

Mendelova univerzita v Brně

Lesnická a dřevařská fakulta

Sledování biologie *Hymenoscyphus fraxineus* - nekrózy jasanů na základě
odchytu spór

Bakalářská práce

2016/2017

Vojtěch Kasal

Mendelova univerzita v Brně
Lesnická a dřevařská fakulta
Ústav ochrany lesů a myslivosti

Sledování biologie *Hymenoscyphus fraxineus* - nekrózy jasanů na základě
odchytu spór

Bakalářská práce

Prohlašuji, že jsem práci: Sledování biologie *Hymenoscyphus fraxineus* - nekrózy jasanů na základě odchytu spor zpracoval samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b Zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací. Jsem si vědom, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle §60 odst. 1 autorského zákona. Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladu spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně, dne:

Podpis studenta

Na tomto místě bych rád poděkoval všem těm, kteří mi pomohli při psaní a zpracování mé bakalářské práce. Velký dík patří vedoucímu mé bakalářské práce Ing. Miloňovi Dvořákovi Ph.D. za skvělé vedení práce. Dále bych rád poděkoval svým rodičům Pavlíně a Miroslavu Kasalovým za podporu a pomoc při studiu. Také děkuji za psychickou podporu a motivaci při psaní svým přátelům.

Sledování biologie *Hymenoscyphus fraxineus* - nekrózy jasanů na základě odchyty spór

Biology monitoring of *Hymenoscyphus fraxineus* – ash dieback based on air sampling

Vojtěch Kasal

Abstrakt

Moje bakalářská práce se zabývá nekrózou jasanů, kterou zapříčiňuje patogen *Hymenoscyphus fraxineus*. Práce se zabývá zhodnocením vlivu klimatických podmínek na výskyt spor patogenní houby. Praktická část zahrnovala sběr dat na výzkumné ploše v Hackerově školce pomocí lapače spor Burkardova typu. Následovalo zpracování dat v laboratoři, s následnou analýzou nasbíraných dat.

Klíčová slova: jasan , nekróza jasanů, spory, odchyt spór

Abstract

My bachelor thesis deals with an ash dieback which is caused by a pathogen called *Hymenoscyphus fraxineus*. This thesis deals with the evaluation of climate conditions in comparison with the occurrence of spores of the pathogen. The practical part of the thesis is based on air sampling at the research area in the Hackerova školka. Data were collected with air sampler of burkard's type. Processing of collected samples followed in laboratory. Data were then analyzed.

Keywords: ash, ash dieback, , spores, air sampling

Obsah

1	Úvod	8
2	Cíle práce	9
3	Literární přehled	10
3.1	Jasan – <i>Fraxinus</i>	10
3.1.1	Význam jasanu	11
3.2	Původce nekrózy jasanů	12
3.2.1	Historie šíření Nekrózy jasanů	13
3.2.2	Symptomy nákazy	14
3.2.3	Způsob šíření v hostiteli	16
3.2.4	Význam choroby	16
4	Metodika práce	18
4.1	Charakteristika sledovaného souboru	18
4.2	Meteorologická charakteristika území	18
4.3	Metody sběru dat	19
4.4	Terénní práce	20
4.5	Postup při výměně pásky v lapači	20
4.6	Laboratorní práce	21
4.7	Metody vyhodnocování dat	21
5	Výsledky	22
5.1	Úvod výsledků	22
	Porovnání vlivu teploty na počet spor	23
5.2		23
5.3	Porovnání vlivu vlhkosti na počet spor	25
5.4	Porovnání vlivu ovlhčení listů na počet spor	27
5.5	Celkové porovnání všech veličin	29
6	Diskuze	31
7	Závěr	33
8	Summary	34
9	Referenční seznam	35

Seznam obrázků

Obrázek 1: Plodnice <i>Hymenoscyphus fraxineus</i> (Foto: Kasal, VI/2013, Hackerova školka).....	13
Obrázek 2: Mapa znázorňující rozšíření choroby (Foto: EPPO, IV/2017).....	14
Obrázek 3: Symptomy choroby – Tvorba sekundárních výmladků (Foto: Kasal, IX/2016, Hackerova školka).....	15
Obrázek 4: Symptomy choroby - prosychání koruny (Foto: Kasal, IX/2016, Hackerova školka).....	16
Obrázek 5: Lapač spor Burkardova typu (AMET, Velké Bílovice).....	19
Obrázek 6: Grafické porovnání počtu spor s průměrnou teplotou vzduchu (°C).....	23
Obrázek 7: Grafické porovnání počtu spor a průměrné relativní vlhkosti vzduchu (%)	25
Obrázek 8: Grafické srovnání počtu spor s průměrným ovlhčením listů (V).....	27
Obrázek 9: Grafické porovnání všech veličin s počtem spor	29

1 Úvod

Téma mé bakalářské práce jsem si vybral zejména z důvodu mého zájmu o přírodu v naší zemi. Jasan, tedy dřevina rodu *Fraxinus* je jedním ze stromů, který má vysoký podíl zastoupení v parcích i jiné městské zeleni, například jako výsadba kolem řek. Je tedy významnou dřevinou našich měst a české krajiny. Jasaný jsou šestou nejrozšířenější dřevinou v České republice. Původními druhy jasanu u nás jsou jasan ztepilý *Fraxinus excelsior* L. a jasan úzkolistý *Fraxinus angustifolia* Vahl. Díky jejich nenáročnosti se vyskytují téměř ve všech vegetačních stupních, avšak nejvhodnější je pro ně prostředí s půdou s neutrálním pH. Donedávna by se jasan dal označit jako dřevina bezproblémová, která byla považována spíše za plevelnou. Avšak v devadesátých letech minulého století byla objevena nová choroba *Chalara fraxinea* T. Kowalski označovaná také jako nekróza jasanů.

První zmínky o nekróze jasanů se datuje přibližně na 90. léta 20. století v lokalitách severního Polska v oblasti Pobaltí a následně byla také potvrzena v severských zemích jako je Finsko, Litva, Norsko a Švédsko a další. Postupně potom došlo k šíření této choroby i níže do střední Evropy, kde došlo k zásahu jasanů i v našich krajích. Konkrétně v České republice byla tato nákaza potvrzena v roce 2007 (Timmerman, 2011).

Houba nejčastěji napadá jasan ztepilý (*Fraxinus excelsior*) a jasan úzkolistý (*Fraxinus angustifolia*). Nejvíce se napadení touto houbou projevuje na listech, letorostech a pod kůrou stromu, kde způsobuje zbarvení kambia a dřeva do typicky skořicově hnědé barvy. Stromy napadené *C. fraxinea* se projevují celkovým chřadnutím a celkovým špatným stavem, které vede k odumření celého stromu.

2 Cíle práce

Hlavní cíl

Cílem mé práce bylo sledování a následné vyhodnocení výskytu nekrózy jasanů v určené lokalitě na Školním lesním podniku „Masarykův les“ Křtiny. Sledování bylo prováděno pomocí odchyty spor a měření bioklimatologických veličin jako jsou teplota vzduchu, vlhkost a ovlhčení listů.

Vedlejší cíl

Vedlejším cílem bylo zpracování rešerše literatury a provést syntézu teoretických poznatků týkajících se životního cyklu houby *Chalara fraxinea*, symptomů nekrózy jasanů, historie výskytu na území ČR, významu jasanů v krajině ČR a dynamiky jeho rozšíření.

Úkoly

1. Nainstalovat a nastavit automatický lapač spor, popř. lepové pastě na pokusné plochy a automatické klimatické stanice.
2. Pravidelně v určených intervalech navštěvovat lokalitu a zaznamenávat symptomy výskytu nekrózy jasanu, zejména výskyt apothécií *Hymenoscyphus fraxineus*.
3. Pořídit fotodokumentaci.
4. Zpracovat získané údaje o výskytu spor.
5. Porovnat výskyt spor v souvislosti s klimatickými daty.

