

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta lesnická a dřevařská

Katedra ochrany lesa a entomologie



**Preferují lýkožrouti smrkoví na krátkou vzdálenost
hostitelské smrky stresované suchem díky vnímání změn
v profilu stromových metabolitů?**

Diplomová práce

Bc. Jiří Samek

Vedoucí práce: Ing. Anna Jirošová, PhD.

2024

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta lesnická a dřevařská

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Bc. Jiří Samek

Lesní inženýrství

Název práce

Preferují lýkožrouti smrkoví na krátkou vzdálenost hostitelské smrky stresované suchem díky vnímání změn v profilu stromových metabolitů?

Název anglicky

Do Eurasian spruce bark beetles prefer drought-stressed host spruces at short distances due to perceived changes in tree metabolite profiles?

Cíle práce

Chronický stres ze sucha jako důsledek změn klimatu snižuje obranyschopnost smrků ztepilých (*Picea abies* L.) proti napadení kůrovci. Ve střední Evropě způsobil nejagresivnější druh *Ips typographus* (L.) v období 2015-2020 rozsáhlé ekologické a ekonomické škody ve smrkových monokulturách. Při vyhledávání vhodného hostitelského smrku se brouci rozhodují, zda strom přijmou, nebo odmítnou na základě různých signálů indikujících jeho zranitelnost. Brouci mohou olfaktometricky čichem nebo chutí zjistit změny v biochemii stromu, jako je snížená produkce pryskyřice a odlišné složení dalších metabolitů. Cílem této diplomové práce je porovnat výběr suchem stresovaných a přirozeně zavlažovaných hostitelských stromů brouky v sérii laboratorních bioassají na krátkou vzdálenost. V testech budou broukům předkládány vzorky lýka a jiných tkání ze stromů bez a s přístupem vody a bude pozorováno chování brouků ve fázi, kdy se brouci rozhodují, zda strom akceptovat. Výběr bude porovnáván s těkavými látkami emitovanými z testovaných tkání, a s metabolity, které budou detekovány v jejich extraktech. Dalším cílem diplomové práce bude shrnout současné poznatky o testované problematice v literární rešerši.

Metodika

Vzorky suchem stresovaných a přirozeně zavodněných stromů budou odebírány z pěti experimentálních lokalit ve vzrostlých smrkových porostech, které se nacházejí v okrese Praha-východ v Kostelci nad Černými lesy. Každá z pěti ploch je rozdělena na dvě dílčí plochy: dřevěné zastřešení za účelem vyvolání stresu suchem u smrku ztepilého (*Picea abies*), a neošetřené stromy bez zastřešení. Na každé dílčí ploše je pět nebo více vybraných stromů se senzory, monitorujícími jejich fyziologickou kondici, a senzory zaznamenávající obsah vody v půdě dostupné pro stromy.

Laboratorní bioassaje: Preference brouků *I. typographus* pro suchem stresované a přirozeně zavlažované stromy budou testovány v dvou výběrovém testu v Petriho miskách o průměru 9 cm. Aréna bude rozdělena na dvě poloviny a do dvou malých perforovaných nádobek na protilehlé straně misky bude umístěna testovaná tkáň. Testovány budou nejméně tři opakování na jeden strom a nejméně pět stresovaných a pět nestresovaných stromů na ploše. Brouci budou rozdělení dle pohlaví.

Analýza metabolitů: Těkavé látky emitované tkání budou odebrány headspace metodou ze vzduchu, zároveň bude vzorek tkáně stromu extrahován i do hexanu. Vzorky budou analyzovány pomocí GCMS, a složení látek bude porovnáno s preferencí brouků z biotestů.

Rozvrh: Květen/cerven 2023-odběry vzorků na lokalitě + zpracování v laboratoři, Září/prosinec 2023-měření vzorků a vyhodnocování výsledků, průzkum odborné literatury, Leden/duběn 2024 kompilace výsledků a poznatků z literatury do diplomové práce



Doporučený rozsah práce

40 až 60

Klíčová slova

Ips typographus, *Picea abies*, smrk ztepilý, stres suchem, terpeny, resin

Doporučené zdroje informací

- Byers JA. (2007). Chemical ecology of bark beetles in a complex olfactory landscape. In: F Lieutier, ed. *Bark and wood boring insects in living trees in Europe: a synthesis*. Boston, London: Kluwer Academic, 89– 134.
- Fang J, Zhang S, Liu F, Cheng B, Zhang Z, Zhang Q-H, Kong X. (2020). Functional investigation of monoterpenes for improved understanding of the relationship between hosts and bark beetles. *Journal of Applied Entomology* 145: 303– 311.
- Francesci V., Krokene P., Christiansen E., Krekling T. (2005): Anatomical and chemical defenses of conifer bark against bark beetles and other pests, *New Phytologist*, 167(2):353-376s., [cit. 2. 3. 2023], DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01436.x>
- Huang, J., Kautz, M., Trowbridge, A.M., Hammerbacher, A., Raffa, K.F., Adams, H.D., Goodsmann, D.W., Xu, C., Meddens, A.J.H., Kandasamy, D., (2020). Tree defence and bark beetles in a drying world: carbon partitioning, functioning and modelling. *New Phytol.* 225, 26–36.
- Lehmanski, L.M.A., Kandasamy, D., Andersson, M.N., Netherer, S., Alves, E.G., Huang, J. and Hartmann, H. (2023), Addressing a century-old hypothesis – do pioneer beetles of *Ips typographus* use volatile cues to find suitable host trees?. *New Phytol.* <https://doi.org/10.1111/nph.18865>
- Leufvén, A., Birgersson, G., (1987). Quantitative variation of different monoterpenes around galleries of *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae) attacking Norway spruce. *Can. J. Bot.* 65, 1038–1044
- Netherer, S., Kandasamy, D., Jirosová, A., Kalinová, B., Schebeck, M., Schlyter, F., (2021). Interactions among Norway spruce, the bark beetle *Ips typographus* and its fungal symbionts in times of drought. *J. Pest Sci.* (2004). 1–24.
- Netherer, S.; Schebeck, M.; Morgante, G.; Rentsch, V.; Kirisits, T. European Spruce Bark Beetle, *Ips typographus* (L.) Males Are Attracted to Bark Cores of Drought-Stressed Norway Spruce Trees with Impaired Defenses in Petri Dish Choice Experiments. *Forests* (2022), 13, 537. <https://doi.org/10.3390/f13040537>
- Raffa, K.F., Andersson, M.N., Schlyter, F., (2016). Host selection by bark beetles: playing the odds in a high-stakes game, in: *Advances in Insect Physiology*. Elsevier, pp. 1–74.
- Schlyter, F., Löfqvist, J., (1986). Response of walking spruce bark beetles *Ips typographus* to pheromone produced in different attack phases. *Entomol. Exp. Appl.* 41, 219–230.

Předběžný termín obhajoby

2023/24 LS – FLD

Vedoucí práce

Ing. Anna Jirošová, Ph.D.

Garantující pracoviště

Excelentní tým pro mitigaci

Konzultant

Ing. Barbora Stříbrská
Antonioni Moliterno, MSc
Sara Basile

Elektronicky schváleno dne 17. 7. 2023

prof. Ing. Marek Turčáni, PhD.

Vedoucí ústavu

Elektronicky schváleno dne 28. 7. 2023

prof. Ing. Róbert Marušák, PhD.

Děkan

V Praze dne 05. 04. 2024

1906

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Preferují lýkožrouti smrkoví na krátkou vzdálenost hostitelské smrky stresované suchem díky vnímání změn v profilu stromových metabolitů?" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu použitých zdrojů na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 5. 4. 2024

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval paní Ing. Anně Jirošové, PhD. za vedení a podporu při vypracování práce a také panu Antonioni Moliternovi, PhD., paní Sara Basilové MSc. za pomoc s provedením terénních a laboratorních prací. Také děkuji paní Ing. Barboře Stříbrské, PhD. za užitečné rady a kontrolu v laboratoři a s vyhodnocením.

Preferují lýkožrouti smrkoví na krátkou vzdálenost hostitelské smrky stresované suchem díky vnímání změn v profilu stromových metabolitů?

Abstrakt

Chronický stres suchem způsobený měnícími se klimatickými podmínkami oslabuje obranyschopnost smrku ztepilého (*Picea abies*) a činí ho náchylným k napadení lýkožroutem smrkovým (*Ips typographus*). Brouci pomocí svého chuťového nebo čichového smyslu rozpoznávají biochemické změny ve stromu, například změny v množství metabolitů smrku. V laboratorních podmínkách byly zkoumány preference samců lýkožrouta smrkového na krátké vzdálenosti pro hostitelské smrky vystavené suchu proti kontrolním stromům. V biologických testech výběru v arénách se brouci výrazně déle drželi na prášcích stresovaných stromů. Arény byly rozděleny na poloviny stresovaného stromu a kontrolního. Nebyly zjištěny žádné rozdíly v časech strávených na polovinách Petriho misky. Rozdíly v obsahu vybraných biologicky aktivních těkavých látek mezi stromy stresovanými suchem a stromy přirozeně zavlažovanými nebyly významné, až na vyšší obsah 3-carenu u suchem stresovaných stromů.

Klíčová slova: *Ips typographus*, *Picea abies*, smrk ztepilý, stres suchem, terpeny, pryskyřice

Do Eurasian spruce bark beetles prefer drought-stressed host spruces at short distances due to perceived changes in tree metabolite profiles?

Abstract

Chronic drought stress caused by changing climatic conditions weakens the defences of Norway spruce (*Picea abies*) and makes it susceptible to attack by the European spruce bark beetle (*Ips typographus*). The beetles use their sense of taste or smell to detect biochemical changes in the tree, such as changes in the amount of spruce metabolites. The preferences of male European spruce bark beetles for host spruce trees exposed to drought versus control trees over short distances were investigated under laboratory conditions. In arena selection bioassays, beetles persisted significantly longer on the anthers of stressed trees. Arenas were divided in two halves of stressed tree and control tree. There were no differences in the times spent on the Petri dish halves. Differences in the content of selected biologically active volatiles between drought-stressed and naturally irrigated trees were not significant, except for the higher content of 3-carene in the drought-stressed trees.

Keywords: *Ips typographus*, *Picea abies*, Norway spruce, drought stress, terpenes, resin

Obsah

Seznam obrázků	12
Seznam tabulek.....	13
Seznam použitých zkratk	13
1 Úvod	14
2 Cíl práce	16
3 Literární přehled	17
3.1 Lýkožrout smrkový	17
3.1.1 Bionomie	17
3.1.2 Populační dynamika a strategie napadení.....	19
Faktory ovlivňující populační hustotu.....	19
Průběh napadení	20
3.1.3 Mechanismy rozpoznávání hostitele	20
Detekce hostitele na krátkou vzdálenost	21
Vhodnost substrátu	22
3.1.4 Čichové reakce na pachy stromů a houbové sloučeniny	22
Specifické čichové sensily a jejich úloha při identifikaci hostitele.....	22
Rozpoznávání specifických kyslíkatých monoterpenů a fuselových alkoholů	22
Vliv vylučování těkavých látek na aktivitu lýkožrouta	23
Odpuzující signální látky.....	25
3.2 Smrk ztepilý	25
3.2.1 Ekologie.....	25
3.2.2 Projevy stresu suchem	26
3.2.3 Sezónní povětrnostní podmínky a dynamika ohnisek	27
3.2.4 Obranné mechanismy smrku	27
Pryskyřice.....	27
Fenolické netěkavé látky	28
3.2.5 Překonání obrany	28
3.2.6 Vybrané látky s biologickými účinky na lýkožrouta.....	29
Monoterpeny	29
Oxidované monoterpeny	30
3.2.7 Výzkumné plochy pro studium interakce stromu s lýkožroutem.....	31

3.2.8	Laboratorní biologické testy pro studium preferencí hostitele na krátkou vzdálenost	32
	Y olfaktometr	32
	Výběrové testy v Petriho misce	32
3.3	Chemická analýza	33
3.3.1	Izolace látek pomocí SPME	33
3.3.2	GC–MS	34
3.3.3	Kvalitativní analýza	34
3.3.4	Kvantitativní analýza	35
4	Metodika	36
4.1	Preference suchem stresovaných stromů	36
4.1.1	Příprava a chov pokusných brouků	36
4.1.2	Sběr a příprava vzorků lýka k pokusům	37
	Výzkumná plocha Kostelec nad Černými lesy	37
	Laboratorní zpracování	40
4.1.3	Biologický test	40
4.1.4	Analýza metabolitů	44
4.1.5	Statistické zpracování	45
5	Výsledky a diskuse	47
5.1	Preference suchem stresovaných stromů	47
5.1.1	Průměrný čas brouků strávený na sekci – polovině Petriho misky ...	47
5.1.2	Průměrný čas brouků v kontaktu s práškem ze stromů zastřešených a nezastřešených	49
5.1.3	Porovnání setrvání brouků na sekci mezi různými plochami 1 a 7 ...	52
	Setrvání brouků na sekci bez testování preference pro T či C.	52
	Setrvání brouků na prášku bez testování preference pro T či C	52
	Setrvání brouků na prášku bez testování preferencí pro T či C.	53
5.1.4	Odlíšnost konkrétních stromů	53
	Rozdílnost v časech strávených na T sekcích arény	53
	Rozdílnost v časech strávených na prášcích T	54
5.1.5	Vliv zastoupení smrkových metabolitů na výběr lýkožroutů	55
	Korelace relativního zastoupení látek s časy na sekci a časy na prášku ...	58
6	Diskuse	59
7	Závěr	61
8	Seznam použitých zdrojů	63

Seznam obrázků

Obrázek 1: Porovnání pohlavních znaků lýkožrouta smrkového	17
Obrázek 2: Zadní část krovek lýkožrouta smrkového	18
Obrázek 3: Popis částí vlákna SPME	33
Obrázek 4: Chovné síťové klece více druhů kůrovců	36
Obrázek 5: Chovný box druhé (F2) generace kůrovců Ips typographus.	37
Obrázek 6: Fotografie výzkumných ploch.....	38
Obrázek 7: Přehledová mapa umístění jednotlivých výzkumných ploch.....	38
Obrázek 8: Letecký pohled na experimentální plochu č. 1. Studie zastřešených stromů, Kostelec nad Černými lesy.....	39
Obrázek 9: Experimentální uspořádání výběrového testu brouků na Petriho miskách.	41
Obrázek 10: Uspořádání systému navázání těkavých látek ze vzorků lýka smrku (Picea abies).	45
Obrázek 11: Uspořádání výběrového pokusu v aréně (Petriho misce).....	47
Obrázek 12: Graf porovnání průměrných časů strávených na sekci testovaných stromů..	48
Obrázek 13: Graf porovnání časů strávených na sekci příslušného zastřešeného T a nezastřešeného C stromu.	49
Obrázek 14: Uspořádání výběrového pokusu v aréně (Petriho misce).....	50
Obrázek 15: Graf porovnání průměrných časů strávených na prášku testovaných stromů.	50
Obrázek 16: Graf porovnání časů strávených v kontaktu se vzorkem příslušného zastřešeného T a nezastřešeného C stromu..	51
Obrázek 17: Porovnání relativních zastoupení 3-carenu mezi zastřešeným (T) a kontrolními (C) vzorky na ploše č. 7.....	57

Seznam tabulek

Tabulka 1: Testované dvojice vzorků stromů z plochy č. 1 ve výběrových pokusech na Petriho miskách.	42
Tabulka 2: Testované dvojice vzorků stromů z plochy č. 7 ve výběrových pokusech.....	43
Tabulka 3: Dvojice zastřešených stromů T se statisticky významnými rozdíly (p-hodnota < 0,05) v časech strávených brouky na sekcích arény.....	54
Tabulka 4: Dvojice zastřešených stromů T se statisticky významnými rozdíly (p-hodnota < 0,05) v časech strávených brouky na práscích..	55
Tabulka 5: Mann-Whitneyův U Test porovnání vybraných volatilních látek zastřešených a nezastřešených stromů.....	56
Tabulka 6: Mann-Whitneyův U Test porovnání relativních odezev vybraných volatilních látek zastřešených a nezastřešených stromů v rámci plochy 1 a v rámci plochy 7.	56

Seznam použitých zkratk

°C	stupeň Celsia
C	control
cm	centimetr
č.	číslo
GC	plynová chromatografie
h	hodina
min	minuta
mm	milimetr
MS	hmotnostní spektrometrie
s	sekunda
SD	standardní odchylka
SPME	mikroextrakce na pevné fázi
T	treatment
USA	Spojené státy americké

1 Úvod

Nad složitou interakcí mezi lesy a populacemi kůrovců (Scolytinae) visí ve vzduchu hrozba klimatických změn, které narušují složitou rovnováhu ekosystémů. Důkazem ekologických důsledků těchto změn je přemnožení lýkožrouta smrkového, *Ips typographus*. Chronický stres ze sucha, který je důsledkem měnících se klimatických podmínek, oslabuje obranyschopnost smrku ztepilého (*Picea abies* L.) a činí ho náchylným k napadení lýkožroutem (Huang et al., 2020; Krejza et al., 2021; Netherer et al., 2021). V období mezi lety 2015 a 2020 došlo k rozsáhlým ekologickým a hospodářským škodám ve smrkových monokulturách ve střední Evropě, které způsobil tento hmyz (Ebner G, 2020).

V lesích střední Evropy v současné době pozorujeme zvyšování průměrných denních teplot a rozkolísané rozložení srážkových úhrnů v průběhu roku. Objevují se proto dlouhá, až několikaměsíční, období s minimem dostupné vody pro lesní stanoviště (Watson et al., 2019).

Když pionýrští samci *Ips typographus* hledají vhodné hostitelské smrky, rozhodují se na základě různých signálů, které ukazují na zranitelnost stromu. Brouci rozeznávají změny v biochemii stromu, jako je snížená produkce pryskyřice a změny dalších metabolitů, pomocí čichových nebo chuťových mechanismů (Netherer et al., 2021). Z toho vyplývá zásadní otázka: „Vykazují lýkožrouti na smrku preference pro suchem stresované hostitelské smrky na krátké vzdálenosti v důsledku vnímaných změn v metabolitových profilech stromů?“

Stres suchem vyvolává reakci stromů, která se projevuje mimo jiné změnou složení, množství a intenzity vypouštění specifických chemických metabolitů, včetně obranných látek. Vliv těchto metabolitů na výběr stromů lýkožrouty a na shromažďování lýkožroutů je pozitivní i negativní. Nicméně, stále není jasné, jak *Ips typographus* přitahují těkavé látky vylučované nenapadenými smrky, a zda tito brouci rozpoznávají a následují těkavé látky ze stresovaných stromů s oslabenou obranyschopností (Byers, 1996; Netherer & Hammerbacher, 2022).

Hlavním cílem této práce je zjistit, zda si tito lýkožrouti přednostně vybírají hostitelské stromy vystavené suchu před přirozeně zavlažovanými stromy ve scénářích s krátkou vzdáleností. Prostřednictvím série laboratorních biologických testů se snažíme předložit

komplexní srovnání výběru brouků, když jsou jim předloženy vzorky lýka ze stromů vystavených stresu suchem a ze stromů s přístupem k dostatečnému množství vody.

Metodika výzkumu zahrnuje odběr vzorků ze suchem stresovaných a přirozeně zavlažovaných stromů na pěti experimentálních stanovištích ve vzrostlých smrkových lesích v okolí Kostelce nad Černými lesy v okrese Praha-východ. Každá lokalita je rozdělena na plochy, kde jsou stromy vystaveny simulovanému stresu suchem pomocí dřevěného zastřešení, a na plochy s běžnými podmínkami prostředí. Fyziologické podmínky vybraných stromů jsou sledovány pomocí senzorů spolu s měřením vlhkosti půdy.

Míra sucha může ovlivnit úspěšnost napadení lýkožroutem *Ips typographus* a jeho symbiotických ophiostomatoidních hub, které detoxikují obranné látky stromů a produkují výživné látky pro lýkožrouty (Hoch et al., 2019).

