1.5.

8.2. Wyniki

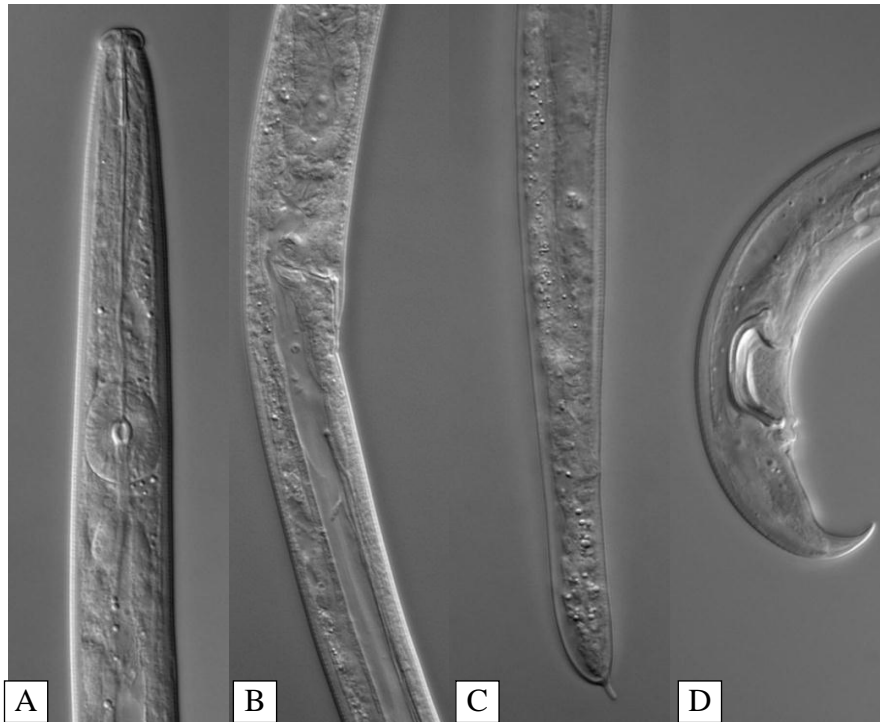
W okresie prowadzenia badań od lipca do września 2012 roku szczegółowej analizie sekcyjnej poddano 46 chrząszczy żerdzianki sosnowki oraz 23 próby drewna, zawierające od 1 do 8 wałków w korze.

Wyniki analizy żerdzianek odłowionych do pułapek na poszczególnych powierzchniach przedstawiono w rozdziale 7.2.2.

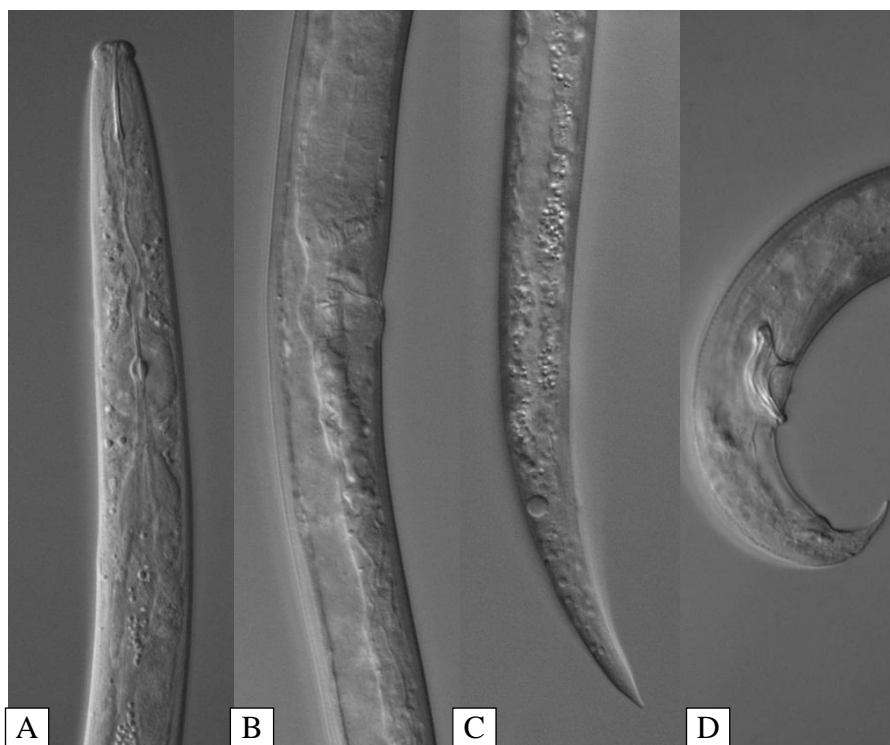
Z prób drewna ekstrahowano liczne nicienie należące do różnych grup taksonomicznych. Wśród nich, do najczęściej występujących należały grzybożerne gatunki *Bursaphelenchus mucronatus* (fot. 24) i *Aphelenchoides macrobulbosus* oraz liczne bakteriożerne gatunki z rzędu Rhabditida, należące do rodzajów *Panagrolaimus*, *Parasitorhabditis*, *Diplogasteroides* i *Diplogaster*. Okazyjnie stwierdzono również występowanie trzech innych, przenoszonych przez ksylofagi, a związanych z sosną grzybożernych gatunków z rodzaju *Bursaphelenchus*, tj. *Bursaphelenchus pinophilus* (fot. 25), *B. piniperdae* (fot. 26) i *B. leoni* (fot. 27) oraz przedstawicieli trzech innych rodzajów z grupy mikofagów, tj. *Ectaphelenchus* spp., *Cryptaphelenchus* spp. i *Stictylus* sp. W badanym materiale nie stwierdzono obecności kwarantannowego szkodnika węgorka sosnowca (*Bursaphelenchus xylophilus*). Żaden z wykrytych gatunków omawianej grupy nicieni nie wykazuje patogeniczności w stosunku do roślin.

Nadl. Ostrołęka, Leśn. Kruszewo

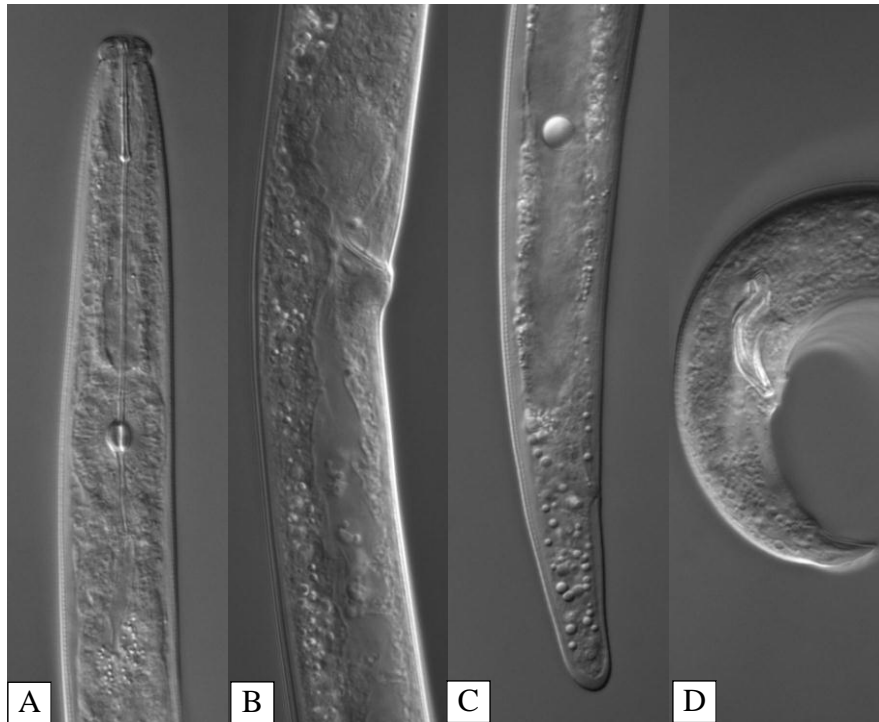
W badanych próbach drewna z Nadl. Ostrołęka, Leśn. Kruszewo stwierdzono obecność opuszczonych żerowisk korników *Tomicus piniperda* i *Hylurgops palliatus* (próby z 1.08), a także żerowisk *Hylurgops palliatus* i aktywnych żerowisk *Monochamus galloprovincialis* oraz *Pissodes* (prawdopodobnie *P. pini*) (próby z 27.09.2012). W próbach z 27.09 występowały również przebarwienia charakterystyczne dla obecności grzybów siniznowych.



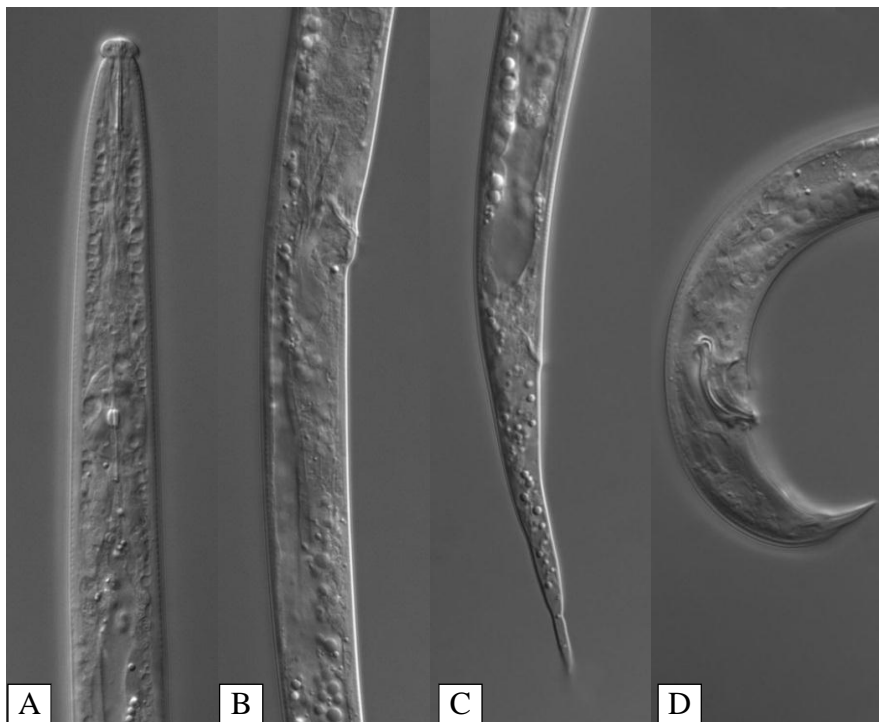
Fot. 24. Główne cechy morfologiczne dorosłych osobników *Bursaphelenchus mucronatus*. A. Rejon głowy samicy/samca, B. Rejon otworu płciowego samicy, C. Ogon samicy. D. Ogon samca.



Fot. 25. Główne cechy morfologiczne dorosłych osobników *Bursaphelenchus pinophilus*. A. Rejon głowy samicy/samca, B. Rejon otworu płciowego samicy, C. Ogon samicy. D. Ogon samca.



Fot. 26. Główne cechy morfologiczne dorosłych osobników *Bursaphelenchus piniperdae*. A. Rejon głowy samicy/samca, B. Rejon otworu płciowego samicy, C. Ogon samicy. D. Ogon samca.



Fot. 27. Główne cechy morfologiczne dorosłych osobników *Bursaphelenchus leoni*. A. Rejon głowy samicy/samca, B. Rejon otworu płciowego samicy, C. Ogon samicy. D. Ogon samca.

W dwóch próbach drewna (z 1.08 i 27.09.2012) stwierdzono obecność *B. mucronatus* (50% wszystkich prób). W partii prób drewna z 27.09 wykazano obecność pokrewnego gatunku *B. pinophilus*. Badane próby drewna zasiedlone były również przez liczne osobniki gatunków z rodzajów *Panagrolaimus* (w tym *P. tigrodon*), *Parasitorhabditis* (w tym *P. piniperdae*), *Diplogasteroides* i mniej liczne *Aphelenchoides* (w tym *A. macrobulbosus*) i *Stictylus* sp.

Nadl. Gostynin, Leśn. Jeżewo i Duninów

W trzech partiach prób drewna pochodzących z Nadl. Gostynin (próby z 17.07, 30.07 i 19.09.2012 r.) stwierdzono częstą obecność żerowisk żerdzianki sosnowki wraz z przebarwieniami drewna wskazującymi na występowanie grzybów siniznowych. W partii pochodzącej z 17.07. obserwowano również opuszczone żerowiska *Tomicus piniperda*. Spośród ekstrahowanych nicieni wykazano częstą i liczną obecność grzybożernych *B. mucronatus* (54,5% z 11 prób), *A. macrobulbosus* i *Cryptaphelenchus* sp. oraz bakteriożernych gatunków z rodzaju *Panagrolaimus*, *Parasitorhabditis*, *Diplogaster* i *Diplogasteroides*. W pojedynczych próbach występowały również grzybożerne *B. piniperdae* i *Stictylus* sp.

Nadleśnictwo Kozienice, Leśn. Chinów

W większości analizowanych wałków trzech partii prób drewna z Nadl. Kozienice (z 18.07, 31.07 i 21.09) stwierdzono częstą obecność żerowisk żerdzianki sosnowki oraz przebarwień siniznowych. Okazyjnie obserwowano również opuszczone żerowiska korników *Tomicus piniperda* i *Hylurgops palliatus*. Analiza nematologiczna wykazała znaczną liczebność oraz różnorodność taksonomiczną występujących w próbach gatunków nicieni. W próbach drewna z 18.07 i 31.07 stwierdzono liczną obecność grzybożernych gatunków *B. mucronatus*, *Ectaphelenchus* sp. i *Cryptaphelenchus* sp. oraz szeregu bakteriożernych gatunków z rzędu Rhabditida (*Panagrolaimus* sp., *Parasitorhabditis* sp., *Diplogaster* sp. i innych). W próbach tych stwierdzono również nieliczne osobniki innych grzybożernych nicieni z rodzaju *Bursaphelenchus*, tj. *B. piniperdae* i *B. pinophilus* (próba z 18.07) oraz *B. leoni* (próba 31.07). W próbach z 21.09 stwierdzono jednak tylko gatunki bakteriożerne z rodzajów *Panagrolaimus* i *Parasitorhabditis*. Ogółem larwy *B. mucronatus* wykazano w 62,5% z 8 przebadanych prób.