3 Literární přehled

3.1 Jasan – *Fraxinus*

Opadavé stromy, zřídka také keře se vstřícnými lichozpeřenými listy, někdy redukovanými na jediný koncový list. Drobné květy jsou uspořádány obvykle v latách. Plod je křídlatá nažka. Několik druhů je lesnicky významných a poskytují kvalitní dřevo. U nás rostou přirozeně dva druhy jasanů: jasan ztepilý – *Fraxinus excelsior* a podobný jasan úzkolistý – *Fraxinus angustifolia* (Úradníček, 2004).

Jasan ztepilý – *Fraxinus excelsior*. Strom velkých rozměrů s rovným kmenem a štíhlou vejčitou korunou. Dosahuje výšky až 40 m, průměru kmene 1,5 m a dožívá se 250 let. Kmen mladších stromů bývá průběžný a větvení pravidelné, vstřícné (Úradníček, 2004). Kmen je pokryt jemně rozpukanou šedou borkou. V zimě je nápadný vstřícně postavenými černými pupeny (Pokorný et al. 2003). Lichozpeřené listy jsou rozmístěny dosti řídce, převážně po obvodu koruny. Na podzim se listí nebarví a opadává zelené. Semenáček má jazykovité protáhlé děloh a primární listy jednoduché, vejčité, pilovité. Teprve další pár listů už je zpeřený s 1 – 2 jařmy. Kořenový systém je většinou panohový, silné kořeny směřují nejprve do stran při povrchu a pak do hloubky. Kůlový kořen je slabě vyvinut. Výmladnost je výtečná, obrůstá bohatě pařezovými výmladky a obráží i na kořenových náběžích. Uvolněné stromy tvoří na kmeni vlky.

Jasan úzkolistý – *Fraxinus angustifolia*. Strom 20-40 m vysoký, s přímým kmenem o průměru do 1 m a vejcovitou korunou, podobající se jasanu ztepilému. Lístky kopinaté, 4-8 cm dlouhé, řídce pilovité, špičky zoubků se odklánějí od lístku. Kvete před rašením list, hroznovitá mnohomanželná květenství vyrůstají z postranních pupenů. Ekologické nároky jasanu úzkolistého jsou podobné nárokům lužního ekotypu jasanu ztepilého. Pokud jde o světlomilnost, není však zdaleka tak náročný. Vyžaduje vysokou hladinu spodní vody a snáší dobře záplavy. Je citlivý na silné mrazy, které způsobují praskliny

v dřevním válcí. Jasan úzkolistý je dřevina jihoevropského rozšíření, zastoupená ve všech krajinách kolem Středozevního moře. Na jih zasahuje do Maroka, Alžíru a Tunisu a je rozšířen v kavkazsko-íranské oblasti a celé Malé Asii, odkud vybíhá areál až do severní Sýrie. K severu je rozšířen od jižní Francie, po Alpy, do severní Jugoslávie a Maďarska. Z panonské nížiny vybíhá areál do nejteplejších částí Slovenska a jižní Moravy. Jeho rozšíření je velmi mezernaté a sestává z pásů lužních lesů podél vodních toků v nížinách (Úradníček, 2004). Na našem území roste jen v lužních lesích Dolnomoravského úvalu a Dyjskosvrateckého úvalu, nejseverněji zasahuje k Olomouci. Zachovalé porosty najdeme jen na jižní Moravě (Maděra a kol., 2001). Ekologické nároky jasanu úzkolistého jsou podobné nárokům lužního ekotypu jasanu ztepilého. Pokud jde o světlo milnost, není však zdaleka tak náročný. Vyžaduje vysokou hladinu spodní vody a snáší dobře záplavy. Roste na hlubokých půdách obohacených naplavovaným materiálem. Je citlivý na silné mrazy, které způsobují praskliny v dřevním válcí (Maděra a kol., 2001).

3.1.1 Význam jasanu

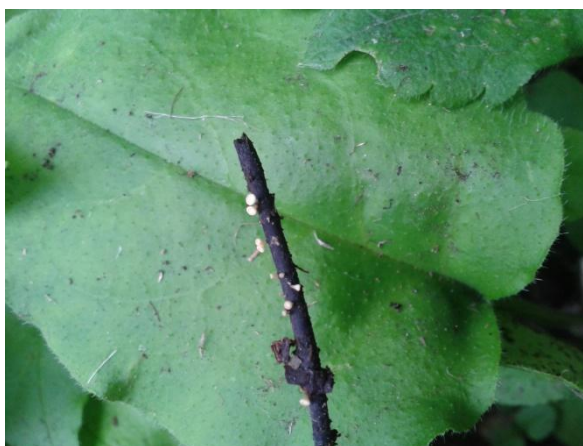
Jasan ztepilý je z hlediska ekologického i ekonomického velmi významný druh zastoupený v mnoha částech Evropy. V našich lesích je jasan šestou nejrozšířenější listnatou dřevinou. Jeho plošný podíl ve druhové skladbě činí 3,5 %. Rod jasan (*Fraxinus*) zahrnuje asi 60 až 65 druhů. V České republice jsou původní dva druhy, jasan ztepilý (*F. excelsior*) a jasan úzkolistý (*F. angustifolia*), který zasahuje svým severním okrajem areálu na Moravu. Jasan zimnář (*F. ornus*) byl na území České republiky vysazen lokálně. V lesích byl v minulosti poměrně často vysazován jasan pensylvánský (*F. pennsylvanica*). Další cizokrajné druhy můžeme v České republice potkat jen vzácně v parcích a arboretech. Roste roztroušeně od nížin do horských poloh celého území České republiky, nejhojněji v lužních a suťových lesích. Jasan má velmi kvalitní, pružné a tvrdé dřevo, které se používá zejména při výrobě nábytku, sportovního náčiní, v truhlářství, při výrobě násad či topůrek. Dále se používá k výrobě podlah, interiérových schodišť i parapetů (Havrdová a kol., 2013).

Kruhovitě pórovité dřevo někdy i s jádrem je velmi kvalitní a patří mezi nejhledanější materiály k výrobě nábytku, dýh, sportovního nářadí, parket a hudebních nástrojů. I v minulosti se používalo dobře opracovatelné a přitom tvrdé dřevo na rozmanité nástroje (oštěpy, topůrka, násady apod.). Stromy poskytují mj. třísloviny, éterické oleje a terpeny, dříve užívané v lidovém lékařství. Nálevy z listů jasanu mají mírný močopudný a projímavý účinek. Klest se používal jako krmivo. V horských oblastech se jasan vysazoval jako silniční alejový strom, použití našel i při zakládání ochranných lesních pruhů (Úradníček a kol., 2001).

3.2 Původce nekrózy jasanů

Houba z oddělení vrčkovýtrusných *Hymenoscyphus fraxineus* způsobuje smrtelnou chorobu, známou jako nekróza jasanů na *Fraxinus excelsior* a *Fraxinus angustifolia* v Evropě. Patogen byl do Evropy pravděpodobně zavlečen z východní Asie a choroba se objevila v devadesátých letech v Polsku, následně se epidemie rozšířila po celém území hostitelské dřeviny (Gross a kol., 2014). Tento patogen má dvě stádia. Anamorfní, které produkuje konidie, jež se podílí na infekci hostitele, ale ne na šíření nemoci, tím je *Chalara fraxinea*. Druhé pohlavní stádium *Hymenoscyphus fraxineus* patří mezi druhy heterotalické, což znamená, že k pohlavnímu procesu je potřeba dvou mycelií s odlišným párovacím typem. Tyto párovací typy můžeme chápat jako různá pohlaví u jiných skupin organismů, ale s tím rozdílem, že mycelia náležící odlišným párovacím typům nejsou nijak morfologicky rozdílná. U vrčkovýtrusných hub se při pohlavním procesu oplodí askogon (samičí gametangium) pomocí hyfy (samčí gametangium) nebo spermácie (nepohyblivá gameta). Askogon nijak morfologicky výrazný, jde o nafouklou, případně spirálovitě stočenou hyfu, a samčí gametangium bychom nerozeznali od obyčejné hyfy. Jako spermácie slouží obvykle konidie tvořené na anamorfě. U druhu *H. fraxineus* konidie produkované na anamorfě *C. fraxinea* fungují zřejmě jako spermácie oplodňující askogon. To by vysvětlovalo, proč se jim nepodařilo infikovat listy jasanu, proč se masivně netvoří na řapících a neklíčily ani na agarových živných půdách.