Pochopení toho, jak lýkožrouti preferují stromy vystavené suchu, je klíčové pro předvídání a zmírňování potenciálních ohnisek. Tento výzkum přispívá k širšímu ekologickému diskurzu o klimatických stresorech a jejich kaskádových účincích na lesní ekosystémy, zejména v souvislosti s napadením lýkožroutem.

Tato práce se zabývá složitým chováním lýkožroutů, zkoumáním jejich preferencí pomocí laboratorních biologických testů a korelací těchto voleb s těkavými sloučeninami uvolňovanými testovanými tkáněmi. Kromě toho shrne stávající poznatky o tomto tématu prostřednictvím komplexního přehledu literatury.

Následující kapitoly obsahují literární přehled, metodiku, výsledky a diskusi, které osvětlí nuance interakcí mezi lýkožrouty a jejich hostitelskými stromy pod vlivem stresu suchem. Toto zkoumání se snaží přispět cennými poznatky k probíhajícímu úsilí v oblasti ekologie lesa a ochrany proti škůdcům.

2 Cíl práce

Cílem této práce je přispět k vysvětlení jevu, kdy si pionýrští samci kůrovců druhu *Ips typographus* vybírají určité suchem stresované stromy smrku ztepilého (*Picea abies*).

Hlavním cílem této práce je posoudit preference brouků pro hostitelské stromy ve stresu suchem ve srovnání s těmi přirozeně zavlažovanými. Toto hodnocení bude provedeno pomocí série laboratorních biologických testů zaměřených na interakce na krátkou vzdálenost. Během těchto testů budou brouci vystaveni vzorkům kůry a dalších tkání pocházejících ze stromů s rozdílnou dostupností vody. Studie bude pečlivě sledovat chování brouků během klíčové fáze rozhodování o přijetí předloženého stromu. Zkoumání bude rozšířeno o srovnávací analýzu zahrnující těkavé sloučeniny vylučované testovanými tkáněmi a metabolity identifikované v jejich extraktech.

Práce se snaží upevnit stávající poznatky týkající se této problematiky prostřednictvím rozsáhlého přehledu literatury. Tento sekundární cíl zahrnuje syntézu a předložení uceleného přehledu současných poznatků o zkoumané problematice.

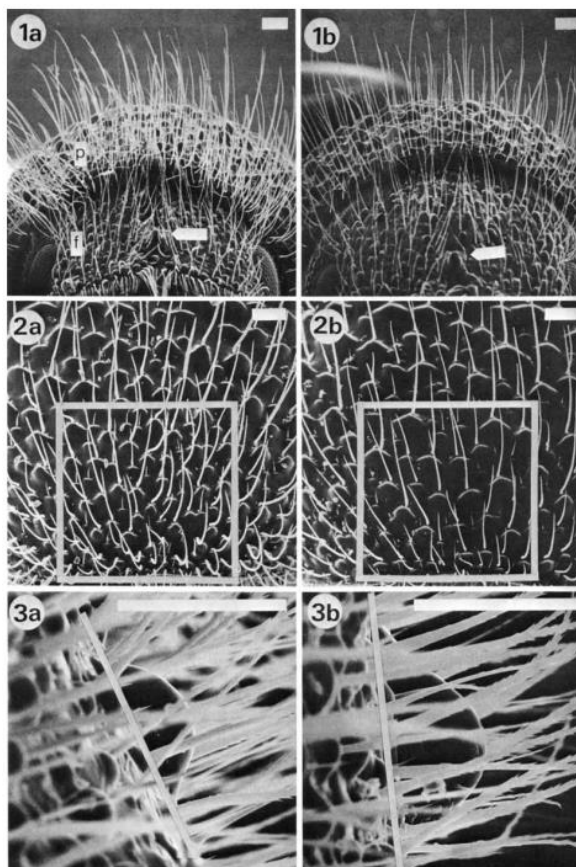
3 Literární přehled

3.1 Lýkožrout smrkový

Tato kapitola se zabývá nejdůležitějšími informacemi o lýkožroutu smrkovém (*Ips typographus*), jeho bionomii, faktorech ovlivňujících jeho populaci, mechanismech rozpoznávání hostitelů a čichových reakcích na pachy stromů.

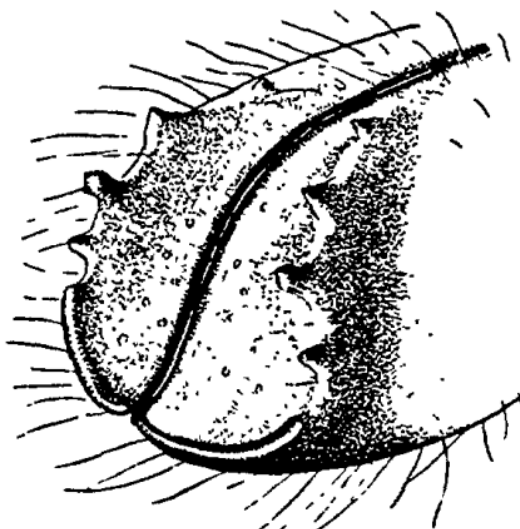
3.1.1 Bionomie

Lýkožrout smrkový (*Ips typographus* Linnaeus, 1758) je 4,5 až 5,5 mm dlouhý tmavě zbarvený, černohnědý až černý lesklý brouk z čeledi nosatcovití (Curculionidae). Lze jej rozlišit podle širokého mezirýží, které je lesklé, bez dolíků, kromě na bocích a vzadu. Hrbolek na čele je velmi výrazný. Samice jej mají oproti samcům menší a záhloví mají více ochlupené (Obrázek 1) (Balachowsky, 1949)



Obrázek 1: Porovnání pohlavních znaků lýkožrouta smrkového. 1a, 2a, 3a je detail hlavy samice; 1b, 2b a 3b samce. (Schlyter & Cederholm, 1981).

Zkosení zadečku je matné, jemně puntíkaté, prohnuté s dlouhými lesklými chloupky na okrajích. Tykadlová palička má zvlněné švy. Na každé straně zakončení krovek jsou čtyři trny, přičemž třetí shora je vystouplý se srdcovitým zakončením (Balachowsky, 1949; Pfeffer, 1955) (Obrázek 2).



Obrázek 2: Zadní část krovek lýkožrouta smrkového (Balachowsky, 1949).

Požerky, to znamená chodby, vytváří pod tlustší kůrou kmene zdravých, stresovaných i pokácených stromech smrku ztepilého (*Picea abies*) (Balachowsky, 1949). Požerek je velký, sestávající se ze snubní komůrky, 2 nebo 3 svislých mateřských chodeb, dlouhých až 15 cm. Jednotlivé larvální chodby jsou krátké a zvlněné, na koncích rozšířené v kukelné kolébky (Balachowsky, 1949; Pfeffer, 1955).

Areál rozšíření je od nížin po horní hranici lesa hlavně ve střední a východní Evropě, Skandinávii, Karpatech až po Sibiř (Balachowsky, 1949; Pfeffer, 1955). V Asii je rozšířen v Rusku, Číně, Koreji a Japonsku (CABI, 2022). Byl nalezen také v Gruzii. V USA byl odchycen v přístavech, ale dosud není plošně rozšířen (Haack, 2001).

Hlavním hostitelem je smrk ztepilý (*Picea abies*), v jehož porostech působí značné škody. Byl nalezen také na dalších druzích smrku, na jedli, borovici a vzácněji na modřínu. Přezimuje ve stadiu dospělce pod kůrou, v zemi u paty kmene a v hrabance (Balachowsky, 1949; Pfeffer, 1955).

Letová aktivita lýkožroutů *Ips typographus* začíná v průběhu dubna a května, kdy probíhá první rojení. V rámci dne je nejvyšší letová aktivita posunuta mimo časy vrcholících denních teplot do odpoledních a večerních hodin (Sentis et al., 2015). Na letovou aktivitu má pravděpodobně vliv uvolňování těkavých organických sloučenin, konkrétně monoterpenů, z kůry stromů, přičemž k nejvyšší míře uvolňování dochází během období zvýšených teplot (Hietz et al., 2005; Holopainen et al., 2018).

3.1.2 Populační dynamika a strategie napadení

Faktory ovlivňující populační hustotu

Mezi faktory prostředí významně pozměňující vnitrodruhové chemické feromonové komunikační procesy hmyzu patří zvýšené teploty. Teplotní podmínky mají zásadní vliv na složitou dynamiku komunikace lýkožroutů v rámci stejné populace, čímž pozměňují jejich letové chování (Sentis et al., 2015).

Zaregistrování pachových mraků stimuluje reakci těchto brouků projevující se řízeným letem k atraktivním hostitelům. Na aktivní a pasivní pohyb lýkožroutů má vliv místní proudění vzduchu, které se mění s topografií terénu, povětrnostními podmínkami a strukturou porostu. Aktivní let lýkožroutů je se zvyšující se rychlostí větru obtížnější a při rychlostech proudění vyšších než $1 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ již dochází k pasivnímu odnášení brouků do vzdálených míst, kam by se za běžných situacích nikdy nedostali. To je pravděpodobně příčinou nálezů v městech či nad horní hranicí lesa (Hurling, 2003; Jackson et al., 2008; Hoch et al., 2019).

Protože letové trasy procházejí pravděpodobně zónami přechodu mez holou sečí a porostní stěnou pozůstalého porostu, mohou být k napadení nejohroženější stromy rostoucí na v porostních stěnách (Hoch et al., 2019). Nicméně, čerstvě odkryté porostní stěny po těžbě nemusí být nutně náchylné k napadení lýkožroutem smrkovým, přestože poskytují potenciálně příhodné mikroklimatické podmínky pro napadení. V čerstvých porostních okrajích byla kromě zvýšeného proudění pryskyřice také pozorována vyšší kvantita vypouštěných těkavých organických látek (Stříbrská et al., 2022).

Odolnost porostních okrajů smrkových monokultur vůči napadení lýkožroutem (*Ips typographus*) může být výrazně zvýšena pomocí napodobení vůní smíšeného lesa.

To platí zejména pro porosty s přítomností břízy (*Betula* spp.) nebo osiky (*Populus tremula*). Listnaté stromy jej odpuzují volatilními látkami, jako jsou šeti a osmiuhlíkaté alkoholy a spiroketaly, vylučovanými z listů a kůry (Schiebe et al., 2011).

Průběh napadení

Pionýrští samci *Ips typographus*, kteří obsazují strom jako první, se živí lýkem na substrátu pionýrského stromu, čímž dochází k produkci agregačních feromonů. Tyto feromony lákající ostatní jedince *Ips typographus* jsou většinou směsí látek obsahující zejména 2-methyl-3-buten-2-ol, *cis*-verbenol a ipsdienol. Zatímco *cis*-verbenol je syntetizován při detoxifikaci α -pinenu obsaženého v substrátu, zbylé dvě složky (2-methyl-3-buten-2-ol a ipsdienol) jsou syntetizovány *de novo* ve střevech lýkožrouta smrkového. Tato přeměna terpenoidů na méně toxické látky je podporována Ofiostomitoidními houbami (Lindström et al., 1989; Blomquist et al., 2010).

Samce kůrovců *Ips typographus* láká vysoká koncentrace α -pinenu spolu s nepříliš vysokou koncentrací agregačního feromonu (Erbilgin et al., 2007). Podobně jsou pozitivně přitahováni signálem představovaným nízkými koncentracemi (R)-ipsdienolu, který začíná být přítomen ve směsi agregačního feromonu, když samičky začnou zakládat mateřské chodby (Birgersson et al., 1984; Kohnle et al., 1991). Postupem času, v pokročilé fázi napadení, se zvyšující se koncentrací ipsdienolu, se atraktivita signálu feromonové směsi snižuje (Birgersson et al., 1984; Schlyter et al., 1987).

Poté, co je strom plně obsazen, dochází k odlákání dalších potenciálních napadení sníženým uvolňováním agregačních feromonů spolu s repeletním působením verbenonu syntetizovaného z *cis*-verbenolu a α -pinenu, pomocí symbiotického mikrobiomu brouků (Birgersson et al., 1984; Leufvön et al., 1984).

3.1.3 Mechanismy rozpoznávání hostitele

Vyhledání hostitelského stromu je řízeno komplexními interakcemi s různými podněty, které mohou být vizuální, chuťové a čichové, pocházející z různých jedinců

určitých pohlaví na různých trofických úrovních (Byers, 1989; Borden, 1997; Byers, 2004; Strom et al., 1999).

Existují v zásadě dvě hlavní teorie, jak pionýrští samci vyhledávají a kolonizují vhodný hostitelský strom. První teorie říká, že na vzdálenost několika metrů se orientují ke stromu podle uvolňovaných volatilních látek stresovaných či poškozených stromů. Jinými slovy se jedná o primární atraktivitu stromu (McMullen & Atkins, 1962). Druhá teorie se opírá o hypotézu nárazu v letu (náhodné přistání) na náhodný strom, jehož spektrum látek brouci na krátkou vzdálenost prozkoumá čichem nebo ochutnáním. K úplnému potvrzení těchto teorií dosud nedošlo, přičemž je možné, že obě teorie se mohou navzájem doplňovat a mohou být druhově specifické (Byers, 2004; McMullen & Atkins, 1962).

Lze se domnívat, že chování lýkožrouta smrkového (*Ips typographus*) při hledání hostitele je zejména určeno strategickým vyhýbáním se nevhodným substrátům a stanovištím pro úspěšnou reprodukci. Brouci se spoléhají na sofistikovaný čichový systém, který je vede pryč od nepříznivého prostředí. Navíc, jejich pozitivní reakce na čichové signály vysílané pionýrskými samci, kteří jsou již na stromě přítomni, hrají klíčovou roli při vyhledávání vhodných hostitelů (Netherer & Hammerbacher, 2022).

Výběr vhodného stromu může být ovlivňován i těkavými látkami produkovanými konkurenčními druhy hmyzu. Takovými látkami mohou být například monoterpeny, které jsou běžně vylučovány prakticky všemi kůrovci na smrku. Dalším chemickým faktorem můžou být složky feromonů těchto druhů. Ovlivnění výběru může být způsobeno i vyhýbáním se nevhodným hostitelům. Za prvé těm, kteří jsou již plně kolonizováni lýkožrouty či konkurenčními druhy kůrovců vypouštějícími do ovzduší antiagregační feromon (verbenon). A za druhé, vyhýbáním se nevhodným druhům stromů a bylin (Byers, 2004).

Detekce hostitele na krátkou vzdálenost

Čichové signály se mohou stát na krátkou vzdálenost indikátory nevhodnosti substrátu, který není hostitelský (Byers et al., 1998; Byers, 2000). Případně, pokud čichové signály neodhalí nevhodnost, krátkým zavrtáním do substrátu může

brouk pomocí chuti zjistit potravní stimuly nebo deterenty, které přimějí brouka k opuštění (Elkinton & Wood, 1980; Byers, 2000).

Vhodnost substrátu

Mezi základní faktory hodnocení vhodnosti hostitele pro lýkožrouty se řadí: nutriční kvality, složení deterrentů a toxinů. Některé stromy mají toxické látky, které lýkožrouti nedokážou detoxifikovat (Byers, 2004).

Jednou z nejvíce zastoupených toxických látek obsažených v pryskyřici smrku ztepilého je α -pinen, třebaže je využíván na produkci agregačního feromonu (Renwick et al., 1976). Méně zastoupenou, ale velice toxickou látkou smrku je například 3-carene (Everaerts et al., 1988).

3.1.4 Čichové reakce na pachy stromů a houbové sloučeniny

Specifické čichové sensily a jejich úloha při identifikaci hostitele

Brouci *Ips typographus* přijímají a rozpoznávají pachový signál prostřednictvím specifických specializovaných čichových sensil (smyslových chloupků) umístěných na tykadlech. Pachem mohou být těkavé organické látky z hostitelských i nehostitelských stromů, včetně terpenoidů nebo alkoholů ze zelených listů. Sensily tak umožňují broukům efektivně objevovat ideální místa pro šíření a rozmnožování (Zhang & Schlyter, 2004; Andersson et al., 2009).

Kyslíkaté těkavé látky stresovaného stromu, které lýkožrout smrkový detekuje svým čichovým systémem, mohou při výběru hostitele působit jako přitažlivé nebo odpudivé signály (Schiebe et al., 2019).

Rozpoznávání specifických kyslíkatých monoterpenů a fuselových alkoholů

Oxidované monoterpeny vyvolávají odlišné neuronální reakce tykadel *I. typographus*. Přestože jsou tyto terpenoidy přítomny v nízkých koncentracích ve stromových kyticích, některé jsou některé z nich při elektrofyziologických analýzách aktivnější než hlavní monoterpeny smrku. Vyvolávají vyšší

elektrofyzilogickou reakci tykadél lýkožrouta smrkového než hlavní monoterpeny produkované smrkem (Kalinová et al., 2014).

Profil monoterpenů ve smrkovém lýku je pozměněn houbovými symbionty lýkožroutů na atraktivní směs oxidovaných monoterpenů. Například, bornylacetát byl přeměněn na camphor, a α -pinen s β -pinenem byly transformovány v *trans*-4-thujanol a další oxidované monotrepeny. Lýkožrouti *Ips typographus* jsou tak přitahováni na smrkové lýko těkavými látkami z houbových symbiontů (Kandasamy et al., 2023).

Dospělci *I. typographus* jsou přitahováni těkavými organickými sloučeninami třech symbiotických hub: *Leptographium europhioides*, *Endoconidiophora polonica* a *Grosmania penicillata*. Nejatraktivněji působí hojně zastoupené fuselové alkoholy a jejich acetáty. Symbiotické houby také zvyšují atraktivitu feromonových pastí (Jirošová et al., 2022).

Stále není objasněna reakce lýkožroutů na volatilní látky vylučované nenapadenými stromy. Také není jisté, jestli těkavé látky vylučované stresovanými stromy napomáhají broukům k identifikaci hostitele a orientaci k němu (Byers, 1996; Netherer & Hammerbacher, 2022).

Vliv vylučování těkavých látek na aktivitu lýkožrouta

Náchylnost stromů smrku ztepilého k napadení lýkožroutem smrkovým (*Ips typographus*) je zřejmě závislá na chemickém profilu látek v kůře. Koncentrace terpenoidů a fenolických sloučenin se zdají mít z těchto látek největší vliv (Ghimire et al., 2016).

Byla pozorována zvýšená aktivita lýkožrouta jako odpověď na vypouštěné oxidované monoterpeny a estragol v kombinaci s jeho agregačním feromonem. Proto lze usuzovat, že jejich dlouhodobá aktivita není závislá pouze na komplexní směsi látek vylučovaných symbiotickými houbami (Moliterno et al., 2023).

Mezi základní klimatické faktory na daném stanovišti, které mají vliv na množství vylučovaných těkavých organických látek stromy, se řadí zvýšená teplota a snížená vlhkost (Baier et al., 1997). Vylučování těkavých organických sloučenin (VOC), konkrétně monoterpenů uvolňovaných z kůry stromů, vykazují zvýšené úrovně během období zvýšených teplot a při mírném stresu suchem (Heitz et al., 2005; Holopainen et al., 2018).

Kvantita vylučovaných VOC je také ovlivňována napadením stromů lýkožrouty. Byly pozorovány významné rozdíly v míře vypouštění ze zdravé a napadené smrkové kůry. Z toho vyplývá, že stromy smrku zteplého ovlivněné napadením lýkožroutem smrkovým reagují rozdílnou mírou vypouštění VOC (Jaakkola et al., 2023).

Po útoku lýkožroutů se zvyšuje množství vylučovaných monoterpenů (zejména α -pinen, camphen a myrcen), avšak u některých seskviterpenů (β -bourbonen, longipinen) byl v návaznosti na napadení pozorován pokles (Ghimire et al., 2016).

Je pravděpodobné, že existuje souvislost mezi teplotním stresem a stresem způsobeným napadením. Během napadení lýkožroutem smrkovým stromy vykazují zvýšenou citlivost na teplotní poměry (Jaakkola et al., 2023).