Porównanie składu gatunkowego nicieni ekstrahowanych z chrząszczy żerdzianki sosnowki oraz z prób drewna sosnowego w korze pobranych na obszarze ich występowania

wykazało znacznie większe zróżnicowanie gatunkowe nicieni w próbach drewna niż w ekstraktach z chrząszczy (tabela 4).

Tabela 4. Porównanie gatunków nicieni zasiedlających chrząszcze żerdzianki sosnowki odłowionych do pułapek feromonowych oraz drewno sosny pozyskane na obszarze ich występowania

Powierzchnia / Data pobrania próbki	Gatunki nicieni wyizolowanych z	
	żerdzianek	próbek drewna
Nadl. Ostrołęka, Leśn. Kruszewo		
19.07.2012	<i>B. mucronatus</i>	
01.08.2012	<i>B. mucronatus</i> Rhabditida	<i>B. mucronatus</i> , <i>Aphelenchoides macrobulbosus</i> , <i>Panagrolaimus tigrodon</i> , <i>Parasitorhabditis</i> <i>piniperdae</i> , <i>Diplogasteroides</i> sp.
28.08.2012	<i>B. mucronatus</i>	Brak prób drewna
19.09.2012	Brak prób chrząszczy	Brak prób drewna
27.09.2012	Brak nicieni	<i>B. mucronatus</i> , <i>B. pinophilus</i> , <i>Aphelenchoides</i> sp. <i>Stictylus</i> sp., <i>Panagrolaimus</i> sp. <i>Pasasitorhabditis</i> sp.
Nadl. Gostynin, Leśn. Jezewo		
17.07.2012	<i>B. mucronatus</i>	<i>B. mucronatus</i> <i>Aphelenchoides macrobulbosus</i> , <i>Cryptaphelenchus</i> sp., <i>Stictylus</i> sp., <i>Parasitorhabditis</i> spp., <i>Panagrolaimus</i> spp., <i>Diplogaster</i> spp.,
30.07.2012	Brak nicieni	<i>B. mucronatus</i> , <i>Aphelenchoides macrobulbosus</i> , <i>Cryptaphelenchus</i> sp., liczne <i>Panagrolaimus</i> spp., <i>Diplogasteroides</i> spp
27.08.2012	Brak nicieni	Brak prób drewna
Nadl. Gostynin, Leśn. Duninów		
17.07.2012	Brak prób chrząszczy	<i>Aphelenchoides macrobulbosus</i> , <i>Parasitorhabditis</i> spp., <i>Panagrolaimus</i> spp.
30.07.2012	Brak prób chrząszczy	<i>B. mucronatus</i> , <i>Aphelenchoides macrobulbosus</i> , <i>Cryptaphelenchus</i> sp., liczne <i>Panagrolaimus</i> spp., <i>Diplogasteroides</i> spp.
16.08.2012	Brak nicieni	Brak prób drewna
18-19.09.2012	Brak nicieni	<i>B. mucronatus</i> , <i>Aphelenchoides macrobulbosus</i> , <i>Panagrolaimus tigrodon</i> , , <i>Parasitorhabditis</i> sp.
Nadl. Koziencice, Leśn. Chinów		
18.07.2012	Brak nicieni	<i>B. mucronatus</i> , <i>B. pinophilus</i> , <i>B. leoni</i> , <i>B. piniperdae</i> , <i>Ectaphelenchus</i> sp., <i>Cryptaphelenchus</i> sp., <i>Parasitorhabditis</i> spp., <i>Panagrolaimus</i> spp., <i>Diplogaster</i> spp.
31.07.2012	Brak prób chrząszczy	<i>B. mucronatus</i> , <i>B. leoni</i> , <i>Cryptaphelenchus</i> sp., liczne <i>Panagrolaimus</i> spp., <i>Diplogaster</i> spp.)
21.09.2012	Brak nicieni	<i>Panagrolaimus</i> sp. i <i>Parasitorhabditis</i> sp.

Gatunkiem wspólnym dla obu tych środowisk był *B. mucronatus* – nicienie wykorzystujące żerdzianki, jako wektory umożliwiające jego przenoszenie na nowe drzewa.

Nicień ten rozwija się również w żerowiskach i drewnie opanowanym przez larwy żerdzianek. Większość pozostałych gatunków wykrytych w drewnie sosny związanych była z równoczesną obecnością żerowisk innych gatunków ksylofagów, w tym korników *Tomicus piniperda* i *Hylurgops palliatus* oraz ryjkowców *Pissodes pini* i *Pissodes* spp.

8.3. Dyskusja

Dane literaturowe oraz uzyskane obecnie wyniki potwierdzają, że *B. mucronatus* może być modelowym organizmem do bezpiecznych dla środowiska leśnego badań nad potencjalnymi scenariuszami zapobiegania, rozprzestrzeniania oraz zwalczania węgorka sosnowca *B. xylophilus* w Europie, w tym również w Polsce.

Stwierdzony w próbach z Nadl. Ostrołęka (Leśn. Kruszewo) stosunkowo wysoki poziom zasiedlenia zebranych z pułapek chrząszczy żerdzianki przez larwy infekcyjne *B. mucronatus* znalazł swoje przełożenie na występowanie omawianego nicienia w próbach drewna sosny, pobranych z tego terenu. Obecność tego nicienia stwierdzono w 2 spośród 4 analizowanych prób drewna sosny z 01.08 i 27.09. W próbach chrząszczy z Nadleśnictwa Gostynin obecność *B. mucronatus* stwierdzono tylko w jednym osobniku żerdzianki (Leśn. Jeżewo z 17.07), gdy zaś w drewnie zabranym w tym nadleśnictwie, zarówno z Leśn. Jeżewo, jak i Duninów nicień ten występował wielokrotnie. W próbkach drewna z Nadl. Kozienice także wykazano obecność nicieni, podczas gdy w ciałach żerdzianek ich nie stwierdzono. Ta niespójność wyników może być spowodowana nieliczną próbą owadów odłowionych do pułapek i poddanych analizie w przypadku zarówno Nadl. Gostynin (8 osobników), jak i Nadl. Kozienice (2 osobniki). Jak wynika z analizy sekcyjnej chrząszczy, nie każdy owad jest zasiedlony przez nicienie. W przeprowadzonych badaniach wahał się on od 0 i 5,3% odpowiednio w Nadl. Kozienice i Parciaki do 33,8% w Nadl. Ostrołęka, Leśn. Łódziska. Drewno z kolei może służyć do składania jaj przez wiele samic. W tym przypadku nie ma możliwości oceny ile samic, które złożyły jaja, było nosicielami nicieni, ale wzrasta szansa ich wykrycia. Zwiększenie precyzji i zbieżności wyników zasiedlenia chrząszczy oraz ich materiału lęgowego przez nicienie można osiągnąć poprzez zwiększenie efektywności pułapek oraz oceny optymalnego miejsca ich wywieszenia, a także wyłożenie odpowiedniej ilości wałków czy innego materiału przydatnego do zasiedlenia przez owady.

W badanych próbach drewna obecność *B. mucronatus* stwierdzono już w drugiej połowie lipca (Nadl. Gostynin – 17.07.2012; Nadl. Kozienice – 18.07.2012). Ekstrahowane osobniki reprezentowały wszystkie stadia rozwojowe (larwy i osobniki dorosłe). Stwierdzona, w tym czasie wysoka liczebność omawianych nicieni (dziesiątki tysięcy w próbie

ok. 2000 cm³ drewna) sugeruje stosunkowo długi, przynajmniej 2-4 tygodniowy okres rozwoju ich populacji po zasiedleniu drewna w czasie składania jaj przez samice żerdzianki. Można więc wnioskować, że na badanym terenie pierwsze zasiedlenia drewna sosny przez *B. mucronatus* miały miejsce już pod koniec czerwca lub na początku lipca. W raz zasiedlonym drewnie obecność tego gatunku może być obserwowana do wczesnego lata następnego roku, tj. do okresu wylotu młodych chrząszczy żerdzianki z materiału lęgowego. Później ich populacja stopniowo ginie w wyniku zmiany warunków wilgotnościowych oraz zawartości gatunków grzybów w tkankach rozkładającego się drewna.

Występowanie *B. mucronatus* w próbach drewna często było ściśle powiązane z występowaniem żerowisk żerdzianki oraz grzybów siniznowych, na których chętnie żeruje ten nicien. Więc obecność w drewnie sosny grzybów siniznowych, obok śladów żerowania larw żerdzianki sosnówki, jest jednym z najbardziej wiarygodnych sygnałów wskazujących na możliwość występowania *B. mucronatus*.

Przeprowadzona analiza prób drewna i kory sosny pobranych w drzewostanach objętych badaniami chrząszczy żerdzianki sosnówki ujawniła powszechną obecność nicieni w drewnie. Jednakże, w próbkach drewna wykazano znacznie większą różnorodność gatunkową nicieni niż w ciałach żerdzianek. W badanym drewnie obok stwierdzanego często na/w chrząszczach larw *B. mucronatus* wykazano również obecność trzech innych gatunków z tego rodzaju, tj. *B. pinophilus*, *B. piniperdae* i *B. leoni*. Podobnie, jak *B. mucronatus*, dwa pierwsze z wymienionych gatunków spotykane były wielokrotnie w drewnie sosny w Polsce już wcześniej (Brzeski i Baujard 1997, Tomalak 2010). Trzeci z nich, *B. leoni* notowany był w naszym kraju bardzo rzadko, głównie w modrzewiu i tylko okazjnie w sośnie. Jak wynika z naszych wcześniejszych badań przeprowadzanych w drzewostanach Polski oraz z dostępnej literatury, gatunki te związane są zwykle z innymi ksylofagami drzew iglastych, głównie kornikami i ryjkowcami (Coleoptera: Curculionidae). Ponieważ w badanych próbach drewna i kory często stwierdzano również obecność żerowisk korników i ryjkowców (*Tomicus piniperda*, *Hylurgops palliatus*, *Pissodes* spp.) wykrycie wspomnianych nicieni może być powiązane raczej z obecnością tych owadów, niż z występowaniem żerdzianki sosnówki.

Bursaphelenchus piniperdae wykryty został tylko w dwóch próbach z 17.07. (Nadl. Gostynin, Leśnictwo Jeżewo) i z 18.07.2012 (Nadl. Kozienice). Brak tego gatunku w próbach pobieranych później jest wynikiem jego specyficznej biologii. *Bursaphelenchus piniperdae* jest najbardziej pospolitym nicieniem z rodzaju *Bursaphelenchus*, zasiedlającym sosnę. Jednakże, jako ściśle związany z cetyńcem większym (*Tomicus piniperda*), w drewnie/korze sosny występuje tylko w czasie rozwoju tego wektora. Później (lipiec) larwy infekcyjne

B. piniperda wraz z młodymi chrząszczami cetyńca opuszczają chodniki larwalne owadów, a pozostałe stadia nicieni stopniowo zamierają. To tłumaczy tylko okazyjne jego wykrycie w próbach pobieranych w połowie lipca i całkowity brak tego gatunku w próbach z sierpnia i września. Nicienie te pozostają w drzewostanie, lecz w innych niszach, tj. na ciele cetyńców w koronach sosny lub w chodnikach zimowych przy szyi korzeniowej starszych drzew.

Bursaphelenchus pinophilus jest gatunkiem nieczęstym, przenoszonym zwykle przez smoliki, głównie przez *Pissodes piniphilus*, lecz w naszych wcześniejszych badaniach wykrywany on był również w żerowiskach innych smolików, a także kornika – rytownika dwuzębego (*Pityogenes bidentatus*). W obecnych badaniach gatunek ten ekstrahowano jednokrotnie z drewna opanowanego przez żerdziankę (Nadl. Kozienice) i jeszcze raz z próby zawierającej żerowiska żerdzianki, polesiaka obramowanego (*Hylurgops palliatus*) i smolika (prawdopodobnie *Pissodes pini*) (Nadl. Ostrołęka). Nasze dotychczasowe doświadczenie terenowe oraz istniejące dane literaturowe sugerują jednak, że to nie żerdzianka, lecz smoliki mogły pośredniczyć w zasiedleniu drewna przez te nicienie. Brak tych wektorów w próbie z Kozienic może być wynikiem ich występowania w części drewna sąsiadującej z pobraną do analiz lub z przeoczenia jeszcze stosunkowo niewielkich żerowisk smolika w okresie przeprowadzania analiz.

Bursaphelenchus leoni jest stosunkowo rzadkim gatunkiem w Polsce. Do tej pory niewiele jest wiadomo na temat jego wektora na sośnie. W naszych wcześniejszych pracach gatunek ten izolowany był z modrzewia opanowanego wyłącznie przez kornika modrzewiowca (*Ips cembrae*). W obecnych badaniach gatunek ten ekstrahowano z prób drewna pochodzących z Kozienic, bez wyraźnych symptomów obecności jakiegokolwiek owada (17.07) oraz z żerowiskami żerdzianek (31.07). Ponieważ obecność wektora jest niezbędna omawianym nicieniom w procesie zasiedlania nowych drzew, występowanie *B. leoni* w próbie pozbawionej żerowisk owadów może być jedynie wytłumaczone w podobny sposób, jak w przypadku *B. pinophilus*. Powiązanie go z żerdzianką sosnowką, jako wektorem wymaga zaś dalszych szczegółowych badań.

W analizowanych próbach drewna, poza wymienionymi wyżej gatunkami z rodzaju *Bursaphelenchus*, stwierdzano również obecność grzybożernych gatunków z rodzaju *Aphelenchoides* spp., *Ectaphelenchus* spp. i *Cryptaphelenchus* spp. i *Stictylus* sp. Nicienie te towarzyszą różnym gatunkom korników rozwijającym się na strzępkach grzybów zasiedlających chodniki larwalne tych owadów. Po zakończeniu rozwoju korników larwy infekcyjne tych nicieni przemieszczają się pod pokrywy chrząszczy lub do ich cewek Malpighiego (*Cryptaphelenchus* spp.), gdzie zimują i wiosną, wraz ze swoimi wektorami

zasiedlają nowe drzewa. W czasie transportu niektóre z tych nicieni mogą wywoływać istotne zmiany chorobowe w tkankach swoich owadów-wektorów poprzez bezpośrednie uszkodzenie nabłonka wyścielającego cewki Malpighiego (*Cryptaphelenchus* spp., *Aphelenchoides* spp.) (Tomalak i in. 1989a) i ciała tłuszczowego (*Aphelenchoides* spp.) (Tomalak i in. 1988). Nie są jednak patogeniczne w stosunku do zasiedlanych drzew.