Mají zcela jinou úlohu, než je šíření na nového hostitele. Nutnost najít mycelium s opačným párovacím typem pro úspěšný pohlavní proces se může zdát jako limitující krok pro daný druh houby, ale ve skutečnosti je situace u *H. fraxineus* mnohem snazší – oba párovací typy jsou v populacích přítomny se srovnatelnou četností. K pohlavnímu procesu dochází na podzim na řapících čerstvě spadlých listů. Stačí, aby se na části řapíku vytvořily fialidy *C. fraxinea* produkující konidie a ty se staly dárce spermií pro mycelium rostoucí třeba jen o několik centimetrů dál na tomtéž řapíku; tudíž může snadno dojít k pohlavnímu procesu bez nutnosti rozšiřovat spermiace na velké vzdálenosti (s rizikem nenalezení vhodného mycelia s odlišným párovacím typem). Na začátku léta následujícího roku se na řapících vytvářejí apothecia produkující velké množství askospor, které dopadají na živé listy na stromech (Gross a kol., 2012), (Koukol a Havrdová, 2014).

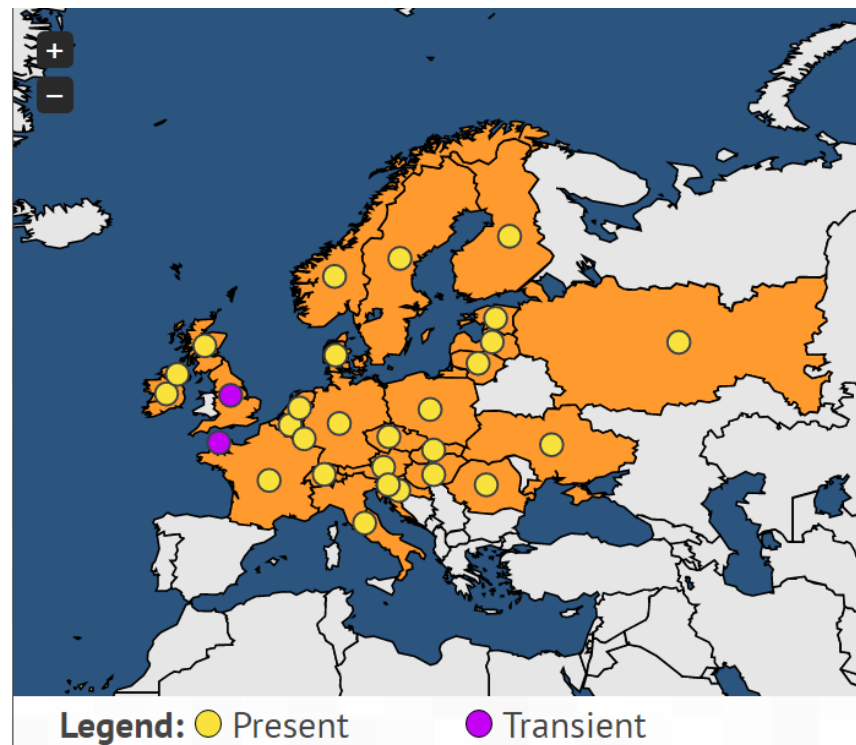


Obrázek 1: Plodnice *Hymenoscyphus fraxineus* (Foto: Kasal, VI/2013, Hackerova školka)

3.2.1 Historie šíření Někrozy jasanů

První zmínky o chřadnutí jasanů jsou uváděny z počátku 90. let z Litvy a Polska, od poloviny 90. let z Lotyšska a Estonska (Jankovský a kol., 2009). Další výskyt byl hlášen v roce 2001 ve Švédsku a Finsku. V roce 2002 byl první výskyt hlášen v Německu a České republice, kde byl výskyt potvrzen v roce 2009 (Jankovský et Holdenrieder, 2009). První záznam byl proveden v roce 2003

v Dánsku a Estonsku. Další záznamy pochází z roku 2005 z Rumunska a Rakouska, v roce 2006 z Norska, 2008 z Maďarska, 2009 z Chorvatska a Itálie, 2010 z Holandska a Belgie. Poslední zprávy pochází z roku 2012 z Irska, Velké Británie a 2013 ze Skotska (EPPO, 2017).



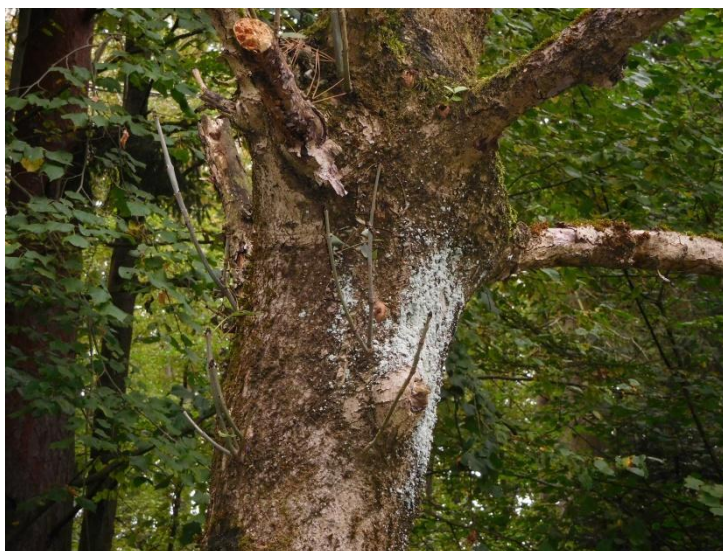
Obrázek 2: Mapa znázorňující rozšíření choroby (Foto: EPPO, IV/2017)

3.2.2 Symptomy nákazy

Vývoj symptomů na citlivých hostitelích začíná během pozdního léta se vznikem nekrotických lézí na listech. Léze se rozšiřují přednostně podél žilkování v proximálním směru a šíří se do větvičky. Tím zůstanou na začátku tkáň obklopující řapík listu zelené a léze se objeví v krátké vzdálenosti od listu nebo jeho žilek (Bakys a kol., 2009). Ze srovnání zdravých a napadených jedinců vyplývá, že jedinci napadení *H. fraxineus* raší zhruba o týden později nežli jedinci zdraví. Následně se fenologický rozdíl ještě zvyšuje, díky

pomalejšímu vývoji listů u napadených jedinců (Rozsypálek, 2012). V přírodě jsou shozeny nejvíce napadené listy dříve, než patogen dosáhne stonku. Ačkoliv v některých případech mycelium patogenu roste z řapíku do stonku a rozšiřuje se v axiálním směru ve tkáni výhonu (Schumacher a kol., 2010). Na konci vegetační sezóny zdraví jedinci přirozeně shazují listy a přecházejí do dormance, zatímco nově vytvořené letorosty napadených jedinců nestíhají vytvořit ve svých pletivech mrazuvzdorné látky a při prvních podzimních mrazech z velké části namrzají a odumírají, což vede k dalšímu oslabení napadených jedinců (Rozsypálek, 2012).