Co se týká doby uplynulé od začátku napadení, nejvyšší množství vylučovaných VOC bylo pozorováno na začátku napadení a postupem času se exponenciálně snižovalo. Po jednom roce od napadení již jsou míry vylučování VOC přibližně stejné, jako u zdravé kůry (Jaakkola et al., 2023).

Nástup druhé generace lýkožroutů, potenciálně napadající stromy koncem léta, má dlouhodobý vliv na dynamiku vylučování biogenních těkavých organických látek (BVOC) přetrvávající až do začátku následující sezóny (Jaakkola et al., 2023).

Spektrum monoterpenů vylučovaných do ovzduší se může výrazně lišit od obsahu monoterpenů v kůře, což může být například zapříčiněno rozdílností tlaků a výstavbou pletiv mezi floémem a kůrou (Schindler & Kotzias, 1989).

Kolonizace stromů lýkožrouty závisí na rychlosti emise monoterpenů, dynamice emise a relativním množství uvolněných chirálních monoterpenů. Rozdíly v obsahu monoterpenů a rychlosti vypouštění mohou lýkožrouty nalákat k vhodným hostitelům a specifickým stromovým partiím pro agregaci a rozmnožování (Baier et al., 1997).

Také byla odhalena pozitivní závislost množství vypouštěného α -pinenu na množství odchycených brouků. Vylučování těkavých organických látek (VOC), konkrétně α -pinenu, ze stromů, které byly nově napadeny, tak má potenciál sloužit jako indikátor pro rychlé vyhledávání místa napadení (Ghimire et al., 2016; Stříbrská et al., 2023). K tomu je možné například využívat drony se senzory pro detekci monoterpenů (Paczkowski et al., 2021).

Odpuzující signální látky

V poslední době je stále více zřejmé, že *Ips typographus* se vyhýbá nevhodným hostitelským druhům pomocí vnímání pachů vylučovaných z listů a kůry nevhodných jedinců do okolí. To bylo pozorováno například u břízy (*Betula pendula*) (Byers et al. 1998). Navíc, na kůře břízy se nachází značné koncentrace odpudivých těkavých látek, které vedou k opuštění stromu lýkožrouty bezprostředně po přistání (Byers 2004).

Že existují silné repelentní vlastnosti antiagregačního feromonu verbenonu je všeobecně přijímáno. Dalšími látkami s repelentním efektem jsou smrkem produkované oxidované monoterpeny 1,8-cineol a (+)-*trans*-4-thujanol (Schiebe et al., 2019; Jirošová, et al., 2022).

Lze využívat tzv. „push-pull“ efektu, kdy je ochráněno několik jedinců smrku, například při okraji porostu, a lýkožrouti napadají vedlejší neošetřené stromy. Využití anti-atraktivních látek není vhodné v lokalitách výrazně oslabených suchem a v kalamitních oblastech s vysokou koncentrací populací *Ips typographus* (Jakuš et al., 2022).

Repelentní látky představují pouze částečnou ochranu jednotlivých stojících stromů a nejsou efektivní při ochraně větrných polomů (Moliterno et al., 2023).

3.2 Smrk ztepilý

Kapitola obsahuje nejdůležitější informace o smrku ztepilém (*Picea abies*), zejména s ohledem na jeho atraktivitu pro lýkožrouta smrkového. Postupně jsou vysvětleny ekologie, stres suchem, klimatické faktory, obranyschopnost a chemické vlastnosti lýka smrku ztepilého.

3.2.1 Ekologie

Smrk ztepilý (*Picea abies*) je jednou z ekonomicky i ekologicky nejvýznamnějších dřevin Evropy. Mimo svůj areál, jímž jsou horské polohy střední a východní Evropy a nížiny až hory v severních částech Evropy, bývá pro svůj produkční potenciál často vysazován na nevhodných lokalitách, což jej činí náchylnějším k napadení lýkožroutem smrkovým (Seidl et al., 2011; Farjon, 2015).

Smrk má obvykle mělký kořenový systém, na sníženou zásobu vody ve svrchních vrstvách půdy reaguje zvýšenou citlivostí. K odhadu potenciálního napadení lze využít některé půdní parametry, například texturu, hloubku či vodní kapacitu (Worrell, 1983; Overbeck & Schmidt, 2012; Blomqvist et al., 2018). Smrky rostoucí na mělkých a suchých stanovištích však všeobecně bývají napadeny méně v porovnání s běžně mokrymi stanovišti s akutním nedostatkem vody, což podporuje hypotézu o dlouhodobém přizpůsobování smrku trvale nevýhodným půdním podmínkám. (Hoch et al., 2019; Netherer et al., 2019).

Na kůrovce *Ips typographus* působí atraktivněji stromy se zvýšeným přírůstem po prořezávkách na živinově bohatých stanovištích (Baier et al., 2002; Blomqvist et al., 2018), a také vitální stromy vystavené v poslední době náhlému stresu (Führer et al., 1997).

3.2.2 Projevy stresu suchem

V suchých periodách je běžnou reakcí jehličnanů snížení průchodnosti průduchů, aby minimalizovaly ztráty vody transpirací. To vede k neustálému snižování průtoku mízy xylémem, ale také k poklesu vodního potenciálu větví (Gebhardt et al., 2023; Hesse et al., 2023; Netherer et al., 2024). Tlak a průtok pryskyřice, důležitý obranný mechanismus, je negativně ovlivněn nízkým stavem vody ve stromu (Rissanen et al., 2021).

Na rozdíl od malých sazenic, dospělé stromy v důsledku selhání vodního potenciálu či vyčerpáním zásob uhlíku zpravidla neumírají ani při extrémních suchách (Sevanto et al., 2014). Délka a intenzita období stresu stromů ovlivňují množství nestrukturálních sacharidů určených pro jejich ochranu, která se stává pro smrky prioritní i při nízké míře stresu (Ferrenberg et al., 2015).

Zavírání průduchů snižuje fixaci uhlíku, a z důvodu omezených zdrojů se snižuje přírůst. Stromy v mírném stresu ze sucha spíše investují na dýchání, ukládání látek a další život udržující procesy, jako je produkce sekundárních metabolitů (Martinez-Vilalta, 2014; Huang et al., 2021).

3.2.3 Sezónní povětrnostní podmínky a dynamika ohnisek

Srážkový deficit, který v posledních letech postihl mnoho regionů, je jedním z hlavních faktorů ovlivňujících masový úhyn porostů smrku ztepilého v Evropě (Seidl et al., 2016; Marini et al., 2017; Netherer et al., 2019).

Rozdíly v teplotě, světle, vlhkosti a genotypech stromů mohou ztěžovat určení souvislosti mezi těkavými látkami, suchem a zranitelností smrků vůči lýkožroutům. Stromy pod vlivem několika biotických a abiotických stresových faktorů bývají náchylnější k biotickému poškození (Netherer & Hammerbacher, 2022). O těchto souvislostech zatím nebyl proveden dostatečný výzkum. (Zhang & Schlyter, 2004; Hietz et al., 2005).

3.2.4 Obranné mechanismy smrku

Pryskyřice

Budováním chodeb a rozvojem požerků lýkožroutů pod kůrou hostitelského smrku dochází k poškození lýka a pryskyřičných kanálů a k uvolňování monoterpenových látek z lýka (Hoch et al., 2019; Schiebe et al., 2019).

Nejlépe prozkoumanou obranou proti lýkožroutům a houbám, které jsou s nimi spojeny, je produkce terpenové pryskyřice. Seskviterpeny a další lipofilní sloučeniny jsou v ní zastoupeny v mnohem menším množství oproti monoterpenům a diterpenovým pryskyřičným kyselinám (Schmidt et al., 2011).

V pryskyřici smrku ztepilého převažují monoterpeny α -pinen, β -pinen, myrcen, limonen, 3-careen a β -phellandren (Schmidt et al., 2011). Mezi nejzastoupenější oxidované monoterpeny pryskyřice se řadí 1,8-cineol, α -terpineol, camphor, carvon, terpinen-4-ol, isopinocamphon a pinocamphon (Schiebe et al., 2019).

Pryskyřice může chránit před útoky lýkožrouta fyzicky, a to zachycením nebo vyplavením útočícího lýkožrouta volným vytékáním z prasklých pryskyřičných kanálků. Z pryskyřičných výronů se uvolňují těkavé monoterpeny, které se rozptýlí, a lepkavé diterpeny, které krystalizují a polymerují, čímž uzavřou ránu a lapí útočící brouky (Krokene, 2015).

Chemická obrana pomocí pryskyřice spočívá v tom, že jsou lýkožrouti i houby, na které jsou vázáni, otráveni obsaženými terpeny (De Groot, 1972; Everaerts et al., 1988).

V reakci na biotický a abiotický stres může smrk zteplý produkovat více pryskyřice. To se může dít různými způsoby, od dvou až pětinasobného zvýšení produkce v reakci na rostlinný hormon methyljasmonát až po desetinásobné až dvousetnásobné zvýšení produkce v reakci na mechanické poškození a inokulaci houbami (Erbilgin et al., 2006; Schmidt et al., 2011; Mageroy et al., 2020).

Zvýšení průtoku pryskyřice a koncentrace mono- a di- terpenů činí smrk méně atraktivní pro pionýrské samce *Ips typographus* v počátečních stádiích napadení (Netherer et al., 2024).

Vliv míry sucha na proudění pryskyřice se liší u různých hostitelských jedinců. Souhrnně lze usuzovat, že napadení smrků brouky spolu s jejich symbiotickými houbami, zvyšují akumulaci terpenů a vyčerpávají zásoby cukru a škrobu (Netherer et al., 2024).

Fenolické netěkavé látky

Dalšími obrannými látkami jsou fenolické sloučeniny zabraňují kolonizaci smrkové kůry symbiotickými houbami lýkožroutů tím, že působí jako antioxidanty a fungicidy (Hammerbacher et al., 2014).

3.2.5 Překonání obrany

Způsob překonání obranných mechanismů hostitele se liší pravděpodobně v závislosti na stupni napadení. Když lýkožrouti hostitelský strom hromadně napadnou a způsobí jeho rozsáhlé mechanické poškození, dospělí brouci vyčerpají tok pryskyřice a vyvolaný obranné systémy smrku. V této fázi může mít pravděpodobně klíčový význam úspěšnost inokulace houbových symbiontů (Wadke et al., 2016; Zhao et al., 2019).

V pozdější fázi napadení je houbové společenstvo přenášeno do floému hostitele, který byl napaden brouky, aby překonalo konstitutivní statickou obranu

hostitele, která zůstala hromadným napadením nedotčena. Pro larvy lýkožroutů mohou být tyto houby výhodné z hlediska zvýšení bohatosti substrátu na živiny anebo zvýšení neschopnosti obrany tohoto hostitele (Wadke et al., 2016; Zhao et al., 2019).

Dospělci lýkožroutů konzumují spory a mycelium hub, které se vytvářejí v kukelní komůrce. Z tohoto důvodu mohou houby napomáhat úspěšnému šíření brouků tím, že jim poskytují výživnou podporu během fáze dozrávání (Hoch et al., 2019).

Vysoce účinným způsobem překonání obrany je vypouštění agregančních feromonů a obsazení stromu velkým množstvím jedinců (viz. kapitola o průběhu napadení).

3.2.6 Vybrané látky s biologickými účinky na lýkožrouta

Tato kapitola popisuje některé z těkavých látek, které stimulují reakci lýkožrouta smrkového. Postupně jsou uvedeny hlavní těkavé sloučeniny, které hrají důležitou roli v interakci mezi lýkožrouty a jejich hostitelskými stromy. Jedná se o monoterpeny a oxidované monoterpeny.

Monoterpeny

α -pinen

Hlavní monoterpen obsažený v lýku smrku ztepilého je α -pinen (Blomquist et al., 2010; Lindström et al., 1989). Jedná se o prekurzor agregančního feromonu *cis*-verbenolu (Renwick et al., 1976). U borovic bylo zjištěno, že zvýšené koncentrace feromonových prekurzorů (α -pinenu) významně potenciálně zvyšují sekundární agregaci brouků *Dendroctonus ponderosae* (Burke & Carroll, 2016).

U samců *Ips typographus* byl prokázán zvýšený odchyt ve feromonových lapačích pokud se do směsi přidával α -pinen. Nicméně, zvyšování množství α -pinenu ve feromonových odparnicích vede ke snížení počtu odchycených jedinců (Jakuš & Blaženec, 2003). Počet nalákaných jedinců na feromonové směsi byl dvojnásobný u směsi s vysokým poměrem α -pinenu oproti směsím bez něj (Erbilgin et al., 2007). Přeživší stromy oproti těm usmrceným mají výrazně vyšší množství α -pinenu (Schiebe et al., 2012).

Limonen

Jedním z monoterpenů, u kterých nebyl prokázán vliv na množství odchycených brouků v lapačích, je limonen (Blaženec & Jakuš, 2009). V laboratorních testech ukázal toxický vliv. V kombinaci s agregačními feromony v pastech byl prokázán vliv na snížení počtu odchytů, což naznačuje, že mohou hrát roli při sekundárním shromažďování lýkožroutů (Andersson et al., 2010; Fang et al., 2021).

Nízké množství vypouštěného limonenu spolu s vysokou koncentrací α -pinenu byla pozorována u vysoce atraktivních stromů (Zhao et al., 2010). Naproti tomu, u neúspěšně napadených stromů bylo množství vypouštěného limonenu výrazně vyšší (Schiebe et al., 2012). Vliv na hustotu populace lýkožroutů má kvantita limonenu, a nikoliv jen přítomnost této látky (Andersson et al., 2010).

3-carene

Monoterpen 3-carene je pro kůrovce toxickou látkou (Everaerts et al., 1988). V laboratorních testech toxicity (70% mortalita) jednotlivých smrkových monoterpenů pro *Ips typographus* byl 3-carene látkou s nejnižší smrtelnou dávkou (Naseer et al., 2023).

U větrem poškozených stromů byly pozorovány nižší množství 3-carenu než u nepoškozených. Inokulace houbou *Ceratocystis polonica* vyvolala zvýšenou akumulaci 3-carenu v oblasti reakční zóny, což může znamenat, že množství 3-carenu souvisí s náchylností smrku k rozvoji této houby (Zhao, 2011).

Oxidované monoterpeny

1,8-cineol

Mezi oxidované monoterpeny s prokázanými repelentními účinky patří 1,8-cineol vylučovaný z kůry poškozených tkání napadených stromů (Schiebe et al., 2019).

Tato látka vyvolávající u lýkožroutů *Ips typographus* silnou reakci, je hojně zastoupená v napadených stromech a snižuje přitažlivost feromonu lýkožrouta (Andersson et al., 2010). Jeho antiatraktivní vliv je prostorově přesnější než u verbenonu díky tomu, že inhibuje feromonovou složku *cis*-verbenol na jediné sensile (Binyameen et al., 2014).

Ve stromech, které byly více náchylné k napadení, byl 1,8-cineol ve výrazně nižším množství než u stromů méně napadených (Schiebe et al., 2012). Přidání 1,8-cineolu do feromonových odparníků snižuje agregaci lýkožroutů do těchto lapačů (Molitero et al., 2023).

Trans-4-thujanol

Bylo prokázáno, že oxidovaný monoterpen *trans-4-thujanol* má repelentní vlastnosti, což naznačuje, že může mít detergentní vlastnosti. V nízkých koncentracích ve starších smrcích je také sloučeninou, která působí odpudivě, a to pro samce i samice. Zdá se, že přirozený pokles obsahu tohoto kyslíkového monoterpenu činí starší smrky zranitelnějšími vůči útokům lýkožroutů (Blažytė-Čereškienė et al., 2016).

Isopinocamphon

Isopinocamphon je oxidovaný monoterpen vyvolávající silnou reakci na tykadlech lýkožrouta (Schiebe et al., 2019). Přidání isopinocamphonu do feromonové směsi lýkožroutů *Ips typographus* přináší efekt zvýšení atraktivity této směsi (Molitero et al., 2023).

3.2.7 Výzkumné plochy pro studium interakce stromu s lýkožroutem

Experimenty s ovladatelnými režimy srážek jsou běžným způsobem výzkumu účinků sucha na lesní ekosystémy (Swidrak et al., 2013). Existuje jen málo studií, které manipulují se suchem v souvislosti odolnosti nebo atraktivity smrků vůči napadení brouky v závislosti na fyzikálních a biochemických parametrech (Netherer & Hammerbacher, 2022).

V mnoha studiích byla pozorována náchylnost smrků k napadení *I. typographus* při omezeném přísunu vody. Míra napadení v závislosti na různé úrovni stresu v jedno-výběrovém biologickém testování nebyla příliš zjevná (Turčáni & Nakládal, 2007; Netherer et al., 2015, 2024).

Po 2 letech od založení experimentální plochy zastřešených stromů východě Rakouska byl zaznamenán zvýšený stres stromů suchem a zjištěna snížená rezistence těchto stromů reprezentována zvýšeným napadením akutně stresovaných smrků. (Netherer et al., 2015; Matthews et al., 2018).

Zjištění z biologických testů na stromech v tzv. „attack boxech“ naznačují, že stromy postižené suchem jsou snadněji napadány. Zdá se, že použití tohoto druhu biologického testu může pomoci při studiu preferencí kůrovců v jejich přirozeném prostředí (Netherer et al., 2015).

3.2.8 Laboratorní biologické testy pro studium preferencí hostitele na krátkou vzdálenost

Pro výzkum preferencí hostitele lýkožroutem existují některé zavedené laboratorní biologické pokusy, díky kterým je možné získávat potřebná data. Je potřeba počítat s tím, že laboratorní biologické experimenty pouze napodobují přirozené podmínky, a tedy jen naznačují přirozené chování hmyzu (Ballhorn & Kautz, 2013).

Y olfaktometr

Jeden z příkladů biologických testů je pokus s brouky v Y zkumavce. Tyto přístroje se často používají k měření citlivosti organismu na pachy nebo feromony. V tomto případě byly například použity ke zjištění agregace na pionýrského brouka *I. typographus*. Výzkum prokázal, že emise feromonů neoplozenými samci způsobuje velké shlukování brouků (Schlyter & Löfqvist, 1986).

Na tomto principu byl také prokázány repelentní vlastnosti *trans*-4-thujanolu (Blažytė-Čereškienė et al., 2016).

Výběrové testy v Petriho misce

Biologické výběrové testy na Petriho misce jsou poměrně snadným způsobem, jak zohlednit chuťové a kontaktní podněty. Výběrové arény byly úspěšně použity pro prokázání, že lýkožrouci preferují smrkové substráty napadené houbami ophiostomatoidních druhů *Endoconidiophora polonica* a *Grosmannia penicillata* (Kandasamy et al., 2019).

Na petriho miskách byla rovněž testována preference smrkových výseků lýka s kůrou lýkožroutem smrkovým. Byla prokázána závislost atraktivity výseků na stupni

stresu daného stromu, což naznačuje preferenci stresovaných stromů (Netherer et al., 2022).

3.3 Chemická analýza

Zjištění spektra volatilních metabolitů obsažených v stresovaných a nestresovaných stromech je důležitým faktorem rozpoznání preferencí hostitele (Bruce et al., 2005).

3.3.1 Izolace látek pomocí SPME

SPME (Solid Phase Micro Extraction) je extrakční technika pro analýzu těkavých aromatických látek (Nolvachai et al., 2023) (Obrázek 3).



Obrázek 3: Popis částí vlákna SPME (Anon, 2024).

Při této metodě není využíváno žádného rozpouštědla (Nolvachai et al., 2023). Je určena pro nedestruktivní metodu analýzy, tedy vzorek zůstává zachován (Reyes-Garcés et al., 2018). Název SPME (Solid phase microextraction) lze volně přeložit jako „mikroextrakce na pevné fázi“ a vystihuje způsob zachycení látek na tenké silikonové vlákno v zásadě bez použití rozpouštědla (Boyacı et al., 2015). Umožňuje jednorázovou analýzu, kdy po navázání látek zkoumaného materiálu na vlákno lze s těmito látkami do detekovacího přístroje vložit vlákno pouze jednou. Analyty jsou desorbovány přímo do plynového chromatografu.

