

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Katedra biologických disciplín

Studijní program: Zemědělská specializace

Studijní obor: Biologie a ochrana zájmových organizmů

Diplomová práce

**Stabilní izotopy uhlíku v letokruzích smrku jako
marker napadení stromu patogenní houbou**

Autor práce: Bc. Lucie Necudová

Vedoucí práce: RNDr. Jiří Květoň, CSc.

Konzultant práce: doc. Ing. Jiří Šantrůček, CSc.

Únor 2014

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že v souladu s §47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce a to v nezkrácené podobě (v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou JU) elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích, 29. 11. 2013

Podpis:

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala mému vedoucímu RNDr. Jiřímu Květoňovi, CSc. za vedení práce. Další mé díky patří panu doc. Ing. Jiřímu Šantrůčkovi, CSc. za jeho ochotu a rady. Také děkuji Mgr. Lád'ovi Markovi za provedení včasných analýz vzorků a ostatním členům katedry, kteří mi byli vždy nápomocni, když jsem to potřebovala. A v neposlední řadě děkuji své rodině a přátelům za jejich pomoc, podporu, porozumění a lásku.

SOUHRN

Stromy jsou dlouho žijící rostliny, které pro svůj růst využívají uhlík ze vzduchu, vodík a kyslík z půdní vody. Tyto složky ukládají do dřeva, kde zůstávají uchovány po tisíciletí. Růst stromu je ovlivněn prostředím, ve kterém roste, a to zejména teplotou a srážkami. Tyto faktory mají vliv na stomatální vodivost a rychlost fotosyntézy, která rozhoduje o složení stabilních izotopů uhlíku ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) ve dřevě stromu. Tato práce porovnává zastoupení stabilních izotopů uhlíku v letokruzích smrku napadeného václavkou a ve smrku, který nejeví známky napadení. Hypotéza práce je založena na rozdílné frakcionaci izotopů uhlíku během fotosyntézy u napadeného a „zdravého“ smrku. Rozdílná izotopová frakcionace je u napadeného smrku způsobena vodním deficitem, který václavka ve stromu vytváří. Napadený smrk se snaží zabránit úbytku vody tak, že uzavře průduchy, a to vede k vyšší hodnotě $\delta^{13}\text{C}$ v letokruzích způsobenou limitací CO_2 . Analýza stabilních izotopů uhlíku (IRMS) byla provedena v letokruzích čtyř párů smrků, kdy každý pár obsahoval smrk napadený václavkou a smrk, který nejevil známky napadení. Byl analyzován poměr izotopů uhlíku u jarního dřeva, letního dřeva a celého ročního přírůstku. Na základě předpokládané hypotézy nebyl nalezen jednoznačný rozdíl v izotopovém složení mezi napadenými smrkami a smrkami, které nejeví známky napadení.

Klíčová slova:

václavka smrková, smrk ztepilý, stabilní izotopy uhlíku, $\delta^{13}\text{C}$ v letokruzích, vývrt dřevní hmoty

SUMMARY

Trees are long living plants, which use carbon from the air, hydrogen and oxygen from soil water for their growth. They set these components into a wood where these components can stay for thousands of years. Tree growth is influenced by environment, especially of temperature and precipitation. These factors have an effect on stomatal conductance and photosynthetic rate which effect on carbon isotope ratio ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) in the tree tissue. This thesis is focus on stable carbon isotopes in tree-rings of Norway spruce attacked by honey mushroom, and Norway spruce which doesn't show any signs of disease. The hypothesis of the thesis is based on a difference carbon isotope fractionation during photosynthesis between an attacked spruce by honey mushroom and a "healthy" spruce. The difference of isotope fractionation in the attacked spruce is caused by water deficit which makes honey mushroom disease in the tree. The attacked spruce is trying to defend against water loss through closed stomata, and it leads to higher $\delta^{13}\text{C}$ value in tree-rings caused by limitation of CO_2 . The stable carbon isotope analysis (IRMS) was done on tree-rings of four spruce pairs, each pair included an attacked spruce and spruce doesn't show any signs of disease. It was measured the carbon isotope ratio of early wood, late wood and whole annual increment. On the basis of assumed hypothesis wasn't found any unique difference in isotopic composition between the attacked spruces and the spruces which don't show any signs of disease.

Key words:

Honey mushroom, Norway spruce, stable carbon isotopes, $\delta^{13}\text{C}$ in tree-rings, tree core sample

OBSAH

SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ	7
1 ÚVOD.....	8
2 TEORETICKÁ ČÁST	
2.1 Smrk ztepilý [<i>Picea abies</i> (L.) Karsten], původ, výskyt, popis, význam.....	9
2.2 Dřevní hmota, letokruhy.....	10
2.3 Václavka smrková [<i>Armillaria ostoyae</i> (Romagn.) Herink], výskyt, životní cyklus, popis, ochrana porostů, význam	12
2.4 Izotopy prvků	19
2.4.1 Stabilní izotopy	19
2.4.2 Izotopy uhlíku	20
2.4.3 Frakcionace uhlíku v rostlinách	20
2.4.4 Intra-anuální vzor $\delta^{13}\text{C}$ v letokruzích	22
2.5 Pohoří Beskydy	24
3 METODIKA	
3.1 Materiál	26
3.2 Příprava vzorků na analýzu IRMS	28
3.3 Zpracování dat	29
4 VÝSLEDKY	
4.1 Výsledky analýzy IRMS	30
4.2 Použití kinetického frakcionačního modelu	46
5 DISKUZE.....	49
6 ZÁVĚR.....	54
7 LITERATURA	55
8 PŘÍLOHA	61

SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

IRMS	izotopová poměrová hmotnostní spektrometrie (z anglického Isotope Ratio Mass Spectrometry)
δ	„malá delta“, relativní izotopový poměr, který je dán rozdílným poměrem množství těžšího a lehčího izotopu ve vzorku a standardu
$\delta^{13}\text{C}$	relativní izotopový poměr izotopů uhlíku
^{13}C	těžší izotop uhlíku s nukleonovým číslem 7
^{12}C	lehčí izotop uhlíku s nukleonovým číslem 6
IAEA	Mezinárodní agentura pro atomovou energii (z anglického The International Atomic Energy Agency)
BDP	Pee Dee Belemnite, standard používaný pro IMRS uhlíku
VBDP	Vienna Pee Dee Belemnite nový standard pro IMRS uhlíku, který byl stanoven po vyčerpání PDB
GPS	globální družicový polohový systém (z anglického Global Positioning System)

1 ÚVOD

Stanovení izotopového složení vzorku pomocí metody izotopové poměrové hmotnostní spektrometrie (IRMS) je široce využíváno ve vědě více jak 70 let. Nejčastěji se můžeme setkat z analýzou IRMS, která sleduje poměr složení izotopů uhlíku ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$), kyslíku ($^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$), dusíku ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) a vodíku ($\text{D}/^1\text{H}$) v přírodních materiálech.

Václavka smrková (*Armillaria ostoyae*) má v přirozeném lesním ekosystému funkci saprofága. Je-li lesní porost fyziologicky oslaben, vlivem nepříznivých podmínek pro růst (např. letní přísušky), začne se václavka chovat jako parazit. Smrk ztepilý (*Picea abies*) je původní evropskou dřevinou a jednou z nejdůležitějších hospodářských dřevin. Jeho zastoupení v přirozeném lesním porostu by u nás mělo být 11 %, kvůli jeho hospodářskému významu však činí přes 50 %. Tím dochází ke vzniku smrkových monokultur, které jsou pak velmi náchylné na onemocnění a rozvoj patogenů, například již zmíněnou václavkou. Problematika napadání smrkových porostů václavkou je v posledních letech velmi aktuální, zejména ve střední Evropě.

Ve své práci porovnávám stabilní izotopy uhlíku v letokruzích smrku, který je napaden patogenem václavky spolu se smrkem, který nejeví známky napadení. Na izotopovém složení dřeva ve stromech (v letokruzích) se značnou měrou podílí přírodní podmínky (počasí), které ovlivňují fyziologické funkce stromu.

Hypotézy práce:

- Parazitické chování václavky zanechá na smrku stopu v izotopové frakcionaci stabilních izotopů uhlíku (^{13}C , ^{12}C) ve dřevě v jednotlivých letokruzích.

Cíle práce:

- Provéřit, zda se napadení smrku patogenní houbou projeví na zastoupení stabilních izotopů uhlíku (^{13}C , ^{12}C) v dřevní hmotě.
- Sledovat variabilitu izotopového složení dřevní hmoty v jednotlivých letech života stromu.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Smrk ztepilý [*Picea abies* (L.) Karsten], původ, výskyt, popis, význam

Smrk ztepilý (*Picea abies*) patří podle systematického zařazení do oddělení rostlin jehličnatých (*Pinophyta*), řádu borovicotvaré (*Pinales*), čeledě borovicovité (*Pinaceae*) a rodu smrk (*Picea*) (Musil a Hamerník 2007). Rod *Picea* zřejmě pochází z Asie (zde je popsáno 22 druhů). V Evropě rostou původně pouze tři druhy smrku. Smrk se z Asie rozšiřoval dvěma hlavními směry, západním (do západní Asie, Evropy a Sibíře) a východním (do severní Ameriky). Při posledním zalednění se přirozené rozšíření smrku ztepilého omezilo do několika oblastí v Evropě a vytvořilo se veliké refugium ve středním Rusku (Longauer *et al.* 2010). V Evropě je dnes smrk rozšířen na severu, východě a jihovýchodě až k pohoří Ural. Přirozeným výskytem smrku jsou polohy od 700 do 1 000 m n. m. U nás roste smrk nejvýše na Sněžce (1 550 m n. m.) (Musil a Hamerník 2007).

V současné době je smrk ztepilý u nás nejrozšířenější dřevinou. Jeho zastoupení v lesním porostu činí 53,3 % (Žárník a Křístek 2007). V přirozeném zastoupení by měl smrk tvořit 11,2 %. Jeho doporučené zastoupení je 36,5 % (Musil a Hamerník 2007). Rozsáhlým pěstováním smrku vznikají monokultury, v nichž vznikají škody, které způsobuje zvěř svým okusem a dochází k velkému rozvoji chorob a škůdců (Úradníček *et al.* 2001). Zejména lýkožrouta (podčeleď brouků *Scolytinae*), bekyně mnišky (*Lymantria monacha*) a houbových chorob (Musil a Hamerník 2007). U nás se přirozeně vyskytuje jen subspecie *abies* (Skalický a Skalická 1997).

Smrk ztepilý je mohutný strom, který dorůstá do výšky až 50 m a obvod kmene dosahuje 1,5 m (Musil a Hamerník 2007). Je náročný na světlo a vlhkost. Už méně je náročný na teplotu, která souvisí s délkou vegetačního období. Proto je smrk schopný růst ve vysokých polohách na našich horách (Žárník a Křístek 2007). Dožívá se věku 200-300 let, v kulturních porostech přibližně 160 let (Křivánek 2009). Kmen je štíhlého tvaru a jsou značně vyvinuté kořenové náběhy (Koblížek 2006). Kořenový systém je plochý a postrádá hlavní kořen (Skalický a Skalická 1997). Je málo zakotvený, proto velmi snadno podléhá vývratu při silném větru. Smrky koření v hloubce 10-30 cm. Kořenový rádius je často třikrát až čtyřikrát větší

než rádius než rádius koruny. Smrk ze začátku roste pozvolně, pak se růst zrychluje a kulminuje kolem 40. roku života, končí ve 100 letech (Musil a Hamerník 2007).

Mykorhiza je jedna z nejdůležitějších forem symbiózy na zemi a vyskytuje se u více jak 95 % cévnatých rostlin (Vančura 2009). Smrky, buky a duby jsou nejdůležitějšími stromy boreálních a temperátních lesů v Evropě. U těchto druhů se vyskytuje druh mykorhizy, který se nazývá ektomykorhiza (Taylor 2000). Ektomykorhizní houby nepronikají přímo do buněk hostitele, ale vytváří speciální útvary, které umožňují látkovou výměnu mezi symbiotickými organizmy (Martinková *et al.* 2005).

Dřevo smrku je bezjaderné a stejnorodé. Používá se jako stavební materiál, zpracovává se na papír a palivo (Úradníček *et al.* 2001). Mlaziny smrků se používají na vánoční stromky (Musil a Hamerník 2007). V okrasném zahradnictví nalezneme mnoho kultivarů smrku (Větvička 1999).

2.2 Dřevní hmota, letokruhy

Dřevo se skládá z organických (95 %) a anorganických složek (5 %) (Martinková *et al.* 2005). V sušině dřevin nalezneme přibližně 45 % uhlíku, 42 % kyslíku, 6 % vodíku a 1,6 % dusíku. Dřevina přijímá uhlík z atmosféry ve formě CO₂ (Urban *et al.* 2011).

Dřevo je biomolekulární sloučenina složená z vláken, která slouží jako vnitřní opěra. Tato opěra má vliv na fyzikální a mechanické vlastnosti dřeva (Martinková *et al.* 2005). Ve smrkovém dřevě tvoří největší podíl celulóza (45,6 %), hemicelulóza (27,6 %) a lignin (26,9 %). Celulóza vytváří hlavní složku a strukturu buněčných stěn dřeva. Hemicelulóza umožňuje spojení mezi celulózou a ligninem (Martinková *et al.* 2005). Lignin zpevňuje celulózové molekuly (Požgaj *et al.* 1997). Chemické složení dřeva není stejné pro všechny dřeviny a ani pro dřeviny stejného druhu (Pettersen 1984).

Uprostřed kmene se nalézá centrální dřev (Martinková *et al.* 2005). Na příčném řezu kmene můžeme pozorovat dvě barevná zbarvení, které vytváří jádro (duramen) a běl (splint). Hlavní funkce bělu je vedení vody a uskladňování zásobních látek. Jádrové dřevo zajišťuje stabilitu kmene svými mechanickými vlastnostmi, trvanlivost a odolnost proti hnilobám (Požgaj *et al.* 1997).

Dřevo smrku není rozlišeno na jádro a běl, jako je tomu u většiny dřevin. Toto dřevo nazýváme vyzrálé. Vyzrálé dřevo má nažloutlou barvu s dobře zřetelnými jarními a letními letokruhy. Pryskeřičné kanálky jsou viditelné pouze na svislém řezu. Smrkové dřevo se řadí mezi dřeva měkká a lehká. Jeho průměrná hustota za absolutně suchého stavu je 430 kg.m^{-3} (Matovič 1992). Jarní dřevo má hustotu 200 kg.m^{-3} a letní 600 kg.m^{-3} (Požgaj *et al.* 1997). Vyzrálé dřevo smrku má za syrového stavu po obvodu tmavší barvu, která představuje část bělovou (Matovič 1992). Tmavá barva je způsobena větším obsahem vody než ve středové zóně, kterou tvoří zralé dřevo. Po vyschnutí dřeva se barevné rozdíly ztrácí mezi oběma zónami (Požgaj *et al.* 1997). Smrky rostoucí v nižších polohách mají měkké dobře štípatelné dřevo, na horách je tomu naopak (Skalický a Skalická 1997).

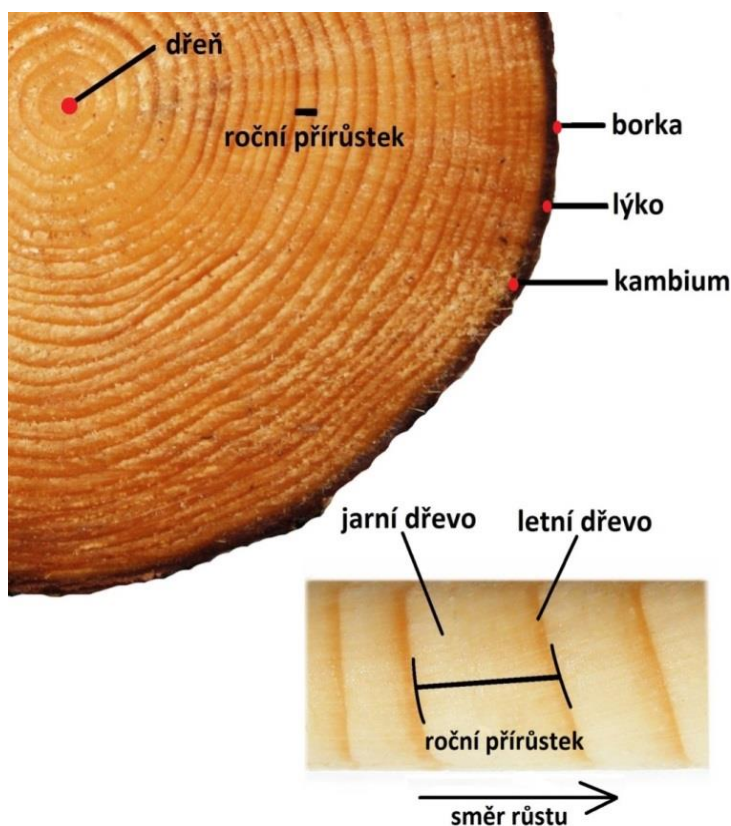
Dřevo je od vnějšího prostředí odděleno vrstvami buněk, které obecně nazýváme kůrou. Kůru tvoří dělivá pletiva kambium a felogen. Kambium produkuje směrem dovnitř druhotné dřevo (xylém) a směrem ven druhotné lýko (floém). Vně felogen odděluje zkorkovatělé buňky a dovnitř tenkostěnné zelené buňky. Kvůli rychlému růstu kmene se na korku vytváří praskliny. Kork postupně odumírá, a tak vytváří borku (rhytidoma) (Požgaj *et al.* 1997).

V našem podnebném pásmu, kdy se střídají čtyři roční období, můžeme dobře rozlišit jednotlivé letokruhy. V tropickém a subtropickém pásmu, kde je delší nebo celoroční vegetační období, nejsou letokruhy příliš rozlišeny a jedná se o tzv. přírůstové vrstvy (Matovič 1992).

Šířka letokruhů závisí na druhu stromu a za jakých podmínek roste. Také v různých částech stromu se přírůstky liší. Ve větvích jsou obvykle menší než na kmeni (Požgaj *et al.* 1997). Letokruhy se začínají tvořit na jaře, kdy se začnou dělit a diferencovat mateřské buňky lýka a dřeva (Martinková *et al.* 2005). Kambium se nachází mezi kůrou a dřevem (Požgaj *et al.* 1997) a bylo vytvořeno již na podzim z kambiálních iniciál. Na jaře se aktivita kambia začne postupně šířit po celém kmeni a jako poslední je aktivováno kambium v kořenovém systému. Na podzim stejným způsobem jeho činnost ustává (Martinková *et al.* 2005).

Na jaře začne kambium nejdříve produkovat mateřské buňky dřeva, a až poté lýka. Růst je velmi rychlý a buňky mají tenké stěny. Hlavní funkce tohoto dřeva je vodivá. V pozdějším letním období je činnost kambia utlumena a vytváří se tlustostěnné dřevní buňky. Jejich hlavní funkce je mechanická a obranná (např. před šířením parazitů). Přírůst za celý rok označujeme jako letokruh, který se skládá ze

světlejšího jarního dřeva a tmavšího letního dřeva (Martinková *et al.* 2005). Když je růst narušen, zejména extrémním suchem v období jara, tak vznikají růstové vlny, které vytváří tzv. nepravé letokruhy (Požgaj *et al.* 1997).



Činnost kambia je závislá na vegetačním období, tudíž je v zimním období kambium nečinné (Votrubová 1996). Největší aktivita kambia je od poloviny června do poloviny srpna. Za toto období se může vytvořit i 75 % celkového ročního přírůstku (Požgaj *et al.* 1997).

Obrázek 1: Kmen smrku ztepilého na příčném řezu a detail ročního přírůstku.
Zdroj: Necudová L. (2013).

2.3 Václavka smrková [*Armillaria ostoyae* (Romagn.) Herink], výskyt, popis, životní cyklus, ochrana porostů, význam

Patogenní houba, která napadá smrkové porosty na zkoumané lokalitě v Beskydech, byla určena jako václavka smrková [*Armillaria ostoyae* (Romagn.) Herink].

Václavka patří do říše hub (*Fungi*), třídy stopkovýtrusých (*Basidiomycetes*), řádu lupenotvarých (*Agaricales*), čeledi *Agaricaceae* a rodu václavka (*Armillaria*) (Soukup 2007). Poprvé byla popsána jako václavka obecná (*Agricus melleus*) dánským botanikem Martinem Vahlem v roce 1766 (Baumgartner *et al.* 2011). Rod václavka (*Armillaria*) je celosvětově rozšířen a je důležitou součástí lesního ekosystému, kde přežívá ve formě patogenů a saprofágů (Pildain *et al.* 2010). Václavka se vyskytuje od tundry přes tropické lesy kolem rovníku, včetně

australského kontinentu a jihu Patagonie (Keča a Solheim 2006). Tento rod čítá kolem 40 morfologických druhů, ale na základě testů DNA byl objeven značný počet biologických druhů (Baumgartner *et al.* 2011). Naše dřívější literatura se zmiňuje pouze o václavce obecné (*Armillaria mellea*), která byla uváděna jako velmi proměnlivý druh houby s prstenem. V 70. a 80. letech minulého století bylo rozlišeno pět druhů václavek s prstenem a další dva druhy bez prstenu, které se vyskytují v Evropě. Všechny sedm evropských druhů roste i u nás (Antonín a Tomšovský 2010).