Podkorní nekrózy jsou nejjistějším vizuálně zjištělným znakem, podle něž rozeznáváme zdravé jedince od jedinců infikovaných houbou *C. fraxinea*. V průběhu srpna na letorostech zasychají listy a v druhé půli tohoto měsíce se objevují i první podkorní nekrózy (Rozsypálek, 2012). Infekce xylému se rozšiřuje v axiálním proudu přednostně přes středové tkáně a je většinou spojená s hnědým zbarvením (McKinney et al., 2012). Staré nekrózy z loňského roku jsou na jedincích patrné od počátku sledování. V průběhu další vegetační sezóny se ale dále nezvětšují. Nové podkorní nekrózy vznikají na nových letorostech v místech kolem napojení listů (Rozsypálek, 2012).



Obrázek 3: Symptomy choroby – Tvorba sekundárních výmladků (Foto: Kasal, IX/2016, Hackerova školka)



Obrázek 4: Symptomy choroby - prosychání koruny (Foto: Kasal, IX/2016, Hackerova školka)

3.2.3 Způsob šíření v hostiteli

Po průniku houby z listů do pletiv větve, roste houba především v proximálním směru. Proroste pupen (proto napadená větev málokdy po ztrátě listů znovu vyraší) a skrze jeho napojení se dostane snáze do dutého středu větve. Následně se touto cestou velmi rychle šíří jak ve směru transpiračního, tak ve směru asimilačního proudu. Postupně ze střední duté části větve opět prorůstá do dřevěné části. Ve chvíli kdy dosáhne kambia, tak jej zničí a vznikají tak podkorní nekrózy. Nakonec nekróza zničí v nejširším místě celý kambiální kruh, následkem čehož větvička odumírá (Rozsypálek, 2012).

3.2.4 Význam choroby

Vzhledem k široké ekologické valenci jasanu a jeho širokému použití lze očekávat, že invaze *Hymenoscyphus fraxineus* pravděpodobně může způsobit problémy v celé řadě různých porostů a výsadeb. Patogenem jsou napadány stromy všech věkových kategorií na různých typech stanovišť - od přirozených lesů po komerční lesní výsadby, břehové porosty, aleje, linie v krajině, remízky a výsadby okrasné. Houba způsobuje rovněž značné škody v okrasných

výsadbách ve městech a obcích. Obecně je pohled na další vývoj situace velmi skeptický a někteří autoři připouštějí i možnost kolapsu celých populací jasanu (Havrdová a kol. 2013).

4 Metodika práce

4.1 Charakteristika sledovaného souboru

Sledovaným souborem byla skupina stromů v lokalitě Hackerova školka na území Školního lesního podniku Křtiny (dále jen ŠLP Křtiny). GPS: 49°19'23.962"N, 16°44'39.419"E, 470 m n. m. Lokalita se nachází v mírně kopcovitém terénu Dražanské vrchoviny. Půdotvorně významné výskyty mají na území ŠLP dvě horniny brněnského masivu. Dominantní je výskyt amfibolbiotického granodioritu, v menší míře pak křemenný diorit (tonalit).

4.2 Meteorologická charakteristika území

Průměrná roční teplota vzduchu na území povodí Svatky a Svitavy byla +8,4 °C, což představuje odchylku od normálu +0,9 °C. Rok hodnotíme jako teplotně nadnormální. Měsíce leden, únor, duben, květen, červen a září byly teplotně normální. Teplotně nadnormální byly říjen (+1,6 °C), listopad (+2,0 °C) a prosinec (+1,8 °C). Silně nadnormální byly červenec (+2,3 °C) a srpen (+1,4 °C). Teplotně podnormální byl březen (-2,6 °C).

Průměrný roční úhrn srážek na území povodí Svatky a Svitavy byl 646mm, což představuje 104 % normálu. Rok hodnotíme jako srážkově normální. Srážkově normální byly měsíce leden, srpen a říjen. Srážkově podnormální byly měsíce duben (53 %) a listopad (56 %) a prosinec (41 %), mimořádně podnormální byl červenec (17 %). Srážkově nadnormální byly únor (186 %), březen (126 %), květen (159 %), červen (154 %) a září (146 %), (chmi.cz, 2014).

4.3 Metody sběru dat

Lapání spor – Ke sběru dat byla použita metoda lapání spor. Lapání probíhalo od 29. 5. do 26. 9. 2013. K lapání spor byl používán Sedmi-denní lapač spor Burkardova typu (Amet, Velké Bílovice), který byl umístěn přibližně 10 metrů od paty napadeného stromu. Jedná se o kompaktní přístroj, který je jednoduchý na instalaci. Skládá se z válce se štěrbinou, ve kterém je umístěn hodinový strojek s leповou páskou. Do tohoto válce je poté vháněn vzduch pomocí ventilátoru a nasáté spóry naráží na leповý pásek. V blízkosti lapače se nacházelo několik napadených jasanů. Napájení lapačího zařízení, bylo prováděno pomocí solárních panelů a autobaterií, které byly umístěny v blízkosti pomníku Rudolfa Hackera. Panely, baterie a lapač byly společně propojeny pomocí regulátoru solárního nabíjení Phocos cml05 (Phocos AG).



Obrázek 5: Lapač spor Burkardova typu (AMET, Velké Bílovice)

Měření teploty a vlhkosti – Další metody použité pro sběr dat byly měření teploty a vlhkosti, ke kterým byla použita přenosná meteorologická stanice (Signalizátor, AMET), zaznamenávající dané veličiny každou hodinu. Základní část signalizátoru tvoří čtyř-kanálový elektronický registrátor teploty a vlhkosti vzduchu a ovlhčení listů. Ten je umístěn ve vhodném plastovém stínítku,

zabraňujícím přístupu slunečních paprsků a zároveň chránícím signalizátor proti dalším povětrnostním vlivům, především dešti. Naměřená data jsou ukládána na dataloger.

4.4 Terénní práce

Obsluha lapače spočívala v pravidelně výměně pásky s nachytanými vzorky. Výměna probíhala každý týden ve čtvrtek v 13.00. Při výměně pásky bylo třeba očistit válec, aby nedošlo ke kontaminaci nového vzorku sporami, které mohly ulpět v zařízení. Páska byla uložena do ochranné krabičky a doručena do laboratoře k dalšímu zpracování. Vegetaci v okolí lapače a meteorologické stanice bylo nutné pravidelně udržovat, aby nedocházelo k ovlivňování měření, popřípadě k přerušení měření v důsledku poškození lapače. Bylo také nutné kontrolovat všechny elektrické obvody, jestli nedošlo k jejich porušení.

4.5 Postup při výměně pásky v lapači

Před výměnou pásky bylo třeba vyndat válec s páskou z těla lapače. Použitá páska se vzorky byla vyjmuta z válce a uložena do připraveného boxu. Nová páska z melinexu byla připevněna pomocí oboustranné lepicí pásky a páska byla označena. Značeno bylo datum, lokalita a směr otáčení válce, aby bylo možné v laboratoři určit vzorky. Poté co byla páska vyměněna, mohl být válec vložen zpět do lapače.

4.6 Laboratorní práce

Vyhodnocování vzorků bylo prováděno mikroskopickou metodou, kdy se sebrané vzorky nastříhají na segmenty odpovídající jednotlivým dnům, poté se umístí pod mikroskop a provede se jejich manuální spočítání. K mikroskopování byl použit mikroskop Olympus B 51. Páska se rozdělila na 52mm sekce po jednotlivých dnech odchyty spor a tyto sekce se fixovaly na podložní sklíčko. Páska byla překryta dvěma krycími sklíčky vedle sebe a takto připravený preparát byl postupně po celé ploše mikroskopován objektivem se zvětšením 40x. Sčítány byly askospory *H. fraxineus* odpovídající morfologickému popisu podle Kowalski et Holdenrieder (2009).

4.7 Metody vyhodnocování dat

Získaná data byla kancelářsky zpracována v programu Microsoft Office Excel 2010 (Microsoft, 2010). Výsledky byly zpracovány do tabulek a grafů.