Pomocí SPME je možné využívat oba způsoby sběru látek z listů a větví, jak statický, tak i dynamický headspace (Cagliero et al., 2021). Jedná se o většinou o metodu headspace, to znamená, že dochází k navázání látek, které jsou přítomny v plynném skupenství nad vzorkem. Princip spočívá v tom, že při pokojové teplotě

dochází k odpaření a zachycení látek, které se uvolňují z pevného nebo kapalného vzorku do vzdušného prostoru nad ním (Psillakis et al., 2012). Pomocí dynamického headspace však bývají získávány přesnější výsledky měření (Niinemets et al., 2011). V případě použití statického headspace z uzavřených vzorků rostlinných orgánů se může projevit ovlivnění výsledků vlivem nereálných podmínek pro výměnu plynů a míru vypouštění VOC (Cagliero et al., 2021). Lze využít i metodu tzv. otevřeného statického headspace, dnes již například za použití dronů (Ruiz-Jimenez et al., 2019).

3.3.2 GC–MS

Kombinace plynové chromatografie (GC) a hmotnostní spektrometrie (MS) je metoda chemické analýzy vzorků. Plynová chromatografie spočívá v tom, že separuje sloučeniny, ale ne vždy je dobře selektivně detekuje. Hmotnostní spektrometrie zase selektivně detekuje sloučeniny, i když často je od sebe neoddělí (Sneddon et al., 2007).

Jak jednotlivé sloučeniny vycházejí z GC, vstupují do MS, kde jsou typicky detekovány na detektoru založeném na elektronové ionizaci. Ta spočívá v tom, že sloučeniny jsou zasaženy proudem elektronů, který zapříčiní jejich fragmentaci. Každý fragment je charakterizován jeho hmotností dělenou nábojem (hmotnostní poměr m/z). Ten zpravidla charakterizuje molekulovou hmotnost fragmentu. Výsledné hmotnostní spektrum tak ukazuje intenzitu signálu v závislosti na hmotnostním poměru. Relativní množství sloučeniny je dáno intenzitou signálu (Sneddon et al., 2007).

3.3.3 Kvalitativní analýza

Hlavním identifikačním ukazatelem dané látky její retenční čas neboli čas, po který látka proběhla kolonou od nástřiku po eluci. Pro kvalitativní analýzu je potřeba porovnat chromatogram vzorku neznámého látkového složení s chromatogramem chemických standardů hledaných látek. Při dodržení stejných podmínek analýzy má totiž standard stejný retenční čas jako hledaná sloučenina. Více látek může mít stejný retenční čas, proto je možné, že více látek je zahrnuto v jediném chromatogramovém píku (eluční křivce). Proto je nutné oddělit tyto látky v následné analýze (Anon, 2022).

Napojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií ulehčuje identifikaci látek. Hmotnostní poměr spektra totiž charakterizuje molekulovou hmotnost látky. Vytipovanou látku lze rozpoznat například pomocí softwaru, který porovnává spektrum s dostupnou knihovnou (Sneddon et al., 2007).

3.3.4 Kvantitativní analýza

Pro zjištění množství jednotlivých látek je určující velikost (plocha) jejich píku ve výsledném chromatogramu. Tato plocha je indikátorem koncentrace látky procházející detektorem. Plocha se určuje integrováním píku. Občas vznikají komplikace, když jsou píky v chromatogramu nedostatečně odděleny od sebe. V takových případech je potřeba zvolit jednotnou metodu vyhodnocování píků, aby vypočtené plochy měly vypovídající hodnotu (Anon, 2022).

4 Metodika

4.1 Preference suchem stresovaných stromů

Za účelem objasnění sklonu samců *I. typographus* k výběru hostitelských jedinců smrku ztepilého, rostoucích v rozdílných podmínkách sucha a v rozdílných stupních odolnosti, byla provedena série biologických pokusů s výběrem hostitele v Petriho misce.

4.1.1 Příprava a chov pokusných brouků

Pro testování preferencí samců lýkožrouta smrkového k vzorkům stresovaných stromů bylo nutné získat dostatečný počet jedinců těchto brouků. Testovací organismy použité v pokusech pocházely z trvalého zařízení pro chov kůrovců, které je provozováno v rámci Fakulty lesnické a dřevařské České zemědělské univerzity v Praze.

Přibližně 50 cm dlouhá polena získaná z kmenů stromů *Picea abies* rostoucích poblíž Kostelce nad Černými lesy byla skladována v chladicí komoře při teplotě 4 °C. Poté byla přenesena do přípravné místnosti do síťových klecí (Obrázek 4), kde byla spolu s brouky generace F0 a udržována v laboratorních podmínkách (50% vlhkost, 24 °C, 16:8 h světlo den/noc).



Obrázek 4: Chovné síťové klece více druhů kůrovců. V klecích se nachází generace F0 ve špalcích kmenů napadených stromů dodaných z Lesů ČZU (Kostelec nad Černými lesy, Česko) (Samek, 2024).

Byla založena nová generace (F1) v chovné místnosti, kde bylo na špalek v plastovém boxu nasypáno přibližně 100 až 200 jedinců lýkožrouta smrkového získaných ze špalků generace F0 (Obrázek 5).



Obrázek 5: Chovný box druhé (F2) generace kůrovců *Ips typographus*. Chovným substrátem je část kmene smrků z Lesů ČZU (Kostelec nad Černými lesy, Česko) (Samek, 2024).

Brouci byli inkubováni po dobu 3 až 4 týdnů ve větraných plastových krabicích v chovné místnosti s řízeným mikroklimatem (70% vlhkost, 24 °C, 16:8 h světlo den/noc).

Do pokusů na Petriho misce byli vybráni výhradně jedinci generace F2 samčího pohlaví *Ips typographus*, kteří nedávno završili svou vývojovou fázi žíru a následně opustili kmenový substrát. Pro účely našich experimentů byl použit výhradně proces pohlavní klasifikace v souladu s existující metodikou (Schlyter & Cederholm, 1981) (Obrázek 1, strana 18).

4.1.2 Sběr a příprava vzorků lýka k pokusům

Výzkumná plocha Kostelec nad Černými lesy

Za účelem výzkumu vlivu stresu stromů suchem na jejich obranyschopnost vůči napadení kůrovcem bylo v roce 2021 založeno několik výzkumných ploch se zastřešenými a nezastřešenými stromy na pozemcích školního lesního podniku Lesy ČZU poblíž Kotelce nad Černými lesy v okrese Praha-východ (Obrázek 6).



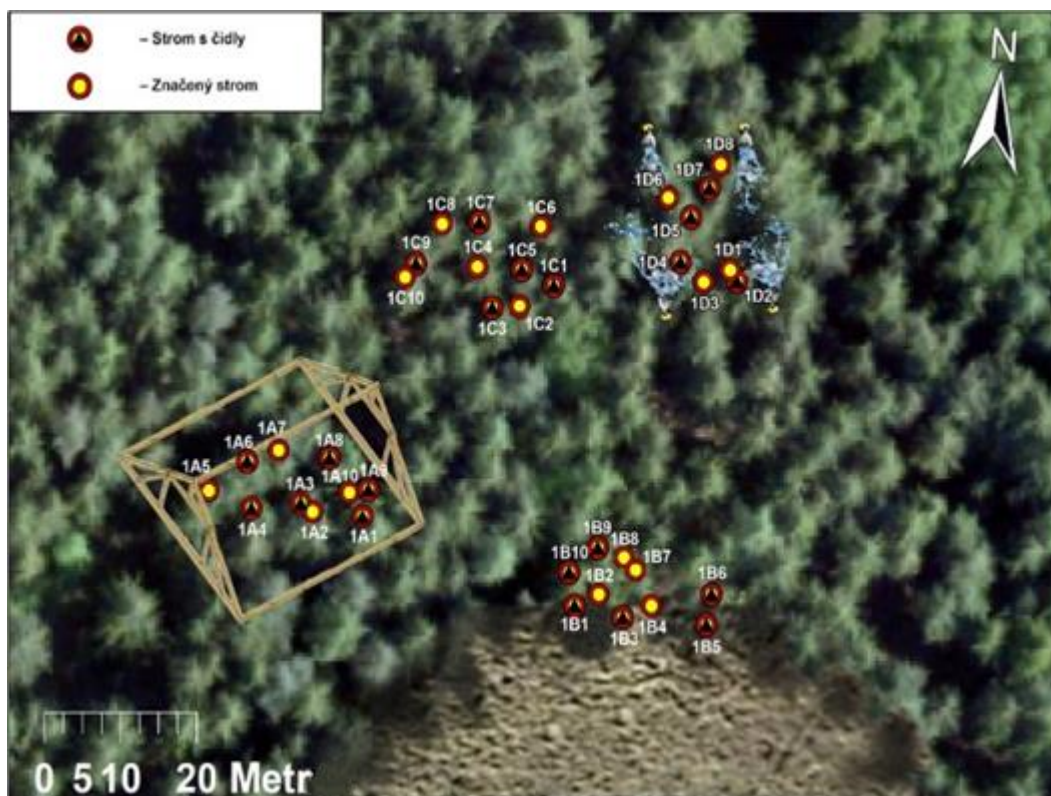
Obrázek 6: Fotografie výzkumných ploch. Čísla znázorňují označení plochy (Jirošová, 2021).

Plochy jsou k dispozici pro získávání dat pro výzkum a pro objasnění přetrvávající otázky o účincích sucha a jiných abiotických stresů na koncentraci obranných látek stromů (Obrázek 7).



Obrázek 7: Přehledová mapa umístění jednotlivých výzkumných ploch (Samek, 2024). Červený trojúhelník znázorňuje umístění zastřešených ploch. Červené kruhy označují umístění ploch č. 1 a č. 7.

V rámci této práce bylo pro biologické testy v laboratoři náhodně vybráno na ploše č. 1 celkem pět zastřešených stromů s označením 1A1, 1A2, 1A4, 1A7 a 1A9; a pět nezastřešených stromů označených 1C1, 1C3, 1C6, 1D4 a 1D8 (Obrázek 8).



Obrázek 8: Letecký pohled na experimentální plochu č. 1. Studie zastřešených stromů, Kostelec nad Černými lesy. 1A střecha; 1B porostní stěna; 1C a 1D – kontrolní porost z kterých byly prováděny odběry (Modlinger, 2021).

Uspořádání plochy č. 7 bylo podobné jako na ploše č. 1 (Obrázek 8), s tím rozdílem, že zastřešené stromy měly v názvu písmeno B místo A. Na ploše č. 7 bylo náhodně vybráno pět zastřešených stromů s popiskem 7B4, 7B6, 7B9, 7B11 a 7B12; a pět nezastřešených s pojmenovanými 7D1, 7D2, 7D3, 7D5 a 7D6.

Korkovrtem bylo 16. srpna 2023 odebráno přibližně 5 až 6 výseků lýka s borkou z každého stromu, vždy z 5 zastřešených a 5 nezastřešených stromů 130 cm nad zemí. Obsah lýka v jednotlivých výsecích se lišil od 1 mm do 6 mm tloušťky a v některých bylo množství lýka zanedbatelné.

Za účelem zachování celistvosti vzorku, byly získané výseky lýka po vložení do 2ml plastové kryovialky (popsané označením stromu, plochy a datem odběru)

následně dány do dusíkové nádoby pro zamezení oxidace vzorků a možný převoz do laboratoře kde byly posléze vzorky vyjmuty a vloženy do mrazáku s vnitřní teplotou - 20 °C, kde byly uchovány k následnému zpracování a použití u pokusů.

Laboratorní zpracování

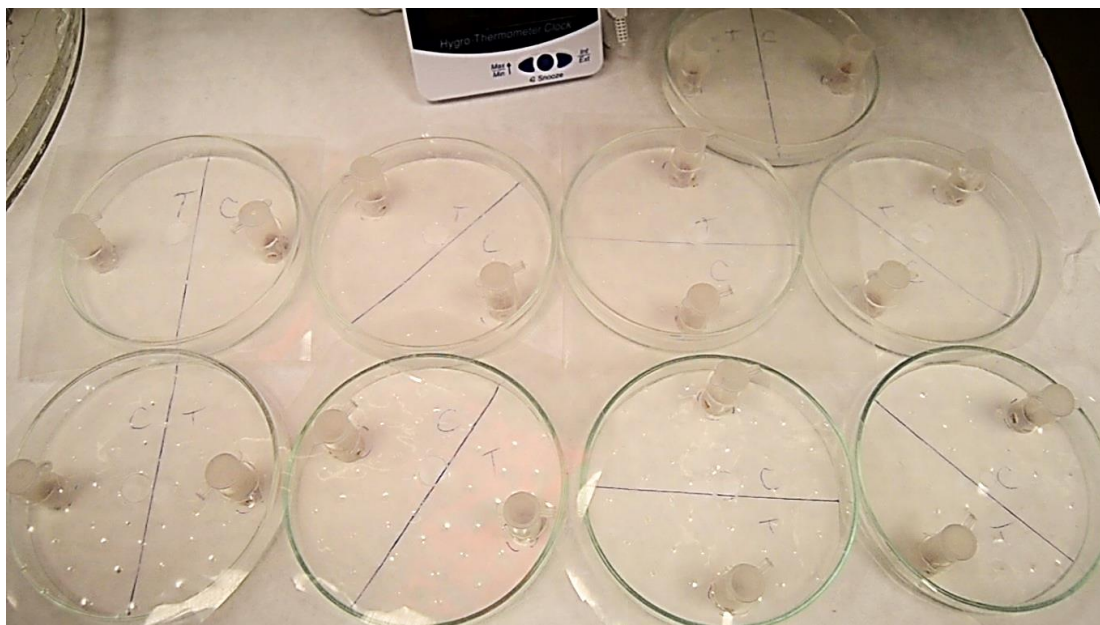
V laboratoři proběhlo pomocí skalpelu rozdělení výseků na co nejmenší části, které, podchlazené tekutým dusíkem, byly následně pomocí tloučku rozdraceny do práškové podoby. Prášek každého stromu pak byl zvážen na analytických vahách v co nejkratší čas, aby nedošlo k oxidaci vzorku a rozdělen do 25 částí o jednotlivé hmotnosti 50 (\pm 5) mg do uzavřených nádob eppendorf 1,5 ml. Dohromady bylo vytvořeno 500 vzorků z celkem 20 stromů. Pro testování bylo využito 24 vzorků z každého stromu a 1 vzorek z každého stromu byl vyhrazen pro analýzu chemických látek.

Kryogenně skladované vzorky byly dlouhodobě uchovávány při teplotě - 20 °C až do okamžiku provedení experimentálních šetření.

4.1.3 Biologický test

Laboratorní testy byly prováděny v časovém rozmezí od září 2023 do února 2024.

Pro získání informací o chování brouků v bezprostřední blízkosti práškových vzorků byly provedeny pokusy v testovacích arénách (Obrázek 9). Návrh experimentu vychází z předchozích sestavených biologických testů (Kandasamy et al., 2019; Netherer et al., 2022). Na rozdíl od nich však tento experiment testoval lýkožrouty na prášcích z lýka smrku, a zmíněné studie místo prášků použily výseky lýka smrků.



Obrázek 9: Experimentální uspořádání výběrového testu brouků na Petriho miskách. Lahvičky na stranách misek obsahují prášek ze zastřešeného „T“ a nezastřešeného „C“ stromu.

Při selekčních pokusech byly použity skleněné Petriho misky o průměru 11 cm s vnitřním základem z bílého filtračního papíru s účelem lepšího pohybu brouků, více blízkému stavu v přírodě. Petriho misky byly rozděleny do dvou samostatných sektorů (testovacích zón): se vzorky pocházejícími ze zastřešených stromů označených „T“ (treatment neboli zastřešený strom) a se vzorky ze stromů bez střechy označených „C“ (control neboli kontrolní nezastřešený strom). Na opačných polovinách tak byl asi 5 mm od okraje misky umístěn vzorek v uzavřené Kartellové vialce se čtyřmi malými vstupními otvory o průměru 5 mm pro bezproblémový přístup brouka k prášku. Z důvodu snížení unikání volatilních látek a zamezení úniku brouků byla celá aréna přikryta průhlednou perforovanou plastovou folií s větším otvorem uprostřed pro vložení brouka.

Studované stromy byly testovány systémem „všechny zastřešené proti všem nezastřešeným stromům“, ale pouze v rámci konkrétního stanoviště. To znamená, že každý vzorek zastřešeného stromu na ploše č. 1 (označených 1A1, 1A2, 1A4, 1A7 a 1A9) byl testován 3 až 5krát (dle množství dostupného materiálu lýka a vyřazeným pokusům z důvodu nečinnosti brouků) proti každému vzorku z nezastřešeného stromu (označených 1C1, 1C3, 1C6, 1D4 a 1D8) (Tabulka 1).

Tabulka 1: Testované dvojice vzorků stromů z plochy č. 1 ve výběrových pokusech na Petriho miskách.

Testovaná dvojice vzorků (Plocha 1)

Vzorek T (zastřešený strom)	Vzorek C (nezastřešený strom)	Počet pokusů
1A1	1C1	5
1A1	1C3	5
1A1	1C6	4
1A1	1D4	5
1A1	1D8	5
1A2	1C1	4
1A2	1C3	5
1A2	1C6	4
1A2	1D4	4
1A2	1D8	4
1A4	1C1	5
1A4	1C3	5
1A4	1C6	5
1A4	1D4	5
1A4	1D8	4
1A7	1C1	4
1A7	1C3	4
1A7	1C6	5
1A7	1D4	5
1A7	1D8	5
1A9	1C1	4
1A9	1C3	3
1A9	1C6	5
1A9	1D4	5
1A9	1D8	5
Celkový součet:		114

Se stanovištěm 7 bylo testování podobné. Vzorky zastřešených stromů plochy 7 (s popisem 7B4, 7B6, 7B9, 7B11 a 7B12) byly testovány (každý 3 až 5krát) proti vzorkům nezastřešených stromů (s popisem 7D1, 7D2, 7D3, 7D5 a 7D6) (Tabulka 2).

Tabulka 2: Testované dvojice vzorků stromů z plochy č. 7 ve výběrových pokusech

Testovaná dvojice vzorků (Plocha 7)		
Vzorek T (zastřešený strom)	Vzorek C (nezastřešený strom)	Počet pokusů
7B4	7D1	5
7B4	7D2	5
7B4	7D3	5
7B4	7D5	5
7B4	7D6	5
7B6	7D1	5
7B6	7D2	5
7B6	7D3	5
7B6	7D5	4
7B6	7D6	4
7B9	7D1	5
7B9	7D2	5
7B9	7D3	5
7B9	7D5	5
7B9	7D6	3
7B11	7D1	5
7B11	7D2	5
7B11	7D3	5
7B11	7D5	5
7B11	7D6	4
7B12	7D1	5
7B12	7D2	5
7B12	7D3	5
7B12	7D5	5
7B12	7D6	5
Celkový součet:		120

Celkem bylo provedeno 240 pokusů, z nichž 6 bylo vyřazeno kvůli nečinnosti brouka. Konečný stav tak činil 234 pokusů.

Přípravná fáze, která předcházela zahájení daného pokusu, zahrnovala umístění kryogenně zmrazených drcených vzorků floému do Kartellových vialek, v nichž byly ponechány po dobu 30 minut při teplotě 22 až 26 °C pro iniciaci vypouštění látek. Po tomto intervalu přípravy vzorku do experimentální teploty byl do středu Petriho misky vložen samec *Ips typographus*. Následně byla Petriho miska bezpečně přikryta

folií. Za účelem následného vyhodnocení aktivity kůrovce bylo každé testování po dobu 30 minut zaznamenáváno kamerou.

Teplota místnosti byla udržována na 22 až 26 °C, což odpovídá teplotě nejvyšší letové aktivity lýkožroutů smrkových (Wermelinger, 2004). Místnost byla zatemněna s výjimkou broukům neviditelného červeného světla.

Pokusní brouci měli v testovacích arénách neomezený pohyb, což jim umožňovalo přístup k práškům v lahvičkách skrze vstupními otvory stejně jako jejich opuštění. Byly zaznamenány časové údaje, kdy brouk přešel mezi sekcemi T a C, a také kdy došlo k vstupu do Kartellových vialek s práškem zastřešených a kontrolních stromů (kontakt s práškem) a jejich opuštění.