Václavky mají velmi široké hostitelské spektrum (Jankovský *et al.* 2005). Byly nalezeny u více jak 600 rostlinných hostitelských druhů. Jejich hlavními hostiteli jsou stromy, ale můžeme je nalézt u zemědělských plodin (vinná réva, brambory a obilniny) (Soukup 2005) i stromových kapradin (Jančařík a Jankovský 1999). Výjimkou je snad václavka rašelinná (*Armillaria ectypa*), která se vyskytuje pouze na rašeliništích (Keča a Solheim 2006). U nás je tento druh zařazen mezi kriticky ohrožené druhy (Jančařík a Jankovský 1999).

Některé druhy václavek jsou schopné pomocí specializovaných enzymů bioluminiscence. Na rozdíl od jiných druhů hub, kterým světélkují plodnice, václavkám světélkuje podhoubí (mycelium) (Mihail 2013). Ztrouchnivělé dřevo, které je prorostlé myceliem vydává v noci namodralé světlo (Balabán a Kotlaba 1970).

Mykorrhiza mezi stromy a václavkami nikdy nebyla zcela jasně prokázána (Jankovský 1997). Ale je znám symbiotický vztah václavek s orchidejemi rodu *Galeola* a *Gastrodia* (Baumgartner *et al.* 2011).

O václavce můžeme hovořit jako o jednom z nejdéle žijících a největších organismů, který žije na naší planetě. V USA ve státě Michigan byla pozorována václavka hlíznatá (*Armillaria bulbosa*) rostoucí na rozloze nejméně 15 ha, o váze 10 000 kg a její stáří je odhadováno na více než 1 500 let (Smith *et al.* 1992).

Funkci patogenu zastává václavka na nevhodně osazených plochách, kde působí jako parazitická dřevokazná houba (Jančařík a Jankovský 1999). Na stanovištích s přirozenou skladbou, např. v klimaxových lesích, se vyskytuje václavka jako saprofyt a druhotný parazit (Longauerová *et al.* 2010). Hlavní funkcí václavky je v lesním ekosystému dekompozice dřevní hmoty (Jančařík a Jankovský 1999). Václavky způsobují bílou hnilobu, která pomocí specializovaných enzymů (např. lakkázy a polyfenoloxidázy) mineralizuje dřevní hmotu. Při rozkladu dřeva

vznikají humusové kyseliny (Jankovský 1997). Bílá hniloba působí na dřevo tak, že zvětšuje svůj objem, snižuje hmotnost a jeho tvrdost klesá (Jankovský *et al.* 2005).

Václavka napadá poraněné i neporaněné živé kořeny svým specializovaným myceliem (Balabán a Kotlaba 1970). Toto mycelium se skládá z rhizomorf, což jsou černé provazcovité kořeny (Jankovský 1997). Rhizomorfy postupně pronikají v kořenovém systému do lýkové části, následně do dřevných a pryskyřičných kanálků. Ve vyzrálém dřevě se posléze vytváří mycelium, které pomocí enzymů dřevo rozkládá (Jankovský 1997) a odumřelou dřevní tkáň využívá jako zdroj výživy (Baumgartner *et al.* 2011). Václavky vytváří ve stromu vodní deficit, který vede k uvadání až ztrátě jehlic a redukcí přírůstu (Jančařík a Jankovský 1999). Po smrti hostitele václavka přetrvává a zhostí se úlohy saprofága (Baumgartner *et al.* 2011).

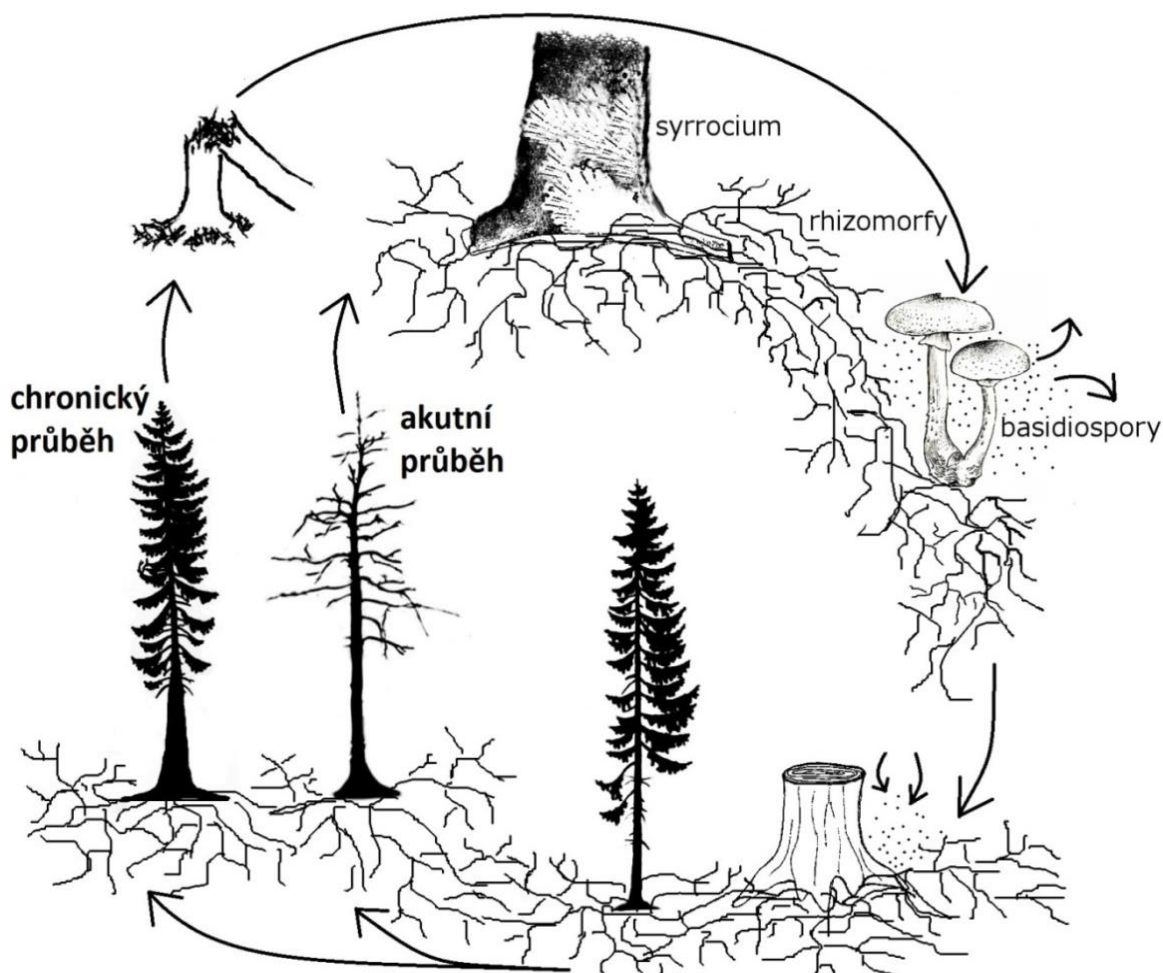
Václavka se v přírodě šíří generativní a vegetativní cestou. Generativním způsobem pomocí výtrusů (basidiospory), které okamžitě klíčí v dostatečně vlhkém prostředí (Soukup 2005). Basidiospory se šíří vzduchem a většinou infikují pařezy. Vzdušnou cestou se šíří i na vzdálenost 100 km (Vasaitis *et al.* 2008). Basidiospory mají zřejmě omezenou dobu klíčivosti a schopnost přetrvávat nepříznivé období. Z tohoto důvodu se více uplatňuje vegetativní způsob rozmnožování, který probíhá pomocí rhizomorf (Soukup 2005). Patogeny kolonizují primárně pařezy a odkud se dále šíří do okolí. V pařezech a kořenovém systému dokáže václavka přežít celá desetiletí (Vasaitis *et al.* 2008). Patogen se pomocí rhizomorf šíří půdou poměrně rychle, více jak 1 m za rok (Cooke a Rayvner 1984).

Václavky způsobují infekce nazývané *armillariózy* (Jankovský 2005). Napadení stromu václavkou je pozorovatelné, až když se objeví příznaky (Balabán a Kotlaba 1970), to už strom umírá (Černý 1989). V počátku se napadení projevuje zkrácenými letorosty a barevnou změnou jehlic, které mají šedo zelenou barvu. Jehlice postupem času začnou zasychat, zhnědnou a opadnou (Soukup 2004). Dalšími průvodními znaky napadení václavkou je ronění pryskyřice (smolotok) na kmeni stromu (Jankovský 1997). Pod kůrou napadených stromů se objevuje bílý povlak, další druh mycelia, tzv. syroccium. Syroccium se rozrůstá od kořenů a postupuje k bázi kmene (Balabán a Kotlaba 1970), kde může růst do výšky až 5 m. A v neposlední řadě, jako důkaz o napadení stromu nalézáme plodnice václavek (Černý 1989).

U stromů napadených václavkou se vyskytují dva hlavní průběhy choroby, chronický a akutní. Při chronickém napadení dochází k dlouhodobému parazitování a

václavka žije spolu se stromem několik desítek let. Dochází k redukcí přírůstu a rozvoji bílé hniloby, která se rozvíjí v kořenovém systému a v bazální části kmenu. Hniloba konzumuje hlavní dřevní komponenty, celulózu a lignin. U takto napadeného stromu se vytváří dutina na bázi kmenu, která se nazývá lahvicovitě zduření. To způsobuje zhoršenou stabilitu stromu a strom je náchylnější k vývratu nebo zlomu (Soukup 2005). Chronický průběh může přerůst za nepříznivých podmínek v průběh akutní (Jankovský 1997).

K akutnímu průběhu onemocnění dochází po fyziologickém oslabení stromu, např. při výsadbě nebo přisušku (Jančařík a Jankovský 1999), tak dochází k aktivaci houby, která může přerůst v kalamitu (např. po období sucha v roce 1947 a 2003) (Soukup 2005). V důsledku akutního napadení dochází k ronění pryskyřice a růstu syrrocia (Jankovský 1997.)



Obrázek 2: Schématické znázornění infekčního cyklu václavky na smrku. Václavka se šíří generativním způsobem pomocí basidiiospor nebo vegetativním způsobem pomocí rhizomorfy šířící se půdou.

Zdroj: upraveno podle Jankovský (1997).

Dřevo stromu napadeného václavkou má nejdříve světle oranžové zbarvení a je relativně tvrdé. Později je barva výrazně oranžová až červenohnědá. V konečné fázi je dřevo měkké a má bělavou barvu (Soukup 2005). Napadené dřevo je vymezeno černou linií (Černý 1989). Tato linie představuje další typ specializovaného mycelia nazývaného pseudosklerócia, které udržuje stále vnitřní prostředí (teplotu, vlhkost a složení plynů) pro hnilobu, která již rozkládá dřevo. Dřevo je rozkládáno václavkami velmi pomalu (např. 120 let starý smrk má mineralizovanou dutinu, která se u něj vytváří desítky let). Stromy jsou infikovány václavkami často v prvních letech jejich života (Jankovský 1997).



Obrázek 3: Zkoumaný smrk č. 222 s redukováným asimilačním aparátem a ročním přírůstem.
Foto: Necudová L., Beskydy (5. 9. 2012).



Obrázek 4: Smrk napadený václavkou s roněním pryskyřice a syrrociem na bázi kmenu.
Foto: Necudová L., Beskydy (18. 9. 2013).



Obrázek 5: Detail syrrocia václavky pod kůrou napadeného smrku.

Foto: Necudová L., Beskydy (18. 9. 2013).

Václavka smrková [*Armillaria ostoyae* (Romagn.) Herink] se vyskytuje převážně na severní polokouli, zejména v Evropě (Wargo a Shaw 1985). U nás je jedním z nejrozšířenějších druhů václavek. Nejvíce jsou jejím parazitizmem ohrožovány smrkové porosty vysázené v monokulturách a na nevhodných stanovištích, např. živná stanoviště středních poloh (Soukup 2005). Důležitým faktorem prostředí je zvýšená kyselost půd v důsledku emisí, která je považována za primární stresor způsobující aktivaci václavek (Longauerová *et al.* 2010). Václavka smrková nenapadá pouze smrky, ale i jiné jehličnany a listnaté stromy (Soukup 2005).

Plodnice (basidiokarp) václavek se objevují koncem září a začátkem října. Zpravidla rostou v trsech na infikovaných kořenech, kmenech a pařezech nebo v blízkosti hostitele (Černý 1989). Klobouk václavky smrkové je 5-12 cm široký fialové až červeno hnědé barvy a je pokryt černohnědými šupinami, které odstávají. Na spodu klobouku jsou hnědé lupeny. Výtrusy jsou elipsoidního tvaru 9 x 6 μm velké. Třeň je 5-12 cm dlouhý, kyjovitého tvaru a podobně jako na klobouku se na něm vyskytují šupiny. Na třeni je pod kloboukem bílo hnědý prsten (Kotlaba a Antonín 2003).



Obrázek 6: Plodnice václavky smrkové (*Amillaria ostoyae*).
Foto: Necudová L., obec Kocelovice (21. 9. 2012).

Přestože je václavka v našich lesích velmi škodlivým činitelem a je jí věnovaná velká pozornost, nemůžeme hovořit o vhodných metodách, jak se chránit před jejím napadením. Dříve se doporučovalo klučení pařezů, tj. jejich odstranění, a vytrhání napadených sazenic. Avšak při odstranění nebo vytrhání napadených pařezů a sazenic může dojít k poškození kořenových systémů okolních nenapadených stromů, a tak dojde k vytvoření vstupní brány pro václavku (Soukup 2005).

Základní ochrana proti václavce je v lesopěstební oblasti. Obmýtní doba porostu by měla být 60 let podle Soukupa (2005), Černý (1989) uvádí až 75 let. Další obrana spočívá ve vysazování dřevin, které jsou pro dané stanoviště přirozené (Soukup 2005). A získávání kvalitního osevního materiálu z původních a přirozených stanovišť, kde jsou stromy nejlépe adaptovány a jsou odolné (Žárník a Křístek 2007).

V posledních letech byl zaznamenán mírný pokles porostů napadených václavkou. Přesto jsou lokality, např. Morava a Slezsko, kde je situace i nadále vážná (Soukup 2007).

Díky enzymům rozkládajícím dřevo jsou václavky schopny odbourávat i fenoláty a ropné deriváty (Jankovský 1997). Ročně je na jednom hektaru lesní půdy zadržováno přibližně 60 litrů oleje, který uniká z lesnické mechanizace. Mnoho

stopkovýtrusých hub, kam se řadí i václavky, dokáží půdu detoxikovat od těchto polutantů (Jankovský a Scháněl 1997).

Plodnice václavky smrkové jsou po tepelné úpravě jedlé a sbírají se za kulinářskými účely. Znamé je jich nakládání na kyselo (Balabán a Kotlaba 1970).

2.4 Izotopy prvků

Izotopy jsou atomy téhož prvku se stejným počtem protonů a elektronů, ale s rozdílným počtem neutronů. Názvy jednotlivých izotopových prvků se doplňují o nukleonové číslo (součet protonů a neutronů) (Sulzman 2007). Odlišný počet neutronů v jádře významně ovlivňuje fyzikální a chemické vlastnosti atomu. Přímo ovlivňuje jeho hmotnost (Cabicar 1982), např. atom deuteria je dvakrát těžší než atom vodíku (Sulzman 2007). Elektronový obal nepřímo ovlivňuje vlastnosti izotopů. Takto pozměněné atomy ovlivňují i celé molekuly, které je obsahují (Cabicar 1982).

2.4.1 Stabilní izotopy

Stabilní izotopy jsou definovány jako energeticky stabilní a nerozpadající se v průběhu času, jako je tomu u izotopů radioaktivních (Cabicar 1982). V ekologických výzkumech a zejména v izotopové poměrové hmotnostní spektrometrii (IRMS – z anglického Isotope Ratio Mass Spectrometry) se nejčastěji využívá vlastností lehčích prvků (vodík, uhlík, kyslík, dusík a síra) (Sulzman 2007).

Rozdíly v izotopovém složení v různých materiálech jsou velmi malé, proto je izotopové složení uváděno ve srovnání s mezinárodně přijatými standardy a vyjádřeno v promilích (‰) vztahem:

$$\delta = \left(\frac{R_{\text{vzorek}}}{R_{\text{standard}}} - 1 \right) * 1\,000 \text{ [‰]} \quad (2.1)$$

kde R je poměr těžšího izotopu k lehčímu, R_{vzorek} poměr ve vzorku, R_{standard} ve standardu. Tento vztah se zpravidla používá pro izotopy, které se vyskytují přirozeně (Sulzman 2007).

Positivní hodnota δ ukazuje, že je ve vzorku více těžkého izotopu než ve standardu. Negativní hodnota δ ukazuje, že má vzorek méně těžších izotopů než standard (Sulzman 2007).

Rozdílná hmotnost izotopů vede k rozdílnému fyzikálnímu chování atomů, které je způsobeno jejich kinetickou energií. Energie molekuly, která obsahuje těžší izotop je nižší a její uspořádání je stabilnější s pevnějšími vazbami (Sulzman 2007).

2.4.2 Izotopy uhlíku

Izotopy uhlíku se vyskytují v přírodě v 15 formách. Od formy s nukleonovým číslem ^9C po ^{23}C . Mimo stabilní izotopy, ^{12}C a ^{13}C , jsou ostatní radioaktivní. Např. uhlík ^{14}C se používá při archeologickém datování a jeho poločas rozpadu je 5 700 let (Anonymus 2013). Stabilní izotop ^{12}C je v přírodě zastoupen v 98,892 % a ^{13}C v 1,108 % (Sulzman 2007). V atmosféře se vyskytují stabilní izotopy ^{12}C a ^{13}C v molárním poměru 99:1 (Ferrio *et al.* 2003).

Jako referenční vzorek pro ^{13}C bylo stanoveno „Pee Dee Belemnite“ (PDB). Ve vzorku PDB je obsažen uhličitán z mořských sedimentů z měkkýšů belemnitů (Sulzman 2007). V těchto sedimentech byl nalezen nejvyšší obsah ^{13}C (nejnižší obsah ^{13}C byl zjištěn u ropy) (Cabicar 1982). Tyto sedimenty se nalézají v Jížní Karolíně v USA. Protože PDB bylo již vyčerpáno a není dostupné (Sulzman 2007), byl stanoven v 80. letech minulého století nový referenční vzorek „Vienna Pee Dee Belemnite“ (VPDB). Referenční vzorek VPDB ustanovila Mezinárodní agentura pro atomovou energii (IAEA), která sídlí ve Vídni, odtud tedy pochází označení „Vienna“ (Coplen *et al.* 2006).

2.4.3 Frakcionace uhlíku v rostlinách

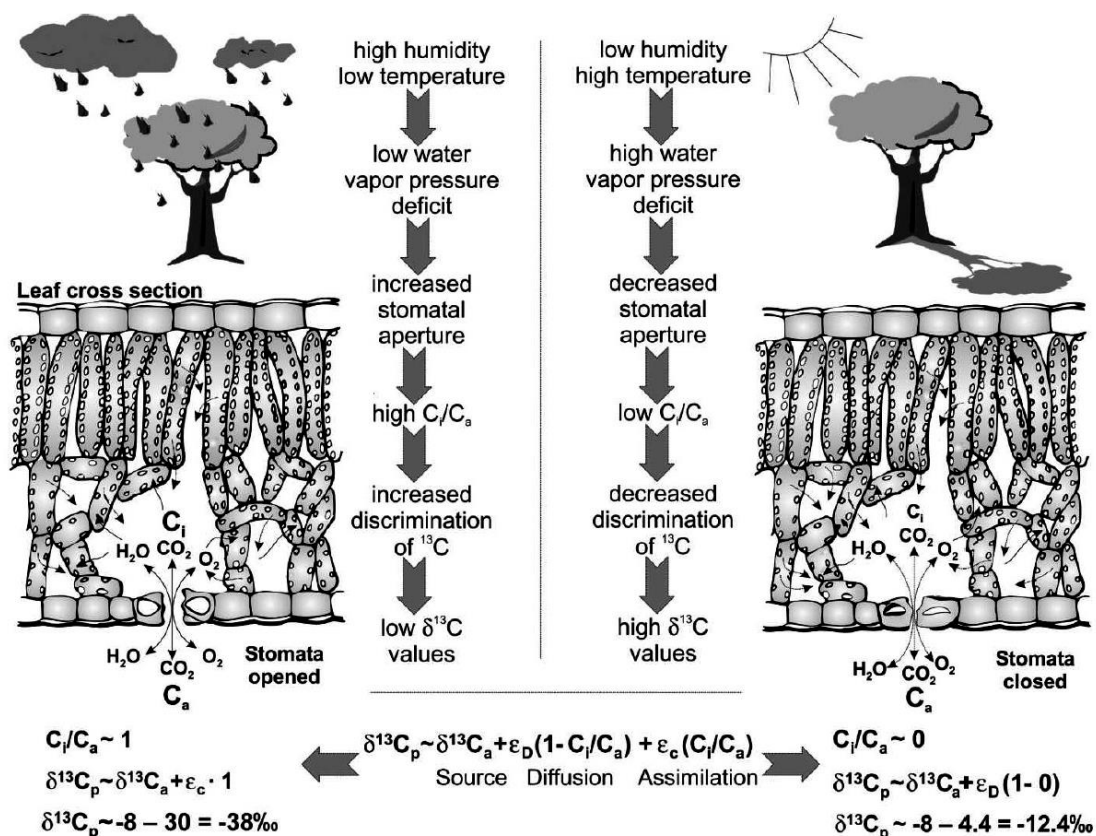
Stromy jsou poměrně dlouhověké organismy. Výhodou vzorků ze dřeva je, že jsou stromy téměř kosmopolitně rozšířené, a tak umožňují zkoumání geografických odchylek, i nepatrné kolísání faktorů prostředí je do dřeva zaznamenáno (McCarroll a Loader 2004). Této vlastnosti, dlouhodobě uchovávat data, se využívá zejména při paleoklimatických rekonstrukcích (např. můžeme zkoumat výkyvy teplejších období během dob ledových) (Libby a Pandolf 1974). Pro tyto výzkumy jsou často používány evropské duby, které dosahují značného stáří (i 8 000 let), a mohou nás tak dobře informovat o tehdejšímu klimatu (McCarroll a Loader 2004).