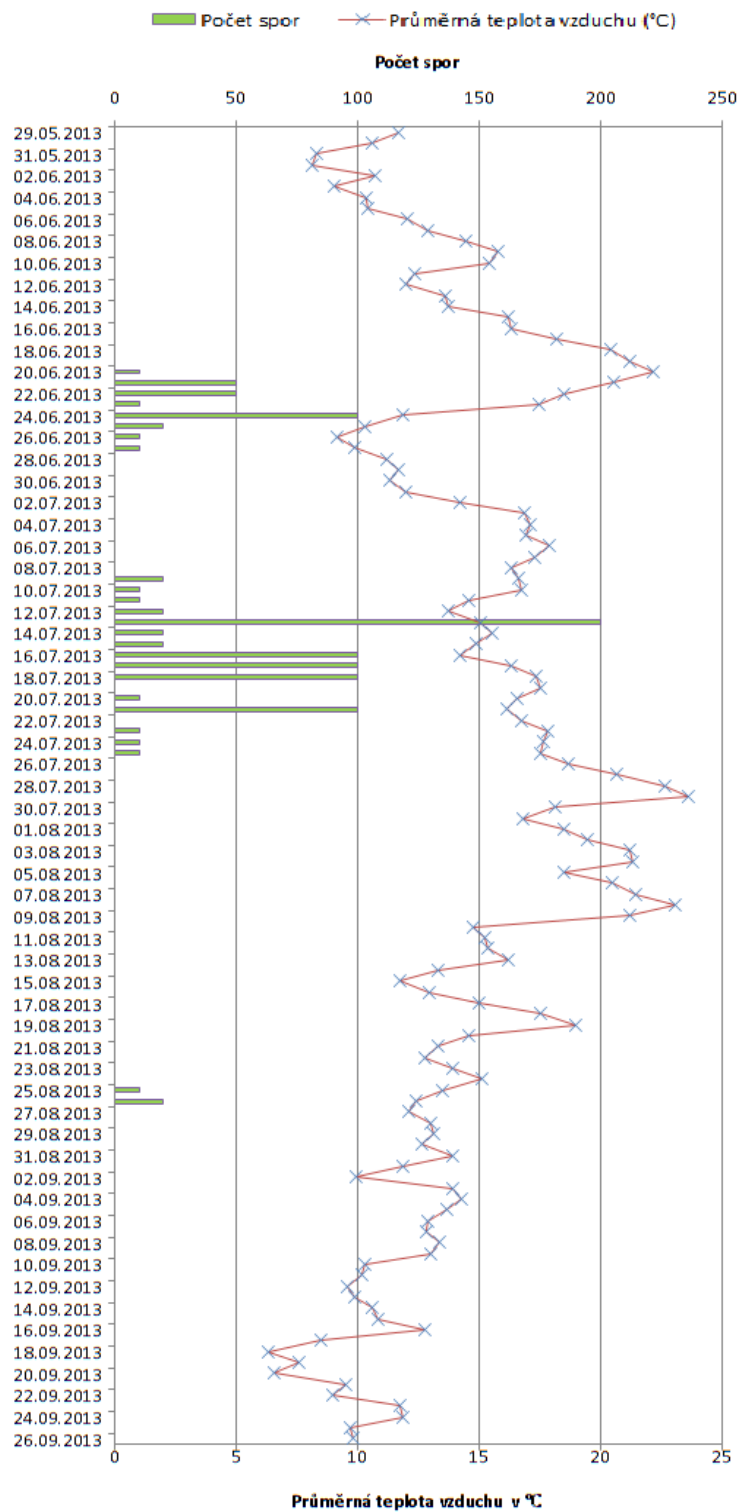
5 Výsledky

5.1 Úvod výsledků

K prvnímu výskytu spor došlo 20. 6. a naposledy byly spory zaznamenány dne 26. 8. 2013. Podle naměřených výsledků se nejvíce spor vyskytovalo v období od června do července. Na konci srpna můžeme vidět v grafech pouze slabý výskyt spor. Spory byly odchyceny ve 25 dnech z celkových 119 dní. Dny, kdy se vyskytovaly spory, lze rozdělit do tří časových období (sporulační období). První období trvalo od 20. 6. 2013 do 27. 6. 2013. Druhé období trvalo od 9. 7. 2013 do 25. 7. 2013. Třetí a nejkratší období trvalo pouze dva dny a to 25. 8. a 26. 8. 2013. Nejnižší průměrná teplota 6,33°C byla naměřena dne 18. 9. 2013 naopak nejvyšší naměřená průměrná teplota byla 23,61°C a to dne 29. 7. 2013. Podle nasbíraných údajů bylo nejsušším dnem 24. 7. 2013 a to s průměrnou hodnotou 64,33 %. Naměřené hodnoty ukazují, že první dva týdny bylo období s nejvyšší relativní vlhkostí vzduchu, což se shoduje s údaji získanými z Českého hydrometeorologického ústavu. Den s nejvyšším ovlhčením listů byl 6. 6. 2013 s hodnotou 2,475, naopak nejnižší naměřená hodnota ovlhčení byla dne 24. 7. 2013, která činila 0,034.

V průběhu celého měření byl sledován vývoj výskytu apothécií a symptomů choroby. První výskyt apothécií byl zaznamenán 13. 6. 2013, tzn. před začátkem prvního sporulačního období. Další výskyt plodnic byl zaznamenán 4. 7., 11. 7. a 18. 7. 2013, tedy před a v průběhu druhého sporulačního období. Poslední výskyt plodnic byl zaznamenán dne 29. 8. 2013, což bylo až po 3. sporulačním období. Na napadeném stromě byly zpozorovány symptomy napadení *H. fraxineus*. V periferiích korun bylo možné sledovat usychání listů a letorostů. Při návštěvě lokality v roce 2016 bylo zjištěno, že napadený jedinec, u kterého bylo umístěné sledovací zařízení, je již v pokročilém stádiu choroby a na kmeni se objevují sekundární výmladky.

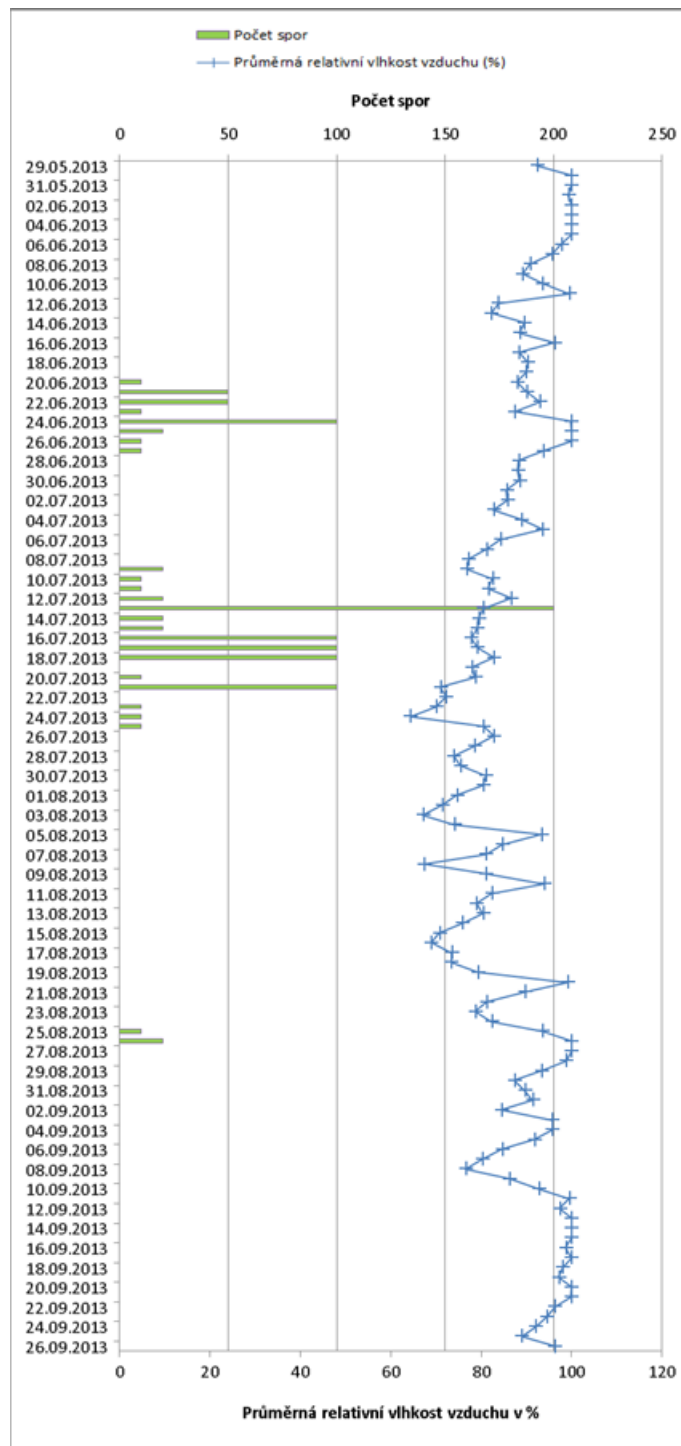
5.2 Porovnání vlivu teploty na počet spor