Pozostałe, wykryte w badanych próbach drewna gatunki z rzędu Rhabditida (tj. *Parasitorhabditis*, *Panagrolaimus*, *Diplogaster* i *Diplogasteroides*) wykazują podobne związki foretyczne z kornikami i innymi ksylofagami, a w ich żerowiskach odżywiają się rozwijającymi się tam bakteriami. Mogą również być przenoszone przez niektóre gatunki drapieżnych chrząszczy, odwiedzające żerowiska ksylofagów. Podobnie, jak wspomniane wyżej mikofagi, niektóre gatunki z tej grupy mogą powodować uszkodzenia organów wewnętrznych swoich wektorów, w tym wyściółki jelita (*Parasitorhabditis* spp.) (Tomalak i in. 1989b).

Uzyskane wyniki wskazują, że obecność *B. mucronatus* zawsze jest związana z obecnością żerdzianki sosnowki w drzewostanie. Jednakże, ze względu na małą liczebność odławianych żerdzianek i tym samym niewielką reprezentację uzyskiwaną w ten sposób z ogólnej populacji chrząszczy, obliczony poziom opanowania chrząszczy przez larwy infekcyjne *B. mucronatus* nie jest zadowalającym wskaźnikiem obecności i rzeczywistego poziomu liczebności populacji tego nicienia w drzewostanie na danym etapie badań. Dla celów rzetelnej oceny obecności tego gatunku w drzewostanach, obok zwabiania do pułapek zapachowych i sekcjonowania chrząszczy, powinno także być prowadzone monitorowanie obecności tego nicienia w wyłożonym drewnie (drewnie pułapkowym). Jest to szczególnie ważne w drzewostanach środkowej i północnej Europy, gdzie, ze względu na niższe temperatury, symptomy choroby więdnienia sosny w postaci zamierających konarów i całych drzew mogą ujawniać się po stosunkowo długim okresie czasie od momentu infekcji.

9. System monitoringu żerdzianki sosnówki i nicieni przy użyciu pułapek

9.1. Wstęp

Węgorek sosnowiec *Bursaphelenchus xylophilus*, sprawca choroby więdnienia sosen, stanowi obecnie istotne zagrożenie dla lasów Europy. Nabiera to szczególnego znaczenia w świetle zmieniającego się klimatu i wzrastającego ryzyka zawleczenia tego pasożyta na nowe obszary (Rebetez i Dobbertin 2004, Pérez i in. 2008, Sukovata i in. 2012). Polska obecnie należy do krajów wolnych od węgorka sosnowca (Karnkowski 2008, Tomalak 2010), co daje czas i możliwość dopracowania systemu monitoringu na podstawie nowej i bardziej szczegółowej wiedzy zarówno o nicieniu, jak i jego wektorach, chrząszczach z rodzaju *Monochamus* sp., a w szczególności *M. galloprovincialis*.

Pomimo podjęcia radykalnych kroków (regulacje prawne KE, np. Commission Decision 2006/133/EC) w celu likwidacji lub przynajmniej zatrzymania dyspersji *B. xylophilus* z Portugalii na kolejne obszary Unii Europejskiej, w ostatnich latach odkryto nowe ogniska występowania nicienia w Hiszpanii (EPPO 2010b, Abelleira i in. 2011), a także poza kontynentalną częścią Europy, na Maderze (European Commission 2010, Fonesca i in. 2012). Świadczy to o nieskuteczności podejmowanych działań, pomimo wdrożenia szeregu kosztownych i zakrojonych na szeroką skalę akcji (Rodrigues 2008). Wydaje się, że główną przyczyną rozprzestrzenienia pasożyta jest niewystarczający stopień przestrzegania przepisów dotyczących obróbki drewna i materiału drzewnego (np. palet) wywożonego z obszarów występowania węgorka. Na słuszność tej tezy mogą wskazywać wyniki kontroli przeprowadzonej w Portugalii przez Biuro Żywności i Weterynarii (FVO) Komisji Europejskiej oraz przypadki wykrywania nicienia w Szwecji, Finlandii i Hiszpanii w paletach importowanych z Portugalii (FVO 2008). W 2012 Komisja Europejska poprzez podjęcie kolejnej decyzji (Decyzja Wykonawcza Komisji 2012/535/EU) wprowadziła jeszcze bardziej zaostrzone przepisy w celu zapobiegania rozprzestrzenianiu się węgorka sosnowca w granicach Unii Europejskiej.

Podczas kontroli drewna i materiału drzewnego należy zwracać uwagę nie tylko na materiał pochodzący z krajów Unii Europejskiej, głównie Portugalii, ale także importowany z innych krajów, gdzie nicien ten jest obecny, np. ze Stanów Zjednoczonych czy wschodniej Azji itd. Badania 1069 próbek materiałów opakowaniowych, przeprowadzone w Finlandii w latach 2000-2004, ujawniły obecność *B. xylophilus* w 33 z nich (3%). Większość zainfekowanego materiału pochodziła ze Stanów Zjednoczonych (Contingency Plan 2007).

Obecnie jednak wiele krajów, w tym Stany Zjednoczone, Kanada, Japonia, Chiny i in., przyjęło standardy ISPM nr 15 (FAO 2009), które ograniczają, choć nie wykluczają prawdopodobieństwa zawleczenia węgorka w drewnianych materiałach opakowaniowych.

W przypadku Polski węgorek sosnowiec może przedostać się do ekosystemów leśnych jedynie za pośrednictwem jego wektora i może to nastąpić w trzech przypadkach:

- wwozu do kraju materiału drzewnego zasiedlonego jednocześnie przez nicienia i jego wektora; zainfekowany nicieniami wektor kończy rozwój, wylęga się i przedostaje do drzewostanu lub zadrzewienia, w którym występuje sosna,
- wwozu do kraju materiału zasiedlonego jedynie przez węgorka, po czym materiał ten zostaje zasiedlony przez lokalnie występujące żerdzianki; następne pokolenie zostaje zainfekowane przez stadium dyspersyjne nicienia, w następstwie czego wylęgające się chrząszcze przenoszą nicienie na rodzime drzewa,
- wwozu do kraju dorosłych osobników żerdzianki zainfekowanych przez nicienie.

Obecnie najbardziej prawdopodobny jest pierwszy z wymienionych scenariuszy, co oznacza, że głównym sposobem niedopuszczenia do pojawienia się węgorka sosnowca w Polsce jest dokładna kontrola importowanego materiału drzewnego, zwłaszcza z regionów, gdzie nicień ten już występuje.

Znaczące szkody w wyniku oddziaływania *B. xylophilus* na terenie Europy odnotowano dotąd jedynie w Portugalii. Istnieje jednak realne ryzyko zawleczenia węgorka i wystąpienia powodowanych przez niego szkód także w innych krajach. W związku z tym Komisja Europejska wymaga obecnie od każdego kraju członkowskiego UE, w którym węgorek nie został wykryty, prowadzenia corocznej kontroli jego występowania. Dotyczy to podatnych gatunków roślin, drewna, kory oraz wektorów nicienia. Kontrola polega na pobieraniu próbek każdego z wymienionych elementów do badań laboratoryjnych. Liczba próbek powinna być określona w oparciu o naukowe kryteria, z uwzględnieniem technicznych możliwości wykonania analiz (Decyzja Wykonawcza Komisji 2012/535/EU).

Wcześniej, tzn. w 2009 r., Komisja Europejska opracowała protokół monitoringu występowania węgorka sosnowca (European Commission 2009). W ślad za tym dokumentem w 2011 r. Europejska i Śródziemnomorska Organizacja Ochrony Roślin (EPPO) opublikowała wytyczne dotyczące monitoringu występowania i zwalczania nicienia (EPPO 2011), a w Polsce Główny Inspektorat Ochrony Roślin i Nasiennictwa opracował trzecie wydanie „Programu kontroli...” (GIORiN 2011). Według tych dokumentów system monitoringu powinien opierać się na kilku kluczowych elementach:

- 1) wyborze obszarów, do których zawleczenie węgorka jest najbardziej prawdopodobne,

- 2) wyborze gatunków drzew, podlegających obserwacjom i pobraniu próbek,
- 3) określeniu rodzaju i ilości materiału pobieranego do analiz.

9.2. Wybór obszarów, w których należy prowadzić monitoring

Ze względu na bardzo niskie prawdopodobieństwo wykrycia węgorka w ramach monitoringu prowadzonego na dużym obszarze, tzn. gdy liczba punktów obserwacyjnych jest duża, ale silnie rozproszona, badania należy koncentrować raczej na obszarach przyległych do tzw. „punktów podwyższonego ryzyka”, tj.:

- 1) porty morskie, lotniska i inne punkty wwozu do kraju roślin (drzew) i materiałów drzewnych, w tym opakowań, wykonanych z gatunków iglastych (oprócz drewna drzew z rodzaju *Thuja* i *Taxus*),
- 2) miejsca składowania, magazynowania, przetwarzania itp. wyżej wymienionych materiałów.

Monitoring należy prowadzić przede wszystkim na obszarach zalesionych znajdujących się w promieniu 5 km od wymienionych wyżej punktów podwyższonego ryzyka. Odległość ta wynika prawdopodobnie z możliwości dyspersyjnych dorosłych żerdzianek, chociaż obecnie brak jest szczegółowych danych na ten temat. W przypadku gdy najbliższy drzewostan znajduje się w większej odległości, powinien on także zostać uwzględniony w badaniach monitoringowych (European Commission 2009). Na omawianych terenach uwagę należy skupiać na miejscach występowania drzew iglastych osłabionych, zarówno przez czynniki abiotyczne (wiatro- i śniegołomy, okiść, pożar itp.), jak i biotyczne (konkurencja wewnątrzgatunkowa w silnie przegęszczonych drzewostanach, defoliacja drzew na skutek żeru owadów), na zrębach, na których pozostawiono pozostałości po zrębowe, oraz w miejscach prowadzenia zabiegów hodowlanych (trzebieże) w okresie rójki żerdzianki. Próbkę powinny być pobierane także w parkach, grupach drzew itp. miejscach, gdzie występują podatne gatunki sosny i które znajdują się w sąsiedztwie obszarów wymienionych w punktach 1 i 2.

Opisane powyżej obszary można uznać za „obszary podwyższonego ryzyka” i mają one najwyższy priorytet. Pozostałe tereny, gdzie występują drzewa iglaste podatne na porażenie przez węgorka i osłabione przez czynniki abiotyczne i/lub biotyczne, oraz zręby, na których pozostawiono pozostałości po zrębowe, i drzewostany, w których prowadzono zabiegi hodowlane (trzebieże), mają drugorzędne znaczenie. W zdrowych drzewostanach próbki należy pobierać jedynie wtedy, gdy w ramach monitoringu nie stwierdzono żadnych drzew/drzewostanów osłabionych (European Commission 2009).

Badania w różnych krajach wykazały, że do zamierania drzew spowodowanego przez węgorka sosnowca dochodzi tylko w rejonach, gdzie średnie temperatury powietrza w miesiącach letnich przekraczają 20°C (Rutherford i Webster 1987). Wysokie temperatury przy braku opadów i ewentualnym przegęszczeniu drzewostanów prowadzą do osłabienia kondycji drzew i spadku ich odporności na węgorka (Final Report 2007). Przeprowadzona w ramach niniejszego projektu analiza danych temperaturowych za czerwiec, lipiec i sierpień w Polsce wykazała znaczny wzrost temperatury w ostatnim dziesięcioleciu i pozwoliła na wytypowanie obszarów, gdzie należy skoncentrować działania związane z monitoringiem *B. xylophilus*. Strefa o najwyższych średnich miesięcznych temperaturach w lipcu, przekraczających próg 20°C, obejmuje centralną część kraju i rozciąga się od Piły i Leszna do Tarnowa, Sandomierza i Dębina (ryc. 5). W tej strefie monitoring powinien być bardziej intensywny, ze względu na możliwość szybkiego rozwoju węgorka i zamierania drzew w przypadku zawleczenia go do kraju.

9.3. Wybór gatunków drzew do kontroli

W wyznaczonych obszarach uwagę należy zwracać przede wszystkim na gatunki drzew podatne na porażenie przez nicienia, tzn. sosnę zwyczajną *Pinus sylvestris* L., sosnę czarną *P. nigra* Arn., sosnę wejmutkę *P. strobus* L. i sosnę nadmorską *P. pinaster* Aiton (Final Report 2007, European Commission 2009), a także inne gatunki sosen oraz modrzewia europejskiego *Larix decidua* Mill. Badania z wykorzystaniem sadzonek wykazały, że inne gatunki drzew iglastych występujących w Polsce, np. jodła pospolita *Abies alba* Mill. i świerk pospolity *Picea abies* (L.) H. Karst., są odporne i nie zamierają z powodu infekcji nicieniami *B. xylophilus* (Final report 2007). Ponieważ zdrowe drzewa nie są zasiedlane przez żerdzianki, nie stanowią one wtórnego źródła infekcji.

9.4. Rodzaj i ilość materiału pobieranego do analiz – wykorzystanie pułapek

Wytyczne odnośnie pobierania próbek drewna do analiz na obecność *B. xylophilus* zostały dość szczegółowo przedstawione w opisie procedury monitoringu tego nicienia opracowanym przez Komisję Europejską (European Commission 2009), a także GIORiN (GIORiN 2011). Należy jedynie podkreślić, że przy wyborze drzew należy kierować się objawami więdnienia/żółknięcia igieł i brakiem wycieków żywicy w miejscu zranienia drzewa. W obrębie drzew ściętych, a także na zrębach z pozostawionymi resztkami pozrębowymi, należy poszukiwać materiału zasiedlonego przez larwy żerdzianek (obecność

chodników, wysypujące się wiórki), a także fragmentów drewna z sinizną wywołaną grzybami, na których chętnie rozwijają się larwy węgorka.

W niniejszym rozdziale przedstawione zostaną możliwości wykorzystania pułapek feromonowych oraz drzew pułapkowych do monitoringu występowania nicienia. Komisja Europejska wskazuje, że w wizualnie zdrowych drzewostanach prawdopodobieństwo wykrycia węgorka jest bardzo małe i wówczas do monitoringu mogą być wykorzystane żerdzianki odłowione do sztucznych pułapek z syntetycznym atraktantem oraz drzewa pułapkowe (European Commission 2009). Wydaje się, że takie podejście może być stosowane nie tylko na terenach, gdzie brak jest wyraźnie osłabionych drzew, lecz także w każdym innym przypadku. Wynika to z dużej czaso- i pracochłonności poszukiwania materiału drzewnego zasiedlonego przez żerdzianki.