Dřevo obsahuje tři základní prvky, uhlík, kyslík a vodík. Uhlík v letokruzích má původ především v CO_2 ze vzduchu, kyslík a vodík pochází z půdní vody. Přestože známe původ těchto základních prvků, neodpovídá hodnota izotopového složení v letokruzích přímo složení vzduchu a vody. Rozdílná hodnota je způsobena tzv. frakcionací. Pojem frakcionace můžeme chápat jako „roztřídění“ těžšího (^{13}C) a

lehčího (^{12}C) izotopu uhlíku. Jednotlivé složky byly stromem při jeho fyziologických pochodech přeměněny a fungují jako odpověď na podmínky prostředí, ve kterých strom žil (McCarroll a Loader 2004).

Rostliny si vyvinuly různé cesty pro fixaci uhlíku. Všechny stromy patří do skupiny C3 rostlin (prvním meziproduktem fotosyntézy je tříuhlíkatý fosfoglycerát). $\delta^{13}\text{C}$ atmosférického CO_2 se pohybuje okolo -8 ‰. Hodnota u listů a dřeva stromů je mnohem menší, pohybuje se v hodnotách od -20 ‰ až -30 ‰, což ukazuje, že jsou stromy ochuzeny o ^{13}C v porovnání se vzduchem (McCarroll a Loader 2004). Stromy asimilují CO_2 z atmosféry, který vstupuje do listu skrze průduchy (Loader *et al.* 2007). Frakcionace $^{13}\text{CO}_2$ je během difúze -4,4‰ (Francey a Farquhar 1982). Tento jev souvisí s rozdílnou mobilitou izotopově těžšího a lehčího CO_2 a je primárně závislý na faktorech prostředí (např. teplota či tlak vodních par) (Loader *et al.* 2007). V biologických procesech je rostlinou přednostně využíván lehčí izotop (^{12}C) oproti těžšímu izotopu uhlíku (^{13}C) (McCarroll a Loader 2004).

Atmosférický oxid uhličitý vstupuje do listů, kde je v buňkách rozpouštěn v kapalině a pohybuje se v roztoku, a tak se stává dostupným pro enzymy fotosyntézy. Během této přeměny uhlíku ze vzduchu na cukry nastávají dva zásadní momenty frakcionace. Při difúzi vzduchu skrze průduchy molekuly CO_2 obsahující lehčí izotopy uhlíku snadněji difundují, než ty s těžšími izotopy. Druhým momentem frakcionace je, když je molekula lehčího CO_2 přednostně využita karboxylačním enzymem. $\delta^{13}\text{C}$ je v listech řízena poměrem koncentrace intracelulárního CO_2 ku CO_2 v okolním vzduchu. Tento poměr má vliv na rychlost fotosyntézy a stomatální vodivost, která rozhoduje o poměru lehkého a těžkého izotopu (ochuzení či obohacení o ^{13}C), který se projeví na izotopovém složení rostlinného materiálu (McCarroll a Loader 2004). Největší měrou se na tomto poměru rychlosti fotosyntézy a stomatální vodivosti podílí podmínky prostředí, ve kterých rostlina žije. Příkladem můžou být rostliny, rostoucí na sušších stanovištích, které jsou více obohaceny o těžší izotop uhlíku, oproti rostlinám rostoucím na chladnějších a vlhčích stanovištích (Procházka 2007). Obecně můžeme říci, že během vlhčích let nalezneme v letokruzích stromů více lehčího izotopu uhlíku, při sušších obdobích je situace obrácená (Livingston a Spittlehouse 1996).



Obrázek 7: Model frakcionace izotopů uhlíku během fotosyntézy, který ukazuje, jaký vliv mají průduchy na $\delta^{13}\text{C}$ ve dřevní hmotě. Uvedené dvě situace lze považovat za krajní (vysoká vlhkost a nízká teplota x nízká vlhkost a vysoká teplota). Zdroj: Helle a Schleser (2004).

2.4.4 Intra-anuální vzor $\delta^{13}\text{C}$ v letokruzích

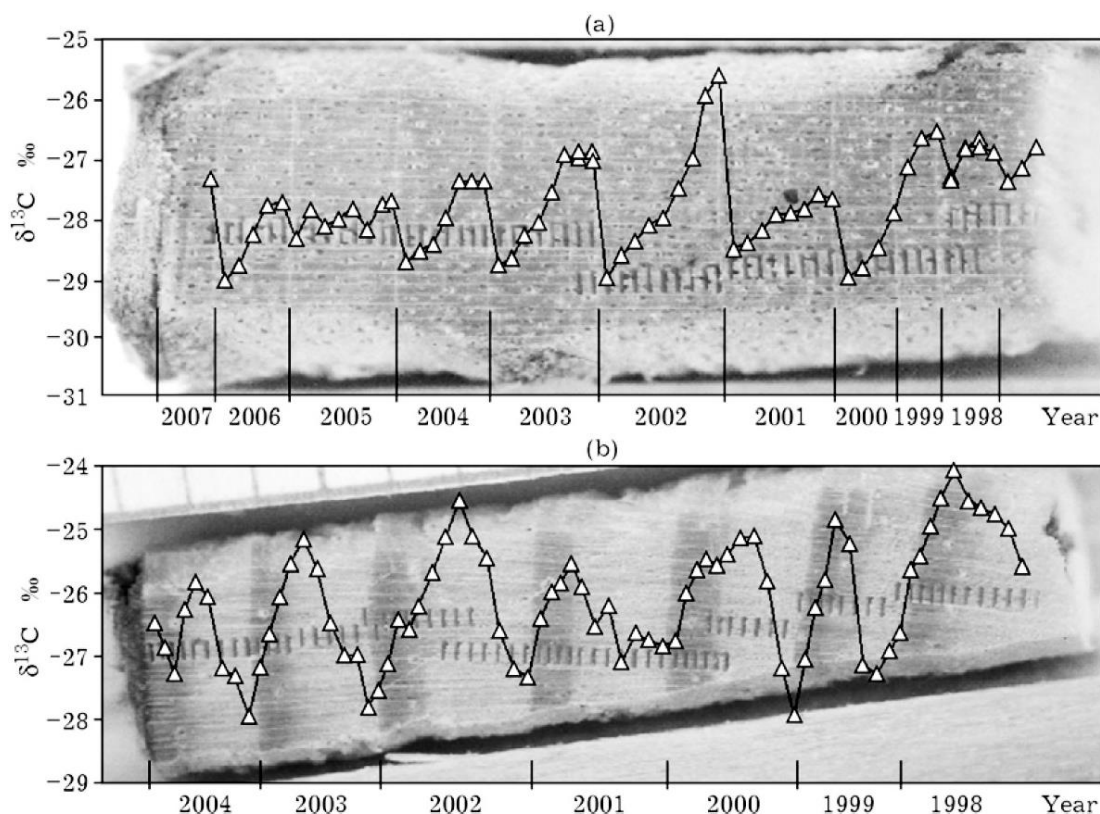
Světlo, vzdušná vlhkost, srážkový úhrn a teplota jsou faktory, které ovlivňují stomatální vodivost a fixaci CO_2 v průběh fotosyntézy. To nepřímo ovlivňuje $\delta^{13}\text{C}$ ve sloučeninách, které obsahují uhlík. Ovlivnění může být krátkodobého charakteru, např. u cukrů. Dlouhodobé ovlivnění můžeme pozorovat v letokruzích, kde zůstává informace uchována (Jäggi *et al.* 2002).

Jak probíhá transport a ukládání živin do vznikajícího dřeva může ukazovat intra-anuální vzor $\delta^{13}\text{C}$ v letokruzích (z anglického intra-annual $\delta^{13}\text{C}$ pattern), do kterého se promítá působení okolních podmínek na strom (Helle a Schleser 2004). Mezi jednotlivými druhy stromů jsou značné rozdíly, které se projevují na intra-anuálním vzoru $\delta^{13}\text{C}$ v letokruzích. Například transpirační proud u jehličnanů má menší účinnost, než je tomu u listnatých stromů, které mají více pórovité dřevo (McCarroll a Loader 2004). U listnatých opadavých stromů se začne vytvářet jarní dřevo před rašením pupenů a je dokončeno před tím, než jsou listy fotosynteticky

aktivní. Jarní dřevo tedy využívá pro svůj růst skladovaný škrob z předchozího roku. Jarní dřevo je obohaceno o ^{13}C následkem přeměn cukrů během jejich skladování. Následný pokles $\delta^{13}\text{C}$ během vegetačního období je způsoben rychlostí respirace a ukládáním nyní vytvořených asimilátů, které jsou ovlivněny okolním prostředím (Helle a Schleser 2004).

Literatura týkající se intra-anuálního vzoru $\delta^{13}\text{C}$ v letokruzích jehličnatých stromů je nedostatečná. Avšak lze zmínit výzkum Bryukhanove *et al.* (2011), která srovnává izotopové složení a šíří letokruhů mezi listnatými a jehličnatými stromy na Sibiři. Z analýzy $\delta^{13}\text{C}$ v letokruzích stromů jednoznačně vyplývá, že je obohacení a ochuzení o ^{13}C u listnatých a jehličnatých stromů zcela opačné během vegetační sezóny. Jarní dřevo je u listnatých stromů obohaceno a letní ochuzeno o ^{13}C , stejně tak, jak to ve své práci uvádí Helle a Schleser (2004). Zatímco u jehličnanů je jarní dřevo ochuzeno a letní obohaceno o ^{13}C . Rozdílné izotopové složení během období růstu u listnatých a jehličnatých stromů souvisí s olistováním u listnatých stromů a zřejmě v rozdílné velikosti průduchů. Velikost průduchů, nikoliv jejich hustota, má vliv na difuzi CO_2 do listu. Jehličnany využívají asimiláty z předchozího roku, podobně jako listnaté stromy, na začátku růstové sezóny, kdy je potřeba dodání energie po zimním období pro růst nejvyšší. Letní dřevo, které přirostlo jako poslední v předchozím roce, má podobné izotopové složení jako jarní dřevo nadcházejícího roku (Bryukhanova *et al.* 2011). Některé stupně transportu a ukládání asimilátů do dřeva nejsou přesně známé a prozkoumané (Helle a Schleser 2004).

Strom využívá cukry několika způsoby. Největší část je použita pro růst (do šířky a výšky). Další využití je při respiraci a na tvorbu květů a plodů. Nadbytek cukrů produkovaných během fotosyntézy je skladován v podobě škrobu. Při omezení nebo zastavení fotosyntézy, kdy je koncentrace cukrů nízká, je škrob zpětně přeměňován na cukr (Barajas-Morales *et al.* 1997). Ukládaný škrob, který obsahuje uhlík, má určitý poměr izotopů, a to se odráží na izotopové variabilitě (Jäggi *et al.* 2002).



Obrázek 8: $\delta^{13}\text{C}$ v letokruzích (a) listnatého stromu (*Betula pubescens*) a (b) jehličnatého stromu (*Pinus sylvestris*).

Zdroj: Bryukhanova *et al.* (2011).

2.5 Pohoří Beskydy

Pohoří Beskydy se rozkládá v severovýchodní části České republiky, v jižní části Polska a v severozápadním a severovýchodním cípu Slovenska (Sitková *et al.* 2010). Beskydy jsou součástí geomorfologického pohoří Západních Karpat (Vacek 2002).

Výzkumná část diplomové práce probíhala na plochách v Moravskoslezských Beskydech (dále v textu budou Moravskoslezské Beskydy uváděny zkráceně Beskydy). Beskydy jsou od roku 1973 vyhlášeny Chráněnou krajinnou oblastí (CHKO) a rozkládají se na 1 160 km². Nejvyšším bodem Beskyd je Lysá hora (1 323 m n. m.) a nejnižší bod se nalézá v Rožnovské Bečvě u Zubří (350 m n. m.) (Weissmannová *et al.* 2004).

Vegetace Beskyd je velmi rozmanitá. Od vegetačního stupně dubovo-bukového ke stupni kosodřevinnému (Sitková *et al.* 2010). Do 16. století byly Beskydy pokryty převážně bukovo-jedlovými porosty s příměsí smrku (Hlásný *et al.* 2010). Dnes je lesnatost Beskyd poměrně vysoká, pohybuje se kolem 75 %.

Největší podíl v porostu náleží smrku (73 %), buku (20 %) a jedly, která je zde původní, pouze 1,5 % (Křivánek 2009).

Většina území Beskyd náleží do chladné klimatické oblasti, zde se pohybuje dlouhodobá průměrná roční teplota vzduchu 2,6 °C (Lysá hora). Nižší polohy, které tvoří pouze malou část Beskyd, leží v mírně teplé klimatické oblasti a průměrná teplota zde dosahuje 7 °C (Weissmannová *et al.* 2004). V oblasti Beskyd je poměrně velký roční srážkový úhrn, který je způsoben návětrnou polohou pohoří s převládajícím západním prouděním vzduchu. Nejvyšší úhrn srážek je v červnu až srpnu, nejmenší v únoru a březnu (Weissmannová *et al.* 2004) (Příloha: obrázek 9).

V posledním století nastaly rozsáhlé změny ve složení vegetace v důsledku společenského a ekonomického rozvoje Evropy. Vzniklo tak velké množství smrkových monokultur. Nejvýznamnější změny ve skladbě porostu nastaly v 19. století s rozvojem metalurgického průmyslu, hornictví a zpracování dřeva. Byly budovány továrny, které zpracovávaly zejména smrkové dřevo, a tak poptávka po něm značně rostla. Dřevo smrku je snadno opracovatelné a smrky poměrně rychle rostou. Od konce 18. století byly Beskydy vystavovány silnému znečištění ovzduší z průmyslových oblastí Ostravy a Katowic. V druhé polovině 20. století byly lesy vystavovány silným koncentracím SO₂, což se projevilo hynutím porostů. Na začátku 90. let se kvalita ovzduší výrazně zlepšila, a s tím i zdravotní stav smrkových porostů. Další zvrat nastal ke konci 90. let, kdy opět začaly smrkové porosty umírat. Poslední hnutí smrkových porostů se projevilo po roce 2002, přestože jeho počátky sahají do již zmíněného konce 90. let (Hlásný *et al.* 2010).

V současné době jsou na české straně Beskyd pozorovatelná poškození většiny porostů václavkami. Pro hnutí smrkových porostů je charakteristické, že se vyskytuje od 400 do 1 000 m n. m., postiženy jsou všechny věkové kategorie porostů, zkrácení ročního přírůstu, žloutnutí jehličí a jeho ztráta, častý výskyt houbových patogenů václavky (*Armillaria* sp.) a kořenovníku (*Heterobasidion*) a také výrazné napadání smrků podkorním hmyzem (Hlásný *et al.* 2010). Poslední dobou se ukazuje, že na distribuci václavek má zřejmě vliv globální změna klimatu. Je tedy pravděpodobné, že se dá očekávat další nárůst hnutí smrkových porostů i ve vyšších polohách s postupující změnou klimatu (Longauerová *et al.* 2010).

3 METODIKA

3.1 Materiál

Lokalita, na které byly vzorky odebrány, se nachází v Beskydech nedaleko obce Mosty u Jablunkova (okr. Frýdek-Místek) (Příloha: obrázek 10). Tato vybraná lokalita (GPS souřadnice: 49° 30' 52"N 18° 44' 20"E) v 720 m n. m. se rozkládá na ploše cca 150 m² na jižním svahu pod vrchem zvaným Skalka. Lokalita je jednou z několika sledovaných ploch, na které probíhá projekt Ústavu pro výzkum lesních ekosystémů (IFER) na téma Lesnické adaptační strategie pro měnící se prostředí v podmínkách Moravskoslezských Beskyd.



Obrázek 10: Pohled na lokalitu, ve které probíhal odběr vzorků.

Foto: Necudová L., Beskydy (18. 9. 2013).

Zkoumaný materiál byl odebrán z 8 smrků, které byly vybrány do páru infikovaný václavkou x „zdravý“ strom. Celkem tedy byly analyzovány 4 páry smrků. Odběry byly provedeny dvakrát, a to ze stejných stromů. Proběhly 5. 9. 2012 a 18. 9. 2013. V analýze z prvního odběru byla zjišťována hodnota $\delta^{13}\text{C}$ pouze u jarního dřeva. Z druhého odběru bylo analyzováno letní dřevo a celý letokruh (roční přírůstek). Vzorky byly ze stromů odebrány přírůstkovým vrtákem s průměrem 5 mm a 10 mm (Haglöf Coretax, Švédsko) (Příloha: obrázek 11). Všechny vzorky byly vrtány ze severní světové strany a uloženy do tuby, aby nedošlo k jejich poškození.

Číslo stromu	Souše	Průměr kmene [mm]	Zlom	Mechanické poškození	Loupání	Barevné změny	Suchý vrchol	Výron pryskyřice	Redukovaný přírůst	Provedená analýza		
										jarní dřevo	letní dřevo	roční přírůstek
26	ne	261	ne	ne	kmen poškozen do 1/8 obvodu	ne	ano	ano	ano	ano	ano	ano
199	ne	216	ne	ne	ne	ne	ne	nelze jednoznačně určit	ne	ano	ano	ano
249	ne	350	ne	ne	ne	žloutnutí silné	ne	ano	ne	ano	ano	ano
117	ne	306	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ano	ano	ano
222	ne	262	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ano	ano	ne	ne
141	ne	238	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ano	ne	ne
192	ne	238	ne	ne	kmen poškozen do 1/8 obvodu	žloutnutí silné	ano	ne	ano	ano	ne	ne
216	ne	202	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ano	ne	ne

Tabulka 1: Hodnocení zdravotního stavu smrků a druh provedené analýzy.

Pozn. Jarní dřevo bylo analyzováno v roce 2012. Letní dřevo a roční přírůstek bylo analyzováno v roce 2013.

3.2 Příprava vzorků na analýzu IRMS

V laboratoři byl každý vývrt nařezán na jednotlivá léta. Jednotlivé vzorky byly dány do označené 2 ml mikrozkuhavky typu Eppendorf, a takto připravené vzorky byly v sušárně vysušeny do konstantní hmotnosti při teplotě 50 °C po dobu 13 hodin.

K vysušenému vzorku byly do každé mikrozkuhavky přidány 2 ocelové kuličky. Kuličky byly různého průměru, od 5,9 do 6,2 mm (velikost záležela na objemu vzorku v mikrozkuhavce). Mikrozkuhavky se vzorky a kuličkami byly vloženy do oscilátorového mlýnku (Retsch, MM 200, Německo). Vzorky se homogenizovaly při frekvenci vibrací 30 Hz (1^{800}min^{-1}) po dobu cca 10 minut (doba homogenizace byla závislá na objemu vzorku v mikrozkuhavce). Takto zhomogenizovaná hmota byla navážena na vahách (Mettler Toledo MT 5, d = 1 µg, Švýcarsko) do cínových kapslí (8x5 mm, SerCon, Velká Británie). Navážka vzorku na analýzu činila 0,180 - 0,280 mg.

Izotopová analýza se dělala na izotopovém poměrovém hmotnostním spektrometru (Delta^{plus} XL, TermoFinnigan, Bremen, Německo) (Příloha: obrázek 12). Uhlík ve vzorku v cínové kapsli se spálil na CO₂ při teplotě 950 °C v reaktoru prvkového analyzátoru (Vario MICRO cube, Elementar, Hanau, Německo). Po separaci v chromatografu a průchodu mezičlenem ConFlo III (Finnigan, Německo) byly složky detekovány izotopovým poměrovým hmotnostním spektrometrem. V systému bylo nosným plynem hélium. Analýzou v hmotnostním spektrometru může být stanoven nejen izotopový poměr, ale i množství daného prvku ve vzorku. Hodnota $\delta^{13}\text{C}$ stanovená izotopovým poměrovým hmotnostním spektrometrem je založena na srovnání se standardem, kterým je VPDB (IAEA, Vienna, Rakousko).

Pro výpočet $\delta^{13}\text{C}$ jarního dřeva ze známých hodnot $\delta^{13}\text{C}$ letního dřeva a dřeva celého letokruhu (odběr v roce 2013) byl použit kinetický frakcionační (Rayleighův) model. Vypočtená hodnota $\delta^{13}\text{C}$ byla porovnána s hodnotou $\delta^{13}\text{C}$ jarního letokruhu z předchozího odběru (odběr v roce 2012). Kinetický model má tvar:

$$m_3 \delta_3 = m_1 \delta_1 + m_2 \delta_2 \quad (4.1)$$

kde m_3 je hmotnost dřeva celého letokruhu, δ_3 je $\delta^{13}\text{C}$ ve dřevě celého letokruhu, m_1 je hmotnost jarního dřeva, δ_1 je $\delta^{13}\text{C}$ v jarním dřevě, m_2 hmotnost letního dřeva a δ_2 je $\delta^{13}\text{C}$ v letním dřevě.