Obrázek 6: Grafické porovnání počtu spor s průměrnou teplotou vzduchu (°C)

Měření probíhalo 119 dní a spory se vyskytovaly ve 25 dnech, jež byly rozděleny do tří časových období. Z naměřených dat lze sledovat, že před prvním výskytem spor se teplota zvyšovala, ale během průběhu prvního období výskytu se začala snižovat. Na konci prvního segmentu se průměrná teplota pohybovala okolo 10°C. Před druhým obdobím výskytu teplota opět stoupala a podobný trend lze sledovat i během jeho průběhu. Na konci druhého období měla teplota stále vzrůstající trend. Během třetího období byly naměřeny nejnižší teploty (12-13°C) v průběhu výskytu.

5.3 Porovnání vlivu vlhkosti na počet spor

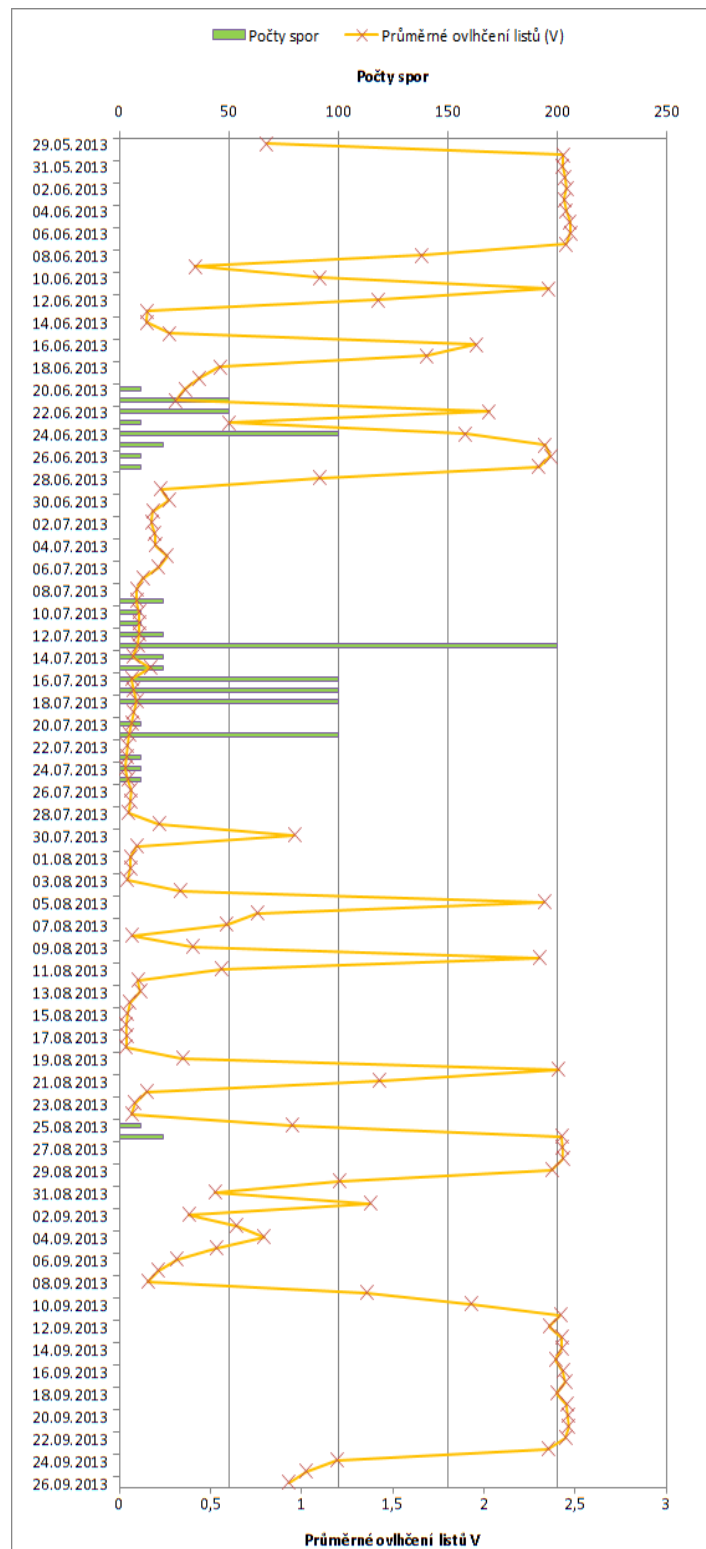


Obrázek 7: Grafické porovnání počtu spor a průměrné relativní vlhkosti vzduchu (%)

Při porovnávání vlivu vlhkosti na výskyt spor byl kladen důraz na průměrnou relativní vlhkost vzduchu v daný den a na počet nachytaných spor. V grafu lze sledovat, že

v prvním období se průměrná relativní vlhkost vzduchu pohybovala od 87% po 100%.
Ve druhém období se pak vlhkost pohybovala v rozmezí od 70 po 87% a ve třetím
období, které bylo nejkratší, bylo první den naměřeno 93,6% a druhý den 100%.