EPPO w opublikowanych wytycznych (EPPO 2011) sugeruje, że wykrywanie obecności larw *B. mucronatus*, gatunku spokrewnionego z węgorkiem sosnowcem, może służyć jako wskaźnik prawidłowego wyboru materiału (np. drewna) do analiz. Analiza wyników monitoringu przeprowadzonego w Polsce wykazała dość niską częstotliwość występowania *B. mucronatus* – średnio 0,2% w latach 2003-2005 (Karnkowski 2008) i 1,5% w latach 2010-2012 (dane GIORIN). Z podobną częstotliwością, na poziomie 0,3%, wykazywano tego nicienia w latach 2000-2006 w Norwegii (Magnusson i in. 2007). Wartości tego wskaźnika są niższe, niż w przypadku monitoringu prowadzonego w ubiegłych latach na terenie Szwecji – 2,4-5,6% (Anonymous 2002, 2006), Turcji – 3,5% (Akbulut i in. 2006) i w Niemczech – 25,6% (Schönfeld i in. 2008).

W przeprowadzonych przez nas badaniach stwierdzono znacznie większą częstotliwość wykrywania *B. mucronatus* w ciałach dorosłych żerdzianek odławianych do pułapek z atraktantem (5,3-33,8%) i jeszcze większą – w próbkach drewna pobranych ze świeżych wałków sosnowych, do których przymocowano syntetyczny atraktant na żerdziankę sosnowkę (50-62,5%). Podobny odsetek imagines żerdzianek przenoszących *B. mucronatus* wykazano w Finlandii: 24% w przypadku *M. galloprovincialis* i 14% w przypadku *M. sutor* (Tomminen 1990). W Niemczech, gdzie przeprowadzono doświadczenia z wykorzystaniem drzew pułapkowych wyłożonych w pobliżu punktów podwyższonego ryzyka: tj. tartaków, składnic, pożarzysk i zrębów, w 93,8% drzew zasiedlonych przez *M. galloprovincialis* stwierdzono nicienie *B. mucronatus*, a wśród młodych chrząszczy, które wylęgły się z zainfekowanych drzew, 74,4% było nosicielami tego nicienia (Schönfeld i in. 2008). W podobnych badaniach wykonanych we Francji odsetek drzew pułapkowych zasiedlonych przez *M. galloprovincialis*, w których następnie wykryto *B. mucronatus*, również był wysoki

(66%), a udział zainfekowanych żerdzianek po ich wylęgu z drzew wynosił maksymalnie 26,7% (Vincent i in. 2008). Wyniki te z jednej strony potwierdzają silne powiązanie *B. mucronatus* ze swoim wektorem, a z drugiej wskazują, że wykorzystanie drzew pułapkowych i dorosłych żerdzianek zwiększa prawdopodobieństwo wykrycia *B. mucronatus*, a tym samym i *B. xylophilus*. Dotyczy to szczególnie terenów, gdzie choroba może przebiegać asymptotycznie ze względu na niskie temperatury.

W przypadku stosowania pułapek feromonowych zaleca się:

- wykorzystywać pułapki lejkowe, np. IBL-3 produkcji ZD Chemipan (fot. 20a) lub innych producentów, lub pułapki krzyżakowe, np. IBL-5 produkcji ZD Chemipan (fot. 20d) lub innych producentów, z częścią chwytłą i lejkiem dolnym pokrytymi teflonem w celu zwiększenia ich śliskości. Pułapki te należy jednak udoskonalić, aby zapobiec ucieczce części odłowionych chrząszczy;
- wyposażyć pułapki w atraktant zwabiający chrząszcze żerdzianki obu płci. W przeprowadzonych badaniach największą efektywnością i stabilnością działania charakteryzował się atraktant produkowany przez hiszpańską firmę SEDQ, która opatentowała wchodzący w jego skład feromon płciowy żerdzianki sosnowki (koszt 1 atraktanta w listopadzie 2011 r. wynosił ok. 28 Euro). Ze względu na niskie odłowy w przeprowadzonych doświadczeniach, nie udało się ustalić optymalnego składu alternatywnego atraktanta, chociaż wytypowano kilka najbardziej atrakcyjnych związków, które należałoby poddać kolejnym testom;
- wywieszać pułapki w liczbie co najmniej 6 sztuk w jednym punkcie monitoringu w odległości nie mniejszej niż 20 m od siebie między drzewami sosnowymi. Pułapki powinny być odpowiednio ponumerowane. Chociaż niskie odłowy w trakcie prowadzenia badań nie pozwoliły na jednoznaczne określenie optymalnej wysokości zawieszenia pułapek, z praktycznego punktu widzenia oraz uwzględniając liczby chrząszczy odławianych do pułapek zawieszonych na różnych wysokościach, instalowanie ich na wysokości ok. 2 m wydaje się być racjonalne. Ostateczna weryfikacja tego założenia powinna zostać oparta o dodatkowe badania;
- wywieszać pułapki w okresie od maja do września i kontrolować nie rzadziej niż raz w tygodniu z uwagi na większą przydatność żywych osobników żerdzianek do analiz laboratoryjnych na obecność nicieni. Z praktycznego punktu widzenia wykonanie tego zadania wydaje się niemożliwe, dlatego sposób postępowania powinien być dostosowany do technicznych i finansowych możliwości instytucji prowadzących

monitoring. Przykładowo, pułapki mogą być stosowane w określonych interwałach czasowych, tzn. wykładane na okres 1 tygodnia co 3 tygodnie (w okresach między odłowami pojemnik zbiorczy na owady można zdejmować). Atraktant należy wymienić na nowy po 6 tygodniach od jego założenia;

- odłowione owady należy umieścić pojedynczo w odpowiednio dużych, oznakowanych pojemniczkach (np. plastikowe, zakręcane pojemniki z drobnymi otworami wykonanymi w pokrywie dla umożliwienia dopływu powietrza). Jako pokarm dla żerdzianek w pojemniku należy umieścić fragment pędu sosny (może być pozbawiony igieł). Żerdzianki należy jak najszybciej poddać analizie pod kątem obecności nicieni;
- oznaczyć w terenie miejsce wywieszenia pułapki, np. zaznaczając drzewa, między którymi pułapka została zainstalowana. Niezbędny jest monitoring stanu zdrowotnego drzew w odległości ok. 5 m od pułapki. Wynika to z faktu, iż nie wszystkie żerdzianki zwabiane atraktantem zostają odłowione. Wiele osobników przebywa na sąsiadujących drzewach, a samice podejmując próby składania jaj, wykonują liczne nacięcia na korze (fot. 19). W większości przypadków zranione miejsca są zalewane żywicą, co uniemożliwia rozwój larw żerdzianki, jednak w przypadku osłabienia drzewa może ono zostać zasiedlone, co doprowadza do jego zamierania. Drzewa z objawami żerowania larw pod korą należy ścinać i okorować przed wgryzieniem się ich do drewna. Z zasiedlonych drzew można także pobrać próbki drewna do analizy na obecność nicieni.

Do zalet stosowania efektywnych pułapek feromonowych zalicza się:

- możliwość przeprowadzenia kontroli na względnie dużej próbie żerdzianek (wektorów), a tym samym zwiększenie prawdopodobieństwa wykrycia nicienia,
- wykorzystanie w analizach chrząszczy obu płci, co jest ważne, ponieważ zarówno samce, jak i samice są nosicielami nicieni,
- łatwiejsza analiza próbek chrząszczy w porównaniu z drewnem ze względu na występowanie znacznie mniejszej różnorodności gatunkowej nicieni,
- możliwość wielokrotnego wykorzystania pułapek, co częściowo zmniejsza koszt tej metody.

Do wad wykorzystania pułapek feromonowych można zaliczyć:

- zależność efektywności pułapek od warunków pogodowych, które są jednym z istotnych czynników wpływających na aktywność żerdzianek. Niska temperatura w czasie rójki powoduje wydłużenie okresu jej trwania, a także rozwoju stadiów

przedimaginalnych – stąd duża część populacji może mieć dwuletni cykl rozwoju. W takim przypadku odłowy chrząszczy będą bardzo niskie nie tylko w roku rójki, ale także w pierwszym roku po złożeniu jaj. Taka sytuacja prawdopodobnie miała miejsce w trakcie prowadzenia badań w ramach niniejszego projektu. W 2011 r. intensywna rójka żerdzianki zaczęła się w połowie czerwca. Chłodna i bardzo deszczowa pogoda w lipcu spowodowała jednak jej wydłużenie (względnie dużo chrząszczy odławiano jeszcze we wrześniu). W 2012 r. wylęgła się jedynie niewielka część populacji, pozostałe osobniki pozostały w drewnie w postaci larwalnej. Zjawisko to może tłumaczyć niskie odłowy żerdzianek do pułapek w lipcu-sierpniu 2011 r. oraz w całym sezonie 2012 r., bez względu na zastosowany rodzaj atraktanta;

- koszty zakupu pułapek i atraktantów oraz ich zainstalowania i kontroli. Jedną z możliwości zmniejszenia kosztów atraktantów jest opracowanie alternatywnego produktu w stosunku do hiszpańskiego (jak wspomniano wyżej, same pułapki mogą być wykorzystane wielokrotnie);
- zwabianie żerdzianek do drzew znajdujących się w otoczeniu pułapki, co może prowadzić do ich zamierania (takie drzewa powinny być oznakowane i stale monitorowane). Rozwiązaniem tego problemu byłoby wywieszanie pułapek na palikach na powierzchni otwartej. Z uwagi na brak danych, które wskazywałyby czy pułapki powinny być wywieszane wewnątrz drzewostanu, na jego brzegu, czy na otwartej przestrzeni, ten aspekt wymaga dodatkowych badań.

Dodatkowe badania w ramach udoskonalenia pułapki i atraktanta oraz optymalnego miejsca jego zawieszenia są pożądane z punktu widzenia zwiększenia liczby odławianych żerdzianek, co zwiększy szansę na wczesne wykrycie obecności *B. xylophilus*.

W porównaniu do sztucznych pułapek, łatwiejszą, z organizacyjnego punktu widzenia, metodą monitoringu *B. xylophilus* wydaje się być wykorzystanie drzew lub wałków pułapkowych (pojedynczych lub po kilka sztuk, fot. 28), które mogą jednocześnie służyć do ograniczania liczebności żerdzianki:

- do wykładania nadaje się materiał z cienką korą, najlepiej o średnicy od 6 do 12 cm (Tomiczek i Hoyer-Tomiczek 2008). Drzewa przeznaczone na pułapki powinny być względnie zdrowe (bez śladów zasiedlenia przez inne owady);
- drzewa pułapkowe wyklada się w liczbie (Dominik i Starzyk 2004):
 - 6 sztuk/ha w drzewostanach II klasy wieku,
 - 2 sztuk/ha w drzewostanach starszych,

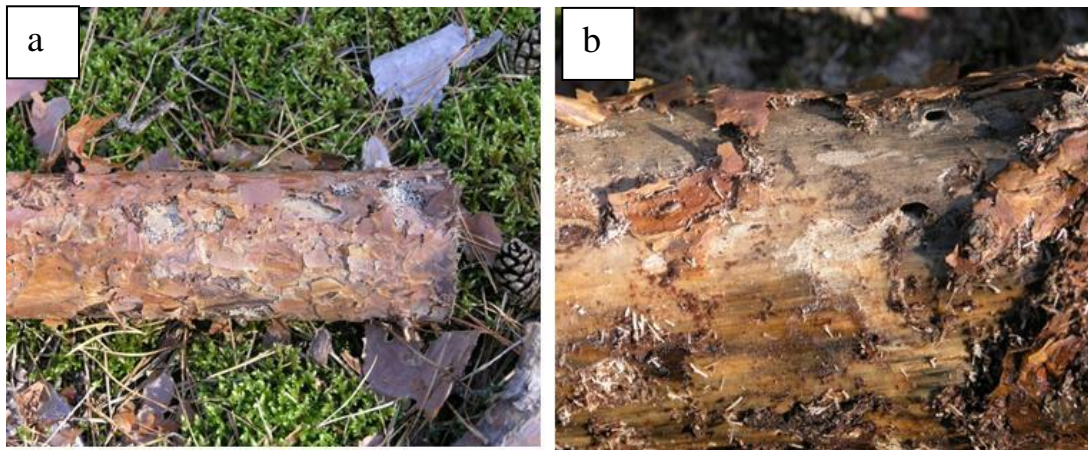


Fot. 28. Dwumetrowe wałki sosnowe wyłożone jako pułapki na żerdziankę sosnowkę

- 1-2 sztuki/100 m ściany lasu w lukach lub na obrzeżu drzewostanu.
- drzewa można przeciąć na dwumetrowe wałki i poukładać je w sposób losowy w miejscach o umiarkowanym nasłonecznieniu (w miejscach o silnym nasłonecznieniu wyłożony materiał będzie zbyt szybko wysychał). Pozostawienie korony może zwiększyć atrakcyjność drzewa pułapkowego nie tylko jako materiału lęgowego, ale także jako bazy pokarmowej do prowadzenia żeru uzupełniającego;
- w celu zwiększenia atrakcyjności wykładanego materiału w stosunku do żerdzianki, do wałków/drzew pułapkowych można przymocować syntetyczny atraktant;
- drzewa należy wykładać w dwóch-trzech seriach: pierwszą serię wyłożyć w pierwszej połowie maja i korować w końcu czerwca, drugą serię – w połowie czerwca, a więc przed korowaniem pierwszej serii, i korować w końcu lipca, trzecią serię – w połowie lipca i korować w końcu sierpnia. Drzewa powinny być okorowane najpóźniej wtedy, gdy larwy żerdzianki sosnowki rozpoczynają wgryzanie się w drewno. W trakcie korowania można pobrać próbki do badań na obecność nicieni z miejsc ze śladami żerowania larw (fot. 29).