Metoda izotopové poměrové hmotnostní spektrometrie (IRMS) se využívá přes 70 let. První hmotnostní spektrometr byl sestaven Alfredem O. C. Nierem (Slater

et al. 2001). Měření poměru stabilních izotopů uhlíku ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, nebo častěji používané označení $\delta^{13}\text{C}$) je široce využíváno v přírodních vědách a počet oborů používající tuto metodu stále narůstá (Wieser 2006).

3.3 Zpracování dat

Výsledky analýzy IRMS, zda se napadené smrky liší v izotopovém složení od „zdravých“, byly statisticky zpracovány pomocí Wilcoxonova testu v programu Statistica 9 (StatSoft, USA). Grafy a tabulky byly vytvořeny v programu Microsoft Excel 2007 (Microsoft, USA).

4 VÝSLEDKY

4.1 Výsledky analýzy IRMS

V roce 2012 se dělala první analýza, při které se analyzovalo jarní dřevo čtyř párů smrků. Smrky byly v páru, smrk vykazující symptomy napadení václavkou a smrk bez příznaků napadení. U tří párů smrků byl průkazný rozdíl v izotopovém složení mezi napadeným a „zdravým“ smrkem, kromě páru smrků č. 26 a 199, kde nebyl průkazný rozdíl v izotopovém složení. U párů smrků, kde byl průkazný izotopový rozdíl, bylo dřevo u napadených smrků obohaceno o ^{13}C oproti „zdravým“ smrkům.

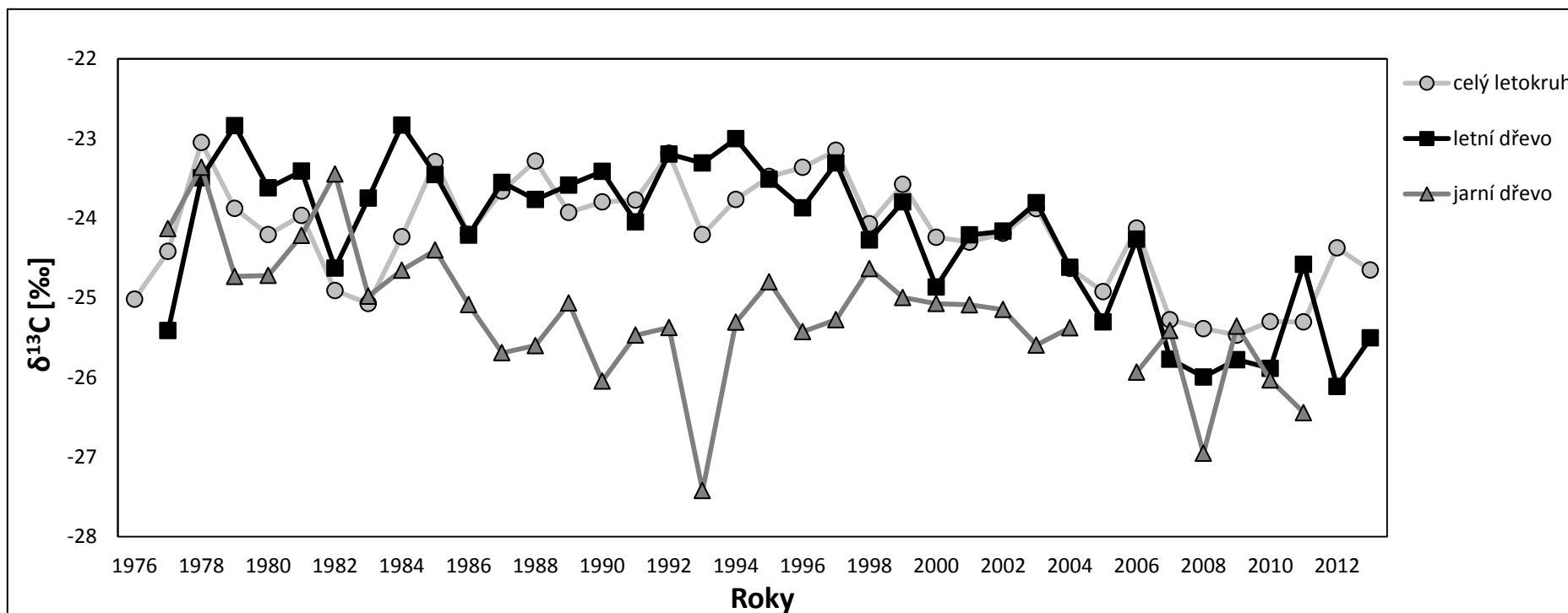
V roce 2013 se dělala druhá analýza u letního dřeva a celého letokruhu u dvou párů smrků č. 199 a 26 a páru č. 249 a 117, u kterých již byla provedena analýza jarního dřeva v roce 2012. U „zdravého“ smrku č. 199 a napadeného č. 26 nebyl v letním dřevu nalezen průkazný rozdíl v izotopovém složení. Za to u dřeva celého letokruhu byl rozdíl v izotopovém složení průkazný a dřevo „zdravého“ smrku č. 199 bylo obohaceno o ^{13}C oproti napadenému smrku č. 26. U druhého pozorovaného páru smrků č. 249 a 117 byl průkazný rozdíl v izotopovém složení dřeva ročního přírůstku, kde bylo dřevo zdravého smrku č. 117 obohaceno o ^{13}C a dřevo napadeného smrku ochuzeno o ^{13}C . Analýza letního dřeva neukázala průkazný rozdíl v izotopovém složení mezi napadeným a „zdravým“ smrkem.

U smrku č. 26 byla ve vývrtnu nalezena ve středu hniloba. Původ a druh hniloby nebyl blíže určen.

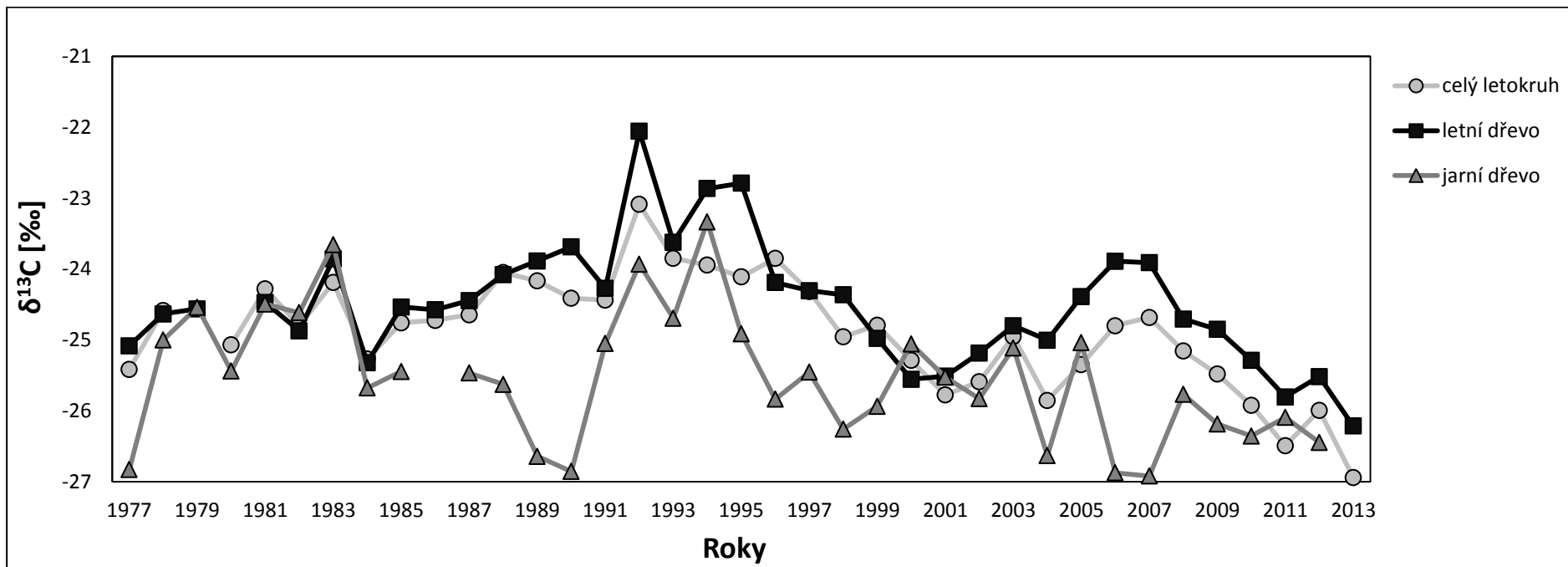
Nespojené body v grafech znamenají, že došlo při analýze k chybě a vzorek nebyl změřen.

Číslo stromu	Zdravotní stav	Statistické vyhodnocení (H0) na základě analýzy			Frakcionace izotopů (obohaceno x ochuzeno o ¹³ C)		
		jarní dřevo	letní dřevo	roční přírůstek	jarní dřevo	letní dřevo	roční přírůstek
26	napadený	p = 0,140355	p = 0,135021	p = 0,000164	není průkazný rozdíl	není průkazný rozdíl	ochuzeno
199	„zdravý“	F = 2,23	F = 2,28	F = 15,81			obohaceno
249	napadený	p = 0,000045	p = 0,472114	p = 0,001451	obohaceno	není průkazný rozdíl	ochuzeno
117	„zdravý“	F = 19,09	F = 0,52	F = 10,98	ochuzeno		obohaceno
222	napadený	p = 0,001289	—	—	obohaceno	—	—
141	„zdravý“	F = 11,16	—	—	ochuzeno		
192	napadený	P = 0,000021	—	—	obohaceno	—	—
216	„zdravý“	F = 20,73	—	—	ochuzeno		

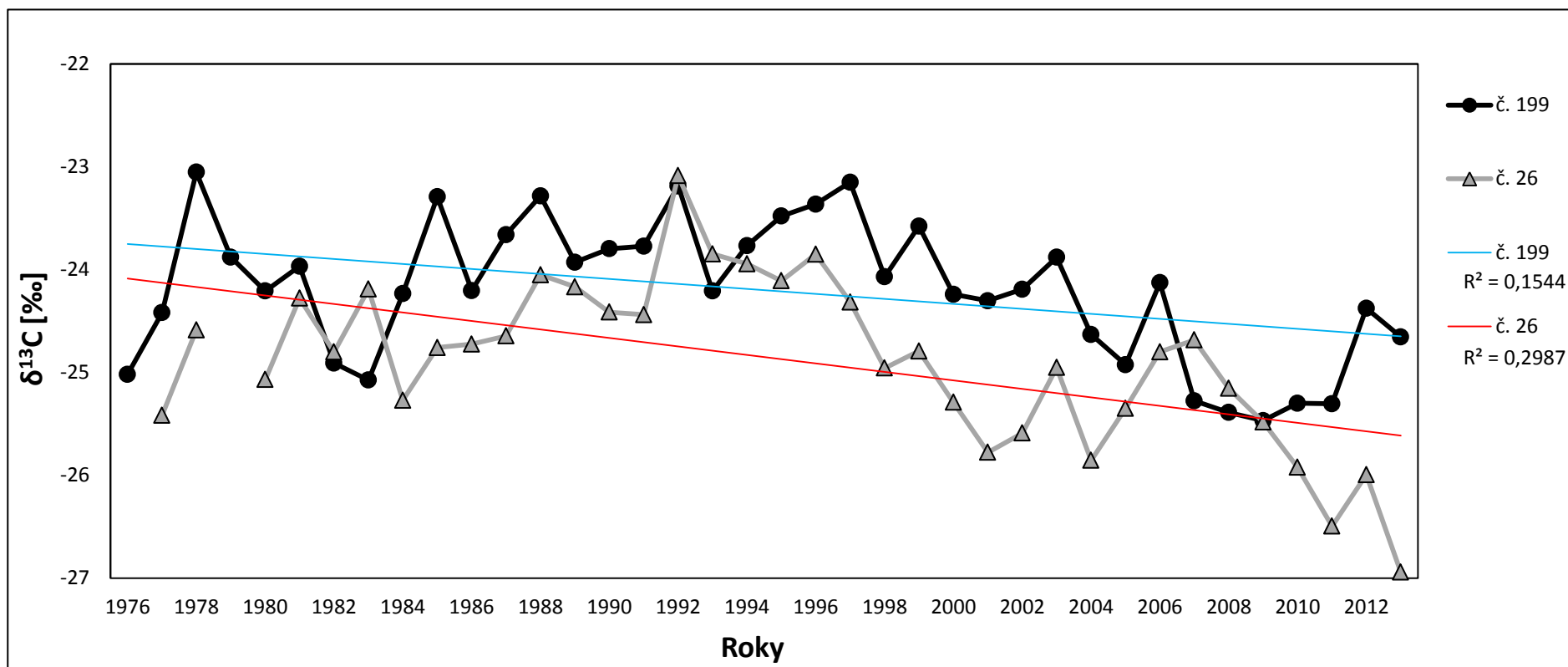
Tabulka 2: Shrnutí výsledků analýzy IRMS a statistické vyhodnocení.



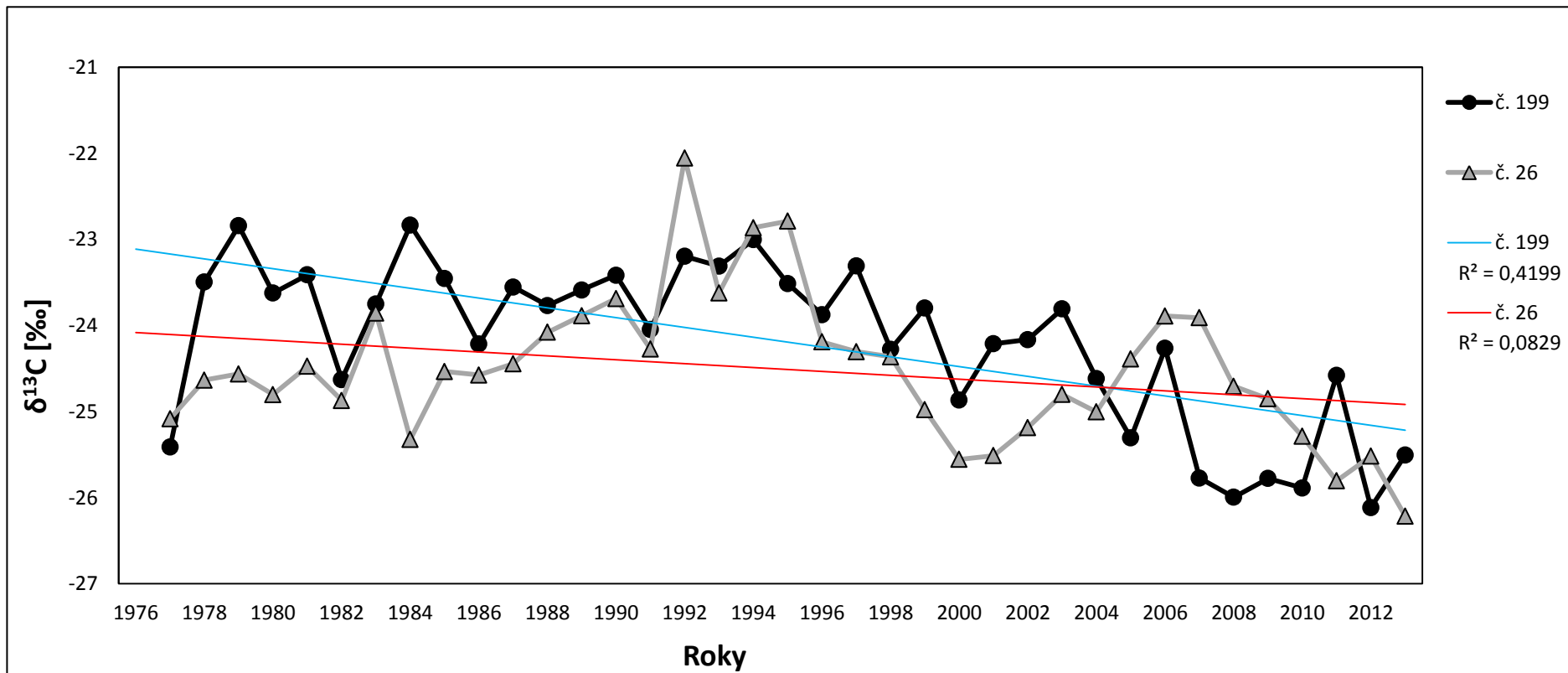
Obrázek 13: $\delta^{13}\text{C}$ jarního a letního dřeva a celého letokruhu u „zdravého“ smrku č. 199. Při srovnání izotopové frakcionace dřeva celého letokruhu, jarního a letního dřeva je ^{13}C nejvíce ochuzeno dřevo jarní. Letní dřevo a dřevo celého letokruhu je podobného izotopového složení. V roce 1993 a 2008 je výrazné ochuzení jarního dřeva o ^{13}C . Jarní dřevo bylo analyzováno v roce 2012. Letní dřevo a roční přírůstek bylo analyzováno v roce 2013.



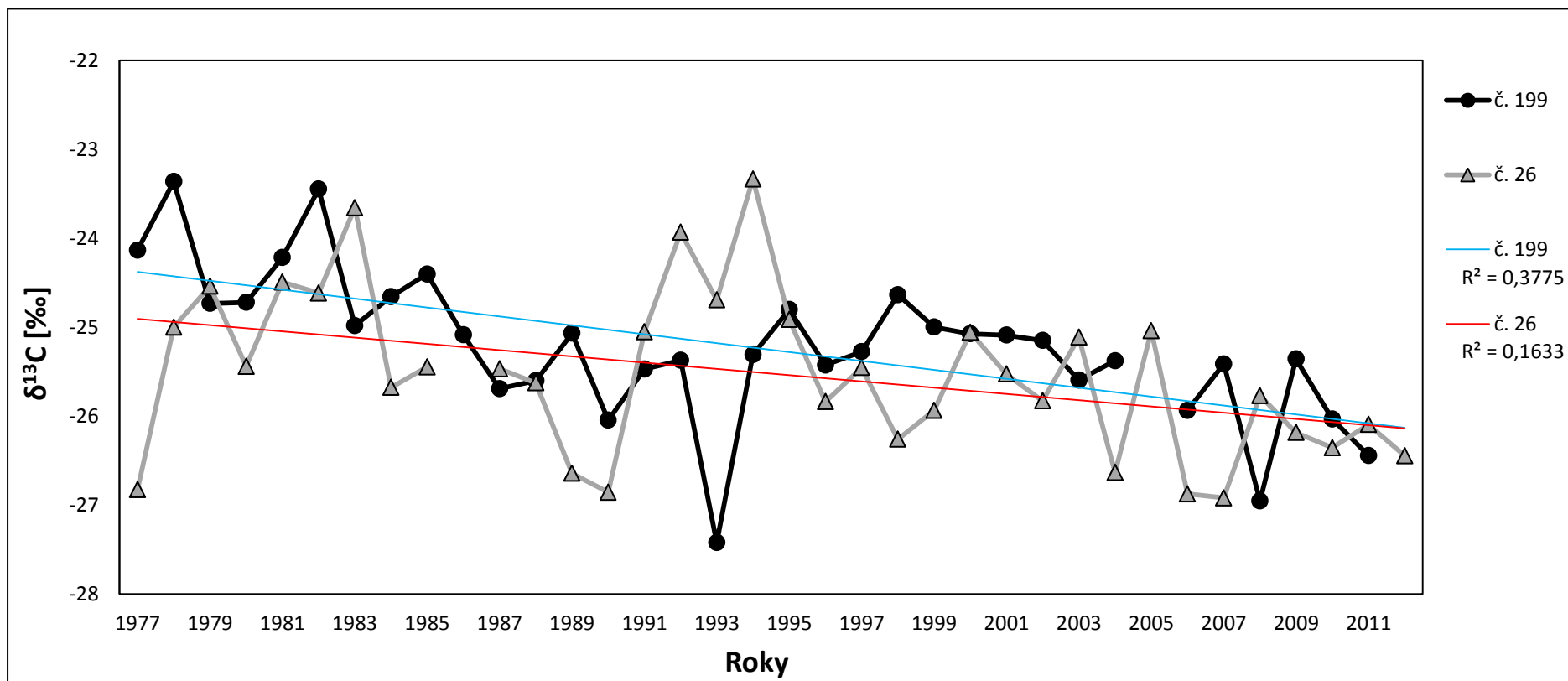
Obrázek 14: $\delta^{13}\text{C}$ jarního a letního dřeva a celého letokruhu u napadeného smrku č. 26. V porovnání dřeva celého letokruhu, letního a jarního dřeva je jarní dřevo nejvíce ochuzeno o ^{13}C . Letní dřevo a dřevo celého letokruhu je podobného izotopového složení. V prvních letech života smrku je podobné izotopové složení u dřeva celého letokruhu, jarního a letního dřeva, pouze v roce 1977 je jarní dřevo výrazně ochuzeno. Další výrazné ochuzení jarního dřeva následuje v roce 1989 a 1990. V roce 1992 je výrazné obohacení v dřevu celého letokruhu, jarního a letního dřeva. Dále je viditelné obohacení jarního dřeva v roce 1994 a letního dřeva v roce 1994 a 1995. V roce 2006 a 2007 je ochuzení u dřeva celého letokruhu a letního dřeva, naopak jarní dřevo je v roce 2004, 2006 a 2007 ochuzeno. Jarní dřevo bylo analyzováno v roce 2012. Letní dřevo a roční přírůstek bylo analyzováno roce 2013.