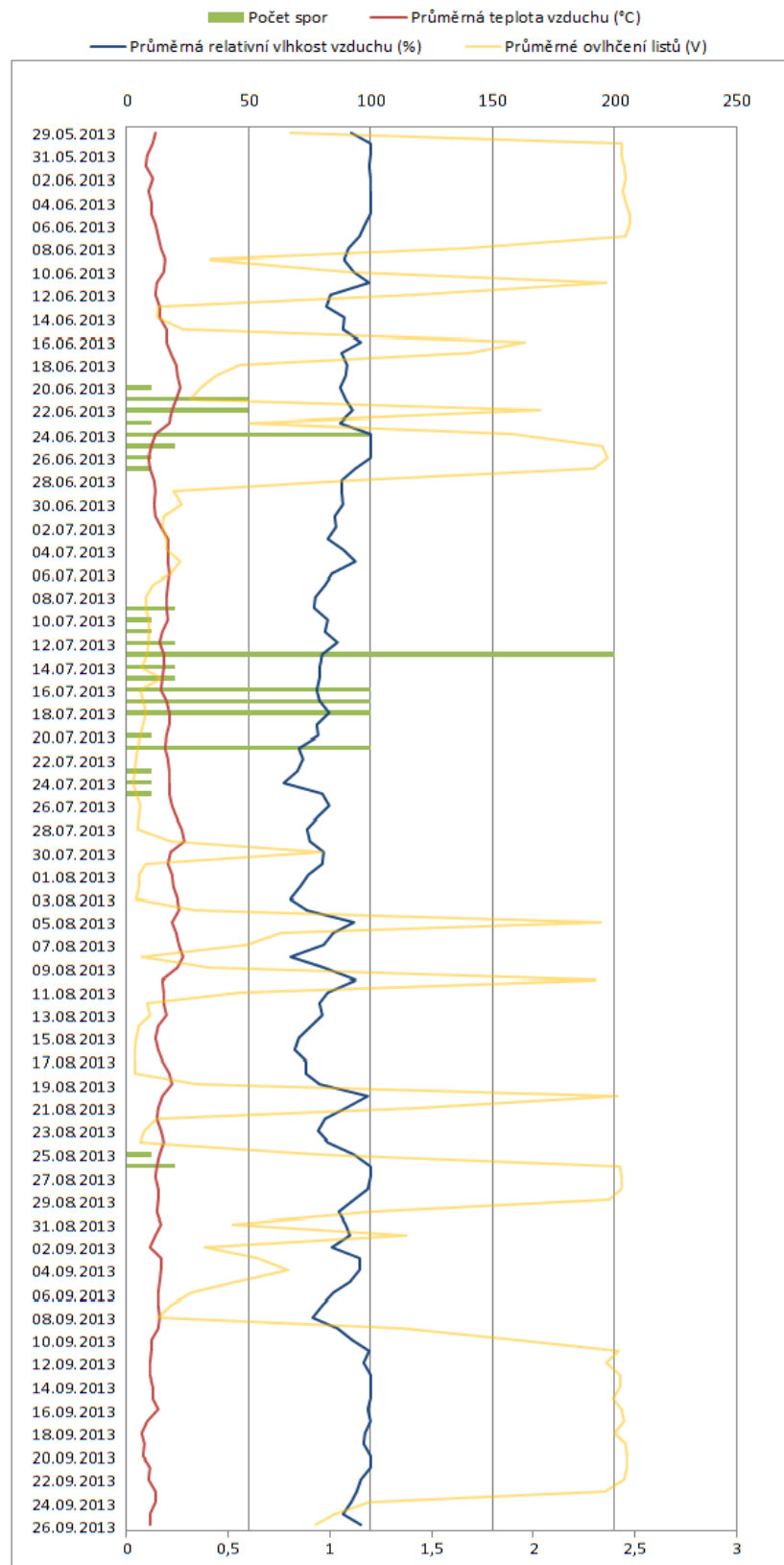
5.4 Porovnání vlivu ovlhčení listů na počet spor



Obrázek 8: Grafické srovnání počtu spor s průměrným ovlhčením listů (V)

V tomto grafu byl brán ohled na porovnání počtu spor s průměrným ovlhčením listů. Jak můžeme v grafu vidět, v prvním období výskytu byly naměřeny vysoké průměrné hodnoty ovlhčení listů. Ve druhém období je pak z grafu patrné, že průměrné hodnoty ovlhčení listů byly nízké, ačkoliv byl zaznamenán vysoký výskyt spor. Ve třetím období sporulace byly opět naměřeny vysoké hodnoty průměrného ovlhčení listů.

5.5 Celkové porovnání všech veličin



Obrázek 9: Grafické porovnání všech veličin s počtem spor

Při celkovém porovnání byly brány v potaz všechny veličiny: průměrná teplota vzduchu, průměrná relativní vlhkost vzduchu a průměrné ovlhčení listů. V předešlých grafech byl kladen důraz na to, jaký mají tyto veličiny samostatně vliv na počet spor. Nyní je důležité uvědomit si, jestli se tyto veličiny ovlivňují navzájem. Jak můžeme vidět z celkového porovnání, tak křivka průměrné relativní vlhkosti vzduchu koresponduje s křivkou průměrného ovlhčení listů. Naopak křivka průměrné teploty vzduchu nekověduje s žádnou ze dvou ostatních veličin.

Za celé období měření byla zjištěna jedna technická závada, která byla zjištěna 6. 6. 2013 při výměně pásky v lapači. Byla způsobena zkratováním elektrického obvodu napájení lapače. Proto nemůžou být data před zjištěním závady brána jako průkazná.

6 Diskuze

Na území Hackerovy školky a jejím okolí je zřetelné, že jasanů na této lokalitě jsou napadeny houbou *Hymenoscyphus fraxineus*. V těchto porostech se nachází velké počty jasanů a mnoho z nich vykazuje symptomy nekrózy. Ze získaných výsledků můžeme pozorovat, že průměrná relativní vlhkost vzduchu a průměrné ovlhčení listů mají podobnou křivku. Naopak křivka průměrné teploty vzduchu má odlišný průběh než obě předešlé křivky. Výsledky mohou být ovlivněny i tím, že při mikroskopování je složité rozlišit spory *H. fraxineus* od spor jiných zástupců z rodu *Hymenoscyphus* a úlomků jiných spor. Vzhledem k tomu, že je dle výše uvedených výsledků výskyt spor nejvíce ovlivněn vlhkostí (24. 6. 2013 stoupla vlhkost na 99,9% a počet spór na 100), je možné, že celkové klima v porostu napomáhá rozvoji plodnic a tvorbě spor. Tuto hypotézu podporuje práce Havrdová et al. (2014). Při tomto výzkumu bylo zjištěno, že porosty, v nichž je prostředím daná vyšší vlhkost, jsou náchylnější k napadení houbou *Hymenoscyphus fraxineus*. Dle jejích výsledků byly nejméně poškozené stromy v solitérních výsadbách s poškozením 2,33% a vlhkostí 78,64% a nejvíce poškozené stromy byly v břehových porostech, kde poškození dosahuje hodnoty 17,02% a vlhkost 82,49%.

Výskyt *C. fraxinea* v lokalitě blízko Hackerovy školky potvrzuje také práce Jankovského a Holdenriedera (2009). Jankovský potvrzuje výskyt patogena na napadených letorostech. Napadený jedinec se nachází v arboretu ve Křtinách, jež je přibližně 250m od Hackerovy školky. Infikovaný *F. excelsior* var. *Pendula* také vykazuje symptomy nákazy *H. fraxineus*. To tedy potvrzuje výskyt nekrózy jasanů v dané lokalitě.

Ze získaných výsledků jsem došel k závěru, že teplota není příliš ovlivňující faktor pro výskyt spor v dané lokalitě. Jelikož jsou mezi jednotlivými sporulačními obdobími velké teplotní rozdíly. Daniela Smetanová (2016) tvrdí, že se vzrůstající teplotou vzrůstá i počet spor. Tato hypotéza nemůže být mou prací potvrzena, neboť toto platilo pouze v prvním sporulačním období, zatímco

ve druhém a třetím období teplota klesala. Rozporuplnost s touto hypotézou může být způsobena i rozdílným zpracováním výsledků.

Dle tvrzení Dvořák et al. (2016) je nejdůležitějšími faktory pro rozvoj apothécií a vývoj spor vlhkost 12 dní před začátkem sporulace. Tento jev lze sledovat i v mých výsledcích, kdy 10-12 dní před začátkem sporulačních období byla průměrná relativní vlhkost vzduchu zvýšená, s hodnotami nad 90%. Pro uvolňování spor je podle Dvořáka důležité vysoké ovlhčení listů 1-2 dny před začátkem sporulace. Touto prací bylo zjištěno, že pouze před prvním sporulačním obdobím, kdy hodnota průměrného ovlhčení listů 2 dny před začátkem sporulace byla 0,56 V, lze sledovat podobný jev. Při druhém (0,13 V) a třetím (0,09 V) sporulačním období bylo průměrné ovlhčení listů nízké.

Výsledky této práce mohou být ovlivněny i tím, že k vyhodnocování vzorků bylo používáno pouze mikroskopování a nemůže tak být vyloučen lidský faktor, při určování druhu. Při sčítání spór mohlo dojít k záměně spór *H. fraxineus* za druh *H. albidus*, který je saprofytický. Ostatní používali k vyhodnocení i molekulární metody zjišťování DNA a mohli tak zjistit i jinou DNA než askospor.