Testování mělo jasně daný průběh:

1. Zjištění, že je dostatek brouků.
2. Identifikace a separace samců.
3. Příprava zápisníku pro vyhodnocení chování brouků.
4. Úklid laboratorního stolu; nastavení teploty v místnosti; instalace kamery.
5. Náhodné rozmístění 8 až 9 Petriho misek, tzv. „arén“.
6. Vložení šetřených a kontrolních vzorků do arén.
7. Zapnutí časovače a kamery; vložení brouků jednotlivě do arén.
8. Zaznamenání poznámek o chování do zápisníku.
9. Po 30 minutách ukončení běhu.

Brouci, kteří v jakémkoli okamžiku během pokusu nevykazovali žádný pohyb po dobu minimálně 10 minut, byli označeni jako "neaktivní" a tyto pokusy byly vyřazeny z následného vyhodnocení. Každý lýkožrout byl testován pouze jednou.

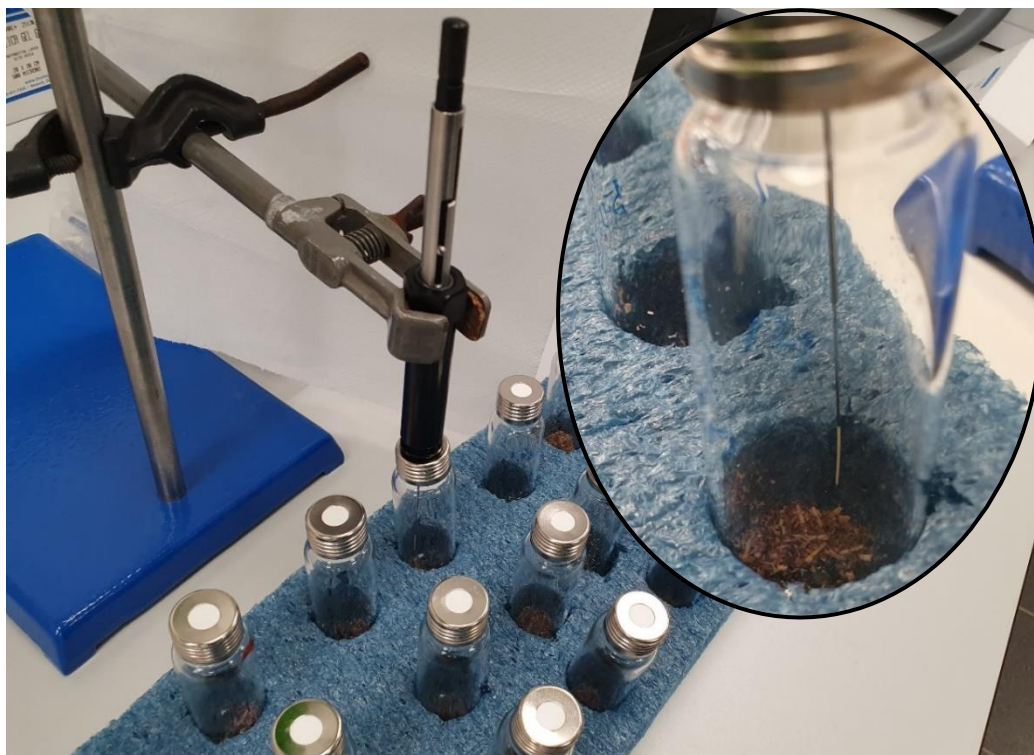
4.1.4 Analýza metabolitů

Pro chemickou analýzu bylo využito přístrojů plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (GC–MS) (Agilent Technologies, USA).

Způsob navázání látek a vložení do přístroje byl manuální. Vázání látek ze vzdušného okolí prášku probíhalo ve skleněných viálkách o velikosti 10 × 2 cm s víčkem a septem skrz které bylo následně vnořeno vlákno. K extrakci byla použita metoda SPME (Solid Phase Micro Extraction), extrakční technika pro analýzu

těkavých aromatických látek. Vlákna SPME byla od společnosti Merck KFAA, Darmstadt, Germany.

SPME vlákno bylo vystaveno vnitřnímu prostředí vialky za pomoci SPME držáku (Agilent) zafixovaném ve svorce laboratorního stojanu po dobu 10 minut (Obrázek 10).



Obrázek 10: Uspořádání systému navázání těkavých látek ze vzorků lýka smrku (*Picea abies*). Držák SMPE umístěný ve stojanu. Detail vlákno SPME (Samek, 2024).

Bezprostředně po navázání volatilních látek byly analyty desorbovány přímo do plynového chromatografu napojeného na hmotnostní spektrometrii (GC–MS) nástřikem SPME vlákna do inletu manuálně ve splitless metodě. Oproti split metodě je splitless citlivější a dokáže identifikovat látky o malých koncentracích. Teplotní program GC–MS pro DB–Wax kolonu byl nastaven následovně: iniciální teplota 40 °C po dobu 2 minut, zvyšování 10 °C.min⁻¹ až na 230 °C. Sledovanými látkami byly α -pinen, β -pinen, limonen, 1,8-cineol, 3-careen a isopinocampchon.

4.1.5 Statistické zpracování

Metodika statistické analýzy zahrnovala několik testů pro zajištění robustnosti a spolehlivosti údajů. Byl využit software Rstudio pracující v prostředí jazyku .R.

Nejprve byl použit Shapirův-Wilkův, případně Kolmogorovův–Smirnovův test k posouzení normality rozdělení dat. Následně byl proveden Bartlettův test homogenity rozptylů, aby se vyhodnotila shodnost rozptylů v souborech dat.

Porovnání více než dvou skupin dat s normálním rozdělením bylo provedeno pomocí Anovy s post-hoc analýzou Fisherovým LSD testem u hledání rozdílnosti mezi stromy v časech strávených na sekcích zastřešených stromů T.

Pro statistické porovnání více než dvou skupin dat, která neměla normální rozdělení, byl použit Kruskalův-Wallisův neparametrický test následovaný Dunnovým post-hoc testem. Ten byl využit pro porovnání setrvání brouků na sekci (T nebo C) mezi plochami 1 a 7 a pro odhalení rozdílností mezi zastřešenými stromy v časech strávených na prášcích.

Při porovnání dvou skupin s normálním rozdělením bylo využito z-testu. Byl použit pro časy strávené na sekcích zastřešených stromů oproti kontrolním stromům. Podobně proběhlo testování preferencí určitých ploch (1 a 7) a také preference mezi konkrétními jednotlivými stromy.

Pro porovnání dvou skupin dat s nenormálním rozdělením byl využit neparametrický Wilcoxonův rank sum test, též nazývaný Mannův-Whitneyho test. Tento test byl využit pro časy strávené na prášcích zastřešených stromů oproti kontrolním stromům.

Pro objasnění preferencí určitých látek či odpuzování jinými byla zjištěna odlišnost látkového množství reprezentovaného odezvou mezi zastřešenými a kontrolními stromy pomocí neparametrického Mannova-Whitneyho testu. Podobně, k prozkoumání preferencí ploch byla prověřena odlišnost látkového složení mezi zastřešenými a kontrolními stromy v rámci ploch. Odlišnost relativních zastoupení volatilních sloučenin mezi jednotlivými stromy nebyla testována, protože pro každý strom byla zjišťována jen jedna hodnota odezvy pro každou testovanou látku (limonen, 1,8-cineol, 3-careen a isopinocamphon).

Dále proběhl výpočet Spearmanova korelačního koeficientu pro zkoumání vztahů mezi proměnnými: „průměrný čas na sekci“, „průměrný čas v kontaktu s práškem“, relativní zastoupení limonenu, 1,8-cineolu, 3-carenu a isopinocamphonu a suma zastoupení těchto látek.

5 Výsledky a diskuse

5.1 Preference suchem stresovaných stromů

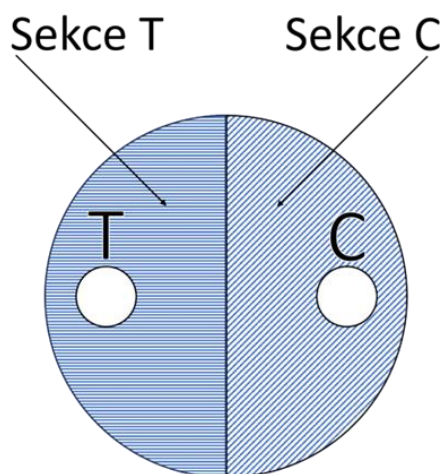
Preference samců *Ips typographus* vůči vzorkům prášků z lýka zastřešeného a nezastřešeného smrku ztepilého („T“ a „C“) byla sledována v celkem 240 výběrových pokusech v Petriho miskách („arénách“). Celkem 6 z 240 pokusů (tj. 2,5 %) bylo vyřazeno kvůli nečinnosti brouků (delší než 10 minut).

Brouci se v arénách pohybovali různými směry, běhali dokola podél stěny, vnikali dovnitř kártelek s práškem T i C a ven, a to i vícekrát během jednoho pokusu. Asi deset brouků opustilo misku a bylo nutné je ihned vrátit zpět. Někteří brouci během pokusu nevnikli do žádné z kártelek s práškem.

V téměř 76 % pokusů brouk vstoupil do kontaktu s některým vzorkem lýkového prášku. V téměř 21 % případů vstoupil během jednoho třicetiminutového testování na oba prášky (T i C). Ve 24 % případů si brouk nevybral ani jeden z prášků, což je o poznání vyšší podíl, než bylo pozorováno v biologickém testu s výseky lýka (Netherer et al., 2022).

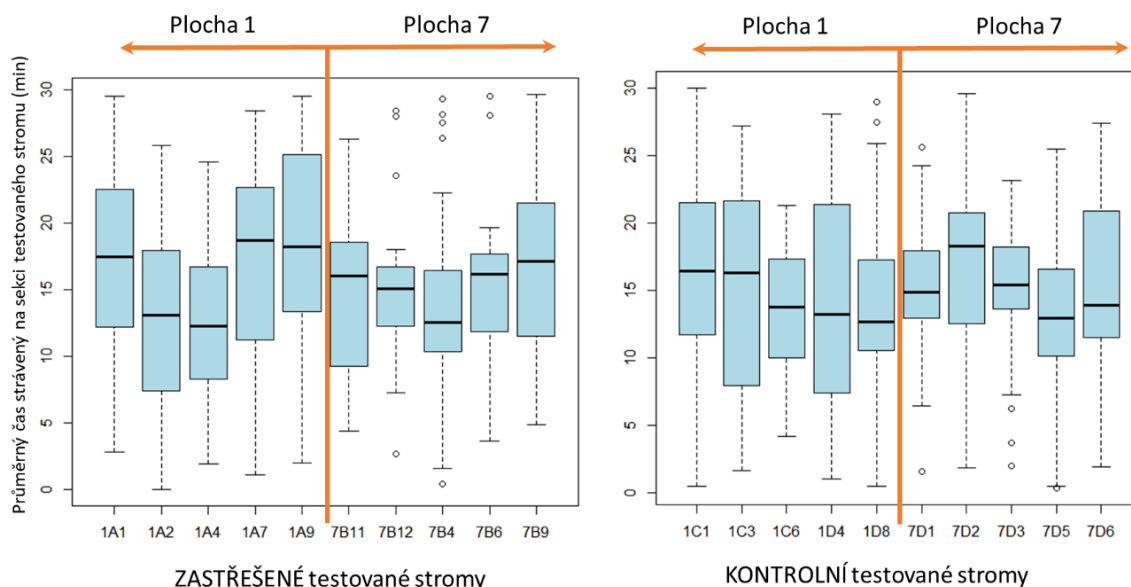
5.1.1 Průměrný čas brouků strávený na sekci – polovině Petriho misky

Byly zaznamenány časy strávené brouky na sekci (polovině) Petriho misky (Obrázek 11).



Obrázek 11: Uspořádání výběrového pokusu v aréně (Petriho misce). Vodorovnou šrafovou je vyznačena sekce zastřešeného stromu T a šikmou šrafovou sekce kontrolního stromu C.

Časy na sekci zastřešeného stromu T a kontrolního stromu C byly znázorněny na krabicovém grafu po jednotlivých stromech a plochách (Obrázek 16).

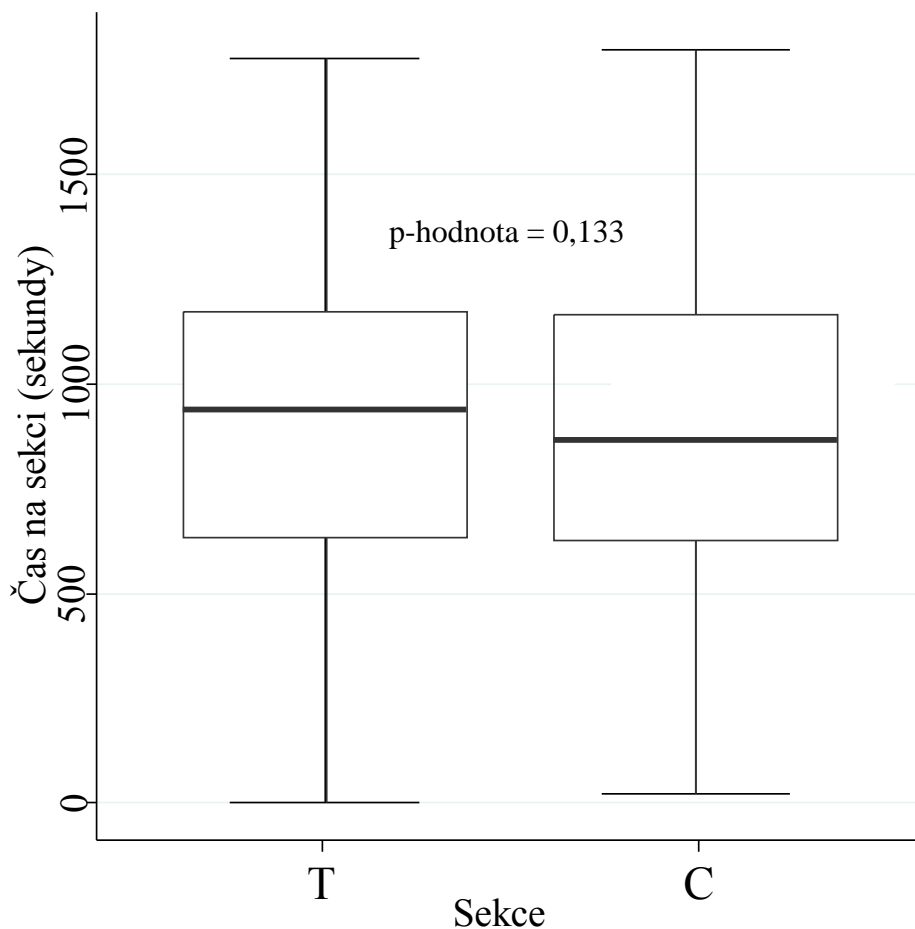


Obrázek 12: Graf porovnání průměrných časů strávených na sekci testovaných stromů. Vlevo zastřešené stromy plochy 1 a 7, vpravo kontrolní stromy Plochy 1 a 7. Tlustá čára uvnitř boxů určuje mediány a úsečky udávají minimální a maximální hodnoty bez odlehlých hodnot. Bílé body jsou odlehlé hodnoty.

Protože každý strom nebyl testován stejným počtem opakování, byly použity statistické testy pro nevyvážená data. Shapirův-Wilkův test normality dat měl pro data časů na sekci výslednou p-hodnotu upravenou Holmovou metodou 0,998 pro obě skupiny dat (zastřešených i kontrolních stromů), která je vyšší než hladina významnosti 0,05, a proto potvrdil, že data vykazují normální rozdělení. Bartlettův test homogenity rozptylů statisticky prokázal (p-hodnota = 1), že rozptyly časů na sekci jsou homogenní.

Protože data mají normální rozdělení a shodné rozptyly, byl využit parametrický z-test pro porovnání průměrných časů na sekcích. Průměrný čas byl 871,63 sekund \pm 408,88 SD na sekci T a 928,37 sekund \pm 408,88 SD na sekci C.

Výsledek z-testu (p-hodnota 0,133) naznačuje, že časy na sekci zastřešených stromů (T) nebyly významně odlišné od nezastřešených (C) (Obrázek 13).

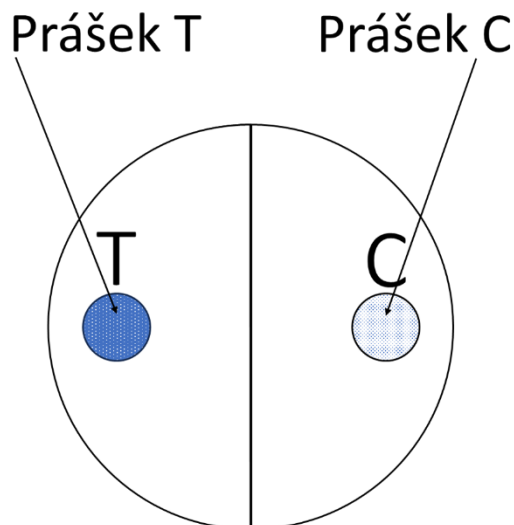


Obrázek 13: Graf porovnání časů strávených na sekci příslušného zastřešeného T a nezastřešeného C stromu. Výsledek z-testu (p -hodnota = 0,133). Tlustá čára znázorňuje medián, úsečky minimum a maximum bez extrémních hodnot.

Z uvedené statistické analýzy vyplývá, lýkožrout smrkový v biologickém experimentu v Petriho misce nepreferuje sekci zastřešeného či nezastřešeného stromu. Jedním z vysvětlení může být, že prášková forma vzorků možná způsobuje zvýšeným zastoupením těkavých látek ve vnitřním prostředí misky překračující práh vnímání látek brouky. Také je možné, že se látky v misce různě mísily a působily zmatení brouků.

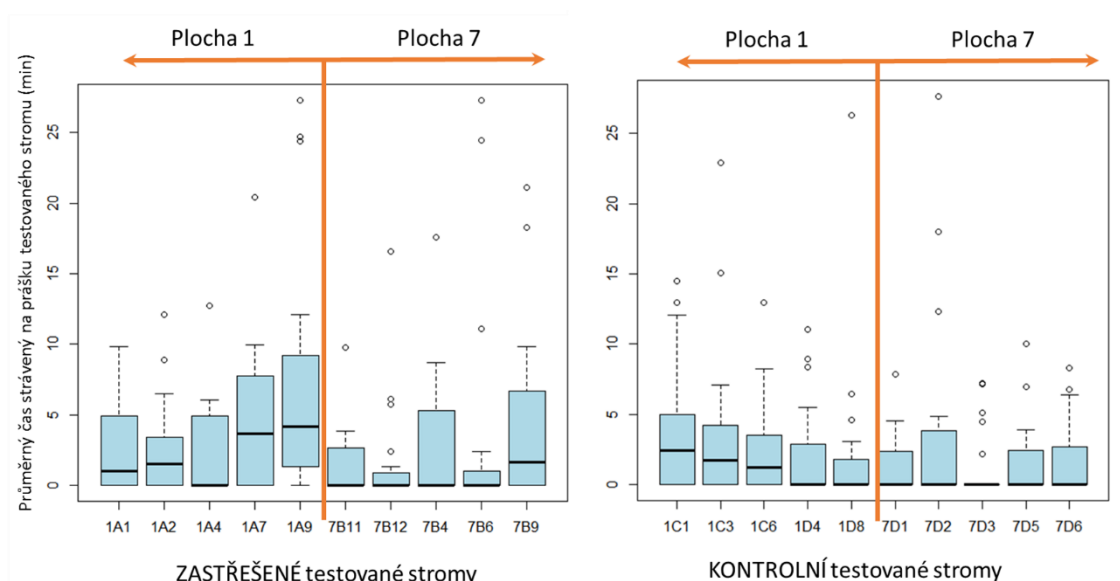
5.1.2 Průměrný čas brouků v kontaktu s práškem ze stromů zastřešených a nezastřešených

Časy strávené brouky na prášku (uvnitř kartelky se vzorkem lýka zastřešených a kontrolních stromů) byly sledovány a zaznamenávány (Obrázek 14).