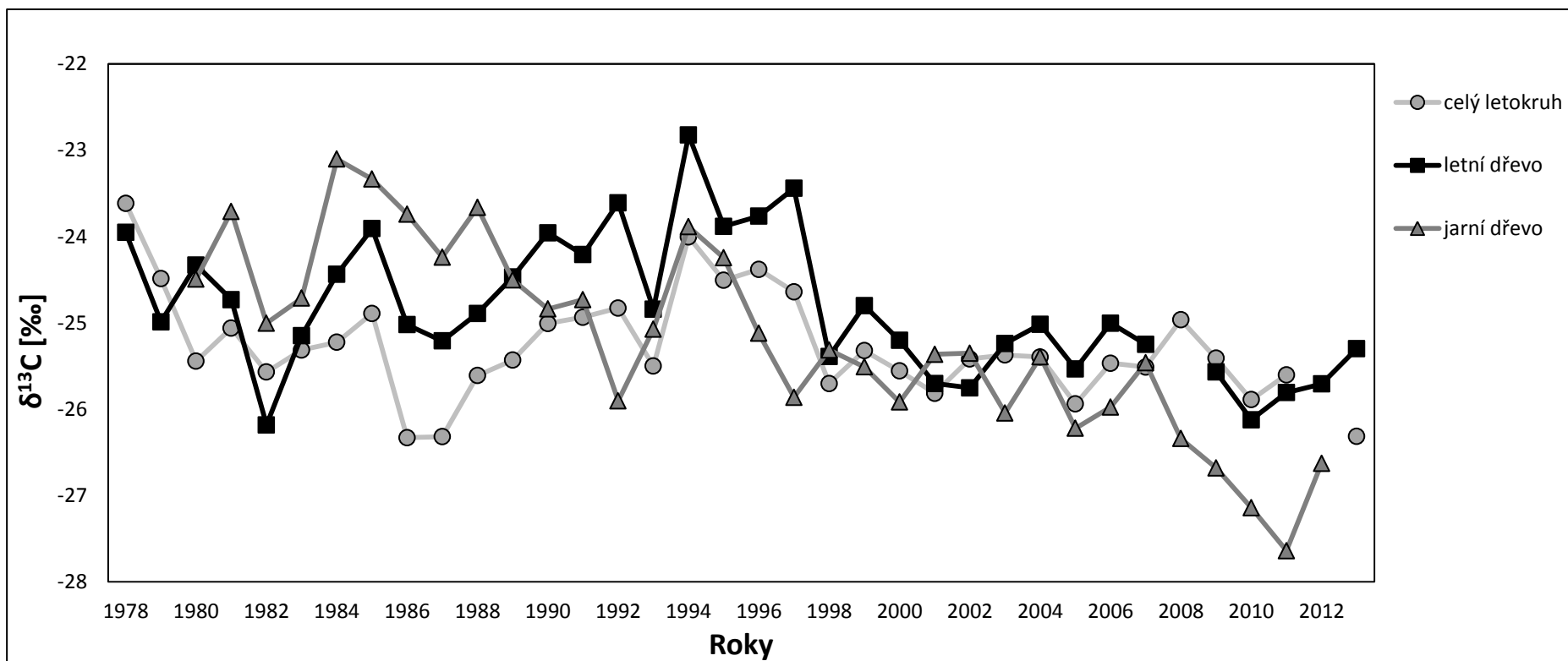
Obrázek 15: Porovnání $\delta^{13}\text{C}$ celého letokruhu u „zdravého“ smrku č. 199 a napadeného smrku č. 26. Dřevo celého letokruhu je výrazně obohaceno o ^{13}C u „zdravého“ smrku ve srovnání s napadeným smrkem č. 26. Spojnice lineárního trendu má u obou smrků klesající trend.



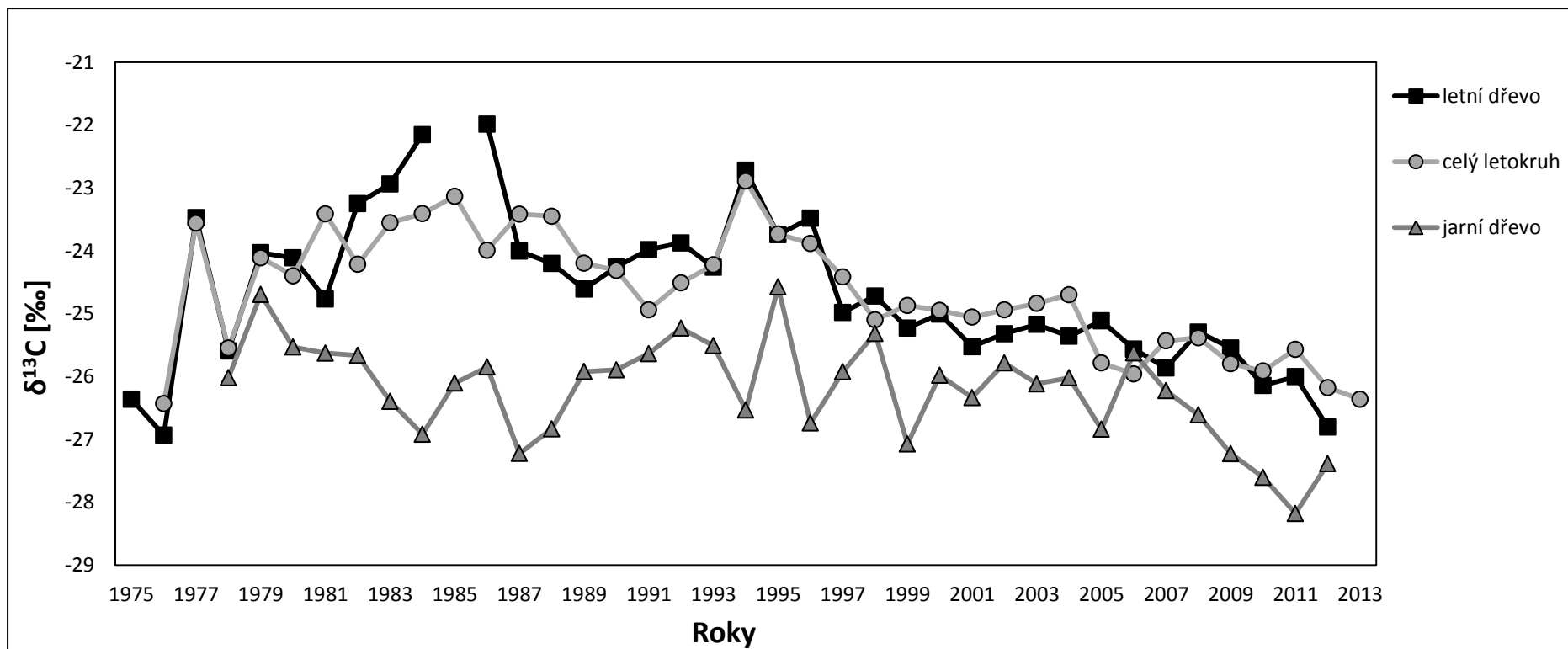
Obrázek 16: Porovnání $\delta^{13}\text{C}$ letního dřeva u „zdravého“ smrku č. 199 a napadeného smrku č. 26. Letní dřevo „zdravého“ smrku je ve většině pozorovaných let obohaceno o ^{13}C oproti napadenému smrku č. 26. Spojnice lineárního trendu má u obou smrků klesající trend.



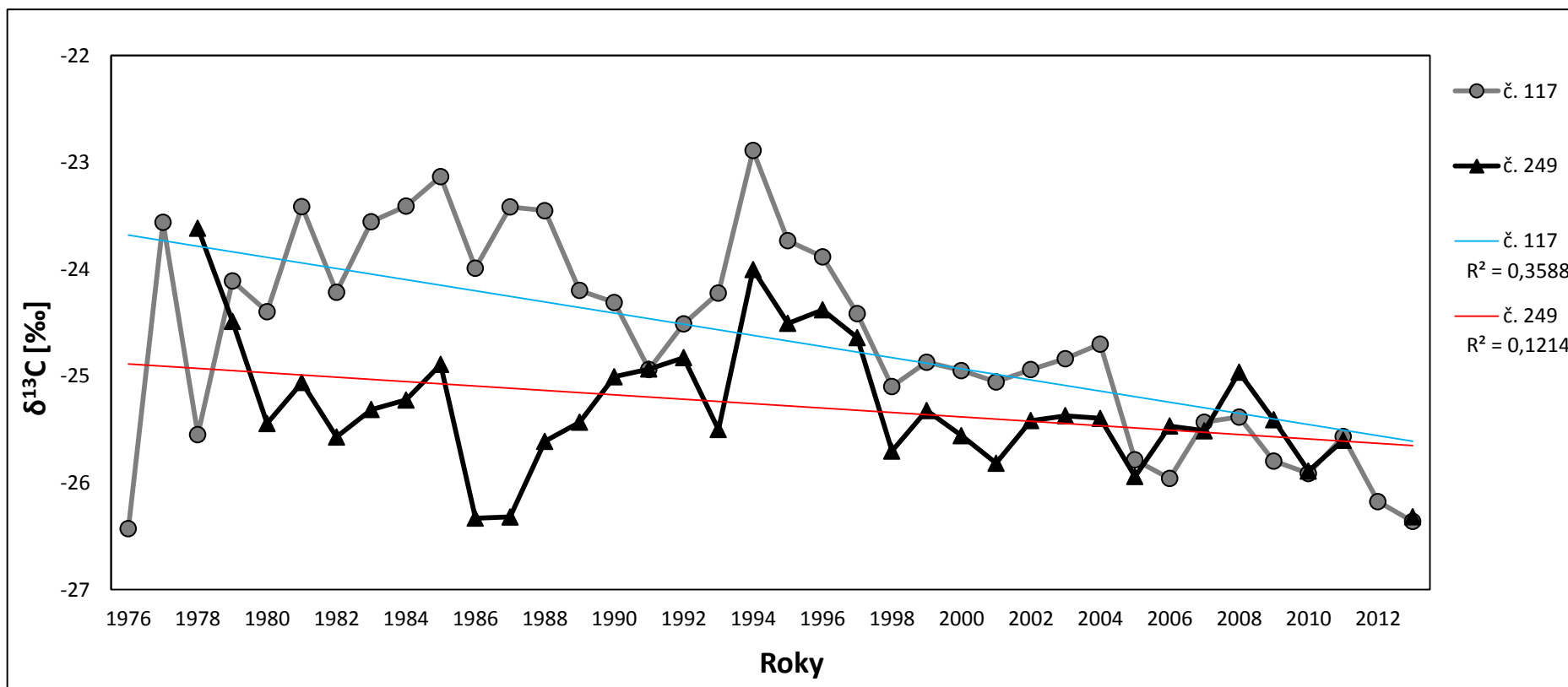
Obrázek 17: Porovnání $\delta^{13}\text{C}$ jarního dřeva u „zdravého“ smrku č. 199 a napadeného smrku č. 26. Obhacení a ochuzení o ^{13}C u „zdravého“ a napadeného smrku není jednoznačné. Spojnice lineárního trendu má u obou smrků klesající trend.



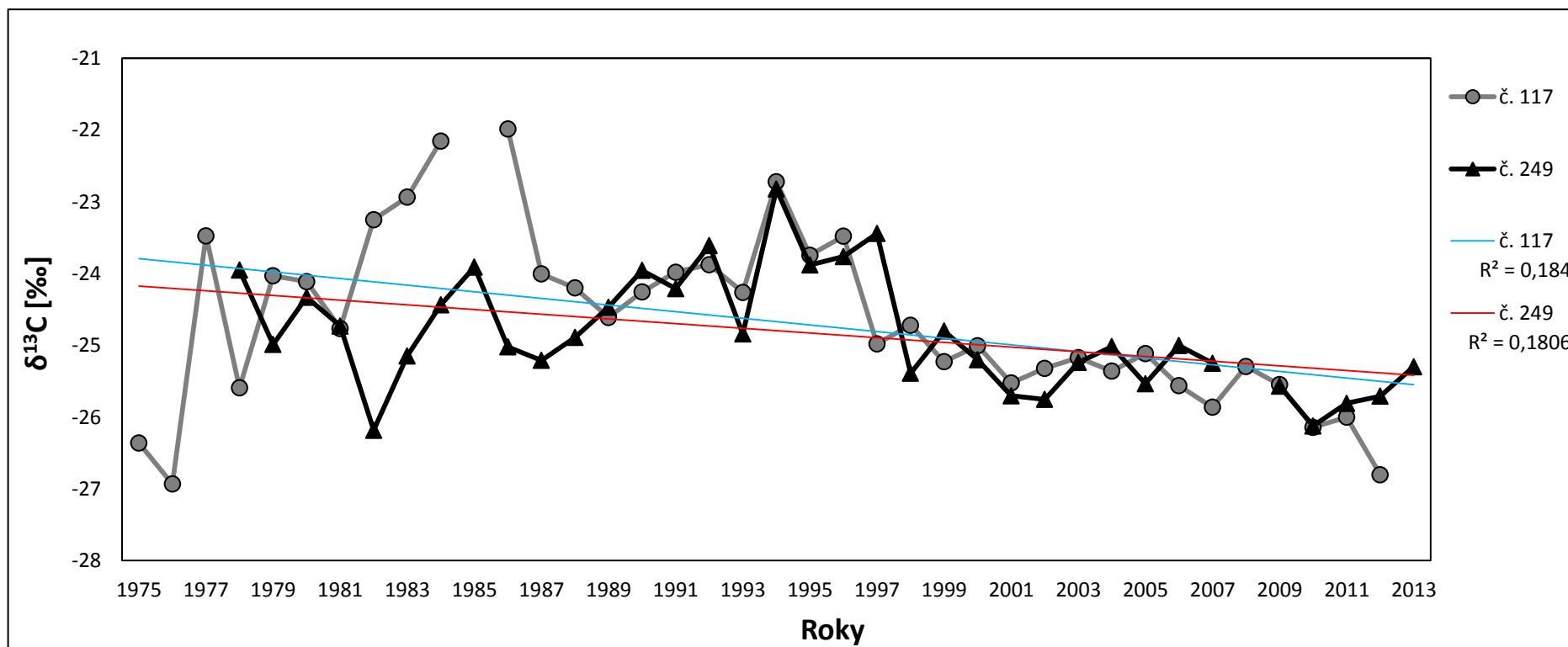
Obrázek 18: $\delta^{13}\text{C}$ v jarních, letních a celých letokruzích napadeného smrku č. 249. Porovnání dřeva celého letokruhu, dřeva letního a dřeva jarního v prvních letech života napadeného smrku ukazuje rozdílné izotopové složení. V roce 1994 a 1995 je dřevo celého letokruhu, letní a jarní dřevo obohaceno o ^{13}C . Letní dřevo a dřevo celého letokruhu je obohaceno i v letech 1996 a 1997. Poté už není tak výrazný izotopový rozdíl mezi zkoumanými dřevy. Jarní dřevo je výrazně ochuzeno v roce 2011. Jarní dřevo bylo analyzováno v roce 2012. Letní dřevo a roční přírůstek bylo analyzováno v roce 2013.



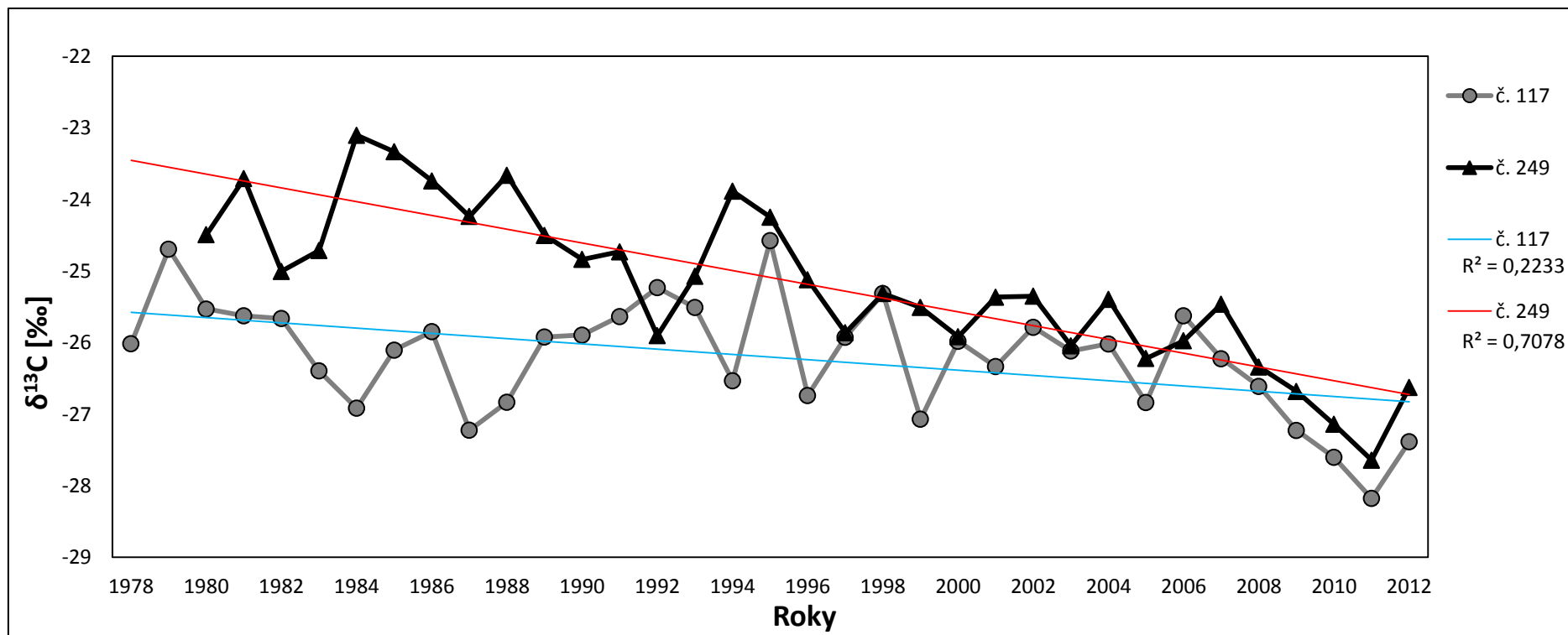
Obrázek 19: $\delta^{13}\text{C}$ v jarních, letních a celých letokruzích „zdravého“ smrku č. 117. Jarní dřevo je ochuzeno oproti letnímu dřevu a dřevu celého letokruhu. Letní dřevo a dřevo celého letokruhu má podobné izotopové složení. V roce 1984 a 1987 je jarní dřevo výrazněji obohaceno o ^{13}C . U letního dřeva se ukazuje výrazné obohacení v roce 1984 a 1986, u vzorku náležící roku 1985 došlo k chybě při analýze a nebyl změřen. V roce 1994 se ukazuje obohacení o ^{13}C u letního dřeva a dřeva celého letokruhu. Jarní dřevo je obohaceno v roce 1995. Další výrazné ochuzení jarního dřeva nastává v roce 2011. Jarní dřevo bylo analyzováno v roce 2012. Letní dřevo a roční přírůstek bylo analyzováno v roce 2013.



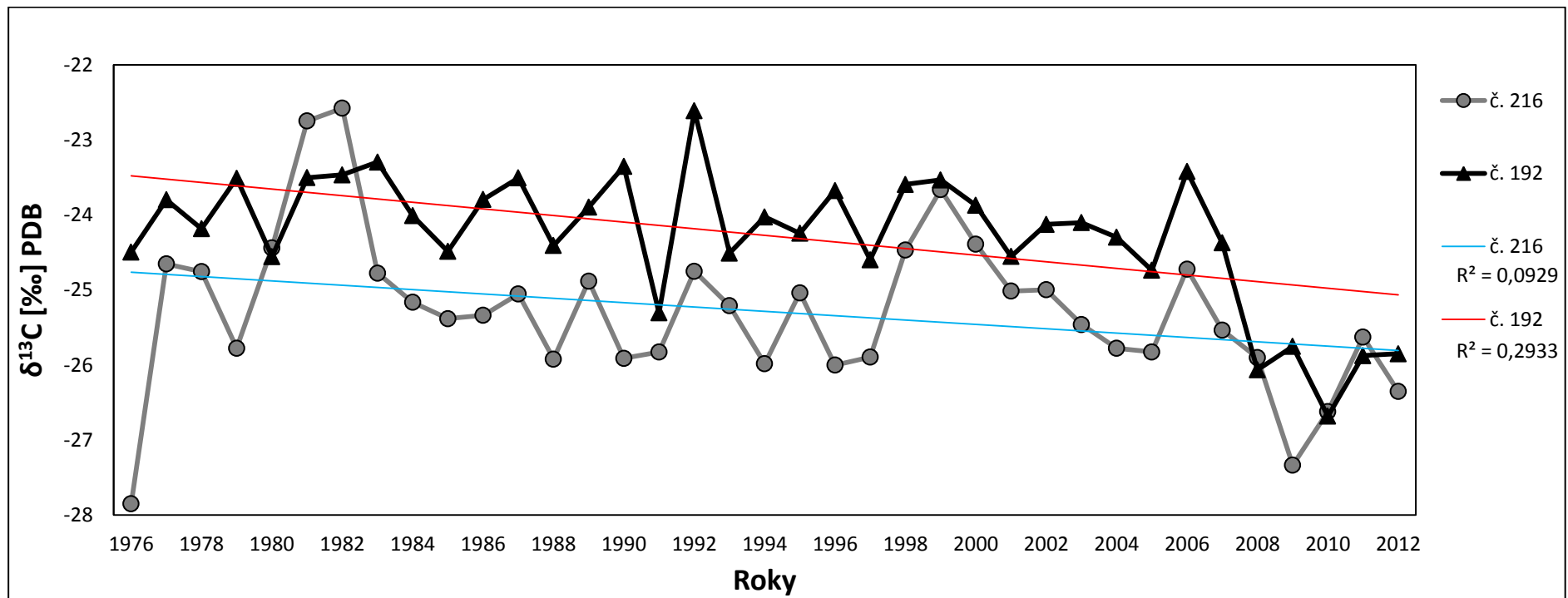
Obrázek 20: Porovnání $\delta^{13}\text{C}$ celého letokruhu u napadeného smrku č. 249 a „zdravého“ smrku č. 117. Dřevo celého letokruhu je výrazně obohaceno u „zdravého“ smrku. V prvních letech je výrazný rozdíl v izotopovém složení u obou stromů. V roce 1994 se ukazuje výrazné obohacení o ^{13}C a následuje u obou stromů ochuzování o ^{13}C až do současnosti. Spojnice lineárního trendu u obou smrků klesá.