7 Závěr

Hypotézy, uvedené v této práci, korespondují s ostatními pracemi pouze v jednom aspektu. A to v ovlivňování výskytu spor vlhkostí. Spory velmi kladně reagují na vlhké podmínky, ať už se jedná o relativní vlhkost vzduchu, nebo ovlhčení listů. Proto jsou jasněji zejména v břehových výsadbách a oblastech s větším množstvím srážek náchylnější k nákaze a k jejímu rychlejšímu průběhu až k úplnému úhynu. Dodnes však neexistuje žádné efektivní opatření proti šíření, nebo k úplné likvidaci tohoto patogenu, proto jsou jasněji stále v ohrožení.

Dalšími činiteli, které ovlivňují výskyt spor je také teplota ovzduší a ovlhčení listů, u těchto dvou činitelů však nemám žádné shody s ostatními pracemi. V mém měření teplota neovlivňovala žádné z vedlejších vlivů a sama neměla na výskyt spor vliv téměř žádný i přes její výkyvy. Získaná data ukázala, že teplotní kolísání bylo značné a rozdíl mezi nejvyšší a nejnižší průměrnou teplotou činil až 17,28°C. I přes to, jsem však nezaznamenal vliv na výskyt spor.

Proti této chorobě je možné provádět alespoň preventivní zásahy, jež jsou schopny zpomalit její šíření. Mezi tyto zásahy patří: hrabání listů, díky kterému nemá houba prostor pro rozvoj apothécií a tím pádem je omezen výskyt spor. Dalším opatřením může být odstraňování napadených jedinců, případně jen napadených částí. Shrabané listy je třeba spálit, aby se předešlo rozšiřování spor. V místech, kde je hustá výsadba jasanu (např. parky, vnitrobloková výsadba nebo břehové porosty) je třeba provést probírku. Tím se upraví klimatické podmínky v porostech a houba nebude mít ideální prostředí pro rozvoj. Dalším možným řešením v městských zástavbách by mohla být výsadba odolnějších druhů jasanu. Například *F. pensylvanica* a *F. ornus*, jež vykazují menší náchylnost k onemocnění *C. fraxinea*. Jednou z experimentálních metod ochrany jasanů je mikroinjektáž fungicidů do kmene. Touto metodou se zabývá Jiří Rozsypálek. Tato metoda je však finančně náročná a dosažené výsledky jsou pouze krátkodobé.

8 Summary

The ash trees suffer from untreatable disease throughout the Europe. The disease is called Ash dieback. Trees attacked by this disease suffer with a quick leaf loss, decline of branches crown dieback. The disease spreads in the forests same as in town plantings. Protection against ash dieback has not been discovered yet. Because of that, it is a threat to the whole population of ashes in Europe. Sexual stage of the Ash dieback is called *Himenoscyphus fraxineus* which belongs to ascomycetes fungi. This stage develop on ash debris at the ground. Small fruit bodies grow in debris on leaf petiolas. In the fruit bodies grow spores which are then spread through the air on new leaves in summer. The spores infect leaves and they hybernate in the plant until next year. Most endangered by this disease are small saplings and young trees which can decline in only one season. The spores are dependent on air humidity and with raising humidity i also growing presence of spores. This hypotesis is confirmed by many authors who investigate this disease. Possible solution for this disease could be planting ash trees in more apropiete areas with lower humidity. Prunning of the dense undergrowth and diseased trees and branches. Althought this solution is tested and it shows the disease is only slowed down. However, the solution is not found yet.

9 Referenční seznam

Timmermann, V., Børja, I., Hietala, A. M., Kirisits, T., Solheim, H., 2011. Ash dieback: pathogen spread and diurnal patterns of ascospore dispersal, with special emphasis on Norway. OEPP/EPPO Bulletin 41. 14–20

Úradníček, L., 2004. Lesnická dendrologie II.: (angiospermae). Brno, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 121s. ISBN 80-7157-760-X.

Pokorný, J., Matoušová V., 2003. Stromy. 2. české vyd. Praha, Aventinum, Krystal. 224s. ISBN 80-7151-147-1.

Maděra, P., Úradníček, L., 2001. Dřeviny České republiky. Písek: Matice lesnická. 333s. ISBN 80-86271-09-9.

Havrdová, L., Černý, K., 2013. Hymenoscyphus pseudoalbidus: Nekróza jasanu. *Lesnická práce: příloha*. 2013(6), 1-4.

Gross, A., Holdenrieder, O., Pautasso, M., Queloz, M., Sieber, T. N., 2014. Hymenoscyphus pseudoalbidus, the causal agent of European ash dieback. *Molecular plant pathology*. 15(1). 5-21

Koukol O., Havrdová L., 2014. Vřeckovýtrusná zkáza jasanů. *Živa*, 1/2014, 7 – 10.

EPPO Global Database, Hymenoscyphus fraxineus (CHAAFR) [online] Citováno 26. Dubna 2017. Dostupné na World Wide Web: < <https://gd.eppo.int/taxon/CHAAFR/distribution>>.

Vlnas, R., Pecha, M., Freisleben, J., Stierand, P., Halířová. J., 2014. Hydrologická bilance množství a jakosti vody České republiky. Praha: Český hydrometeorologický ústav Úsek Hydrologie, 189s.

Galerie. Velké Bílovice [online] Citováno 20. Dubna 2017. Dostupné na World Wide Web: < http://www.amet.cz/foto/fotogalerie/images/IMG_7106.JPG >.

Rozspálek, J. 2012. Nekróza jasanu Chalara fraxinea - fenologie, bionomie,

charakteristika symptomu, rozšíření v oblasti Kroměřížska a Zlínska. Brno. Mendelova univerzita v Brně, Lesnická a dřevařská fakulta, Ústav ochrany lesa a myslivosti. 76s.

Bakys, R., Vasaitis, R., Barklund, P., Ihrmark, K., Stenlid, J., 2009. Investigations concerning the role of *Chalara fraxinea* in declining *Fraxinus excelsior*. *Plant Pathology* 58, 284-292

McKinney, L. V., Thomsen, I. M., Kjaer, E. D., Nielsen, L. R., 2012. Genetic resistance to *Hymenoscyphus pseudoalbidus* limits fungal growth and symptom occurrence in *Fraxinus excelsior*. *Forest Pathology* 42, 69-74

Schumacher, J., Kehr, R., Leonhard, S., 2010. Mycological and histological investigations of *Fraxinus excelsior* nursery saplings naturally infected by *Chalara fraxinea*. *Forest Pathology* 40, 419-429

Kowalski, T., Holdenrieder, O., 2009. Pathogenicity of *Chalara fraxinea*. *Forest Pathology* 39, 1-7

Havrdová L., Zábranský P., Černý K., 2014. Extrémní rozvoj nekrózy jasanu v břehových porostech je podmíněn vysokou vlhkostí jejich prostředí. *Vodní hospodářství* 11/2014, 1 - 9.

Jankovský, L., Holdenrieder, O., 2009. *Chalara fraxinea* – Ash Dieback in the Czech Republic. *Plant Protection Science* Vol. 45, 2009, No. 2. 74-78

Dvorak, M., Rotkova, G., Botella, L., 2015. Detection of Airborne Inoculum of *Hymenoscyphus fraxineus* and *H. albidus* during Seasonal Fluctuations Associated with Absence of Apothecia. *Forests* 2016. 1-12.

Smetanová, D., 2016. Detekce výskytu *Hymenoscyphus fraxineus* pomocí lapačů spor a molekulárně biologických metod ve Vranovickém lese. Brno, Bakalářská práce. Mendelova univerzita v Brně. 43s.

Gross, A., Zaffarano, P. L., Duo, A., Grünig, C.R., 2012. Reproductive mode and life cycle of the ash dieback pathogen *Hymenoscyphus pseudoalbidus*. *Fungal Genetic Biology* 49. 977-986.