Obrázek 14: Uspořádání výběrového pokusu v aréně (Petriho misce). Tmavou šrafou je vyznačen prášek zastřešeného stromu T a světlou šrafou prášek kontrolního stromu C.

Časy strávené brouky v kontaktu s práškem byly také znázorněny na grafu s rozlišením stromů a plochy č. 1 a č. 7 (Obrázek 15).

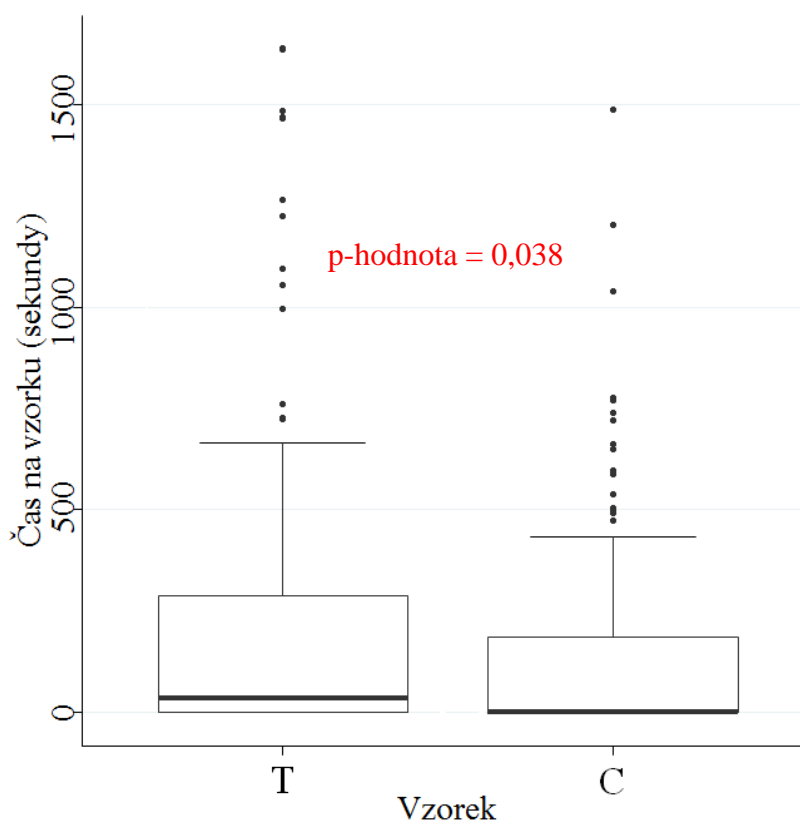


Obrázek 15: Graf porovnání průměrných časů strávených na prášku testovaných stromů. Vlevo zastřešené stromy plochy 1 a 7, vpravo kontrolní stromy Plochy 1 a 7. Tlustá čára uvnitř boxů určuje mediány a úsečky udávají minimální a maximální hodnoty bez odlehlých hodnot. Bílé body jsou odlehlé hodnoty.

U časů strávených v kontaktu s práškem (v Kartellových vialkách) Shapirův-Wilkův tests p-hodnotou menší než $2,2 \cdot 10^{-16}$ pro prášky zastřešených stromů (a také $p < 2,2 \cdot 10^{-16}$ u nezastřešených) prokázal, že data nemají normální rozdělení. Bartlettův

test homogenity rozptylů (p -hodnota = $6,207 \cdot 10^{-7}$) prokázal, že rozptyly časů strávených na prášku zastřešených a nezastřešených stromů nejsou shodné.

Proto byl využit neparametrický test pro dva výběry (Wilcoxonův rank sum test) s korekcí spojitosti, aby se zjistilo, zda jsou časy významně odlišné. Tento test porovnával mediány časů strávených na prášku T proti druhé skupině C a jeho výsledek (p -hodnota = 0,038) prokázal, že časy strávené na práscích zastřešených stromů (medián 34,5 sekund; průměr $185,97 \pm 309,33$ SD) jsou statisticky významně odlišné od časů v kontaktu s kontrolním prášky (medián 0; průměr $131,66$ sekund $\pm 222,42$ SD).



Obrázek 16: Graf porovnání časů strávených v kontaktu se vzorkem příslušného zastřešeného T a nezastřešeného C stromu. Výsledek Wilcoxonova rank sum testu (p -hodnota = 0,038). Tlustá čára znázorňuje medián, úsečky ukazují minimum a maximum bez extrémních hodnot. Černé body jsou extrémní hodnoty.

Statistický test prokázal, že lýkožrout má tendenci trávit na prášku z lýka zastřešeného, suchem stresovaného stromu T delší dobu. To je v souladu předchozími laboratorními biologickými experimenty výběru výseků lýka smrku lýkožroutem smrkovým (Netherer et al., 2022).

Data časů setrvání na prášku zastřešených stromů mají obecně více nulových hodnot než časy prášků zastřešených stromů, což ukazuje medián.

Souhrnně lze říci, že ačkoliv brouci nevykazovali signifikantní preferenci sekce zastřešených či kontrolních stromů, existuje významný rozdíl v časech setrvaných na prášku. Lýkožrouti preferovali prášky zastřešených stromů a nikoliv sekce. To může naznačovat, že brouci si na krátkou vzdálenost vybírají strom spíše podle méně těkavých látek, které rozpoznávají až při kontaktu s práškem lýka. Výsledek této analýzy je důležitý pro budoucí testování preferencí lýkožroutů vůči smrkům stresovaných suchem.

5.1.3 Porovnání setrvání brouků na sekci mezi různými plochami 1 a 7

Setrvání brouků na sekci bez testování preference pro T či C.

Byla vyhodnocena odlišnost mezi plochami č. 1 a 7 v časech strávených na sekcích (polovinách) misky.

Posouzení dat časů na sekcích plochy č. 1 a č. 7 pomocí Kolmogorova–Smirnovova testu ukázalo, že mají normální rozdělení. Na základě Bartlettova testu homogenity rozptylů proměnné „čas na sekci“ (p-hodnota 0,042) nebyla potvrzena shodnost rozptylů mezi plochami.

Z-test s nastaveným porušením předpokladu o homogenním rozptylu, vyšel s p-hodnotou = 1, takže neexistuje statisticky významný rozdíl v průměrném čase stráveném na sekci mezi plochou č. 1 a 7. Průměrný čas na sekcích (T i C) byl u plochy č. 1 (aritmetický průměr 900 sekund \pm SD 437 sekund) shodný s časem setrvání na sekcích (T i C) plochy č. 7 (900 sekund \pm SD 382 sekund).

Tato analýza naznačuje, že neexistuje rozdíl mezi setrváním na sekci, když není rozlišeno, zda se jedná o T sekci nebo C sekci. Neexistuje tedy preference určitého stanoviště.

Setrvání brouků na prášku bez testování preference pro T či C

Data času stráveného na prášku vyšla pro plochu č. 1 i plochu č. 7 nejsou normálně rozdělena. Bartlettův test pro čas na prášku (p-hodnota = 0,1617) ukazuje, že není statisticky významný rozdíl v rozptylech této proměnné mezi plochami.

Neparametrický Mannův-Whitneyho test (p -hodnota = 0,999) ukazuje, že neexistuje statisticky významný rozdíl v průměrném času stráveném na prášku mezi plochou č. 1 a č. 7 na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Setrvání brouků na prášku bez testování preferencí pro T či C.

Na začátku je nutno zdůraznit, že se jednalo o nevyrovnaná data (plocha 1 počet pokusů 114; zatímco na ploše 7 bylo 120 pokusů). Shapirův-Wilkův test normality pro každou ze čtyř skupin dat (časy na prášku zastřešených, časy na prášku kontrolních stromů plochy č. 1; časy na prášku zastřešených, časy na prášku kontrolních stromů plochy č. 7) vyšel s p -hodnotou nižší než hladina významnosti 0,05, takže data nejsou normálně rozdělena, a proto byl využit neparametrický test.

Kruskalův-Wallisův neparametrický test ukázal (p -hodnota = 0,002), že existuje významný rozdíl mezi prášky. Pro zjištění, kterých konkrétních skupin stromů byla provedena dodatečná analýza pomocí Dunnova testu. Jeho výsledek ukázal jeden významný rozdíl mezi skupinami stromů (p -hodnota = 0,005) zastřešených na ploše č. 1 (aritmetický průměr času na prášku 216,30 sekund \pm SD) a kontrolních na ploše č. 7 (aritmetický průměr 99,65 sekund \pm SD). Ostatní skupiny se statisticky významně nelišily. To naznačuje, že čas strávený na kontrolních práscích je významně nižší než na sekci zastřešených stromů, ale pouze plochami.

Tato analýza potvrzuje, že existují rozdíly v čase stráveném na stresovaných a kontrolních stromech mezi různými stupni stresu, s konkrétním zaměřením na jejich postavení na ploše. Odlišnost může být spojena s odlišnou mírou stresu na stanovišti.

5.1.4 Odlišnost konkrétních stromů

Rozdílnost v časech strávených na T sekcích arény

Pro konkrétní stromy byla prověřena rozdílnost časů strávených na sekcích (polovinách) arény. Z důvodu nestejného počtu opakování pokusů pro jednotlivé stromy byla data nevyrovnaná a byly tomu přizpůsobeny testy.

Pomocí Shapirova-Wilkova testu bylo ověřeno (p -hodnota upravená Holmovou metodou u všech stromů vyšší než hladina významnosti 0,05), že data pocházejí

z normálního rozdělení. Bartlettův test s p-hodnotou 0,947 ukázal, že rozptyly jsou shodné. Proto byl využit parametrický test analýzy rozptylu (Anova).

Výsledná p-hodnota Anovy 0,0838 ukazuje, že neexistuje statisticky významný rozdíl časů na sekci mezi jednotlivými konkrétními stromy.

Nicméně, test vícenásobného porovnávání průměrů pomocí LSD testu (least significant difference test) nazývaného také Fisherův LSD test, ukázal statisticky významný rozdíl mezi časy na sekci u některých dvojic stromů (Tabulka 3).

Tabulka 3: Dvojice zastřešených stromů T se statisticky významnými rozdíly (p-hodnota < 0,05) v časech strávených brouky na sekcích arény. Fisherův LSD test.

Dvojice stromů T	p-hodnota
1A2 – 1A1	0,038
1A4 – 1A1	0,014
1A9 – 1A2	0,012
1A7 – 1A4	0,024
1A9 – 1A4	0,004
7B4 – 1A9	0,038

Nejvyšší průměrný čas (1108,27 sekund \pm 410,29 SD) měla sekce zastřešeného stromu označeného 1A9. Výsledky analýzy rozdílnosti časů na sekcích jsou informace, které mohou sloužit pro budoucí studie zabývající se stromy z těchto výzkumných ploch.

Rozdílnost v časech strávených na prášcích T

Pro analýzu odlišnosti časů brouků na prášcích T (vzorkách lýka zastřešených stromů) byla k dispozici nevyvážená data z důvodu nestejného opakování pokusů pro jednotlivé stromy. Proto je třeba uvažovat, že výsledné hodnoty testů nemusí reflektovat skutečnost.

Výsledky Shapirova-Wilkova testu s p-hodnotou nižší než hladina významnosti 0,05 pro všechny stromy ukazují, že data časů strávených brouky na prášku nemají normální rozdělení.

Z důvodu nenormálního rozdělení byl využit neparametrický Kruskal-Wallisův test, který na základě p-hodnoty 0,005 ukázal statisticky významnou odlišnost mezi

zastřešenými stromy v časech strávených na prášku (vzorku lýka zastřešených stromů).

V post-hoc analýze byl využit neparametrický Dunnův test, jehož výsledky ukázaly tři významně odlišné dvojice stromů (Tabulka 4).

Tabulka 4: Dvojice zastřešených stromů T se statisticky významnými rozdíly (p-hodnota < 0,05) v časech strávených brouky na práscích. Dunnův post-hoc test.

Dvojice stromů T	p-hodnota
7B6 – 1A9	0,024
7B11 – 1A9	0,024
7B12 – 1A9	0,003

Nejvyšších hodnot dosahovaly opět časy na práscích stromu označeného 1A9 s mediánem 250,5 sekundy. To koresponduje s časy na sekcích stromu 1A9, tudíž tento strom byl shledán jako nejvíce preferovaný. Není však jisté, zdali je více stresován, protože to je možné potvrdit jedině dalším zkoumáním projevů stresu.

5.1.5 Vliv zastoupení smrkových metabolitů na výběr lýkožroutů

Bylo provedeno porovnání relativního zastoupení (reprezentovaných relativními odezvami) smrkových těžkých smrkových terpenů mezi stresovanými a nestresovanými stromy suchem.

Do testování byly zahrnuty monoterpeny a oxidované monoterpeny limonen, 1,8-cineol, 3-careen a isopinocampnon. Z testování musely být vyjmuty α -pinen a β -pinen z důvodu použité metody (splitless), při které se projevily tyto látky extrémní odezvou, která je zapříčiněna vysokým zastoupením těchto látek v profilu smrkových metabolitů.

Hodnoty relativních odezev metabolitů nevykazovaly normální rozdělení (p-hodnota Shapirova-Wilkova testu vždy menší než 0,05), proto byl pro jejich porovnání mezi zastřešenými a nezastřešenými stromy využit neparametrický test

pro dva výběry (Mannův-Whitneyho test). U žádné látky nebyl pozorován statisticky významný rozdíl (Tabulka 5).

Tabulka 5: Mann-Whitneyův U Test porovnání vybraných volatilních látek zastřešených a nezastřešených stromů.

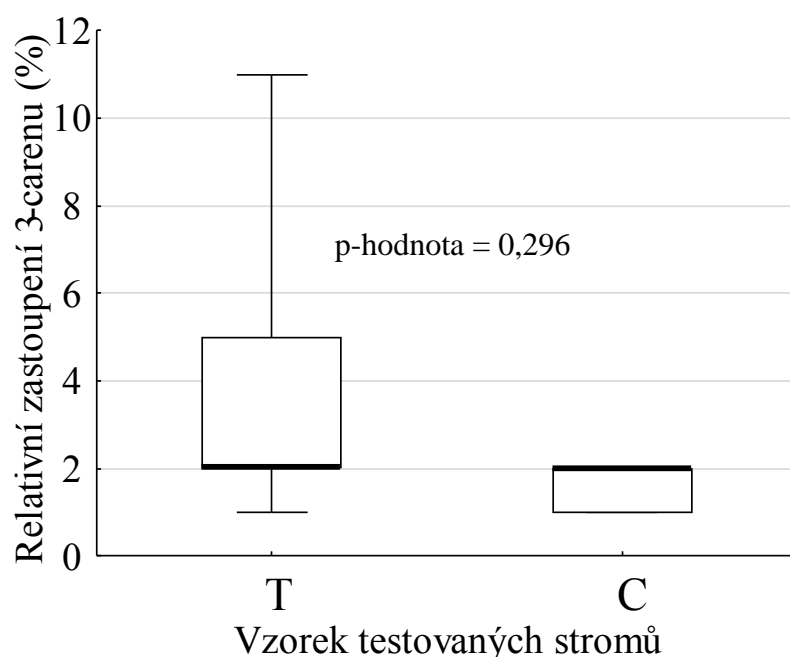
Látka	p-hodnota
limonen	0,568
1,8-cineol	0,468
3-caren	0,267
isopinocamphon	0,616

V rámci jednotlivých ploch zvlášť (1 a 7) bylo rovněž provedeno porovnání látek mezi zastřešenými a kontrolními stromy (Tabulka 6).

Tabulka 6: Mann-Whitneyův U Test porovnání relativních odezev vybraných volatilních látek zastřešených a nezastřešených stromů v rámci plochy 1 a v rámci plochy 7. Žádná z látek nevykazuje významně odlišné hodnoty na hladině významnosti 0,05.

Plocha 1		Plocha 7	
Látka	p-hodnota	Látka	p-hodnota
limonen	0,531	limonen	0,917
1,8-cineol	0,835	1,8-cineol	0,602
3-caren	0,835	3-caren	0,296
isopinocamphon	1,000	isopinocamphon	0,465

Celková suma odezev látek, na kterých bylo zaměřeno, se mezi vzorky zastřešených a kontrolních stromů signifikantně nelišila. Suma odezev látek byla v celkovém množství stejná v zastřešených i kontrolních stromech. Statisticky významný nebyl ani rozdíl relativních zastoupení 3-carenu mezi prášky zastřešených a nezastřešených stromů na ploše č. 7. Medián vyšel shodně 2 % pro zastřešený i kontrolní strom (Obrázek 17).



Obrázek 17: Porovnání relativních zastoupení 3-carenu mezi zastřešeným (T) a kontrolními (C) vzorky na ploše č. 7. Tlustá čára je medián, úsečky ukazují minimum a maximum. Výsledek Mannova-Whiteova U testu (p-hodnota = 0,296) ukazuje, že rozdíl není statisticky signifikantní.

3-carene byl však statisticky významně odlišný mezi zastřešenými a kontrolními stromy při porovnání absolutní odezvy.

Tyto výsledky naznačují, že není rozdíl v profilu smrkových metabolitů mezi zastřešenými (suchem stresovanými) a kontrolními stromy. To odpovídá výsledku shodnosti průměrných časů strávených brouky na sekcích arény. Odlišnost časů na prášku nemůže být vysvětlena rozdílností relativních zastoupení volatilních látek. Pravděpodobně jsme nezachytili některé důležité látky, které by tuto odlišnost objasnily.

Korelace relativního zastoupení látek s časy na sekci a časy na prášku

Dále jsou uvedeny korelace průměrných časů strávených brouky na sekci a na prášku pro jednotlivé stromy s relativním odezvami příslušných látek, které byly z prášku jednotlivých stromů nasbírány na SPME vlákno.

Pomocí Shapirova-Wilkova testu bylo zjištěno, že proměnná "průměrný čas na sekci" má normální rozdělení s odpovídající p-hodnotou 0,657. Naopak proměnné "průměrný čas v kontaktu s práškem", "limonen", "1,8-cineol", "3-carene" a "isopinocampchon" mají nenormální rozdělení s p-hodnotami menšími než 0,05.

Pro zkoumání vztahů mezi proměnnými byly provedeny korelační analýzy s využitím Spearmanova korelačního koeficientu kvůli nenormálnímu rozdělení dat.

V případě relativních zastoupení monoterpenů a oxidovaných monoterpenů v prášcích, nejvyššího korelačního koeficientu dosáhl vztah relativního zastoupení 3-carenu v závislosti na času stráveném v kontaktu s práškem ($r = -0,12$), ale jedná se o slabou negativní korelaci. Tento výsledek není dostatečně signifikantní pro objasnění preference prášků s vyšším relativním zastoupením 3-carenu, látky, která je pro lýkožrouty toxická (Everaerts et al., 1988).

Relativní zastoupení limonenu slabě pozitivně korelovalo s časem na sekci ($r = 0,18$) a 1,8-cineol měl slabou negativní korelaci s časem na prášku ($r = -0,10$). 1,8-cineol je sice odpudivou látkou, jak bylo prokázáno v předchozí studiích (Andersson et al., 2010; Moliterno et al., 2023; Schiebe et al., 2019), ale tato korelace je příliš slabá na to abychom mohli tvrdit, že pro lýkožrouta prášky působily odpudivě.

Čas strávený v sekci má s časem stráveným na prášku středně silnou pozitivní korelaci ($r = 0,57$), což znamená, že brouci, kteří stráví více času v jedné sekci, mají tendenci strávit více času i v příslušném prášku. To je v souladu s přechozí studií výběrových laboratorních biologických experimentů, kde výběr výseků lýka zastřešených stromů pozitivně koreloval s časem, který brouci trávili na sekci (Netherer et al., 2022).