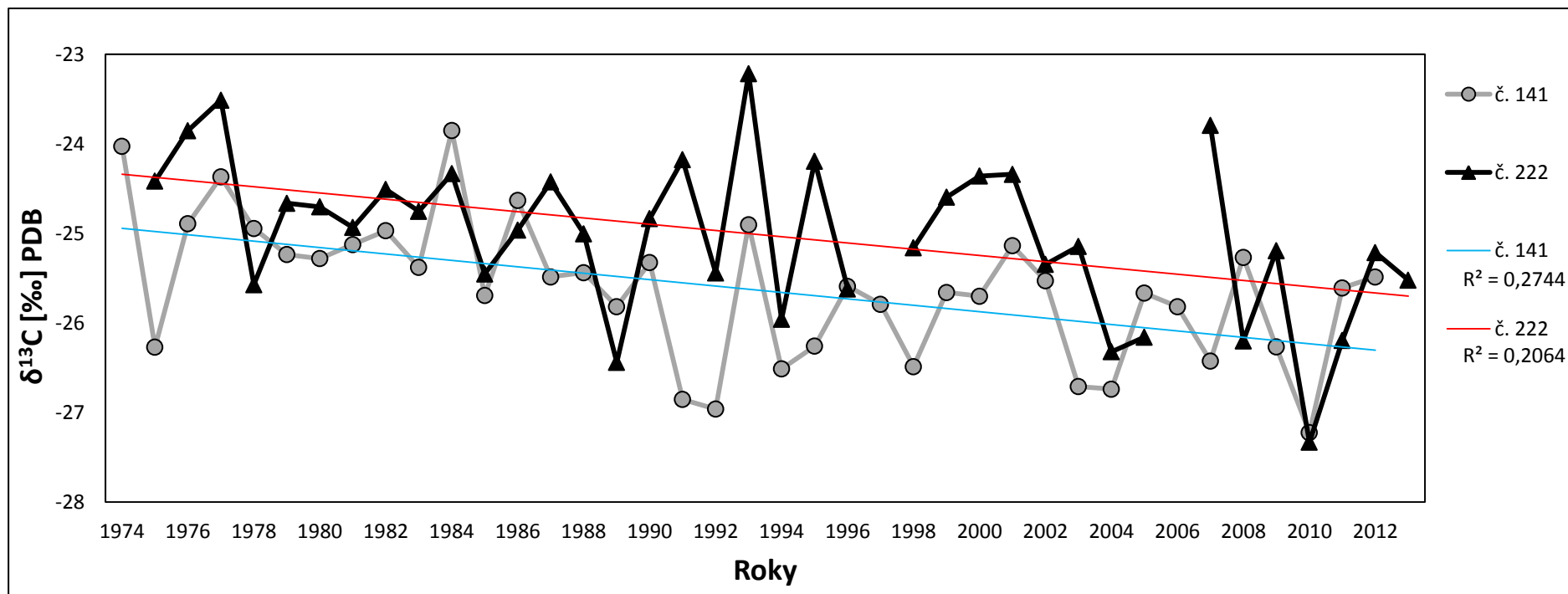
Obrázek 21: Porovnání $\delta^{13}\text{C}$ letního dřeva u napadeného smrku č. 249 a „zdravého“ smrku č. 117. Letní dřevo „zdravého“ a napadeného smrku je podobného izotopového složení. Nejvýraznější rozdíl ve složení je mezi léty 1983 až 1986, kdy nastává u obou stromů obohacení o ^{13}C . Spojnice lineárního trendu u obou smrků klesá.



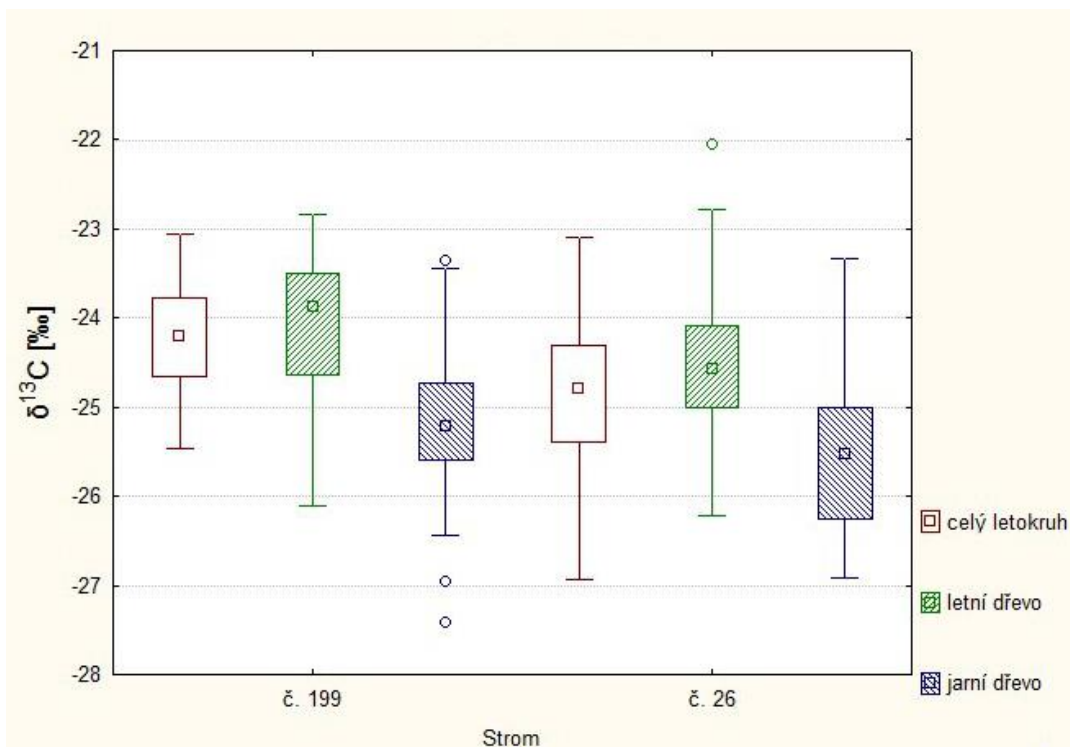
Obrázek 22: Porovnání $\delta^{13}\text{C}$ jarního dřeva u napadeného smrku č. 249 a „zdravého“ smrku č. 117. V prvních letech života je dřevo u napadeného smrku obohaceno. Po té obohacení klesá a je podobného izotopového složení jako dřevo u „zdravého“ smrku. Největší ochuzení nastává v roce 2011 u obou stromů. Spojnice lineárního trendu u obou smrků klesá.



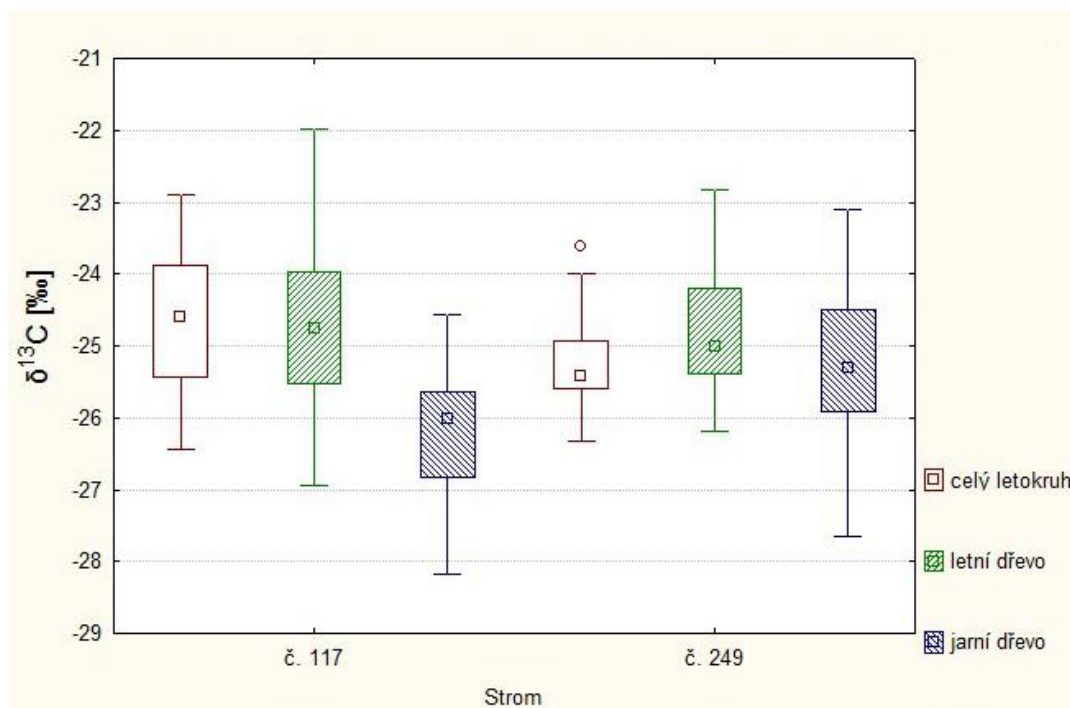
Obrázek 23: Porovnání $\delta^{13}\text{C}$ jarního dřeva u „zdravého“ smrku č. 216 a napadeného č. 192. V prvním roce života je dřevo zdravého smrku silně ochuzeno o ^{13}C . V roce 1982 a 1983 je jarní dřevo „zdravého“ smrku více obohaceno o ^{13}C oproti napadenému smrku. V roce 1992 je dřevo napadeného smrku obohaceno o ^{13}C . Další výrazné obohacení o ^{13}C u obou smrků nastává v roce 2006. Poté následuje ochuzení u obou smrků, v roce 2009 u zdravého smrku a v roce 2010 u napadeného smrku. Dřevo napadeného smrku je významně obohaceno o ^{13}C oproti dřevu zdravého smrku. Spojnice lineárního trendu u obou smrků klesá. Jarní dřevo bylo analyzováno v roce 2012.



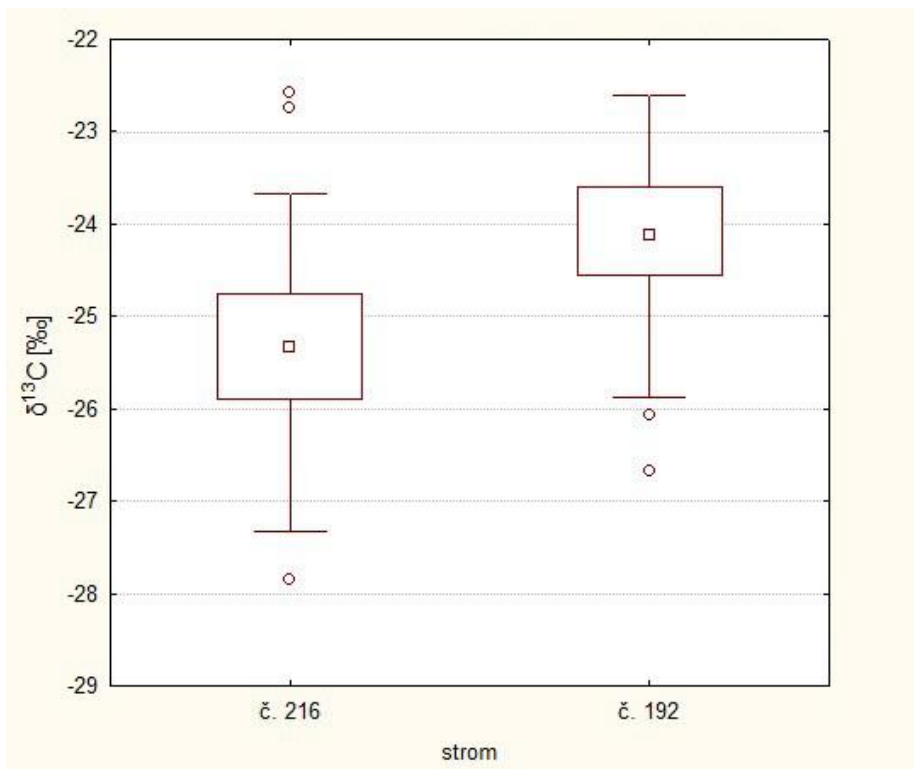
Obrázek 24: Porovnání $\delta^{13}\text{C}$ jarního dřeva u „zdravého“ smrku č. 141 a napadeného č. 222. Dřevo napadeného smrku je ve většině pozorovaných let obohaceno o ^{13}C oproti „zdravému“ smrku. Nejvyšší izotopové obohacení je zřetelné u obou smrků v roce 1992 a v roce 2006 u napadeného smrku. Spojnice lineárního trendu u obou smrků klesá. Jarní dřevo bylo analyzováno v roce 2012.



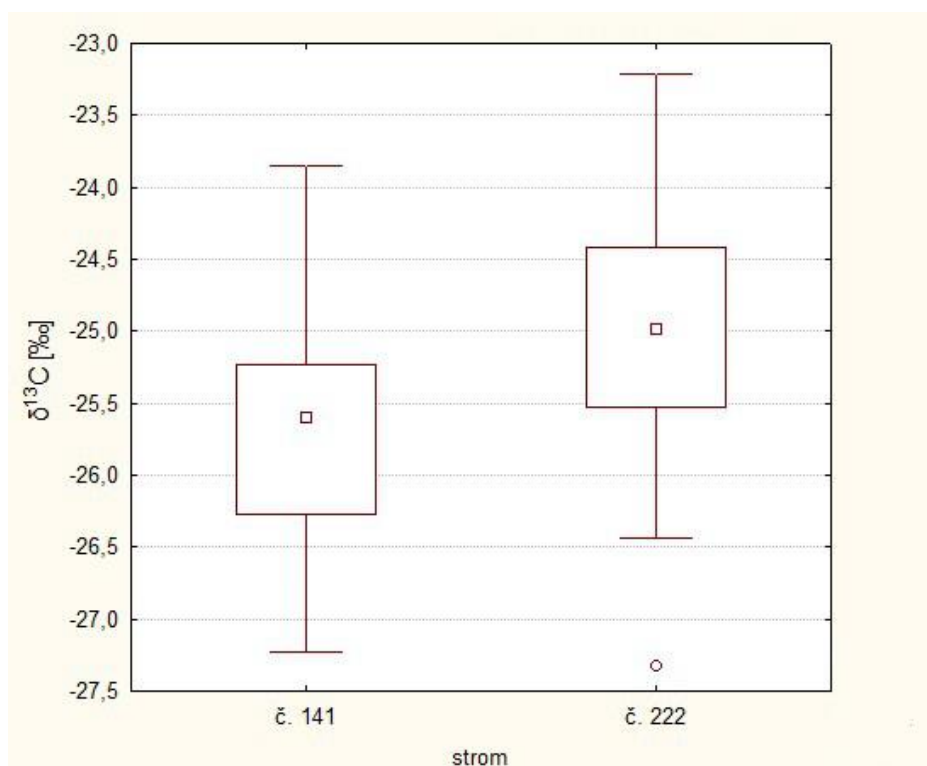
Obrázek 25: Statistické porovnání $\delta^{13}\text{C}$ jarního a letního dřeva a celého letokruhu u „zdravého“ smrku č. 117 a napadeného smrku č. 249. Obrázek ukazuje medián, dolní a horní kvartil (25% - 75 %), rozmezí maximálních a minimálních naměřených hodnot a odlehlé body.



Obrázek 26: Statistické porovnání $\delta^{13}\text{C}$ jarního a letního dřeva a celého letokruhu u „zdravého“ smrku č. 117 a napadeného smrku č. 249. Obrázek ukazuje medián, dolní a horní kvartil (25 % - 75 %), rozmezí maximálních a minimálních naměřených hodnot a odlehlé body.



Obrázek 27: Statistické porovnání $\delta^{13}\text{C}$ jarního dřeva u napadeného smrku č. 192 a „zdravého“ smrku č. 216. Obrázek ukazuje medián, dolní a horní kvartil (25 % - 75 %), rozmezí maximálních a minimálních naměřených hodnot a odlehlé body.



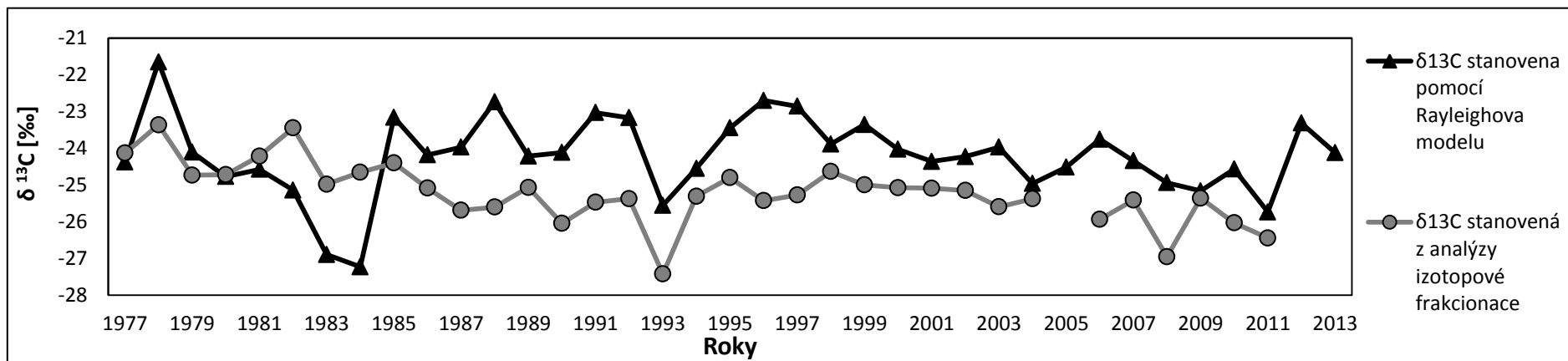
Obrázek 28: Statistické porovnání $\delta^{13}\text{C}$ v jarním dřevě u napadeného smrku č. 222 a „zdravého“ smrku č. 141. Obrázek ukazuje medián, dolní a horní kvartil (25 % - 75 %), rozmezí maximálních a minimálních naměřených hodnot a odlehlé body u každého pozorovaného dřeva.

4.2 Použití kinetického frakcionačního modelu

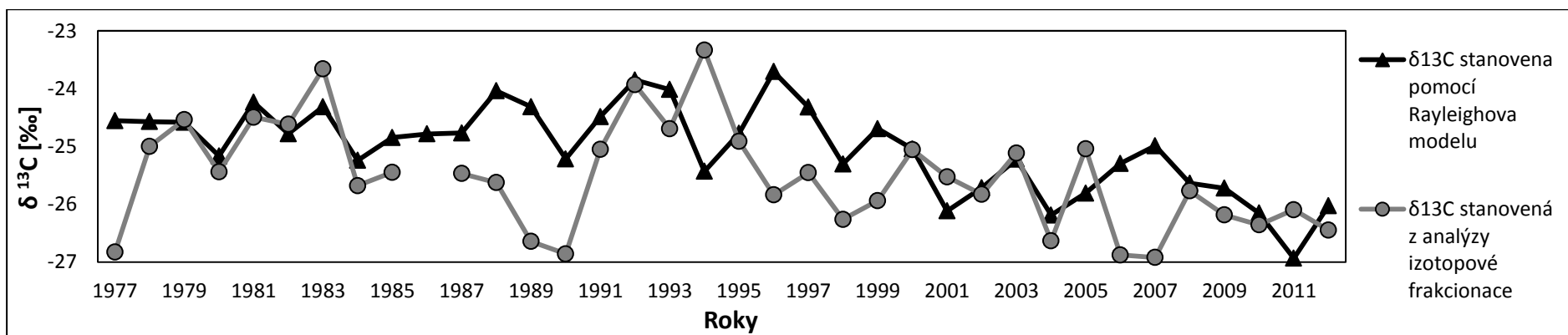
Pro kvantifikaci izotopové frakcionace (vyjádřené pomocí $\delta^{13}\text{C}$) v jarním dřevu ve vzorcích odebraných na začátku září roku 2013 byl využit kinetický frakcionační (Rayleighův) model. Výpočet byl realizován na základě hodnot $\delta^{13}\text{C}$ změřených v letním dřevě a v dřevě celého letokruhu. Vypočtené hodnoty byly pak srovnány s hodnotami přímo naměřenými v jarním dřevu ve vzorcích z odběru v roce 2012.