Podstawową zaletą wykorzystania drzew/wałków pułapkowych w monitoringu węgorka sosnowca jest brak konieczności ich kontrolowania oraz możliwość jednoczesnego ich wykorzystania do ograniczania populacji żerdzianki sosnowki. Ta metoda jednak również nie jest wolna od wad, do których można zaliczyć:

- ograniczoną przestrzeń, na której żerdzianki mogą składać jaja, co może spowodować, że na jednym wałku/drzewie pułapkowym jaja złoży niewiele samic. Zawęza to potencjalną pulę osobników, które za pośrednictwem wyłożonego materiału można ocenić pod kątem zainfekowania nicieniem i zmniejsza szanse wykrycia nicienia w zasiedlonym drewnie;



Fot. 29. Trociny wysypujące się z chodników larwalnych żerdzianki sosnowki (a) oraz chodniki larwalne i otwory wejściowe larw do drewna (b)

- wykorzystanie wałków/drzew pułapkowych raczej wyklucza możliwość wykrycia nicieni przenoszonych przez samce żerdzianek. Transmisja nicieni przez samce odbywa się w trakcie prowadzenia żeru uzupełniającego, głównie na igłach i młodych pędach, a także w trakcie kopulacji z samicami, podczas gdy samice dodatkowo przenoszą nicienie do drewna podczas składania jaj;
- utrudnioną analizę próbek ze względu na występowanie dużej różnorodności gatunkowej nicieni związanych z grzybami i bakteriami rozwijającymi się w drewnie, a także przenoszonych przez inne owady-wektory;
- koszty związane z koniecznością wykładania świeżego materiału trzykrotnie w ciągu roku i konieczność powtarzania całej procedury co roku.

Ze względu na stosunkowo wysoką częstotliwość wykrywania *B. mucronatus* w ciałach żerdzianek odłowionych do pułapek oraz w próbkach drewna, dla celów monitoringowych z wykorzystaniem opisanych metod wystarczająca jest ogólnie mniejsza liczba prób. Liczbę prób, którą należałoby pobrać do analiz, aby uzyskać określone prawdopodobieństwo znalezienia *B. mucronatus*, przy założonym poziomie istotności, można obliczyć według następującego wzoru (Venette i in. 2002):

$$n = \frac{\ln(1-P(x>0))}{\ln(1-f)}$$

gdzie

n – liczba prób,

x – liczba prób z nicieniem,

P – prawdopodobieństwo stwierdzenia nicienia w 1 lub większej liczbie prób,

f – częstotliwość występowania nicienia.

W przypadku stosowania trzech różnych metod częstotliwość wykrywania tego nicienia wynosi:

- średnio 0,2% ($f_1=0,002$) przy pobieraniu prób metodą stosowaną w Polsce w latach 2003-2005 (Karnkowski 2008) i 1,5% ($f_1=0,015$) w latach 2010-2013 (wg danych GIORiN) – metoda 1,
- średnio 20% ($f_2=0,2$) przy analizie żerdzianek odłowionych do pułapek feromonowych – metoda 2,
- średnio 55% ($f_3=0,55$) przy pobieraniu prób z wałków pułapkowych – metoda 3.

Zatem liczba prób, które należy pobrać w celu wykrycia jego obecności w co najmniej jednej próbce, przy zakładanym poziomie prawdopodobieństwa 95% ($P=0,95$) w poszczególnych metodach będzie następująca:

- dla metody 1 – $n_1 = 1425$ i 198 prób drewna z różnego materiału, odpowiednio przy wykrywaniu nicienia w 0,2 i 1,5% próbek,
- dla metody 2 – $n_2 = 14$ chrząszczy żerdzianki,
- dla metody 3 – $n_3 = 4$ próby drewna z wyłożonych wałków pułapkowych.

Najbardziej dokładnymi i najmniej pracochłonnymi metodami wykrywania *B. mucronatus* są dwie ostatnie, tzn. wykorzystanie sztucznych pułapek feromonowych i wykładanie drzew/wałków pułapkowych. Proponowane metody powinny być weryfikowane w praktyce i na bieżąco dopracowywane, przy uwzględnieniu uzyskiwanych wyników, a także najnowszej wiedzy dotyczącej węgorka sosnowca i jego wektorów.

Podsumowując należy zaznaczyć, iż po ewentualnym zawleczeniu węgorka sosnowca początkowo częstotliwość jego występowania w środowisku będzie bardzo mała. Z tego względu do wczesnego jego wykrywania powinny być stosowane możliwie najbardziej precyzyjne metody. Na podstawie przeprowadzonych badań i analizy danych literaturowych można stwierdzić, że do monitoringu *B. xylophilus* w Polsce, zwłaszcza w drzewostanach, znajdujących się na obszarach podwyższonego ryzyka, może być wykorzystana metoda oparta o sztuczne pułapki feromonowe, drzewa pułapkowe lub połączenie tych dwóch metod. Na takich obszarach mogą być założone punkty monitoringu, zlokalizowane w różnych kierunkach świata względem punktów podwyższonego ryzyka.

10. Metody ograniczania liczebności populacji żerdzianek, potencjalnych wektorów *B. xylophilus*, w drzewostanach sosnowych w Polsce

10.1. Wstęp

W Polsce w drzewostanach sosnowych występują dwa gatunki żerdzianek, tj. żerdzianka sosnowka *Monochamus galloprovincialis* i żerdzianka plamista *M. saltuarius*, mogące być potencjalnymi wektorami węgorka sosnowca. Jedynie dla pierwszej z nich, jak wskazuje sama nazwa, sosna jest podstawowym drzewem żywicielskim. Drugi gatunek rozwija się głównie na świerku, a na sośnie spotykany jest sporadycznie.

W przypadku masowego występowania żerdzianki mogą wyrządzić bardzo dotkliwie szkody, zarówno pod względem biologicznym, jak i gospodarczym. Podczas zeru uzupełniającego w koronach drzew chrząszcze uszkadzają igły oraz korę młodych pędów, co prowadzi do ich obłamywania przez wiatr i przeredzenia koron. Z kolei larwy tworzą chodniki głęboko w drewnie, co prowadzi do obniżenia jakości pozyskiwanego materiału drzewnego, który często nadaje się jedynie na opał lub płyty wiórowe.

Jak dotąd jedyną dużą gradację żerdzianki sosnowki na terenie Polski odnotowano w latach 1947-1950 w borach Puszczy Zgorzeleckiej (Koehler 1961). Od tego czasu żerdzianki nie stanowiły większego problemu gospodarczego dla polskich lasów.

Znaczenie żerdzianek, a szczególnie żerdzianki sosnowki, wzrosło ponownie z chwilą stwierdzenia, że mogą być one wektorami węgorka sosnowca *Bursaphelenchus xylophilus* – nicienia powodującego zamieranie drzew iglastych, głównie różnych gatunków sosen. W związku z powyższym w Europie zarysował się nowy, ważny problem badawczy, dotyczący zapobiegania zawlekania i rozprzestrzeniania się węgorka sosnowca oraz opracowania skutecznych metod ograniczania jego populacji.

10.2. Zapobieganie zawleczeniu i rozprzestrzenianiu się węgorka sosnowca w różnych krajach

Ojczyzną węgorka sosnowca jest Ameryka Północna, gdzie nicien ten należy do gatunków pospolitych. Występuje na wielu gatunkach drzew iglastych, nie powodując ich zamierania, gdyż w układzie drzewo-nicien wytworzyły się naturalne mechanizmy odpornościowe. W zasadzie nie prowadzi się tu czynności mających na celu zmniejszenie liczebności jego populacji lub ograniczenie dyspersji. Wynika to z braku negatywnego oddziaływania nicienia na rodzime gatunki drzew, jakkolwiek stwierdzano śmiertelność

niektórych introdukowanych gatunków sosen, w tym sosny pospolitej *Pinus sylvestris*. Jedyne zabiegi pośrednio ograniczające *B. xylophilus* polegają na utrzymywaniu odpowiedniej higieny lasu i zapobieganiu nadmiernemu rozwojowi chrząszczy z rodzaju *Monochamus*, będących wektorami nicienia (Evans i in. 1996).

Inaczej kształtuje się sytuacja na terenach, gdzie *B. xylophilus* został zawleczony. W Japonii, po zawleczeniu wraz z importowanym drewnem na początku XX wieku, nicień rozprzestrzenił się prawie na cały kraj, infekując i powodując zamieranie około 25% drzew. Roczne straty oszacowano na około 2,4 mln m³ drewna, co odpowiada około 1 % całej masy drewna na pniu (Mamiya 1982, 1984). Podstawową metodą zapobiegania rozprzestrzenianiu się nicienia w Japonii było i jest usuwanie zaatakowanych drzew, choć zabiegi te z czasem zostały znacznie ograniczone, szczególnie w lasach gospodarczych, z uwagi na redukcję zatrudnienia robotników leśnych. Oprócz tego wprowadzono ograniczenia dotyczące przemieszczania drewna poza tereny objęte występowaniem nicienia. Z innych metod stosowanych w tym kraju należy wymienić wykorzystanie insektycydów do ograniczania liczebności żerdzianek, iniekcję nematocydów przeciwko *B. xylophilus* (obie metody stosowane raczej na niewielką skalę z uwagi na koszt aplikacji środków chemicznych), a także próby z wykorzystaniem naturalnej odporności niektórych gatunków sosen na infekcję przez tego pasożyta (Evans i in. 1996, Fielding i Evans 1996).

Działania na dużą skalę zmierzające do wyeliminowania *B. xylophilus* podejmowano także w Chinach, gdzie pierwsze ogniska porażonych drzew odkryto na początku lat 80. XX wieku. W krótkim czasie opracowano strategię postępowania na obszarach objętych występowaniem nicienia. Do podstawowych jej elementów należało wdrożenie przepisów kwarantannowych uniemożliwiających przemieszczanie drewna i materiałów z niego wytworzonych, a także wyznaczenie strefy izolującej obszar opanowany przez węgorka sosnowca od terenów przyległych oraz wycięcie wszystkich drzew iglastych w jej obrębie (Fielding i Evans 1996). Usunięte drewno niszczone lub poddawano fumigacji bromkiem metylu w celu zniszczenia zasiedlających je owadów i nicieni. Ponadto podjęto próby ograniczania liczebności żerdzianek za pomocą metod chemicznych (insektycydy aplikowane z powietrza) i biologicznych (wykorzystanie parazytoidów).

W Europie obecność *B. xylophilus* po raz pierwszy stwierdzono w 1984 r. w zrębkach drewna importowanych ze Stanów Zjednoczonych i Kanady do Finlandii (Rautpää 1986). Niebawem wykryto nicienie w drewnie importowanym również do innych krajów skandynawskich oraz do Francji. Powszechne występowanie na przeważającej części kontynentu zarówno gatunków drzew podatnych na porażenie, jak i wektorów *B. xylophilus*

sprawiły, że zagrożenie zawleczenia i adaptacji nicienia oraz związanego z tym wystąpienia szkód stały się realne. W związku z tym rozpoczęto opracowanie analiz ryzyka (ang. *pest risk analysis*, PRA) i zaleceń dotyczących przedstawionego problemu, opierając się na zdobytych doświadczeniach (głównie w krajach azjatyckich) i wynikach przeprowadzonych badań (Fielding i Evans 1996, Evans i in. 1996). Sformułowano wytyczne odnośnie drewna importowanego na teren Unii Europejskiej z Ameryki (Stany Zjednoczone, Kanada) i Azji (Japonia, Chiny, Korea, Tajwan). Zgodnie z nimi nieprzetworzone drewno gatunków iglastych (za wyjątkiem drewna drzew z rodzaju *Thuja*) należy poddać oddziaływaniu wysokiej temperatury tak, aby wewnętrzne jego warstwy osiągnęły co najmniej 56°C przez 30 minut. W odniesieniu do drewna w formie zrębków wprowadzono obowiązek posiadania dokumentów poświadczających przeprowadzenie fumigacji przed lub w trakcie transportu w szczelnie zamkniętych kontenerach. Materiały opakowaniowe, palety, drewno sztauerskie itp. muszą być pozbawione kory, na ich powierzchni nie powinny występować ślady obecności larw chrząszczy z rodzaju *Monochamus* (przyjęto dopuszczalną średnicę chodników nie większą niż 3 mm), zaś wilgotność drewna (wyrażona jako procent suchej masy) nie może przekroczyć 20%. Podobne wymagania powinno spełniać drewno przetworzone pochodzące z krajów nieeuropejskich, innych niż wymienione uprzednio.

Opisane działania, mające na celu zapobieżenie zawleczenia i zaaklimatyzowania się *B. xylophilus* w Europie, nie przyniosły oczekiwanego skutku – w 1999 roku natrafiono na zainfekowane przez nicienia drzewa z gatunku *Pinus pinaster* (sosna nadmorska) w Portugalii, niedaleko Lizbony (Mota i in. 1996). Za najbardziej prawdopodobne uznano zawleczenie węgorka wraz z materiałem opakowaniowym z obszaru wschodniej Azji, co zostało później potwierdzone na podstawie badań molekularnych (Metge i Burgermeister 2006, Vieira i in. 2007).

Wkrótce po wykryciu obecności pasożyta w Portugalii rozpoczęto wdrażanie procedury fitosanitarnej, znanej pod nazwą narodowego programu likwidacji węgorka sosnowca (National Eradication Programme for Pinewood Nematode, PROLUNP) (Rodrigues 2008). Podstawowym jej założeniem było uniemożliwienie dyspersji nicienia poza tzw. strefę porażenia (ang. *affected zone*), o powierzchni wynoszącej początkowo nieco ponad 300 tys. ha. Na obszarze tym wycięto wszystkie drzewa noszące objawy porażenia przez pasożyta (fot. 30), a ich drewno, wraz z gałęziami, zniszczono lub poddano obróbce gwarantującej zniszczenie nicienia i jego wektora (fot. 31). Prace prowadzono głównie w okresie jesienno-zimowym, kiedy wektor nicienia znajduje się w stadium larwalnym, tak aby

możliwie maksymalnie ograniczyć liczebność osobników dorosłych w kolejnym sezonie (Final Report 2007).



Fot. 30. Drzewostan sosny nadmorskiej *Pinus pinaster* w Portugalii po wycięciu drzew zainfekowanych przez węgorka sosnowca



Fot. 31. Zrębkowane drewno zainfekowane przez węgorka sosnowca w Portugalii

Z uwagi na kolejne stwierdzenia drzew z symptomami choroby wędnięcia sosen w coraz większej odległości od pierwotnego ogniska występowania węgorka, konieczne stało się sukcesywne poszerzanie strefy porażenia. Jednocześnie wokół niej wyznaczono strefę buforową (ang. *buffer zone*), wolną od występowania nicienia, o szerokości min. 20 km. Obie strefy razem utworzyły tzw. strefę wydzieloną (ang. *demarcated area*), której powierzchnia do 2007 r. wzrosła do ponad miliona hektarów. W zewnętrznej części strefy wydzielonej

utworzono pas wolny (ang. *clear cut belt*), o szerokości 3 km i łącznej powierzchni 130 tys. ha, w obrębie którego wycięto wszystkie drzewa iglaste (ponad 4,5 miliona drzew), zarówno zaatakowane przez *B. xylophilus*, jak i bez oznak porażenia (Rodrigues 2008). Z uwagi na wykrycie kolejnych ognisk występowania pasożyta w różnych częściach Portugalii, od 2008 roku za strefę wydzieloną uznano całą kontynentalną część tego kraju (Karnkowski i Sahajdak 2010).