6 Diskuse

V této studii byly testovány stromy *Picea abies* z ploch, kde jsou určité stromy stresovány suchem tak, že jsou již třetí rok zastřešeny, a kromě udržovacího množství dodané vody v zimních měsících jsou bez přísunu vody. To zvyšuje atraktivitu těchto stromů pro lýkožrouta. Při velmi silném stresu se však smrk stává méně atraktivní pro pionýrské lýkožrouty (*Ips typographus*) kvůli sníženým nutričním hodnotám (Netherer et al., 2024). Plocha č. 1 ani plocha č. 7 nebyly v době sběru vzorků napadeny kůrovcem.

Výsledky analýzy časů strávených na sekcích arény (T nebo C) ukazují, že lýkožrouti nemají signifikantní preferenci sekce zastřešeného nebo kontrolního stromu. Je možné, že se volatilní látky z prášků vypařovaly ve vysokých koncentracích nad prahem vnímání lýkožrouta. Také je možné, že se v areně látky obou prášků (zastřešeného a nezastřešeného) mísily ve vzduchu.

Podobně, rozdíly mezi zastřešenými a kontrolními stromy v relativním zastoupení volatilních látek v práscích nebyly nalezeny. To může být způsobeno metodou chemické analýzy látek, kdy byla využita metoda headspace pomocí SPME vlákna bez použití rozpouštědla. Volatilní látky z prášku každého stromu byly vázány na vlákno a vstříkovány do přístroje pouze jednou. Zejména nastavená metoda splitless, kvůli které měly některé látky, jako je α -pinen a β -pinen, příliš intenzivní relativní odezvy, bylo obtížné kvantifikovat jednotlivé sloučeniny. Také pravděpodobně došlo k opomenutí důležitých látek, vzhledem k tomu, že se v analýze zaměřilo pouze na 4 sloučeniny.

Změna směsi relativního zastoupení terpenů vyvolaná suchem je závislá na ontogenezi jedince, která může být u jednotlivých stromů odlišná (Netherer et al., 2024).

Preference prášku zastřešeného stromu byla prokázána tím, že brouci setrvali významně vyšší čas na práscích pocházejících ze zastřešených stromů oproti nezastřešeným. Výběr suchem stresovaných stromů byl dříve dokázán na výsecích lýka v laboratorních biologických pokusech lýkožroutů na Petriho miskách (Netherer et al., 2022). Zvýšená atraktivita mírně stresovaných stromů souvisí se sníženým

prouděním pryskyřice a nižší zastoupení mono a diterpenů, v našem případě však byly stromy ve vyšším stadiu stresu než ve zmiňované studii.

Korelace mezi relativním zastoupením sledovaných látek a časy na sekci a prášku nebyla signifikantní. S časy (na sekci i prášku) nekorelovala ani celková suma látek. Veličiny „čas na sekci“ a „čas na prášku“ měly středně silnou korelaci, což je v souladu s předchozími pokusy výběru výseků lýka na Petriho misce, kde byl konečný výběr korelován s časem stráveným v příslušné sekci (Netherer et al., 2022).

Strom na ploše č. 1 s nejvyšší preferencí lýkožroutem smrkovým může sloužit dalším studiím zabývajícím se těmito plochami zastřešených stromů, avšak je potřeba provést více experimentů.

Silnější sucha, která jsou v budoucnu očekávána, by mohla preference stresovaných stromů ještě posílit, což by mohlo vést ke zvýšené náchylnosti k napadení kůrovcem (Netherer et al., 2024).

7 Závěr

Byla provedena řada experimentů výběru na Petriho miskách („arénách“). Samci lýkožrouta smrkového byli testováni (*Ips typographus*) v arénách, kde setrvali různý čas na sekcích (polovinách) či přímo v kontaktu s homogenizovanými prášky z lýka smrku ztepilého (*Picea abies*) stresovaného suchem a s prášky kontrolních stromů smrku ztepilého. Výzkum byl zaměřen na pochopení toho, jak stres suchem a změny chemických látek v lýku, ovlivňují výběr hostitelských stromů lýkožroutem na krátkou vzdálenost.

Během pokusů brouci vykazovali preferenci prášků stromů vystavených stresu suchem, což naznačuje, že tyto stromy mohou být náchylnější k napadení. Toto zjištění je v souladu s předchozími výzkumy, které zdůrazňovaly zvýšenou náchylnost stromů vystavených stresu ze sucha k napadení kůrovcem (Netherer et al., 2022, 2024).

Brouci preferovali kontakt s práškem, přestože při porovnání časů v sekcích zastřešených a kontrolních stromů v aréně nebyly odhaleny významné rozdíly. To je nejspíš způsobeno tím, že brouci následovali méně těkavé látky, které zjišťovali až při kontaktu s práškem.

Pozorovaná preference kůrovců pro stromy vystavené suchu může být způsobena změnami ve fyziologii a biochemii stromů, čímž se stresované stromy stávají pro kůrovce atraktivnější. Snížená produkce pryskyřice a změny ve složení dalších metabolitů by mohly sloužit jako signály indikující zranitelnost stromu, a ovlivňovat tak proces výběru brouků.

Srovnání vypouštěných těkavých látek neodhalilo významné rozdíly v relativním zastoupení látek ve vzorcích zastřešených a kontrolních stromů. To bylo pravděpodobně způsobeno malým počtem sledovaných látek, kdy byly možná opomenuty některé důležité sloučeniny. Dalším důvodem může být metoda chemické analýzy, při které se důležité těkavé látky projeví extrémními relativními odezvami a nebylo možné dobře kvantifikovat látky.

Je však důležité si uvědomit některá omezení této studie. Laboratorní biologické testy provedené v rámci tohoto výzkumu představují zjednodušené verze přírodních podmínek a výsledky nemusí plně vystihovat složitost interakcí mezi smrkem a kůrovcem v terénu. Budoucí výzkum by mohl doplnit tyto laboratorní experimenty terénními

studiemi, které by potvrdily pozorované preference kůrovců pro stromy vystavené suchu a prozkoumaly, jak se tyto preference promítají do vzorců napadení v přirozených lesních ekosystémech.

Rozbor dostupné literatury, která se zabývá objasněním mechanismů, které jsou základem výběru hostitelských stromů kůrovci v podmínkách sucha poskytl souhrn informací, které zvyšují naši schopnost předvídat a řídit výskyt lesních škůdců v souvislosti s probíhající změnou klimatu.

Závěrem lze konstatovat, že cíle práce byly splněny a je patrné její přispění k vysvětlení výběru stresovaných hostitelů.

V dalším výzkumu je potřeba odstranit nedostatky v dosavadních znalostech o přímých interakcích mezi pionýrskými jedinci kůrovců (*Ips typographus*) a jejich stromovými hostiteli (*Picea abies*). Do tohoto vztahu vstupují další ekologické faktory, jako jsou aktivita predátorů a zvěře nebo napadení houbami. Také činnost člověka může ovlivňovat tuto interakci (Lehmanski et al., 2023). Další studie by tedy měly zohledňovat vliv kombinací různých stresových faktorů.

8 Seznam použitých zdrojů

- Andersson, M. N., Larsson, M. C., Blaženec, M., Jakuš, R., Zhang, Q.-H., & Schlyter, F. (2010). Peripheral modulation of pheromone response by inhibitory host compound in a beetle. *Journal of Experimental Biology*, *213*(19), 3332–3339.
<https://doi.org/10.1242/jeb.044396>
- Andersson, M. N., Larsson, M. C., & Schlyter, F. (2009). Specificity and redundancy in the olfactory system of the bark beetle *Ips typographus*: Single-cell responses to ecologically relevant odors. *Journal of Insect Physiology*, *55*(6), 556–567.
<https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2009.01.018>
- Anon. (2022). Quantitative and Qualitative GC and GC-MS. [Citováno dne: 28.3.2024].
Dostupné z: <https://chem.libretexts.org/@go/page/408585>.
- Baier, P., Bader, R., & Rosner, S. (1999). Monoterpene content and monoterpene emission of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) bark in relation to primary attraction of bark beetles (Col. Scolytidae). *COLLOQUES-INRA*, 249-260.
- Baier, P., Führer, E., Kirisits, T., & Rosner, S. (2002). Defence reactions of Norway spruce against bark beetles and the associated fungus *Ceratocystis polonica* in secondary pure and mixed species stands. *Forest Ecology and Management*, *159*(1–2), 73–86.
[https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(01\)00711-3](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(01)00711-3)
- Balachowsky, A. S. (1949). Faune de France. 50, Coléoptères Scolytides. *Office central de faunistique*, Ed.; Vol. 1., P. Lechevalier Paris.
- Ballhorn, D. J., & Kautz, S. (2013). How useful are olfactometer experiments in chemical ecology research? *Communicative & Integrative Biology*, *6*(4), e24787.
<https://doi.org/10.4161/cib.24787>
- Binyameen, M., Jankuvová, J., Blaženec, M., Jakuš, R., Song, L., Schlyter, F., & Andersson, M. N. (2014). Co-localization of insect olfactory sensory cells improves the discrimination of closely separated odour sources. *Functional Ecology*, *28*(5), 1216–1223. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12252>
- Birgersson, G., Schlyter, F., Löfqvist, J., & Bergström, G. (1984). Quantitative variation of pheromone components in the spruce bark beetle *Ips typographus* from different attack phases. *Journal of Chemical Ecology*, *10*(7), 1029–1055.
<https://doi.org/10.1007/BF00987511>

- Blaženec, M., & Jakuš, R. (2009). Effect of (+)-limonene and 1-methoxy-2-propanol on *Ips typographus* response to pheromone blends. *Journal of Forestry Research*, 20(1), 37–44. <https://doi.org/10.1007/s11676-009-0008-0>
- Blažytė-Čereškienė, L., Apšegaitė, V., Radžiutė, S., Mozūraitis, R., Būda, V., & Pečiulytė, D. (2016). Electrophysiological and behavioural responses of *Ips typographus* (L.) to *trans*-4-thujanol—a host tree volatile compound. *Annals of Forest Science*, 73(2), 247–256. <https://doi.org/10.1007/s13595-015-0494-5>
- Blomquist, G. J., Figueroa-Teran, R., Aw, M., Song, M., Gorzalski, A., Abbott, N. L., Chang, E., & Tittiger, C. (2010). Pheromone production in bark beetles. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 40(10), 699–712. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2010.07.013>
- Blomqvist, M., Kosunen, M., Starr, M., Kantola, T., Holopainen, M., & Lyytikäinen-Saarenmaa, P. (2018). Modelling the predisposition of Norway spruce to *Ips typographus* L. infestation by means of environmental factors in southern Finland. *European Journal of Forest Research*, 137(5), 675–691. <https://doi.org/10.1007/s10342-018-1133-0>
- Borden, J. H. (1997). Disruption of Semiochemical-Mediated Aggregation in Bark Beetles. In *Insect Pheromone Research* (pp. 421–438). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6371-6_37
- Boyacı, E., Rodríguez-Lafuente, Á., Gorynski, K., Mirnaghi, F., Souza-Silva, É. A., Hein, D., & Pawliszyn, J. (2015). Sample preparation with solid phase microextraction and exhaustive extraction approaches: Comparison for challenging cases. *Analytica Chimica Acta*, 873, 14–30. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.12.051>
- Bruce, T. J. A., Wadhams, L. J., & Woodcock, C. M. (2005). Insect host location: a volatile situation. *Trends in Plant Science*, 10(6), 269–274. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2005.04.003>
- Burke, J. L., & Carroll, A. L. (2016). The influence of variation in host tree monoterpene composition on secondary attraction by an invasive bark beetle: Implications for range expansion and potential host shift by the mountain pine beetle. *Forest Ecology and Management*, 359, 59–64. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foreco.2015.09.044>

- Byers, J. A. (1989). Chemical ecology of bark beetles. *Experientia*, 45(3), 271–283.
<https://doi.org/10.1007/BF01951813>
- Byers, J. A. (1996). An encounter rate model of bark beetle populations searching at random for susceptible host trees. *Ecological Modelling*, 91(1–3), 57–66.
[https://doi.org/10.1016/0304-3800\(95\)00166-2](https://doi.org/10.1016/0304-3800(95)00166-2)
- Byers, J. A. (2000). Wind-aided dispersal of simulated bark beetles flying through forests. *Ecological Modelling*, 125(2–3), 231–243. [https://doi.org/10.1016/S0304-3800\(99\)00187-8](https://doi.org/10.1016/S0304-3800(99)00187-8)
- Byers, J. A. (2004). Chemical ecology of bark beetles in a complex olfactory landscape. *Bark and Wood Boring Insects in Living Trees in Europe, a Synthesis*, 89–134.
- Byers, J. A., Zhang, Q.-H., Schlyter, F., & Birgersson, G. (1998). Volatiles from Nonhost Birch Trees Inhibit Pheromone Response in Spruce Bark Beetles. *The Science of Nature*, 85(11), 557–561. <https://doi.org/10.1007/s001140050551>
- CABI. (2022). *Ips typographus* (eight-toothed bark beetle). *CABI Compendium*.
<https://doi.org/10.1079/cabicompendium.28843>
- Cagliero, C., Mastellone, G., Marengo, A., Bicchi, C., Sgorbini, B., & Rubiolo, P. (2021). Analytical strategies for in-vivo evaluation of plant volatile emissions - A review. *Analytica Chimica Acta*, 1147, 240–258.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.11.029>
- De Groot, R. C. (1972). Growth of Wood-Inhabiting Fungi in Saturated Atmospheres of Monoterpenoids. *Mycologia*, 64(4), 863–870.
<https://doi.org/10.1080/00275514.1972.12019336>
- Ebner G. (2020, February 4). *Significantly more damaged wood in 2019. 200 million m3 of damaged wood in the DACH region, Czech Republic, Slovakia and Italy, 90 million m3 more within two years*. Osterreichischer Agrarverlag. timber-online.net
- Elkinton, J. S., & Wood, D. L. (1980). FEEDING AND BORING BEHAVIOR OF THE BARK BEETLE *IPS PARACONFUSUS* (COLEOPTERA: SCOLYTIDAE) ON THE BARK OF A HOST AND NON-HOST TREE SPECIES. *The Canadian Entomologist*, 112(8), 797–809. <https://doi.org/DOI: 10.4039/Ent112797-8>
- Erbilgin, N., Krokene, P., Christiansen, E., Zeneli, G., & Gershenson, J. (2006). Exogenous application of methyl jasmonate elicits defenses in Norway spruce (*Picea*

- abies*) and reduces host colonization by the bark beetle *Ips typographus*. *Oecologia*, 148(3), 426–436. <https://doi.org/10.1007/s00442-006-0394-3>
- Erbilgin, N., Krokene, P., Kvamme, T., & Christiansen, E. (2007). A host monoterpene influences *Ips typographus* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) responses to its aggregation pheromone. *Agricultural and Forest Entomology*, 9(2), 135–140. <https://doi.org/10.1111/j.1461-9563.2007.00329.x>
- Everaerts, C., Grégoire, J.-C., & Merlin, J. (1988a). The Toxicity of Norway Spruce Monoterpenes to Two Bark Beetle Species and Their Associates. In *Mechanisms of Woody Plant Defenses Against Insects* (pp. 335–344). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-3828-7_23
- Everaerts, C., Grégoire, J.-C., & Merlin, J. (1988b). The toxicity of spruce monoterpenes against bark beetles and their associates. *Mechanisms of Woody Plant Defenses Against Insects*, 331–340.
- Fang, J., Zhang, S., Liu, F., Cheng, B., Zhang, Z., Zhang, Q., & Kong, X. (2021). Functional investigation of monoterpenes for improved understanding of the relationship between hosts and bark beetles. *Journal of Applied Entomology*, 145(4), 303–311.
- Farjon, A. (2015). *Picea abies*. In *IUCN Red List of Threatened Species*. <https://doi.org/10.2305/iucn.uk.2017-2.rlts.t42318a71233492.en>
- Ferrenberg, S., Kane, J. M., & Langenhan, J. M. (2015). To grow or defend? Pine seedlings grow less but induce more defences when a key resource is limited. *Tree Physiology*, 35(2), 107–111. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpv015>
- Führer, E., Lindenthal, J., & Baier, P. (1997). *Tree mortality in spruce: relationships between the premortal tree vigour dynamics and attack by bark-breeding insects*.
- Gebhardt, T., Hesse, B. D., Hikino, K., Kolovrat, K., Hafner, B. D., Grams, T. E. E., & Häberle, K.-H. (2023). Repeated summer drought changes the radial xylem sap flow profile in mature Norway spruce but not in European beech. *Agricultural and Forest Meteorology*, 329, 109285. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2022.109285>
- Ghimire, R. P., Kivimäenpää, M., Blomqvist, M., Holopainen, T., Lyytikäinen-Saarenmaa, P., & Holopainen, J. K. (2016). Effect of bark beetle (*Ips typographus* L.) attack on bark VOC emissions of Norway spruce (*Picea abies* Karst.) trees. *Atmospheric*

- Environment*, 126, 145–152.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.11.049>
- Haack, R. A. (2001). Intercepted Scolytidae (Coleoptera) at US ports of entry: 1985–2000. *Integrated Pest Management Reviews*, 6, 253–282.
- Hammerbacher, A., Paetz, C., Wright, L. P., Fischer, T. C., Bohlmann, J., Davis, A. J., Fenning, T. M., Gershenson, J., & Schmidt, A. (2014). Flavan-3-ols in Norway Spruce: Biosynthesis, Accumulation, and Function in Response to Attack by the Bark Beetle-Associated Fungus *Ceratocystis polonica*. *Plant Physiology*, 164(4), 2107–2122. <https://doi.org/10.1104/pp.113.232389>
- Hesse, B. D., Gebhardt, T., Hafner, B. D., Hikino, K., Reitsam, A., Gigl, M., Dawid, C., Häberle, K.-H., & Grams, T. E. E. (2023). Physiological recovery of tree water relations upon drought release—response of mature beech and spruce after five years of recurrent summer drought. *Tree Physiology*, 43(4), 522–538.
<https://doi.org/10.1093/treephys/tpac135>
- Hietz, P., Baier, P., Offenthaler, I., Fuhrer, E., Rosner, S., & Richter, H. (2005). Tree temperatures, volatile organic emissions, and primary attraction of bark beetles. *PHYTON-HORN-*, 45(3), 341.
- Hoch, G., Schopf, A., Weizer, G., Netherer, S., Schebeck, M., Kirisits, T., Baier, P., & Wegensteiner, R. (2019). *Der Buchdrucker: Biologie, Ökologie, Management*.
- Holopainen, J. K., Virjamo, V., Ghimire, R. P., Blande, J. D., Julkunen-Tiitto, R., & Kivimäenpää, M. (2018). Climate Change Effects on Secondary Compounds of Forest Trees in the Northern Hemisphere. *Frontiers in Plant Science*, 9.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01445>
- Huang, J., Hammerbacher, A., Gershenson, J., van Dam, N. M., Sala, A., McDowell, N. G., Chowdhury, S., Gleixner, G., Trumbore, S., & Hartmann, H. (2021). Storage of carbon reserves in spruce trees is prioritized over growth in the face of carbon limitation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(33).
<https://doi.org/10.1073/pnas.2023297118>
- Huang, J., Kautz, M., Trowbridge, A. M., Hammerbacher, A., Raffa, K. F., Adams, H. D., Goodsman, D. W., Xu, C., Meddens, A. J. H., Kandasamy, D., Gershenson, J., Seidl, R., & Hartmann, H. (2020). Tree defence and bark beetles in a drying world: carbon