Vypočtené hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ podle Rayleighova modelu a naměřené hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ z analýzy IRMS v roce 2012 se u jarního dřeva „zdravého“ smrku č. 199 a 117 výrazně liší. Vypočtené hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ podle Rayleighova modelu jsou vyšší, než byly ve skutečnosti změřeny analýzou IRMS v roce 2012. U napadeného smrku č. 249 je vyšší hodnota $\delta^{13}\text{C}$ stanovena na základě analýzy izotopové frakcionace v prvních letech života smrku. Posléze jsou stanovené hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ z analýzy IRMS a kinetického frakcionačního modelu podobné. U napadeného smrku č. 26 jsou hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ stanovené podle Rayleighova modelu a podle analýzy IRMS jsou různé v pozorovaných letech, pouze v prvních letech života stromu se ukazují podobné hodnoty.

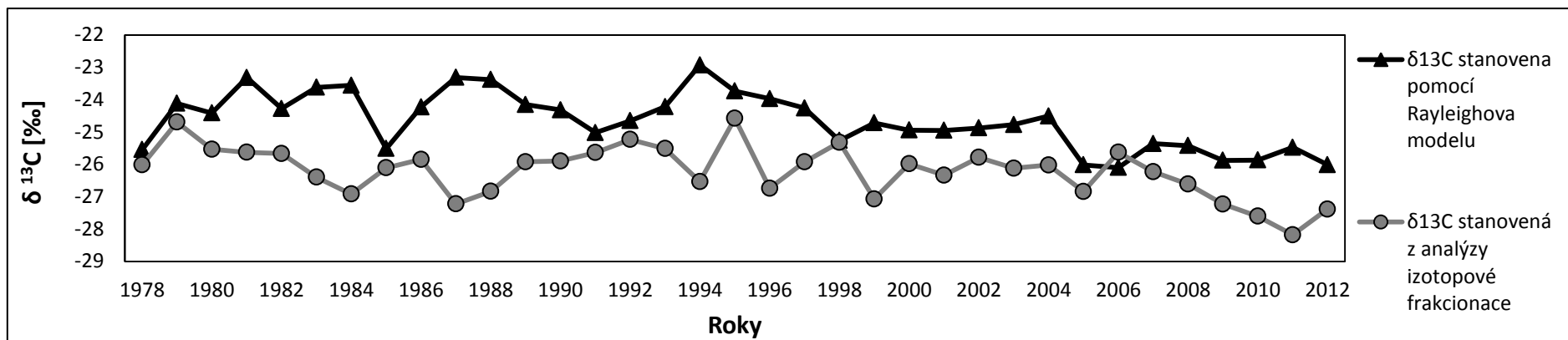
U žádného z pozorovaných smrků nebyla zjištěna stejná hodnota $\delta^{13}\text{C}$, která byla stanovena podle kinetického frakcionačního modelu a analýzy IRMS.



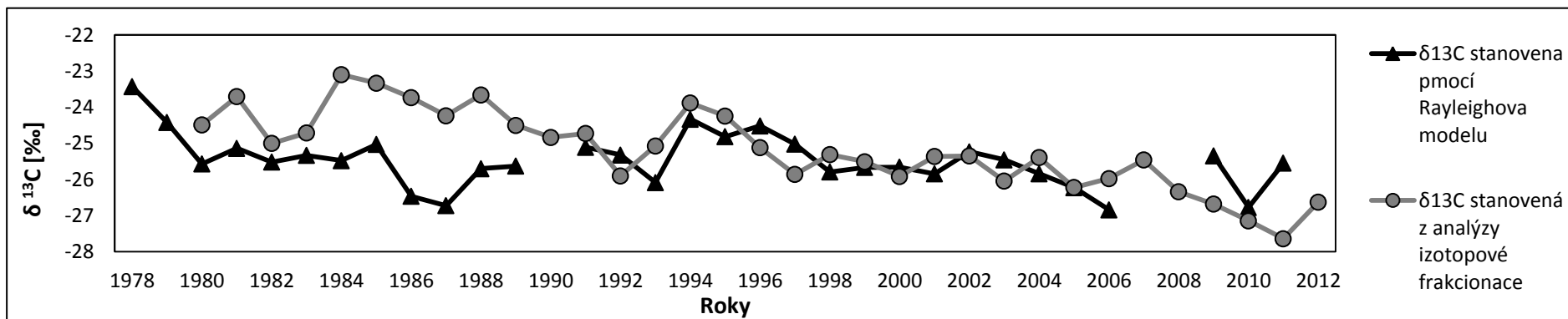
Obrázek 29: Porovnání $\delta^{13}\text{C}$ stanovené podle Rayleighova modelu a $\delta^{13}\text{C}$ z analýzy IRMS jarního dřeva ve „zdravém“ smrku č. 199. Mezi lety 1980 a 1984 je $\delta^{13}\text{C}$ vyšší u analyzovaného jarního dřeva z roku 2012, oproti $\delta^{13}\text{C}$ stanovené podle Rayleighova modelu.



Obrázek 30: Porovnání $\delta^{13}\text{C}$ stanovené podle Rayleighova modelu a $\delta^{13}\text{C}$ z analýzy IRMS jarního dřeva v napadeném smrku č. 26. Mezi lety 1979-1984 je $\delta^{13}\text{C}$ podobné hodnoty. V následujících letech neukazuje $\delta^{13}\text{C}$ podle Rayleighova modelu a podle analýzy IRMS podobné hodnoty.



Obrázek 31: Porovnání $\delta^{13}\text{C}$ stanovené podle Rayleighova modelu a $\delta^{13}\text{C}$ z analýzy IRMS jarního dřeva ve „zdravém“ smrku č. 117. $\delta^{13}\text{C}$ stanovená podle Rayleighova modelu ukazuje ve všech pozorovaných letech, kromě roku 2006, vyšší hodnotu ^{13}C než $\delta^{13}\text{C}$ naměřena analýzou IRMS v roce 2012.



Obrázek 32: Porovnání $\delta^{13}\text{C}$ stanovené podle Rayleighova modelu a $\delta^{13}\text{C}$ z analýzy IRMS jarního dřeva v napadeném smrku č. 249. V prvních sledovaných letech je vyšší $\delta^{13}\text{C}$ stanovená analýzou IRMS z roku 2012. Posléze dochází k vzájemnému prolínání s hodnotou $\delta^{13}\text{C}$ stanovenou podle Rayleighova modelu.

5 DISKUZE

Zkoumání složení dřeva stromů z hlediska stabilních izotopů je poměrně známé a rozšířené. Nejčastějším zkoumaným izotopem je ^{13}C , o něco méně je zkoumán ^{18}O nebo ^{15}N . Na toto téma nalezneme mnoho prací, které se zabývají izotopovým složením různých částí stromu, např. ročním přírůstkem, pupeny, celulózou a ligninem, sacharidy v dřevu... Ve své práci sleduji izotopové složení uhlíku v letokruzích dřeva smrků.

Má práce na základě izotopové poměrové hmotnostní spektrometrie (IRMS) ověřuje, zda je rozdíl v izotopovém zastoupení stabilních izotopů uhlíků ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) v letokruzích smrku napadeného václavkou ve srovnání se smrkem, který nejeví symptomy napadení. Hypotéza práce je založena na skutečnosti, že parazitující václavka ve smrku vytváří vodní deficit. Napadený smrk se snaží zabránit prohlubujícímu se vodnímu deficitu uzavřením průduch, tím nastane ve stromu rozdílná izotopová frakcionace během fotosyntézy, než je tomu u nenapadeného smrku. Rozdílná izotopová frakcionace se projeví v napadeném smrku obohacením dřeva o těžší izotop uhlíku (^{13}C).

První odběr vzorků proběhl v září roku 2012. Z odebraných vzorků bylo analyzováno jarní dřevo, které sloužilo pouze k vzájemnému porovnání dvou typů smrků – vykazujících symptomy napadení václavkou (dále jako napadené) a smrků, které symptomy nevykazují (dále jako zdravé). Výsledky analýz ukázaly u tří párů smrků (mimo pár č. 199 a 26) zřetelné obohacení jarního dřeva o ^{13}C u smrků napadených václavkou, což potvrdilo hypotézu, že napadené smrky jsou obohaceny o ^{13}C v porovnání se zdravými smrkem. U posledního zkoumaného páru smrků č. 199 a 26 nebyl významný rozdíl v izotopovém složení.

Pro potvrzení získaných výsledků byly po roce uskutečněny další vývrty z částí stejných stromů jako v předešlém případě. Odběr proběhl 18. 9. 2013. Kvůli časové náročnosti přípravy vzorků na analýzu IRMS bylo odebráno dřevo pouze u dvou párů smrků – č. 199 a 26, pár, kde se analýza jarního dřeva nepotvrdila. Druhým odebraným párem smrků byl strom č. 249 a 117, kde byl sice rozdíl v izotopovém složení, v prvních letech života byl napadený smrk více obohacen o ^{13}C , ale v dalších letech jeho života došlo k ochuzení o tento izotop.

Z druhého odběru bylo analyzováno letní dřevo a dřevo celého letokruhu. U letního dřeva a dřeva celého letokruhu u smrků č. 199 a 26 se ukázalo ve většině let obohacení o ^{13}C u zdravého smrku č. 199, a hypotéza nebyla tím pádem potvrzena. U napadeného smrku č. 26 byla ve vývrtnu nalezena v prvních letech života hniloba, která se projevila i na izotopovém složení, které je v tomto období téměř shodné pro jarní a letní dřevo a dřevo celého letokruhu.

U páru č. 249 a 117 je obohacení dřeva o ^{13}C celého letokruhu ve zdravém stromě č. 117. U analýzy letního dřeva nebyl rozdíl v izotopovém složení průkazný. Je tedy otázkou, co se v jarním a letním dřevě a dřevě celého letokruhu z izotopového hlediska odehrává, ať už u zdravého nebo napadeného smrku.

Intra-anuální vzor $\delta^{13}\text{C}$ v letokruzích je způsoben rozdílným ukládáním asimilátů během vegetačního období (Helle a Schleser 2004). Výzkum intra-anuálního vzoru $\delta^{13}\text{C}$ v letokruzích se stal předmětem zkoumání teprve v nedávné době (Helle a Panferov 2004). Nejintenzivnější růst letokruhů nastává od června do poloviny srpna (Požgaj *et al.* 1997). U všech čtyř smrků, u nichž byly uskutečněny oba odběry (stromy č. 199, 26, 117 a 249) se ukázalo jarní dřevo jako nejvíce ochuzené o ^{13}C . U letního dřeva a dřeva celého letokruhu není obohacení jednoznačné. Podle Bryurykové *et al.* (2011) je na začátku růstové sezóny jarní dřevo ochuzeno o ^{13}C díky tomu, že k tvorbě letokruhu jsou využívány zásoby z konce léta předešlého roku. Jarní část dřeva je tedy ochuzena a v průběhu sezóny začíná hodnota $\delta^{13}\text{C}$ narůstat. Největší obohacení o ^{13}C nastává při přechodu ze světlejší části do tmavší části letokruhu, kdy se začíná tvořit letní dřevo. Ve vytvářejícím se letním dřevě opět začne $\delta^{13}\text{C}$ klesat.

Je možné, že jsou výsledky ovlivněny tím, jak byly jednotlivé části dřeva na analýzu nařezány. Na analýzu jarního dřeva byla použita jen „nejsvětlejší“ část z letokruhu, tedy dřevo, které bylo vytvořeno na začátku růstové sezóny, nikoliv úplně celé jarní dřevo. Na analýzu letního dřeva byla použita „tmavá“ část letokruhu. Na dřevo celého letokruhu byl pochopitelně použit celý roční přírůstek. Tedy pomyslným „sečtením“ jarního dřeva a letního dřeva nedostaneme celý roční přírůstek. Jarní dřevo tedy může být značně ochuzeno v porovnání s letním dřevem a dřevem celého letokruhu, protože byla analyzována ta část jarního dřeva, kdy je $\delta^{13}\text{C}$ nejnižší. Podobně jako u letního dřeva, které mohlo být odděleno ke konci vegetačního období a potom by bylo více ochuzeno o ^{13}C než dřevo celého letokruhu.

Důležitým faktorem, který rozhoduje o izotopovém složení dřeva je počasí. Počasí ovlivňuje primárně průduchy, které se účastní výměny plynů a vodních par s okolním prostředím (McCarroll a Loader 2004). Zjednodušeně můžeme říci, že rostlina lépe prosperuje, když je vyšší vzdušná vlhkost a nižší teplota, která ovlivňuje otevírání průduchů, a tím i vyšší intracelulární obsah CO₂, což má za následek ochuzení o ¹³C (Helle a Schleser 2004). V letech 1982-1984 byl průměrově nízký srážkový úhrn v Moravskoslezské oblasti, ale srážky během letních měsíců byly poměrně vydatné v porovnání s jinými roky (Příloha: obrázek 9). Přesto se u pozorovaných smrků projevila mírná změna v izotopovém složení u všech pozorovaných smrků, mimo jarní dřevo zdravého smrku č. 117. Další období, kdy byly naměřeny vyšší průměrné teploty a nízké srážky, bylo v letech 1989 až 1994, mimo rok 1991, kdy byly srážky i teplota příznivé. Z těchto let bylo průměrově na srážky nejhudší léto 1993. V tomto období se vyskytuje výrazné obohacení o ¹³C u většiny pozorovaných smrků. Výjimkou je jarní dřevo u páru smrků č. 26 a 199. V roce 2010 byl v oblasti naměřen vysoký srážkový úhrn v letních měsících (nejvyšší byl zaznamenán v měsíci červnu). Srážky se výrazně neprojevily na ochuzení o ¹³C u sledovaných smrků.

Porovnání meteorologických záznamů z dané oblasti a izotopového složení v letokruzích ukazuje, že je $\delta^{13}\text{C}$ spíše závislá na srážkovém úhrnu než na teplotě prostředí. To potvrzuje i Žárník a Křístek (2007), kteří uvádí, že je smrk více závislý na srážkovém úhrnu, než na teplotě prostředí.

Někdy se může u mladých stromků projevit tzv. juvenilní efekt. Stromky rostoucí blízko zemi jsou nuceny recyklovat již vydechnutý vzduch, a to vede k ochuzení o ¹³C (McCarroll a Loader 2004). Juvenilní efekt by se mohl vyskytovat i u jarního dřeva smrku č. 26, který byl v prvních letech života ochuzen o ¹³C.

Podle lineární spojnice trendu se u všech stromů v průběhu let ukazuje trend klesání $\delta^{13}\text{C}$. Je možné, že je ochuzení ve smrcích spojeno s ochuzováním atmosférického CO₂, které má původ ve spalování fosilních paliv (McCarroll a Loader 2004), které jsou jedním z nejméně obohacených přírodních materiálů (Cabicar 1982). Ale zdá se nepravděpodobné, že by atmosférický CO₂ takto výrazně ovlivnil ochuzení o ¹³C ve stromech v posledních desetiletích. Jednou z variant by mohlo být, že na pozorované lokalitě zřejmě došlo k nějaké, dosud neidentifikované změně, která ovlivnila a stále ovlivňuje ochuzení stromů o stabilní izotop ¹³C.

Další možností by mohla být ne zcela správná hypotéza, ze které tato práce vychází. U zdravých stromů č. 117, č. 141 a napadených č. 26, č. 222, č. 249 se ukazuje výrazné ochuzení po nepříznivém v období v letech 1989-1994 (malý srážkový úhrn a vysoké teploty během vegetačního období). Přestože Soukup (2005) uvádí, že v roce 2003 po období sucha vypukla na mnoha místech „václavková kalamita“, na mnou zkoumané lokalitě mohlo k napadení smrků dojít již v období 1989-1994, spíše až po roce 1990, kdy se u většiny pozorovaných smrků začalo projevovat ochuzování o ^{13}C . Příkladem by mohl být pár smrků č. 117 (zdravý smrk) a 249 (napadený smrk). U smrků se v prvních letech života ukazuje rozdílné izotopové složení. Zdravý smrk tedy mohl růst v méně příznivých podmínkách, jak ukazuje vyšší $\delta^{13}\text{C}$, než druhý smrk v páru. V období mezi roky 1989-1994 se začíná u obou smrků projevovat podobné izotopové složení a po výrazném obohacení v roce 1993, začíná $\delta^{13}\text{C}$ klesat bez větších výkyvů v izotopovém složení, jako tomu bylo v předchozích letech. Z toho by se dalo usuzovat, že oba stromy mohly být po tomto nepříznivém období napadeny václavkou. U stromu, který je nyní označen jako napadený, protože vykazuje symptomy infekce václavkou, se mohl projevit akutní stav onemocnění. Kdežto u stromu, který je označen jako zdravý, se může vyskytovat chronické onemocnění. Kdyby toto tvrzení platilo, tak by všechny zkoumané smrky mohly být napadené václavkou, jen s tím rozdílem, že tzv. zdravé smrky jsou napadeny chronicky. Podle Soukupa (2005), při chronickém onemocnění parazituje václavka na stromu desítky let a strom nemusí jevit žádné známky napadení.

V izotopovém složení jarního dřeva je značně průkazný rozdíl izotopového složení u zdravého smrku č. 216 a napadeného č. 192. Tento rozdíl může být způsoben velkým rozdílem ve zdravotním stavu pozorovaných smrků. U napadeného smrku se vyskytuje silné žloutnutí jehličí, suchý vrchol a redukce přírůstu. Naproti tomu u jarního dřeva zdravého smrku č. 141 a napadeného smrku č. 222 není rozdíl tak výrazný jako u předchozího páru. Co se týká symptomů napadení václavkou, u napadeného smrku č. 222 se ukazuje jediný příznak napadení, a to redukovaný přírůst.

Ve výsledcích se občas vyskytují výkyvy v ochuzení nebo obohacení o ^{13}C mezi jednotlivými roky. Je možné, že tyto výkyvy mohou být následkem nějaké změny v bezprostřední blízkosti daného stromu, neboť les, ve kterém výzkum probíhal je hospodářského charakteru.

Kinetický frakcionační (Rayleighův) model byl použit pro porovnání $\delta^{13}\text{C}$ z analýzy IRMS, která proběhla v roce 2012 a analýzy letního dřeva a dřeva celého letokruhu z roku 2013. Na základě vypočtených hodnot podle Rayleighova modelu a hodnot naměřených z analýzy IRMS z roku 2012, nebyla nalezena shoda mezi zjištěnými hodnotami. Použití kinetického frakcionačního modelu tedy není vhodné pro tento případ. Zjištěné rozdílné hodnoty můžou mít původ v analyzovaných vzorcích, které nebyly odebrány z identického místa na kmeni. Požgaj *et al.* (1997) uvádí, že jsou letokruhy rozdílné v různých částech stromu. Dalším důvodem mohlo být už řečené nepřesné nařezání jarního dřeva. Ve výsledku by byla hodnota $\delta^{13}\text{C}$ vypočtené podle Rayleighova modelu vyšší, než naměřená hodnota $\delta^{13}\text{C}$ z izotopové analýzy z roku 2012. Toto tvrzení by potvrzovaly výsledky u smrku č. 199 a č. 117, kde je ve většině pozorovaných let vypočtená hodnota $\delta^{13}\text{C}$ vyšší podle Rayleighova modelu.

Některé letokruhy mohou být sobě špatně přiřazeny chybou způsobenou mou nezkušeností při řezání letokruhů, kdy mohl být nařezán a zanalyzován i falešný letokruh. Přesto se domnívám, že to zásadním významem neovlivnilo výsledky analýzy, pouze vizuální vzhled grafů.

Pro další analýzu bych zvolila jeden druh dřeva, popřípadě izolovanou celulózu, která by byla analyzována. Také bych zvolila více párů pozorovaných stromů a provedla bych opakované odebrání vzorků s odstupem času (např. 2 roky), přestože si po vlastních zkušenostech uvědomuji značnou náročnost takového výzkumu. Získané údaje by mohly být vzájemně porovnány a mohla tím být objasněna příčina ochuzování či obohacování u zdravých a napadených stromů. A také by se ukázalo, jestli se dále vyvíjí lineární trend ochuzování o ^{13}C . Kromě těžkého izotopu uhlíku by mohla být provedena i analýza stabilního izotopu kyslíku (^{18}O). Jestliže václavka způsobuje ve stromu vodní deficit (Jančařík a Jankovský 1999), mělo by se to projevit na frakcionaci ^{18}O v letokruzích (McCarroll a Loader 2004).

6 ZÁVĚR

Má práce měla ověřit hypotézu, že napadení smrku v určitém období jeho života václavkou se na základě fotosyntetické aktivity projeví rozdílnou frakcionací stabilních izotopů uhlíku v letokruzích ve srovnání se „zdravým“ smrkem.

- Na základě předpokládané hypotézy a získaných údajů z analýzy frakcionace izotopů nelze jednoznačně stanovit, zda se napadené smrky liší v izotopovém složení od „zdravých“ smrků.
- Analýza stabilních izotopů uhlíku neukázala žádnou výraznou změnu v izotopovém složení u napadených smrků, která by přímo naznačila, kdy byl smrk václavkou napaden, jak bylo předpokládáno.
- Dále bylo zjištěno, že je izotopové složení variabilní ve sledovaných letech u všech zkoumaných smrků, což je pravděpodobně odrazí vlivy prostředí, především teplotu vzduchu a srážkový úhrn.