Równoległe z prowadzeniem opisanych działań rozpoczęto badania nad możliwościami ograniczenia szkód powodowanych przez *B. xylophilus* za pomocą środków chemicznych (Final Report 2007). W tym celu przeprowadzano iniekcje insektycydów i nematocydów do pni drzew próbnych nie noszących oznak porażenia przez nicienie. Drzewa te kontrolowano w comiesięcznych odstępach pod względem stanu sanitarnego i zdrowotności koron. Jednocześnie pobrane z nich gałęzie podawano jako pokarm i materiał lęgowy dla żerdzianek oraz poddawano infekcji przez nicienie. Zarówno w odniesieniu do insektycydów, jak i nematocydów nie stwierdzono ich negatywnego oddziaływania względem traktowanych drzew w warunkach terenowych. Jednocześnie jednak nie wykazano negatywnego wpływu wymienionych substancji w stosunku do *B. xylophilus* i jego wektora w warunkach laboratoryjnych, co wykluczyło możliwość wykorzystania testowanych środków do walki z tym pasożytem.

Niemal jednocześnie z wykryciem węgorka sosnowca w Portugalii, w krajach skandynawskich opracowano program monitoringu lasów pod kątem wykrywania nicienia (ang. *survey programme*), a w przypadku potwierdzenia obecności – jego zwalczania (ang. *eradication programme*). W Norwegii (Sundheim i in. 2010) badania skoncentrowano na obszarach leżących w promieniu 50 km od „miejsc podwyższonego ryzyka”, takich jak punkty wwozu importowanego drewna (łącznie wyznaczono 10 takich punktów). Inaczej niż w przypadku Portugalii, gdzie wyszukiwano drzewa porażone przez *B. xylophilus* na podstawie wizualnej oceny ich zdrowotności, procedurę wykrywania nicienia oparto na analizie próbek drewna. Próbki pobierano z miejsc zasiedlonych przez żerdzianki w obrębie wierzchołkowej części strzały i grubszych gałęzi (>5 cm) z drzew ściętych w ramach prowadzonych zabiegów gospodarczych (zręby, cięcia pielęgnacyjne). Nicienie ekstrahowano z próbek, a następnie identyfikowano na podstawie cech morfologicznych i z wykorzystaniem analiz genetycznych. W przypadku pozytywnego wyniku badań na obecność *B. xylophilus* planowano usunięcie i zniszczenie wszystkich drzew iglastych w promieniu 3 km od miejsca jego wykrycia. Dodatkowo, wokół tego obszaru powstałaby strefa o szerokości 17 km, w której niezbędne byłoby przeprowadzenie intensywnych poszukiwań nicienia w próbkach

drewna (3000 próbek). W praktyce, w warunkach południowo-wschodniej Norwegii wykrycie nicienia oznaczałoby konieczność wycięcia jednorazowo, najczęściej zrębem zupełnym, około 2,7 miliona drzew. W przypadku wykrycia innych ognisk występowania węgorka sosnowca całą procedurę należałoby powtórzyć w analogiczny do opisanego sposób.

Do oceny efektywności opisaną powyżej procedurę wykrywania i zwalczania *B. xylophilus* w Norwegii wykorzystano teoretyczny model (Økland i in. 2010). Uwzględniono w nim szereg parametrów, takich jak struktura lasów, dostępność miejsc rozwoju wektorów, cechy biologii żerdzianek, liczba analizowanych corocznie próbek drewna, powierzchnia przewidywana do wycięcia w przypadku wykrycia nicienia itp. Przyjęto scenariusz, w którym inwazja nicienia odbywa się jednorazowo na teren południowo-wschodniej Norwegii wraz z importowanym drewnem lub poprzez zawleczenie zainfekowanych wektorów. W następstwie tego dochodzi do infekcji drewna i rodzimych populacji wektora (dwóch gatunków żerdzianek związanych z sosną w Skandynawii: *Monochamus sutor* i *M. galloprovincialis*). W następnym kroku przeprowadzono symulacje, obejmujące okres 20 lat od momentu hipotetycznego zawleczenia nicienia. Uzyskane wyniki w dużym stopniu podważyły zasadność przyjętych procedur wykrywania *B. xylophilus*. Oszacowano, że liczba skontrolowanych próbek drewna (ponad 3100 próbek w latach 2000-2006) reprezentowała zaledwie około 0,02% liczby miejsc dogodnych do zasiedlenia przez żerdzianki, a tym samym potencjalnych miejsc występowania nicienia. W związku z tym prawdopodobieństwo wykrycia węgorka sosnowca w pierwszych latach jest bardzo niskie i osiąga poziom zaledwie 1% dopiero w czwartym roku od momentu zawleczenia. Przeciętnie pierwsze wykrycie miałoby miejsce dopiero po ponad 14 latach, a ponieważ wzrost liczby zaatakowanych drzew miał charakter wykładniczy, wykrycia te często dotyczyły kilku oddalonych od siebie obiektów. Z tego powodu nawet usunięcie wszystkich drzew w promieniu 3 km od porażonego drzewa nie dawało gwarancji całkowitego wyeliminowania nicienia. Prawdopodobieństwo zlikwidowania *B. xylophilus* z wykorzystaniem opracowanego w Norwegii planu zwalczania oceniono jako niskie (około 3,5%).

Analiza dotychczasowych sposobów zwalczania węgorka sosnowca w różnych krajach oraz strategii postępowania w Norwegii i Szwecji (Sundheim i in. 2010, Schroeder 2012), przy uwzględnieniu wyników przeprowadzonych symulacji (Økland i in. 2010), pozwala wnioskować, że wszystkie działania mające na celu zwalczanie węgorka sosnowca w przypadku jego zawleczenia na nowe obszary powinny koncentrować się na: 1) wczesnym wykryciu nicienia, 2) niedopuszczeniu do jego rozprzestrzenienia się poprzez maksymalne ograniczenie liczebności populacji wektorów, tzn. chrząszczy z rodzaju *Monochamus*.

Propozycje dotyczące możliwości zwiększenia prawdopodobieństwa wczesnego wykrycia węgorka zastały zawarte w rozdziale 8 niniejszego sprawozdania.

10.3. Metody ograniczania liczebności populacji żerdzianek

Dotychczas nie stwierdzono obecności węgorka sosnowca w Polsce, jednak jego zawleczenie na teren naszego kraju jest prawdopodobne ze względu na wzrost importu drewna i materiałów drzewnych. Istnieją przesłanki świadczące o możliwości zadomowienia się i dyspersji nicienia w środowisku w przypadku jego introdukcji. W wielu rejonach kraju panują obecnie warunki klimatyczne umożliwiające rozwój węgorka i powstanie szkód w wyniku jego oddziaływania na zaatakowane drzewa (Sukovata i in. 2012). Dominującym gatunkiem drzewa w Polsce jest sosna pospolita, cechująca się bardzo wysoką podatnością na infekcję przez tego pasożyta. Jednocześnie pozostawianie w ostatnich latach większych ilości martwego drewna w ramach ochrony bioróżnorodności w lasach sprzyja tworzeniu korzystnych warunków do rozwoju żerdzianek, będących podstawowymi wektorami węgorka sosnowca. W najbliższych latach można się zatem spodziewać wzrostu liczebności populacji żerdzianek i jednocześnie wzrostu prawdopodobieństwa szybkiego rozprzestrzenienia się węgorka sosnowca w kraju.

Podstawową metodą niedopuszczenia do powstania opisanego powyżej zjawiska lub spowolnienia jego tempa są zabiegi dążące do utrzymania niskiej liczebności populacji żerdzianek. Może to zostać osiągnięte poprzez działania profilaktyczne, polegające na utrzymaniu wysokiego poziomu stanu sanitarnego drzewostanów, tj. bieżącym usuwaniu i terminowym wywozie z lasu wyrobionego drewna oraz wszelkiego materiału zasiedlonego lub przydatnego do zasiedlenia przez żerdzianki. Działania te powinny być prowadzone przede wszystkim w drzewostanach znajdujących się na obszarach podwyższonego ryzyka (patrz rozdział 9, punkt dotyczący obszarów, w których należy prowadzić monitoring). Do materiału lęgowego można zaliczyć: pozostałości zrębowe, w tym wierzchołki drzew, gałęzie o grubości ponad 2 cm (przy uwzględnieniu możliwości występowania żerdzianki plamistej) i wałki sosnowe z cienką korą, posusz, złomy, wywroty, drzewa silnie osłabione i obumierające oraz uszkodzone przez pożar czy inne czynniki abiotyczne. Gdy wywóz materiału nie jest możliwy, niezasiedlone drewno należy okorować przed rozpoczęciem rójki żerdzianki, a drewno już zasiedlone oraz drobny materiał lęgowy zrębkować lub ewentualnie spalić.

Drugą metodą ograniczania liczebności populacji żerdzianek jest wykładanie drzew pułapowych z cienką (łuszczącą się, przeważnie o żółtej barwie) korą, w miejscach o

umiarkowanym nasłonecznieniu. Opis czynności przedstawiono w rozdziale 9, w punkcie dotyczącym wykorzystania pułapek, w tym także drzew pułapkowych.

W aspekcie potencjalnego zwalczania węgorka sosnowca zgodnie z przepisami UE, polegającego na usuwaniu zrębami zagrożonych drzewostanów w przypadku wykrycia niciania, opisane wyżej zabiegi profilaktyczne są znacznie tańsze i wykonalne z technicznego punktu widzenia.

11. Podsumowanie

1. Węgorek sosnowiec *Bursaphelenchus xylophilus* jest nicieniem porażającym różne gatunki drzew iglastych, szczególnie sosen, powodując chorobę wędnięcia.
2. Ojczyzną węgorka sosnowca jest Ameryka Północna, gdzie gatunek ten nie wyrządza istotnych szkód.
3. W XX wieku węgorek sosnowiec został zawleczony z importowanym drewnem do Japonii, a następnie do innych krajów wschodniej Azji. W 1999 r. wykryto go w Europie w Portugalii, w 2008 r. w Hiszpanii, a w 2009 r. poza kontynentalną częścią Europy, na Maderze. W ramach dotychczas przeprowadzonych badań gatunek ten nie został stwierdzony w Polsce.
4. Węgorek sosnowiec rozprzestrzenia się za pośrednictwem żerdzianek *Monochamus* sp. W Europie jedynym znanym wektorem węgorka jest żerdzianka sosnówka *M. galloprovincialis*. Potencjalnym wektorem nicienia w Europie może być także żerdzianka plamista *M. saltuarius*, jak to ma miejsce we wschodniej Azji. W naszym kraju gatunek ten jest stosunkowo rzadko spotykany i występuje głównie na świerku, a na sośnie spotykany jest sporadycznie.
5. W ramach przeprowadzonych badań nie stwierdzono preferencji pokarmowych imagines żerdzianki sosnówki pod względem pędów pobranych z drzew różniących się pod względem liczby kanałów żywicznych w igłach.
6. Najważniejszym czynnikiem sprzyjającym występowaniu i rozwojowi węgorka sosnowca jest wysoka temperatura powietrza w lipcu i sierpniu (powyżej 20°C). Przyczynia się ona do osłabienia drzew i sprzyja rozmnażaniu się patogena. Przeprowadzone analizy danych meteorologicznych wykazały, że w ostatnich latach takie warunki panują w centralnej części Polski, na obszarze rozciągającym się od Piły i Leszna do Dębina, Sandomierza i Tarnowa..
7. Jedną z metod wykrywania węgorka sosnowca może być analiza żerdzianek pod kątem obecności nicienia wewnątrz ich ciała. Metodą pozyskiwania dużych ilości żerdzianek do analiz są odłowy do sztucznych pułapek z atraktantami.
8. W trakcie badań największe odłowy imagines żerdzianki sosnówki uzyskiwano w pułapkach z atraktantem produkcji hiszpańskiej, o składzie: α -pinen, ipsenol, metylobutenol i 2-undecyloksy-1-etanol (feromon płciowy). W ramach poszukiwania nowych związków wabiących największą atrakcyjnością dla żerdzianek charakteryzowały się: nonanal, 4-metoksybenzoesan metylu, pentadeka-2-on, γ -terpinen i trans-werbenol.

9. Wśród testowanych typów pułapek najbardziej efektywną okazała się pułapka lejkowa typu IBL-3 i pułapka krzyżakowa typu IBL-5 z częściami chwytными i dolnym lejkiem pokrytymi teflonem w celu zwiększenia śliskości tych elementów.
10. Ze względu na małe odłowienia nie udało się jednoznacznie określić wpływu wysokości zawieszenia pułapek na liczbę odławianych imago.
11. W ciałach żerdzianek odłowionych do pułapek stwierdzono obecność larw nicieni z rzędu Aphelenchida i Rhabditida. Dominującym gatunkiem nicieni był *Bursaphelenchus mucronatus*, spokrewniony z patogenicznym *B. xylophilus*. Jego liczebność w ciałach żerdzianek wahała się od 1 do około 19500 szt./imago.
12. Porównawcze badania składu gatunkowego nicieni wyekstrahowanych z żerdzianek odłowionych do pułapek i z drewna sosnowego zasiedlonego przez żerdzianki wykazały znacznie większe zróżnicowanie gatunkowe nicieni w próbkach drewna. W drewnie, oprócz *B. mucronatus*, występowały także inne nicienie z rodzaju *Bursaphelenchus*, np. *B. pinophilus*, *B. piniperdae* i *B. leoni*, przenoszone przez korniki i smoliki zasiedlające ten sam materiał lęgowy co żerdzianka. Poza tym, wykazano obecność różnych gatunków nicieni grzybo- i bakteriożernych.
13. W przeprowadzonych przez nas badaniach częstotliwość wykrywania *B. mucronatus* w analizowanym materiale była wysoka: od 5,3 do 33,8% w ciałach dorosłych żerdzianek odławianych do pułapek feromonowych i od 50 do 62,5% w próbkach drewna pobranych ze świeżych wałków sosnowych zasiedlonych przez żerdziankę. Poziom wykrywania *B. mucronatus* pośrednio odzwierciedla dokładność metody, którą stosuje się w monitoringu występowania *B. xylophilus*.
14. Ze względu na ciągłe ryzyko zawleczenia węgorka sosnowca do Polski i małe prawdopodobieństwo zwalczania po jego zadomowieniu się, wszelkie wysiłki powinny być skierowane na: 1) wczesne wykrycie w importowanym materiale drzewnym i niedopuszczenie do zawleczenia, 2) wczesne wykrycie w przypadku jego przedostania się do ekosystemów leśnych, 3) maksymalne ograniczenie możliwości zadomowienia się poprzez ograniczenie liczebności populacji żerdzianek, wektorów węgorka.
15. Kontrolę importowanego materiału drzewnego koordynuje i wykonuje Państwowa Inspekcja Ochrony Roślin i Nasiennictwa. Wytyczne dotyczące sposobu jej prowadzenia są zawarte w dokumentach Komisji Europejskiej (European Commission 2009), Europejskiej i Śródziemnomorskiej Organizacji Ochrony Roślin (EPPO 2011) i Głównego Inspektoratu Ochrony Roślin i Nasiennictwa (GIORiN 2011).