- partitioning, functioning and modelling. *New Phytologist*, 225(1), 26–36.
<https://doi.org/10.1111/nph.16173>
- Hurling, R. (2003). *Zur Flugaktivität und Brutherentwicklung des Buchdruckers <i>Ips typographus</i> (L.)* [Georg-August-University Göttingen].
<https://doi.org/10.53846/goediss-2324>
- Jaakkola, E., Gärtner, A., Jönsson, A. M., Ljung, K., Olsson, P.-O., & Holst, T. (2023). Spruce bark beetles (*Ips typographus*) cause up to 700 times higher bark BVOC emission rates compared to healthy Norway spruce (*Picea abies*). *Biogeosciences*, 20(4), 803–826. <https://doi.org/10.5194/bg-20-803-2023>
- Jackson, P. L., Straussfogel, D., Lindgren, B. S., Mitchell, S., & Murphy, B. (2008). Radar observation and aerial capture of mountain pine beetle, *Dendroctonus ponderosae* Hopk. (Coleoptera: Scolytidae) in flight above the forest canopy. *Canadian Journal of Forest Research*, 38(8), 2313–2327. <https://doi.org/10.1139/X08-066>
- Jakuš, R., & Blaženec, M. (2003). Influence of the proportion of (–) α -pinene in pheromone bait on *Ips typographus* (Col., Scolytidae) catch in pheromone trap barriers and in single traps. *Journal of Applied Entomology*, 127(2), 91–95.
<https://doi.org/10.1046/j.1439-0418.2003.00695.x>
- Jakuš, R., Modlinger, R., Kašpar, J., Majdák, A., Blaženec, M., Korolyova, N., Jirošová, A., & Schlyter, F. (2022). Testing the Efficiency of the Push-and-Pull Strategy during Severe *Ips typographus* Outbreak and Extreme Drought in Norway Spruce Stands. *Forests*, 13(12). <https://doi.org/10.3390/f13122175>
- Jirošová, A., Kalinová, B., Modlinger, R., Jakuš, R., Unelius, C. R., Blaženec, M., & Schlyter, F. (2022). Anti-attractant activity of (+)- *trans*-4-thujanol for Eurasian spruce bark beetle *Ips typographus* : Novel potency for females. *Pest Management Science*, 78(5), 1992–1999. <https://doi.org/10.1002/ps.6819>
- Jirošová, A., Modlinger, R., Hradecký, J., Ramakrishnan, R., Beránková, K., & Kandasamy, D. (2022). Ophiostomatoid fungi synergize attraction of the Eurasian spruce bark beetle, *Ips typographus* to its aggregation pheromone in field traps. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.980251>
- Kalinová, B., Břízová, R., Knížek, M., Turčáni, M., & Hoskovec, M. (2014). Volatiles from spruce trap-trees detected by *Ips typographus* bark beetles: chemical and

- electrophysiological analyses. *Arthropod-Plant Interactions*, 8(4), 305–316.
<https://doi.org/10.1007/s11829-014-9310-7>
- Kandasamy, D., Gershenson, J., Andersson, M. N., & Hammerbacher, A. (2019). Volatile organic compounds influence the interaction of the Eurasian spruce bark beetle (*Ips typographus*) with its fungal symbionts. *The ISME Journal*, 13(7), 1788–1800.
<https://doi.org/10.1038/s41396-019-0390-3>
- Kandasamy, D., Zaman, R., Nakamura, Y., Zhao, T., Hartmann, H., Andersson, M. N., Hammerbacher, A., & Gershenson, J. (2023). Conifer-killing bark beetles locate fungal symbionts by detecting volatile fungal metabolites of host tree resin monoterpenes. *PLOS Biology*, 21(2), e3001887.
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001887>
- Kohnle, U., Vité, J. P., Baader, E. J., Meyer, H., & Francke, W. (1991). Chirality of ipsdienol and ipsenol indicates a frass pheromone system in the epruce engraver, *Ips typographus*. *Naturwissenschaften*, 78(3), 136–138.
<https://doi.org/10.1007/BF01131493>
- Krejza, J., Cienciala, E., Světlík, J., Bellan, M., Noyer, E., Horáček, P., Štěpánek, P., & Marek, M. V. (2021). Evidence of climate-induced stress of Norway spruce along elevation gradient preceding the current dieback in Central Europe. *Trees*, 35(1), 103–119. <https://doi.org/10.1007/s00468-020-02022-6>
- Krokene, P. (2015). Conifer Defense and Resistance to Bark Beetles. In *Bark Beetles* (pp. 177–207). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417156-5.00005-8>
- Lehmanski, L. M. A., Kandasamy, D., Andersson, M. N., Netherer, S., Alves, E. G., Huang, J., & Hartmann, H. (2023). Addressing a century-old hypothesis – do pioneer beetles of *Ips typographus* use volatile cues to find suitable host trees? *New Phytologist*, 238(5), 1762–1770. <https://doi.org/10.1111/nph.18865>
- Leufvön, A., Bergström, G., & Falsen, E. (1984). Interconversion of verbenols and verbenone by identified yeasts isolated from the spruce bark beetle *Ips typographus*. *Journal of Chemical Ecology*, 10(9), 1349–1361. <https://doi.org/10.1007/BF00988116>
- Lindström, M., Norin, T., Birgersson, G., & Schlyter, F. (1989). Variation of enantiomeric composition of α -pinene in norway spruce, *Picea abies*, and its influence on production of verbenol isomers by *Ips typographus* in the field. *Journal of Chemical Ecology*, 15(2), 541–548. <https://doi.org/10.1007/BF01014699>

- Mageroy, M. H., Wilkinson, S. W., Tengs, T., Cross, H., Almvik, M., Pétriacq, P., Vivian-Smith, A., Zhao, T., Fossdal, C. G., & Krokene, P. (2020). Molecular underpinnings of methyl jasmonate-induced resistance in Norway spruce. *Plant, Cell & Environment*, *43*(8), 1827–1843. <https://doi.org/10.1111/pce.13774>
- Marini, L., Økland, B., Jönsson, A. M., Bentz, B., Carroll, A., Forster, B., Grégoire, J., Hurling, R., Nageleisen, L. M., Netherer, S., Ravn, H. P., Weed, A., & Schroeder, M. (2017). Climate drivers of bark beetle outbreak dynamics in Norway spruce forests. *Ecography*, *40*(12), 1426–1435. <https://doi.org/10.1111/ecog.02769>
- Martinez-Vilalta, J. (2014). Carbon storage in trees: pathogens have their say. *Tree Physiology*, *34*(3), 215–217. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpu010>
- Matthews, B., Netherer, S., Katzensteiner, K., Pennerstorfer, J., Blackwell, E., Henschke, P., Hietz, P., Rosner, S., Jansson, P.-E., Schume, H., & Schopf, A. (2018). Transpiration deficits increase host susceptibility to bark beetle attack: Experimental observations and practical outcomes for *Ips typographus* hazard assessment. *Agricultural and Forest Meteorology*, *263*, 69–89. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2018.08.004>
- McMullen, L. H., & Atkins, M. D. (1962). On the Flight and Host Selection of the Douglas-fir Beetle, *Dendroctonus pseudotsugae* Hopk. (Coleoptera: Scolytidae). *The Canadian Entomologist*, *94*(12), 1309–1325. <https://doi.org/10.4039/Ent941309-12>
- Moliterno, A. A. C., Jakuš, R., Modlinger, R., Unelius, C. R., Schlyter, F., & Jirošová, A. (2023). Field effects of oxygenated monoterpenes and estragole combined with pheromone on attraction of *Ips typographus* and its natural enemies. *Frontiers in Forests and Global Change*, *6*. <https://doi.org/10.3389/ffgc.2023.1292581>
- Naseer, A., Singh, V. V., Sellamuthu, G., Mogilicherla, K., & Roy, A. (2023). *3-Carene Metabolism: A Potential Target for RNAi-based Ips typographus Pest Management*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.11707.59682>
- Netherer, S., & Hammerbacher, A. (2022). 4 - The Eurasian spruce bark beetle in a warming climate: Phenology, behavior, and biotic interactions. In K. J. K. Gandhi & R. W. Hofstetter (Eds.), *Bark Beetle Management, Ecology, and Climate Change* (pp. 89–131). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822145-7.00011-8>

- Netherer, S., Kandasamy, D., Jirosová, A., Kalinová, B., Schebeck, M., & Schlyter, F. (2021). Interactions among Norway spruce, the bark beetle *Ips typographus* and its fungal symbionts in times of drought. *Journal of Pest Science*, *94*(3), 591–614. <https://doi.org/10.1007/s10340-021-01341-y>
- Netherer, S., Lehmannski, L., Bachlehner, A., Rosner, S., Savi, T., Schmidt, A., Huang, J., Paiva, M. R., Mateus, E., Hartmann, H., & Gershenson, J. (2024). Drought increases Norway spruce susceptibility to the Eurasian spruce bark beetle and its associated fungi. *New Phytologist*. <https://doi.org/10.1111/nph.19635>
- Netherer, S., Matthews, B., Katzensteiner, K., Blackwell, E., Henschke, P., Hietz, P., Pennerstorfer, J., Rosner, S., Kikuta, S., Schume, H., & Schopf, A. (2015). Do water-limiting conditions predispose Norway spruce to bark beetle attack? *New Phytologist*, *205*(3), 1128–1141. <https://doi.org/10.1111/nph.13166>
- Netherer, S., Panassiti, B., Pennerstorfer, J., & Matthews, B. (2019). Acute Drought Is an Important Driver of Bark Beetle Infestation in Austrian Norway Spruce Stands. *Frontiers in Forests and Global Change*, *2*. <https://doi.org/10.3389/ffgc.2019.00039>
- Netherer, S., Schebeck, M., Morgante, G., Rentsch, V., & Kirisits, T. (2022). European Spruce Bark Beetle, *Ips typographus* (L.) Males Are Attracted to Bark Cores of Drought-Stressed Norway Spruce Trees with Impaired Defenses in Petri Dish Choice Experiments. *Forests*, *13*(4). <https://doi.org/10.3390/f13040537>
- Niinemets, Ü., Kuhn, U., Harley, P. C., Staudt, M., Arneth, A., Cescatti, A., Ciccioli, P., Copolovici, L., Geron, C., Guenther, A., Kesselmeier, J., Lerdau, M. T., Monson, R. K., & Peñuelas, J. (2011). Estimations of isoprenoid emission capacity from enclosure studies: measurements, data processing, quality and standardized measurement protocols. *Biogeosciences*, *8*(8), 2209–2246. <https://doi.org/10.5194/bg-8-2209-2011>
- Nolvachai, Y., Amaral, M. S. S., Herron, R., & Marriott, P. J. (2023). Solid phase microextraction for quantitative analysis – Expectations beyond design? *Green Analytical Chemistry*, *4*, 100048. <https://doi.org/10.1016/j.greeac.2022.100048>
- Overbeck, M., & Schmidt, M. (2012). Modelling infestation risk of Norway spruce by *Ips typographus* (L.) in the Lower Saxon Harz Mountains (Germany). *Forest Ecology and Management*, *266*, 115–125. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2011.11.011>
- Paczkowski, S., Datta, P., Irion, H., Paczkowska, M., Habert, T., Pelz, S., & Jaeger, D. (2021). Evaluation of Early Bark Beetle Infestation Localization by Drone-Based

- Monoterpene Detection. *Forests* 2021, Vol. 12, Page 228, 12(2), 228.
<https://doi.org/10.3390/F12020228>
- Pfeffer, A. (1955). *Fauna ČSR. Sv. 6, Kůrovci - Scolytoidea* (1st ed.). Československá akademie věd.
- Psillakis, E., Yiantzi, E., Sanchez-Prado, L., & Kalogerakis, N. (2012). Vacuum-assisted headspace solid phase microextraction: Improved extraction of semivolatiles by non-equilibrium headspace sampling under reduced pressure conditions. *Analytica Chimica Acta*, 742, 30–36. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.01.019>
- Renwick, J. A. A., Hughes, P. R., & Krull, I. S. (1976). Selective Production of *cis* - and *trans* -Verbenol from (-)- and (+)- α -Pinene by a Bark Beetle. *Science*, 191(4223), 199–201. <https://doi.org/10.1126/science.1246609>
- Reyes-Garcés, N., Gionfriddo, E., Gómez-Ríos, G. A., Alam, Md. N., Boyacı, E., Bojko, B., Singh, V., Grandy, J., & Pawliszyn, J. (2018). Advances in Solid Phase Microextraction and Perspective on Future Directions. *Analytical Chemistry*, 90(1), 302–360. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b04502>
- Rissanen, K., Hölttä, T., Bäck, J., Rigling, A., Wermelinger, B., & Gessler, A. (2021). Drought effects on carbon allocation to resin defences and on resin dynamics in old-grown Scots pine. *Environmental and Experimental Botany*, 185, 104410. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104410>
- Ruiz-Jimenez, J., Zanca, N., Lan, H., Jussila, M., Hartonen, K., & Riekkola, M.-L. (2019). Aerial drone as a carrier for miniaturized air sampling systems. *Journal of Chromatography A*, 1597, 202–208. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.04.009>
- Schiebe, C., Blaženec, M., Jakuš, R., Unelius, C. R., & Schlyter, F. (2011). Semiochemical diversity diverts bark beetle attacks from Norway spruce edges. *Journal of Applied Entomology*, 135(10), 726–737. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2011.01624.x>
- Schiebe, C., Hammerbacher, A., Birgersson, G., Witzell, J., Brodelius, P. E., Gershenzon, J., Hansson, B. S., Krokene, P., & Schlyter, F. (2012). Inducibility of chemical defenses in Norway spruce bark is correlated with unsuccessful mass attacks by the spruce bark beetle. *Oecologia*, 170(1), 183–198. <https://doi.org/10.1007/s00442-012-2298-8>

- Schiebe, C., Unelius, C. R., Ganji, S., Binyameen, M., Birgersson, G., & Schlyter, F. (2019). Styrene, (+)-*trans*-(1R,4S,5S)-4-Thujanol and Oxygenated Monoterpenes Related to Host Stress Elicit Strong Electrophysiological Responses in the Bark Beetle *Ips typographus*. *Journal of Chemical Ecology*, *45*(5–6), 474–489. <https://doi.org/10.1007/s10886-019-01070-8>
- Schindler, T., & Kotzias, D. (1989). Comparison monoterpene volatilization and leaf-oil composition of conifers. *Naturwissenschaften*, *76*(10), 475–476. <https://doi.org/10.1007/BF00366228>
- Schlyter, F., & Cederholm, I. (1981). Separation of the sexes of living spruce bark beetles, *Ips typographus* (L.), (Coleoptera: Scolytidae)¹. *Zeitschrift Für Angewandte Entomologie*, *92*(1–5), 42–47. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1981.tb01650.x>
- Schlyter, F., & Löfqvist, J. (1986). Response of walking spruce bark beetles *Ips typographus* to pheromone produced in different attack phases. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *41*(3), 219–230. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1986.tb00532.x>
- Schlyter, F., Löfqvist, J., & Byers, J. A. (1987). Behavioural sequence in the attraction of the bark beetle *Ips typographus* to pheromone sources. *Physiological Entomology*, *12*(2), 185–196. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.1987.tb00741.x>
- Schmidt, A., Nagel, R., Kreckling, T., Christiansen, E., Gershenzon, J., & Krokene, P. (2011). Induction of isoprenyl diphosphate synthases, plant hormones and defense signalling genes correlates with traumatic resin duct formation in Norway spruce (*Picea abies*). *Plant Molecular Biology*, *77*(6), 577–590. <https://doi.org/10.1007/s11103-011-9832-7>
- Seidl, R., Müller, J., Hothorn, T., Bässler, C., Heurich, M., & Kautz, M. (2016). Small beetle, large-scale drivers: how regional and landscape factors affect outbreaks of the European spruce bark beetle. *Journal of Applied Ecology*, *53*(2), 530–540. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12540>
- Seidl, R., Schelhaas, M., & Lexer, M. J. (2011). Unraveling the drivers of intensifying forest disturbance regimes in Europe. *Global Change Biology*, *17*(9), 2842–2852. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2011.02452.x>

- Sentis, A., Ramon-Portugal, F., Brodeur, J., & Hemptinne, J. (2015). The smell of change: warming affects species interactions mediated by chemical information. *Global Change Biology*, *21*(10), 3586–3594. <https://doi.org/10.1111/gcb.12932>
- Sevanto, S., McDowell, N. G., Dickman, L. T., Pangle, R., & Pockman, W. T. (2014). How do trees die? A test of the hydraulic failure and carbon starvation hypotheses. *Plant, Cell & Environment*, *37*(1), 153–161.
- Sneddon, J., Masuram, S., & Richert, J. C. (2007). Gas Chromatography-Mass Spectrometry-Basic Principles, Instrumentation and Selected Applications for Detection of Organic Compounds. *Analytical Letters*, *40*(6), 1003–1012. <https://doi.org/10.1080/00032710701300648>
- Stříbrská, B., Hradecký, J., Čepl, J., Tomášková, I., Jakuš, R., Modlinger, R., Netherer, S., & Jirošová, A. (2022). Forest margins provide favourable microclimatic niches to swarming bark beetles, but Norway spruce trees were not attacked by *Ips typographus* shortly after edge creation in a field experiment. *Forest Ecology and Management*, *506*, 119950. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foreco.2021.119950>
- Stříbrská, B., Moliterno, A. A. C., Hüttnerová, T., Leiner, M., Surový, P., & Jirošová, A. (2023). Pilot Study of 3D Spatial Distribution of α -Pinene Emitted by Norway Spruce (L.) Karst Recently Infested by *Ips typographus* (L. 1758) (Coleoptera: Scolytinae). *Forests*, *15*(1), 10. <https://doi.org/10.3390/f15010010>
- Strom, B. L., Roton, L. M., Goyer, R. A., & Meeker, J. R. (1999). Visual and Semiochemical Disruption of Host Finding in the Southern Pine Beetle. *Ecological Applications*, *9*(3), 1028. <https://doi.org/10.2307/2641348>
- Swidrak, I., Schuster, R., & Oberhuber, W. (2013). Comparing growth phenology of co-occurring deciduous and evergreen conifers exposed to drought. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, *208*(10–12), 609–617. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2013.09.004>
- Turčáni, M., & Nakládal, O. (2007). The results of manipulated experiments with inoculation of *Ips typographus* (L., 1758) to spruce trees under various levels of water stress. *Journal of Forest Science*, *53*(Special Issue), 25–30. <https://doi.org/10.17221/2159-JFS>
- Wadke, N., Kandasamy, D., Vogel, H., Lah, L., Wingfield, B. D., Paetz, C., Wright, L. P., Gershenzon, J., & Hammerbacher, A. (2016). Catechol dioxygenases catalyzing the

- first step in Norway spruce phenolic degradation are key virulence factors in the bark beetle-vectored fungus *Endoconidiophora polonica*. *Plant Physiology*, pp.01916.2015. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01916>
- Watson, R., Baste, I., Larigauderie, A., Leadley, P., Pascual, U., Baptiste, B., Demissew, S., Dziba, L., Erpul, G., & Fazel, A. (2019). Summary for policymakers of the global assessment report on biodiversity and ecosystem services of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. *IPBES Secretariat: Bonn, Germany*, 22–47.
- Wermelinger, B. (2004). Ecology and management of the spruce bark beetle *Ips typographus*—a review of recent research. *Forest Ecology and Management*, 202(1–3), 67–82. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.07.018>
- Worrell, R. (1983). Damage by the spruce bark beetle in South Norway 1970-80: a summary, and factors affecting its occurrence. *Meddelser fra Norsk Institutt for skogforskning*. 1–34. Norwegian Forest Research Institute
- Zhang, Q., & Schlyter, F. (2004). Olfactory recognition and behavioural avoidance of angiosperm nonhost volatiles by conifer-inhabiting bark beetles. *Agricultural and Forest Entomology*, 6(1), 1–20. <https://doi.org/10.1111/j.1461-9555.2004.00202.x>
- Zhao, T. (2011). Conifer chemical defense: Regulation of bark beetle colonization and pheromone emission. *KTH Royal Institute of Technology*.
- Zhao, T., Kandasamy, D., Krokene, P., Chen, J., Gershenson, J., & Hammerbacher, A. (2019). Fungal associates of the tree-killing bark beetle, *Ips typographus*, vary in virulence, ability to degrade conifer phenolics and influence bark beetle tunneling behavior. *Fungal Ecology*, 38, 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2018.06.003>
- Zhao, T., Krokene, P., Björklund, N., Långström, B., Solheim, H., Christiansen, E., & Borg-Karlson, A.-K. (2010). The influence of *Ceratocystis polonica* inoculation and methyl jasmonate application on terpene chemistry of Norway spruce, *Picea abies*. *Phytochemistry*, 71(11–12), 1332–1341. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.05.017>