7 LITERATURA

- ANONYMUS. Isotopes of the element carbon. Jefferson Lab. <http://education.jlab.org/itselemental/iso006.html> (accessed March 03, 2013).
- ANTONÍN, V., TOMŠOVSKÝ, M. Václavky – známé neznámé houby. *Živa*, 2010, vol. 6, p. 254–255.
- BALABÁN, K., KOTLABA, F. *Atlas dřevokazných hub*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1970. 133 p.
- BARAJAS-MORALES, J., PÉREZ-JIMÉNEZ, L. A., CHIANG, F. Seasonal fluctuations of starch in wood and bark of trees from a tropical deciduous forest in Mexico. *Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México, Ser. Bot.*, 1997, vol. 68, no. 1, p. 7–19.
- BAUMGARTNER, K., COETZEE, M. P. A., HOFFMEISTER, D. Secrets of the subterranean pathosystem of *Armillaria*. *Molecular plant pathology*, 2011, vol. 12, no. 6, p. 515–534.
- BRYUKHANOVA, M. V., VAGANOV, E. A., WIRTH, C. Influence of climatic factors and reserve assimilates on the radial growth and carbon isotopes composition in tree rings of deciduous and coniferous species. *Contemporary Problems of Ecology*, 2011, vol. 4, no. 2, p. 126–132.
- CABICAR, J. *Stabilní izotopy*. Praha: Academia, 1982. 300 p.
- COOKE, R. C., RAYNER, A. D. M. *Ecology of saprophytic fungi*. Essex: Longman Group Limited, 1984. 415 p.
- COPLEN, T. B., BRAND, W. D., GEHRE, M., GRÖNING, M., MEIJER, H. A. J., TOMAN, B., VERKOUTEREN, R. M. After two decades a second anchor for the VPDB $\delta^{13}\text{C}$ scale. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2006, vol. 20, p. 3165–3166.
- ČERNÝ, A. *Parazitické dřevokazné houby*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1984. 104 p.
- FERRIO, J. P., VOLTAS, J., ARAUS, J. L. Use of carbon isotope composition in monitoring environmental changes. *Management of Environmental Quality: An International Journal*, 2003, vol. 14, no. 1, p. 82–98.
- FRANCEY, R. J., FARQUHAR, G. D. An explanation of $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ variations in tree rings. *Nature*, 1982, vol. 297, p. 28–31.

- HELLE, G., PANFEROV, O. Tree-Rings, Isotopes, Climate and Environment - TRICE. *Pages News*, 2004, vol. 12, no. 2, p. 22–23.
- HELLE, G., SCHLESER, G. H. Interpreting climate proxies from tree-rings. In FISHER, H., FLOESER, G., KUMKE, T., LOHMANN, G., MILLER, H., NEGENDANK, J. F. W., von STORCH, H. (ed.). *The KIHZ project: Toward a synthesis of Holocene proxy data and climate models*. Berlin: Springer Verlag, 2004, p. 129–148.
- HIEKE, K. *Encyklopedie jehličnatých stromů a keřů*. Brno: Computer press, 2008. 248 p.
- HLÁSNÝ, T., GRODZKI, W., ŠRÁMEK, V., HOLUŠA, J., KULLA, L., SITKOVÁ, Z., TURČÁNI, M., RACZKA, G., STRZELIŃSKI, P., WEGIEL, A. Spruce forests decline in the Besids / Hynutie smerkových porastov v Beskydoch. In *Spruce forests decline in the Beskids/Hynutie smerkových porastov v Beskydoch*. Zvolen: National Forest Centre/Národné lesnícke centrum, 2010, p. 15–31.
- JÄGGI, M., SAURER, M., FUHRER, J., SIEGWOLF, R. The relationship between the stable carbon isotope composition of needle bulk material, starch, and tree rings in *Picea abies*. *Oecologia*, 2002, vol. 131, p. 325–332.
- JANČAŘÍK, V., JANKOVSKÝ, L. Václavka stále aktuální. *Lesnická práce*, 1999, vol. 78, no. 6, p. 414–417.
- JANKOVSKÝ, L. *Biologie václavek – Biology of Armillaria sp.: Ecology and phytopathology of Armillaria species.: Dissertation*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 1997.
- JANKOVSKÝ, L., BERÁNEK, J., ČERMÁK, P., LIČKA, D. Základy anatomie a fyziologie stromů. In KOLAŘÍK, J. et al. *Péče o dřeviny rostoucí mimo les. 2. díl: Metodika ČSOP č. 6*. Vlašim: základní organizace Českého svazu ochránců přírody, 2005, p. 432–642.
- JANKOVSKÝ, L., SCHÁNĚL, L. Význam a možnosti využití dřevokazných hub při biologickém odbourávání cizorodých látek v lese. In JANKOVSKÝ, L. *Biologie václavek – Biology of Armillaria sp.: Ecology and phytopathology of Armillaria species. Dissertation*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 1997.
- KEČA, N., SOLHEIM, H. Host and distribution of *Armillaria* species in Serbia. *Aktuelt fra skogforskningen*, 2006, vol. 1, no. 6, p. 28–31.

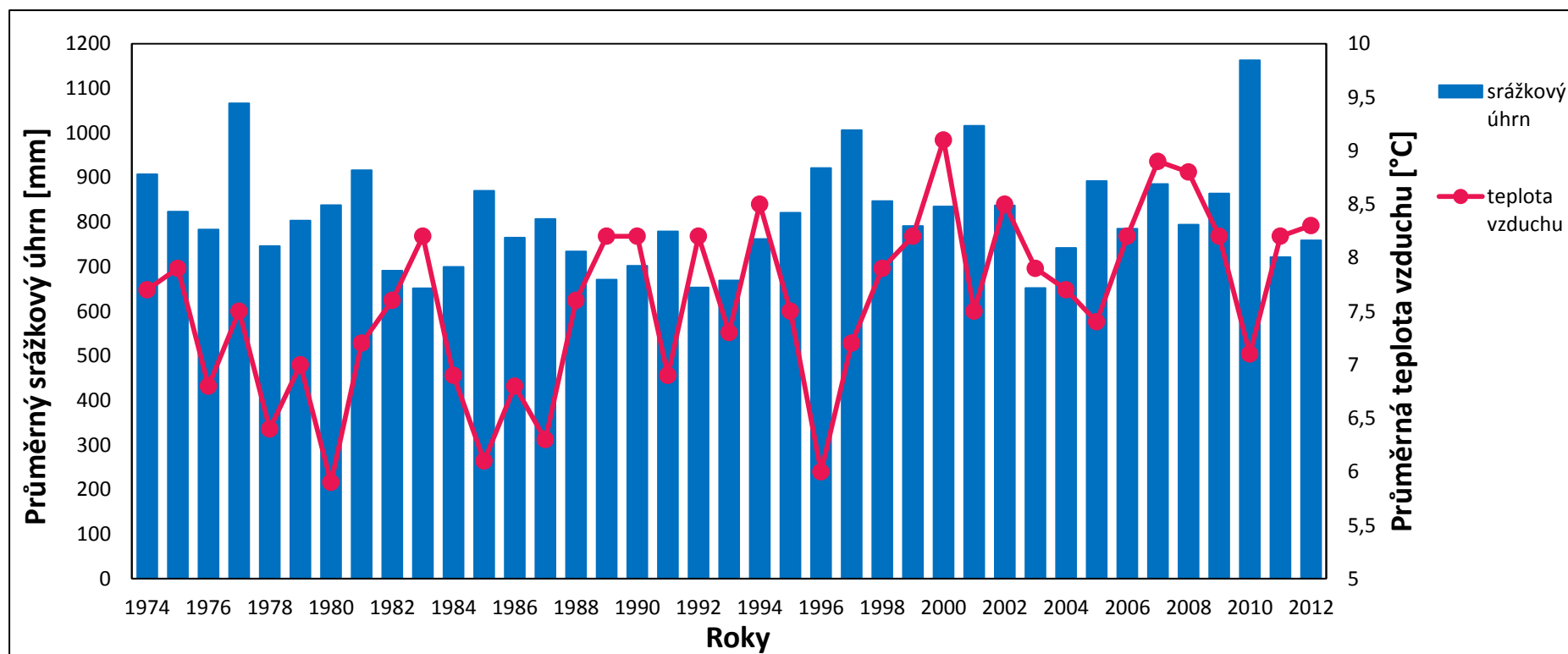
- KOBLÍŽEK, J. *Jehličnaté a listnaté dřeviny našich zahrad a parků: Klíč*. Tišnov: Sarsum, 2006. 551 p.
- KOTLABA, F., ANTONÍN, V. *Houby – česká encyklopedie*. Praha: Reader's digest Výběr, spol. s r.o., 2003. 448 p.
- KŘIVÁNEK, J. Lesnické charakteristiky jednotlivých krajů. In NĚMEC, J., HRIB, M. (ed.). *Lesy v České republice*. Praha: Consult, 2009, p. 228–380.
- LEAVITT, S. W. Prospects for reconstruction of seasonal environment from tree-ring $\delta^{13}\text{C}$: baselina findings from Great Lakes area. *Chemical Geology*, 2002, vol. 192, p. 47–58.
- LIBBY, L. M., PANDOLFI, L. J. Temperature dependence of isotope ratios in tree rings. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1974, vol. 71, no. 6, p. 2482–2486.
- LIVINGSTON, N. J., SPITTLEHOUSE, D. L. Carbon isotope fractionation in tree ring early and late wood in relation to intra-growing season water balance. *Plant, Cell and Environment*, 1996, vol. 19, no. 6, p. 768–774.
- LOADER, N. J., McCARROLL, D., GAGEN, M., ROBERTSON, I., JALKANEN, R. Extracting climatic information from stable isotopes in tree rings. In DAWSON, T. E., SIEGWOLF, R. T. W. (ed.). *Stable Isotopes as Indicators of Ecological Change*. Amsterdam – Boston – Heidelberg – London – New York – Oxford – Paris – San Diego – San Francisco – Singapore – Sydney – Tokyo: Academic Press, 2007, p. 27–48.
- LOADER, N. J., ROBERTSON, I., McCARROLL, D. Comparison of stable carbon isotope ratios in the whole wood, cellulose and lignin of oak tree-rings. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 2003, vol. 196, p. 395–407.
- LONGAUER, R., GÖMÖRY, D., PACALAJ, M., KRAJMEROVÁ, D. Genetic aspects of stress tolerance and adaptability of Norway spruce/Genetické aspekty tolerancie a adaptability smreka k stresu. In HLÁSNY, T., SITKOVÁ, Z. (ed.). *Spruce forests decline in the Beskids - Hynutia smrekových porastov v Beskydoch*. Zvolen: National Forest Centre/Národné lesnícke centrum, 2010, p. 131–143.

- LONGAUEROVÁ, V., LEONTOVYČ, R., KRAJMEROVÁ, D., VAKULA, J., GRODZKY, W. Fungal pathogens – hidden agents of decline / Hubové patogény – skryté príčiny hynutia. In HLÁSNÝ, T., SITKOVÁ, Z. (ed.). *Spurce forests decline in the Beskids - Hynutia smerekových porastov v Beskydoch*. Zvolen: National Forest Centre/Národné lesnícke centrum, 2010, p. 93–105.
- MARTINKOVÁ, M., ČERMÁK, M., GEBAUER, R., ŠPINLEROVÁ, Z., Základy anatomie a fyziologie stromů. In KOLAŘÍK, J. et al. *Péče o dřeviny rostoucí mimo les. 2. díl: Metodika ČSOP č. 6*. Vlašim: základní organizace Českého svazu ochránců přírody, 2005, p. 22–147.
- MATOVÍČ, A. *Stavba dřeva*. Brno: Vysoká škola zemědělská, 1992. 172 p.
- McCARROLL, D., LOADER, N. J. Stable isotopes in tree rings. *Quaternary Science Reviews*, 2004, vol. 23, p. 771–801.
- MIHAIL, D. J. Comparative bioluminescence dynamics among multirole *Armillaria gallica*, *A. mellea*, and *A. tabescens* genets. *Fungal Biology*, 2013, vol. 117, p. 202–210.
- MUSIL, I., HAMERNÍK, J. *Jehličnaté dřeviny: přehled nahosemenných i výtrusných dřevin: dendrologie I*. Praha: Academia, 2007. 352 p.
- PETTERSEN, R. C. The chemical composition of wood. In ROWELL, R. M. *The chemistry of solid wood. Advances in chemistry*. Washington, DC: American Chemical Society, 1984, vol. 207, p. 57–126.
- PILDAIN, M. B., COETZEE, M. P. A., WINGFIELD, M. J., RAJCHENBERG, M. Taxonomy of *Armillaria* in the Patagonian forests of Argentina. *Mycologia - The Mycological Society of America*, 2010, vol. 102, no. 2, p. 392–403.
- POŽGAJ, A., CHOVANEC, D., KURJATKO, S., BABIAK, M. *Štruktúra a vlastnosti dreva*. Bratislava: Príroda a.s., 1997. 485 p.
- PROCHÁZKA, P. Analýza stabilních izotopů – alternativní metoda studia migrace ptáků/Stable isotopes analysis – an alternative approach in the study of bird migration. *Sylvia*, 2006, vol. 42, p. 3–21.
- SITKOVÁ, Z., HLÁSNÝ, T., KULLA, L., GRODZKI, W., ŠRÁMEK, V. The Beskids - region of interest / Zaujmové územie Baskydy. In HLÁSNÝ, T., SITKOVÁ, Z. (ed.). *Spurce forests decline in the Beskids / Hynutia smerekových porastovv Beskydoch*. Zvolen: National Forest Centre / Národné lesnícke centrum, 2010, p. 9–13.

- SKALICKÝ, V., SKALICKÁ, A. *Picea* A. Dieter. In HEJNÝ, S., SLAVÍK, B. (ed.). *Květena České republiky I*. 2nd ed. Praha: Academia, 1997, p. 317–326.
- SLATER, Ch., PRESTON, T., WEAVER, L. T. Stable isotopes and the international system of units. *Rapid Communication in Mass Spectrometry*, 2001, vol. 15, no. 15, p. 1270–1273.
- SMITH, M. L., BRUHN, J. N., ANDRESON, J. B. The fungus *Armillaria bulbosa* is among the largest and oldest living organisms. *Nature*, 1992, vol. 356, p. 428–431.
- SOUKUP, F. *Amillaria ostoyae* (Romang.) Herin – václavka obecná. *Lesnická práce*, 2005, vol. 10, příloha: I-IV.
- SOUKUP, F. Jehličnaté dřeviny. Smrk – *Picea* A. Dieter. In UHLÍŘOVÁ, H., KAPITOLA, P., et al. *Poškození lesních dřevin*. 2004, p. 21–64.
- SOUKUP, F. K současné aktivaci některých dřevokazných hub v lesních porostech Česka. *Zpravodaj ochrany lesa*, 2007, vol. 14, p. 21–23.
- SULZMAN, E. W. Stable isotope chemistry and measurement: a primer. In MICHENER, R., LAJTHA, K. (ed.). *Stable isotopes in ecology and environmental science*. Malden – Oxford – Carlton: Blackwell Publishing, 2007, p. 1–21.
- TAYLOR, A. F. S., MARTIN, F., READ, D. J. Fungal diversity in ectomycorrhizal communities of Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst.] and beech (*Fagus sylvatica* L.) along North-South transect in Europe. *Carbon and nitrogen cycling in European forest ecosystems*, 2000, vol. 42, p. 343–363.
- ÚRADNÍČEK, L., MADĚRA, P., et al. *Dřeviny České republiky*. Písek: Matice Lesnická, s.r.o., 2001. 333 p.
- URBAN, O., ZITOVÁ, M., POKORNÝ, R., TOMÁŠKOVÁ, I., MAREK, M. V. Podstata a ekofyziologické předpoklady ukládání uhlíku. In MAREK, M. V., et al. *Uhlík v ekosystémech České republiky v měnícím se klimatu*. Praha: Academia, 2011, p. 51–98.
- VACEK, S. *Mountain forests of the Czech Republic*. Prague: Forest department ministry of Agriculture of the Czech Republic, 2002. 311 p.
- VASAITIS, R., STENLID, J., THOMSEN, I. M., BARKLUND, P., DAHLBERG, A. Stump removal to control root rot in forest stand. A literature study. *Silva Fennica*, 2008, vol. 42, no. 3, p. 457–473.

- VANČURA, K. Ochrana lesa. In NĚMEC, J., HRIB, M. (ed.). *Lesy v České republice*. Praha: Consult, 2009, p. 156–170.
- VĚTVIČKA, V. *Stromy: Evropské stromy*. Praha: Adventinum nakladatelství, s.r.o., 1999. 216 p.
- VOTRUBOVÁ, O. *Anatomie rostlin*. Praha: Univerzita Karlova, 1996. 89 p.
- WARGO, P. M., SHAW III, Ch. G. *Armillaria* root rot. *The Plant Disease*, 1985, vol. 69, no. 10, p. 826–832.
- WEISSMANNOVÁ, H., et al. CHKO Beskydy. In MACKOVČIN, P., SEDLÁČEK, M. (ed.). *Ostravsko: Chráněná území ČR, svazek X*. Praha: Agentura ochrany přírody a krajiny ČR a EkoCentrum Brno, 2004, p. 301–388.
- WIESER, M. E. Atomic weights of the elements 2005 (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 2006, vol. 78, no. 11, p. 2051–2006.
- ŽÁRNÍK, M., KRÍSTEK, Š. Aktuální *versus* přirozené rozšíření smrku ztepilého v ČR aneb Kolik je přirozených smrčín? *Vesmír*, 2007, vol. 86, p. 778–779.

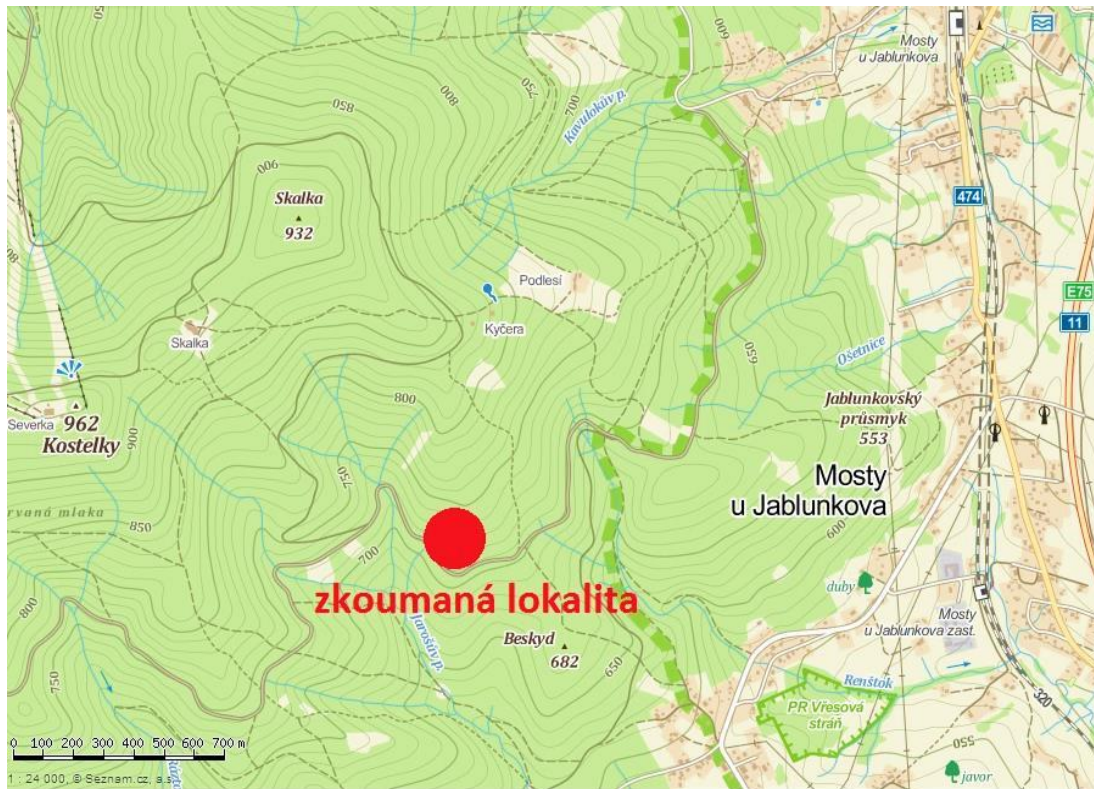
8 PŘÍLOHA



Obrázek 9: Průměrná roční teplota vzduchu a průměrný úhrn srážek v Moravskoslezském kraji v letech 1974–2012.

Zdroj: Český hydrometeorologický ústav <http://www.chmi.cz/portal/dt?portal_lang=cs&menu=JSPTabContainer/P1_0_Home> (2013).

Pozn. Meteorologická data pro rok 2013 nejsou zatím dostupná.



Obrázek 10: Turistická mapa s vyznačenou lokalitou.

Zdroj: Mapy.cz <<http://mapy.cz/#!x=18.735064&y=49.513249&z=13&l=16&c=2-3-8-15-25-T>> (2013).



Obrázek 11: Přírůstkový vrták o průměru 10 mm.

Foto: Necudová L. (2012).



Obrázek 12: Izotopový poměrový hmotnostní spektrometr (Thermo Finnigan DELTA^{plus}XL) s příslušenstvím.
Foto: Necudová L. (2013).