16. Wczesne wykrycie węgorka sosnowca w przypadku przedostania się do ekosystemów leśnych powinno się opierać na monitoringu prowadzonym na obszarach leśnych położonych w promieniu 5 km od punktów podwyższonego ryzyka, tzn. portów morskich, lotnisk i innych punktów wwozu importowanego materiału drzewnego, miejsc jego składowania, magazynowania, przetwarzania itp. Do tych obszarów, oprócz terenów leśnych, należą także parki i inne zadrzewienia, w których występują gatunki drzew iglastych podatne na infekcję. Monitoring powinien być bardziej intensywny w centralnej części Polski, gdzie występują warunki klimatyczne sprzyjające rozwojowi węgorka.
17. Na obszarach podwyższonego ryzyka, oprócz poszukiwania i pobierania próbek drewna zasiedlonego przez żerdzianki, do monitoringu można wykorzystać pułapki feromonowe i drzewa pułapkowe, które zwiększają prawdopodobieństwo wykrycia węgorka.
18. Maksymalne ograniczenie możliwości zdomowienia się węgorka sosnowca można osiągnąć poprzez ograniczenie liczebności populacji żerdzianek, przy zastosowaniu dwóch metod. Pierwsza z nich polega na działaniach profilaktycznych, polegających na utrzymaniu wysokiego poziomu stanu sanitarnego lasów poprzez usuwanie z lasu wszelkiego materiału zasiedlonego oraz przydatnego do zasiedlenia przez żerdzianki, tj. pozostałości zrębowe, w tym wierzchołki drzew, gałęzie o grubości ponad 2 cm (przy uwzględnieniu możliwości występowania żerdzianki plamistej) i wałki sosnowe z cienką korą, posusz, złomy, wywroty, drzewa bardzo osłabione i obumierające oraz uszkodzone przez pożar czy inne czynniki abiotyczne. Druga metoda polega na wykładaniu drzew pułapowych do zwabiania żerdzianek. Na drzewa pułapkowe stosuje się materiał z cienką (łuszczącą się, przeważnie o żółtej barwie) korą. Drzewa wykładać należy się w miejscach o umiarkowanym nasłonecznieniu. Zasiedlony materiał należy korować przed wgryzieniem się larw do drewna. Drzewa pułapkowe mogą być jednocześnie wykorzystane do monitoringu występowania węgorka.
19. Szczegółowe wytyczne dotyczące postępowania w przypadku wykrycia węgorka sosnowca w krajach Unii Europejskiej zawiera Decyzja Wykonawcza Komisji 2012/535/EU z dnia 26 września 2012.

Literatura

- Abeleira A., Picoaga A., Mansilla J.P., Aguin O. 2011. Detection of *Bursaphelenchus xylophilus*, causal agent of pine wilt disease on *Pinus pinaster* in Northwestern Spain. *Plant disease*, 95 (6): 776.
- Akbulut S., Vieira P., Ryss A., Yuksel B., Keten A., Mota M., Valadas V. 2006. Preliminary survey of the pinewood nematode in Turkey. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 36: 538–542
- Anonymous 2002. Report on the Pine Wood Nematode Survey in Sweden 1 November 2001-31 October 2002. Swedish Board of Agriculture Report, 3 pp.
- Anonymous 2006. Report on the Pine Wood Nematode Survey in Sweden 1 November 2005-31 October 2006. Swedish Board of Agriculture Report, 3 pp.
- Bidas M. 2002. Kózkowate (*Cerambycidae*, *Coleoptera*) Gór Świętokrzyskich. *Rocznik Świętokrzyski, Seria B – Nauki Przyrodnicze*, 28: 19–38.
- Bilczyński S. 1974. Szkodniki wtórne drzew iglastych. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa, 240 pp.
- Braasch H. 2001. *Bursaphelenchus* species in conifers in Europe: distribution and morphological relationships. *EPPO Bulletin*, 31: 127-142.
- Braasch H., Tomiczek C., Metge K., Hoyer U., Burgermeister W., Wulfert I., Schönfeld U. 2001. Records of *Bursaphelenchus* spp. (Nematoda: Parasitaphelenchidae) in coniferous timber imported from the Asian part of Russia. *Forest Pathology*, 31: 129-140.
- Brzeski M. W. 1997. Opracowanie metody oceny zagrożenia drzewostanów przez niczenie z rodzaju *Bursaphelenchus*: (sprawozdanie końcowe). Muzeum i Instytut Zoologii PAN, Warszawa.
- Brzeski M. W., Brzeski J. 1997. Survey of *Bursaphelenchus* (Nematoda: Aphelenchoididae) species in pine wood of Poland. *Fragm. Faun.* 40, 10/15:103-109.
- Brzeski M.W., Baujard P. 1997. Morphology and morphometrics of *Bursaphelenchus* (Nematoda: Aphelenchoididae) species from pine wood of Poland. *Annales Zoologici*, 47: 305-319.
- Burakowski B., Mroczkowski M., Stefańska J. 1990. Chrząszcze – Coleoptera, Cerambycidae i Bruchidae. *Katalog fauny Polski*. PWN, Warszawa, XXIII, 15, 312 pp.
- Burgermeister W., Metge K., Braasch H., Buchbach E. 2005. ITS-RFLP patterns for differentiation of 26 *Bursaphelenchus* species (Nematoda: Parasitaphelenchidae) and observations on their distribution. *Russian Journal of Nematology*, 13: 29-42.
- Cesari M., Marescalchi O., Francardi V., Mantovani B. 2004. Taxonomy and phylogeny of European *Monochamus* species: first molecular and karyological data. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 43 (1): 1-7.
- Commission Decision 2006/133/EC of 13 February 2006 requiring Member States temporarily to take additional measures against the dissemination of *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhner) Nickle i in. (the pine wood nematode) as regards areas in Portugal, other than those in which it is known not to occur. *Official Journal L* 52, 23.2.2006: 34-38
- <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:052:0034:0038:EN:PDF>
- Contingency Plan, 2007. Pine wood nematode. Finnish Safety Authority Evira, Plant Protection, Helsinki.

- Danilevsky M.L. 2012. Additions and corrections to the new Catalogue of Palaearctic Cerambycidae (Coleoptera) edited by I. Löbl and A. Smetana, 2010. Part. III. *Munis Entomology & Zoology*, 7 (1): 109-173.
- Decyzja Wykonawcza Komisji 2012/535/EU z dnia 26 września 2012 w sprawie środków nadzwyczajnych zapobiegających rozprzestrzenianiu się w Unii organizmu *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhner) Nickle et al. (węgorzek sosnowiec). *Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej*, L 266, 2.10.2012, 42-52.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2012:266:0042:0052:PL:PDF>
- Dominik J., Starzyk J.R. (red.) 2004. Owady uszkadzające drewno. PWRiL, Warszawa, 550 pp. + 200 fotografii.
- EPPO 2010a. Isolated finding of *Bursaphelenchus xylophilus* in Spain. EPPO Reporting Service, 2010/051, nr3: 2.
- EPPO 2010b. First record of *Bursaphelenchus xylophilus* in Galicia (Spain). EPPO Reporting Service, 2010/202, nr 11: 3.
- EPPO 2011. *Bursaphelenchus xylophilus* and its vectors: procedures for official control. EPPO Bulletin, 41: 377–384.
- European Commission 2009. EU Pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* survey protocol. Health and Consumers Directorate General. Brussels.
- European Commission 2010. Report of the Commission working group on emergency measures to eradicate pine wood nematode from the Maderian outbreak. Brussels.
- Evans, H.F., McNamara, D.G., Braasch, H., Chadoeuf, J., Magnusson, C. 1996. PEST Risk Analysis (PRA) for the territories of the European Union (as PRA area) on *Bursaphelenchus xylophilus* and its vectors in the genus *Monochamus*. *Bull. OEPP*. 26, 2: 199-249.
- FAO 2009. Revision of ISPM No 15. Regulation of wood packaging material in international trade. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome
- Ferris V.R., Ferris J.M., Faghihi J. 1993. Variation in spacer ribosomal DNA in some cyst-forming species of plant-parasitic nematodes. *Fundamental and Applied Nematology*, 16: 177-184.
- Fielding N.J., Evans H.F. 1996. The pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhner) Nickle (= *B. lignicolus* Mamiya at Kiyohara): an assessment of the current position. *Forestry*, 69 (1): 35–46.
- Filipiak A., Jakubowska A., Tomalak M. 2007. Przydatność pojedynczych osobników do identyfikacji taksonomicznej kwarantannowego nicienia (*Bursaphelenchus xylophilus*). *Progress in Plant Protection*, 47 (1): 222-227.
- Filipiak A., Tomalak M. 2010. Analysis of intraspecific DNA sequence variation among Polish isolates of *Bursaphelenchus mucronatus*. 30th International Symposium of the European Society of Nematologists, Vienna, September 19-23, 2010. *Proceedings*, 175.
- Final Report, 2007. Development of improved pest risk analysis techniques for quarantine pests, using pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, in Portugal as model system. PHRAME – Plant Health Risk And Monitoring Evaluation. Final Report, July 2007, 246 s. [www.forestry.gov.uk/pdf/PHRAMEJuly07.pdf/\\$FILE/PHRAMEJuly07.pdf](http://www.forestry.gov.uk/pdf/PHRAMEJuly07.pdf/$FILE/PHRAMEJuly07.pdf)

- Fonseca L., Cardoso J.M.S., Lopes A., Pestana M., Abreu F., Nunes N., Mota M., Abrantes I. 2012. The pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, in Madeira Island. *Helmintologia*, 49 (2): 96–103.
- Francardi V., de Silva J., Pennacchio F., Roversi P.F. 2009. Pine volatiles and terpenoid compounds attractive to European xylophagous species, vectors of *Bursaphelenchus* spp. *Nematodes. Phytoparasitica*, 37: 295-302.
- FVO - Food and Veterinary Office (2008) Final report of a mission carried out in Portugal from 02 June to 06 June 2008 in order to assess the implementation of Commission decision 2006/133/EC and the national eradication programme for *Bursaphelenchus xylophilus* (Pine wood nematode). DG SANCO/2008/7991–MR–Final.
- GIORiN 2011. Program kontroli w celu zapobiegania wprowadzeniu i rozprzestrzenieniu się węgorka sosnowca (*Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhner) Nickle) (Nematoda: Parasitaphelenchidae) na terytorium Polski. Wydanie 3. GIORiN, Warszawa, 15 s.
- Górski P. 2004. Kózkowate (Coleoptera: Cerambycidae) Warszawy. *Kulon*, 9 (2): 185-200.
- Gutowski J.M. 1995a. Changes in communities of longhorn and buprestid beetles (Coleoptera: Cerambycidae, Buprestidae) accompanying the secondary succession of the pine forests of Puszcza Białowieska. *Fragmenta Faunistica*, 38 (20): 389-409.
- Gutowski J.M. 1995b. Kózkowate (Coleoptera: Cerambycidae) wschodniej części Polski. *Prace Instytutu Badawczego Leśnictwa, Seria – A*, 811: 3-190 + wkładka.
- Gutowski J.M., Kubisz D., Buchholz L. 2005. Chrząszcze (Coleoptera) drzewostanów sosnowych w Borach Tucholskich. [W:] Bory Tucholskie III. Zasoby i ich ochrona. K. Gwoździński (red.), Wydawnictwo Uniwersytetu Łódzkiego, Łódź, 114-135.
- Gutowski J.M. 2006. Chrząszcze kózkowate i bogatkowate (Coleoptera: Cerambycidae, Buprestidae) rezerwatu leśno-stepowego „Bielinek” nad Odrą oraz jego okolic. *Parki Narodowe i Rezerwaty Przyrody*, 25 (1): 31-64.
- Gutowski J.M., Kubisz D., Sućko K., Zub K. 2010. Sukcesja saproksylicznych chrząszczy (Coleoptera) na powierzchniach pohuraganowych w drzewostanach sosnowych Puszczy Piskiej. *Leśne Prace Badawcze*, 71 (3): 279-298.
- Gutowski J.M., Zieliński S., Biwo T. 2011. Longhorn beetles (Coleoptera: Cerambycidae) of Romincka Forest. *Nature Journal*, 44: 145-171.
- Ibeas F., Gallego D., Diez J.J., Pajares J.A. 2007. An operative kairomonal lure for managing pine sawyer beetle *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera: Cerambycidae). *J. Appl. Entomol.*, 131 (1): 13-20.
- Jikumaru S., Togashi K. 1995. A weak deleterious effect of the avirulent pinewood nematode, *Bursaphelenchus mucronatus* (Nematoda: Aphelenchoididae), on the longevity of its vector, *Monochamus saltuarius* (Coleoptera: Cerambycidae). *Applied Entomology and Zoology*, 30: 9-16.
- Jikumaru S., Togashi K. 2001. Transmission of *Bursaphelenchus mucronatus* (Nematoda: Aphelenchoididae) by *Monochamus saltuarius* (Coleoptera: Cerambycidae). *Nematology*, 3: 325-333.
- Karnkowski W. 2008. Official survey for *Bursaphelenchus xylophilus* carried out on the territory of the Republic of Poland. [In:] *Pine Wilt Disease: A Worldwide Threat to Forest Ecosystems* (eds M.M. Mota and P. Vieira), Springer Netherlands: 75-81.

- Karnkowski W., Sahajdak A. 2010. Występowanie węgorka sosnowca *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhrer, 1934, Nickle, 1970) w Portugalii i Hiszpanii – zagrożeniem dla lasów iglastych w Europie. *Progress in Plant Protection / Postępy w Ochronie Roślin*, 50 (3): 1260–1264.
- Klausnitzer B. 2001. Die Larven der Käfer Mitteleuropas. 6. Band. Polyphaga Teil 5. Spektrum Akademischer. Verlag Heidelberg, Berlin. 309 pp.
- Koehler W. 1961. Patologia i ochrona lasu. PWRiL, Warszawa.
- Kozłowski M. 2003. Rodzime i egzotyczne żerdzianki, *Monochamus* spp. (Coleoptera, Cerambycidae), jako wektory węgorka sosnowca, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Sylwan*, 147, 1: 24-34.
- Kubisz D., Stolzmann P., Grabowski G. 1991. Owady kambio- i ksylofagiczne rezerwatu „Modrzyna” na Przełęczy Dukielskiej (Beskid Niski). *Parki Narodowe i Rezerwaty Przyrody*, 10 (1-2): 93-101.
- Kubisz D., Hilszczański J. 1992. Fauna kózkowatych (Coleoptera, Cerambycidae) Beskidu Niskiego. *Wiadomości Entomologiczne*, 11 (2): 73-79.
- Kulinich O.A., Kruglic I.A., Eroshenko A.S., Kolosova N.V. 1994. Occurrence and distribution of the nematode *Bursaphelenchus mucronatus* in the Russian Far East. *Russian Journal of Nematology*, 2: 113-119.
- Linit M.J. 1988. Nematode-vector relationships in the pine wilt disease system. *Journal of Nematology*, 20: 227-235.
- Löbl I., Smetana A. 2010. Catalogue of Palaearctic Coleoptera, vol. 6. Apollo Books, Stenstrup, 924 pp.
- Magnusson C., Thunes K.H., Nyeggen H., Overgaard H., Rafoss T., Haukeland S., Brurberg M.B., Rasmussen I., Strandenaes K.-A., Økland B., Hammeraas B. 2007. Surveillance of pine wood nematode (PWN) *Bursaphelenchus xylophilus*. *Bioforsk Report*, 2 (104), 27 p.
- Mamiya Y. 1982. Pine wilt and pine wood nematode: historical aspects of disease development. [In:] *Proceedings of the 3rd International Workshop on the Genetics of Host-parasite Interactions in Forestry* (eds. M.M. Heybroek, B.R. Stephan and K. von Weissenberg). Centre for Agricultural Publishing and Documentation (Pudoc), Wageningen, 153-160.
- Mamiya Y. 1984. The pine wood nematode. [In:] *Plant and insect nematodes* (ed. W.R. Nickle), Marcel Dekker Inc., New York, 589-626.
- Mamiya Y., Enda N. 1979. *Bursaphelenchus mucronatus* n. sp. (Nematoda: Aphelenchoididae) from pine wood and its biology and pathogenicity to pine trees. *Nematologica*, 25: 353-361.
- Metge K., Burgermeister W. 2006. Intraspecific variation in isolates of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) revealed by ISSR and RAPD fingerprints. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 113 (6): 275–282.
- Michalcewicz J. 2010. Materiał lęgowy kózkowatych (Coleoptera: Cerambycidae) w Tenczyńskim Parku Krajobrazowym na Wyżynie Krakowskiej. *Acta Agraria et Silvestria*, 48: 41-59.
- Miłkowski M. 2004. Kózkowate Cerambycidae (Coleoptera) Puszczy Kozienskiej. *Kulon*, 9 (1): 81-116.

- Mokrzycki T. 2001. Próba waloryzacji starszych drzewostanów Puszczy Białowieskiej metodą zoindykacyjną na przykładzie chrząszczy (*Coleoptera*) powierzchni pni. [W:] Próba szacunkowej waloryzacji lasów Puszczy Białowieskiej metodą zoindykacyjną. Szujecki A. (red.), Wyd. SGGW, Warszawa, 267-317 ss.
- Mota M., Braasch H., Bravo M.A., Penas A.C., Burgermeister W., Metge K., Sousa E. 1999. First report of *Bursaphelenchus xylophilus* in Portugal and in Europe. *Nematology*, 1: 727-734.
- Najbar B. 1998. Kózkowate (*Coleoptera: Cerambycidae*) Ziemi Lubuskiej. *Przegląd Przyrodniczy*, 9 (4): 49-75.
- Naves P.M., Camacho S., de Sousa E.M., Quartau J.A. 2007. Transmission of the pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* through feeding activity of *Monochamus galloprovincialis* (Col., Cerambycidae). *Journal of Applied Entomology*, 131 (1): 21-25.
- Naves P.M., Sousa E., Rodrigues J.M. 2008. Biology of *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera, Cerambycidae) in the pine wilt disease affected zone, southern Portugal. *Silva Lusitana* 16 (2): 133-148.
- Økland B., Skarpaas O., Schroeder M., Magnusson C., Lindelöw Å., Thunes K. 2010. Is eradication of the Pinewood Nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*) likely? An evaluation of current contingency plans. *Risk Analysis*, 30 (9): 1424–1439.
- Pajares J.A., Ibeas F., Díez J.J., Gallego D. 2004. Attractive responses by *Monochamus galloprovincialis* (Col., Cerambycidae) to host and bark beetle semiochemicals. *J. Appl. Entomol.*, 128 (9-10): 633-638.
- Pajares J., Alvarez G., Ibeas F., Gallego D., Hall D.R., Farman D.I. 2010. Identification and field activity of a male-produced aggregation pheromone in the pine sawyer beetle, *Monochamus galloprovincialis*. *J. Chem. Ecol.*, 36 (6): 570-583.
- Pérez G., Díez I.I., Ibeas F., Pajares J.A. 2008. Assessing pine wilt disease risk under climate change scenario in northwestern Spain. [In:] *Managing Forest Ecosystems: the challenge of climate changes* (eds. F. Bravo, V. LeMay, R. Jandl, K. Von Gadow). Vol. 17. Springer Science +Business Media B.V.: 269-282.
- Plavilščíkov N.N. 1958. Žuki drovoseki. Č. 3. Podsemejstvo *Lamiinae*. Č. 1. [W:] *Fauna SSSR. Nasekomyje žestkokrylye*. T. 23, vyp. 1. Izd. AN SSSR, Moskva – Leningrad.
- Plewa R. 2008. Rozsiedlenie chrząszczy z rodziny kózkowatych (Coleoptera, Cerambycidae) na terenie Rezerwatu "Wysokie Bagno" w Puszczy Białowieskiej. *Parki Narodowe i Rezerwaty Przyrody*, 27 (2): 87-105.
- Plewa R., Kolk A., Sukovata L., Jaworski J. 2011. Nowe stanowiska *Monochamus saltuarius* (Gebler, 1830) (Coleoptera: Cerambycidae) w Polsce. *Wiadomości Entomologiczne*, 30(4): 267.
- Rautpää J. 1986. Experiences with *Bursaphelenchus xylophilus* in Finland. *EPPO Bulletin*, 16: 453–456.
- Rebetez M., Dobbertin M. 2004. Climate change may already threaten Scots pine stands in the Swiss Alps. *Theoretical and Applied Climatology*, 79:1-9
- Rodrigues J. 2008. National eradication programme for the pinewood nematode in Portugal. [In:] *Pine wilt disease: a worldwide threat to forest ecosystems* (eds M. Mota, P. Vieira). Springer Netherlands: 5–14.

- Rutherford T.A., Webster J.M. 1987. Distribution of pine wilt disease with respect to temperature in North America, Japan, and Europe. *Canadian Journal of Forest Research*, 17: 1050-1059.
- Rutherford T.A., Mamiya Y., Webster J.M. 1990. Nematode-induced pine wilt disease: factors influencing its occurrence and distribution. *Forest Science*, 36: 145-155.
- Sato H., Sakuyama T., Kobayashi M. 1987. Transmission of *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhner) Nickle (Nematoda, Aphelenchoididae) by *Monochamus saltuarius* (Gebler) (Coleoptera, Cerambycidae). *Journal of the Japanese Forestry Society*, 69 (12): 492-496.
- Schönfeld U., Braasch H., Burgermeister W., Bröther H. 2008. Investigations on wood-inhabiting nematodes of the genus *Bursaphelenchus* in pine forests in the Brandenburg Province, Germany. [In:] *Pine wilt disease: A worldwide threat to forest ecosystems* (eds M.M. Mota, P. Vieira). Springer Netherlands: 69-74.
- Schroeder M. 2012. Strategies for detection and delimitation surveys of the pine wood nematode in Sweden. *Rapport 2012:4, Jordbruksverket*, 34 p.
- Schroeder L.M., Magnusson C. 1992. Transmission of *Bursaphelenchus mucronatus* (Nematoda) to branches and bolts of *Pinus sylvestris* and *Picea abies* by the cerambycid beetle *Monochamus sutor*. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 7: 107-112.
- Seinhorst J.W. 1959. A rapid method for the transfer of nematodes from fixative to anhydrous glycerin. *Nematologica*, 4: 67-69.
- Sláma M.E.F. 1998. Tesaříkovití – *Cerambycidae*. (Brouci – *Coleoptera*). České republiky a Slovenské. Tercie, Krhanice, 383 pp.
- Stamps W., Linit M.J. 1998. Neutral storage lipid and exit behaviour of *Bursaphelenchus xylophilus* fourth-stage dispersal juveniles from their beetle vectors. *Journal of Nematology*, 30: 255-261.
- Sukovata L., Kolk A., Jaworski T., Plewa R. 2012. The risk of pine wilt disease in Poland. *Folia Forestalia Polonica, series A*, 54 (1): 42-47.
- Sundheim L., Økland B., Magnusson C., Solberg B., Rafoss T. 2010. Pest risk assessment of the Pine Wood Nematode (PWN) *Bursaphelenchus xylophilus* in Norway – Part 2. Opinion of the Plant Health Panel of the Scientific Committee for Food Safety. 21 pp. VKM, Oslo, Norway.
- Szujecki A. (red.) 1995. *Entomologia leśna. Tom II*. Wydawnictwo SGGW, Warszawa, 408
- Togashi K., Jikumar S. 1996. Horizontal transmission of *Bursaphelenchus mucronatus* (Nematoda: Aphelenchoididae) between insect vectors of *Monochamus saltuarius* (Coleoptera: Cerambycidae). *Applied Entomology and Zoology*, 31 (2): 317-320.
- Togashi K., Taga Y., Iguchi K., Aikawa T. 2008. *Bursaphelenchus mucronatus* (Nematoda: Aphelenchoididae) vectored by *Monochamus urussovi* (Coleoptera: Cerambycidae) in Hokkaido, Japan. *Journal of Forest Research*, 13: 127-131.
- Tomalak M. 2010. Niczenie z rodzaju *Bursaphelenchus* Fuchs, 1937 w Polsce. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin*, 50 (4): 1752-1761.
- Tomalak M., Filipiak A. 2010. Description of *Bursaphelenchus populi* sp. n. (Nematoda: Parasitaphelenchidae), a new member of the *xylophilus* group from aspen, *Populus tremula* L., in Europe. *Nematology*, 12: 399-416.

- Tomalak M., Welch H.E., Galloway T.D. 1988. Interaction of parasitic nematode *Parasitorhabditis oldhami* (Nematoda: Aphelenchoididae) and a bacterium in Dutch Elm Disease vector, *Hylurgopinus rufipes* (Coleoptera: Scolytidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 52: 301-308.
- Tomalak M., Welch H.E., Galloway T.D. 1989a. Pathology of *Aphelenchoides pityokteini* (Nematoda: Aphelenchoididae) in the Malpighian tubules of *Pityokteines sparsus* (Coleoptera Scolytidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 53: 140-141.
- Tomalak M., Welch H.E., Galloway T.D. 1989b. Parasitism of *Parasitorhabditis obtusa* and *P. autographi* (Nematoda: Rhabditidae) in the digestive tract of their bark beetle (Coleoptera: Scolytidae) hosts. *Journal of Invertebrate Pathology*, 53: 57-63.
- Tomiczek C., Hoyer-Tomiczek U. 2008. Biology studies relevant to the vector role of *Monochamus* species for pine wood nematode. [In:] *Pine Wilt Disease: A Worldwide Threat to Forest Ecosystems* (eds M.M. Mota and P. Vieira), Springer Netherlands:215-220.
- Tomiczek C., Braasch H., Burgermeister W., Metge K., Hoyer U., Brandstetter M. 2003. Identification of *Bursaphelenchus* spp. isolated from Chinese packaging wood imported to Austria. *Nematology*, 5: 573-581.
- Tomminen J. 1990. Presence of *Bursaphelenchus mucronatus* (Nematoda: Aphelenchoididae) fourth dispersal stages in selected conifer beetle in Finland. *Silva Fennica*, 24: 273-278.
- Venette R.C., Moon R.D., Hutchison W.D. 2002. Strategies and statistics of sampling for rare individuals. *Annual Review of Entomology*, 47: 143-174.
- Vieira P., Burgermeister W., Mota M., Metge K., Silva G. 2007. Lack of Genetic Variation of *Bursaphelenchus xylophilus* in Portugal Revealed by RAPD-PCR Analyses. *Journal of Nematology*, 39 (2): 118–126.
- Vincent B., Koutroumpa F., Altemayer V., Roux-Morabito G., Gevar G., Martin C., Lieutier F. 2008. Occurrence of *Bursaphelenchus mucronatus* (Nematoda; Aphelenchoididae) in France and association with *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera: Cerambycidae). *Annals of Forest Science*, 65: 111/1-9.
- Vrain T.C. 1993. Restriction fragment length polymorphism separates species of the *Xiphinema americanum* group. *Journal of Nematology*, 25: 361-364.
- Weißbecker B., Schröder T., Apel K.-H., Schütz S. 2006. Perception of host odours by forest pests: comparison of a wood breeding beetle (*Monochamus galloprovincialis*) and bark breeding beetle (*Phaenops cyanea*). *Mitt. Dtsch. Ges. Allg. Angew. Ent.*, 15: 235-238.
- Wolny S. 1995. *Bursaphelenchus xylophilus* (STEINER & BUHRER) (węgorzek sosnowiec) potencjalnym zagrożeniem borów sosnowych w Europie środkowej i północnej. *Mater. Sesji Nauk. IOR. Sesja 35, cz.1*: 256-265.