

Mendelova univerzita v Brně

Lesnická a dřevařská fakulta

Ústav geologie a pedologie

**Možnosti využití nového růstově stimulačního organického
přípravku a jeho variant, pro eliminaci vývoje**

Chalara fraxinea

Bakalářská práce

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: Možnosti využití nového růstově stimulačního organického přípravku a jeho variant, pro eliminaci vývoje *Chalara fraxinea* zpracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b Zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle §60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladu spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně, dne: 30. 4. 2015

podpis studenta

Poděkování

Ráda bych zde poděkovala Ing. Dagmar Palovčikové a Ing. Zuzaně Humplíkové za pomoc při práci v laboratoři, cenné rady a nové zkušenosti. Za pomoc v terénu patří můj dík doc. Dr. Ing. Dušanu Vavříčkovi a Bc. Jiřímu Rozsypálkovi. Také nesmím zapomenout poděkovat za podporu ze strany rodiny a přátel.

Tato práce vznikla za podpory projektu: Revitalizace ekosystémových jednotek s využitím ekologických přístupů na stanovištích v minulosti antropogenně ovlivňovaných lokalit a extrémních lokalit současnosti (evidenční číslo QJ1320040).

Jana Černohousová

Možnosti využití nového růstově stimulačního organického přípravku a jeho variant, pro eliminaci vývoje *Chalara fraxinea*.

Abstrakt

Patogen *Chalara fraxinea*, jedna z příčin chřadnutí jasanů, patří v současné době mezi nejzávažnějšího nepřítele jasanů. Nejdříve byly shrnuty poznatky o tomto patogenu a témat týkajících se výživy rostlin, hnojení rostlin a fytohormonů. Dále byly v bakalářské práci řešeny dva hlavní směry výzkumu. První směr nás zavedl do laboratoře, kde se v podmínkách in vitro řešily reakce mycelia *Chalara fraxinea* na aplikované varianty organického přípravku s hypoteticky různou fungicidní intenzitou. Druhý směr byl soustředěn do jasanových porostů, kde se na listy jasanů aplikovaly stejné přípravky jako v laboratoři. Na základě hodnocení zdravotního stavu jasanů se zkoumala účinnost přípravků. Výsledky by měly napomoci v boji proti *Chalara fraxinea*.

Klíčová slova: *Chalara fraxinea*, inokulum, jasan ztepilý, organominerální přípravky

Possibilities of new growth-stimulatory organic product and its variants, to eliminate developments *Chalara fraxinea*.

Abstract

Pathogen *Chalara fraxinea*, one of the causes wasting of ash, is currently one of the most serious enemy of ash. At first, in this thesis there were summarized knowledge about *Chalara fraxinea* and related topics. There were addressed two main research directions. The first direction led us to the laboratory, in vitro there were addressed response of mycelium *Chalara fraxinea* to applied organomineral products. The second direction was concentrated in the ash stands, there were applied the same products as in the laboratory, but the products were applied on leaves of ash trees. There were examined the efficacy of products based on health assessment ash. The results should help in the fight against *Chalara fraxinea*.

Keywords: Ash, *Chalara fraxinea*, inoculum, organomineral products

Obsah

1	Úvod	8
2	Cíl práce.....	9
3	Literární přehled	10
3.1	Půda.....	10
3.2	Minerální výživa rostlin	11
3.3	Příjem živin rostlinami	11
3.4	Přehled vybraných prvků	12
3.4.1	Dusík.....	12
3.4.2	Fosfor	13
3.4.3	Draslík.....	13
3.4.4	Vápník.....	14
3.4.5	Hořčík	15
3.4.6	Síra	15
3.5	Hnojení v lesním ekosystému	16
3.6	Historie výzkumu rostlinných hormonů.....	17
3.7	Použití růstových stimulátorů v lesnictví.....	18
3.7.1	Auxiny	18
3.7.2	Cytokininy	19
3.7.3	Gibereliny	20
3.7.4	Kyselina abscisová.....	21
3.7.5	Etylen	21
3.7.6	Další látky s růstově regulační aktivitou.....	22
3.8	Rostlinné hormony a stres způsobený houbovými patogeny.....	23
3.9	Charakteristika rodu jasan.....	23
3.9.1	Jasan ztepilý (<i>Fraxinus excelsior</i> L.).....	24
3.9.2	Choroby a škůdci jasanů	25
3.10	Patogen <i>Chalara fraxinea</i>	27
3.10.1	Taxonomické zařazení	27
3.10.2	Hostitelé patogenu <i>Chalara fraxinea</i>	27
3.10.3	Rozšíření v Evropě.....	27
3.10.4	Rozšíření v ČR.....	28

3.10.5	<i>Chalara fraxinea</i> (telemorfa: <i>Hymenoscyphus pseudoalbidus</i> , syn. <i>H. fraxineus</i>).....	28
3.10.6	Typické symptomy pro onemocnění houbou <i>Chalara fraxinea</i>	29
3.10.7	Nákaza jasanu	30
3.11	Wormsaktiv Stimul	30
3.12	Širší charakteristika území	31
4	Metodika práce	32
4.1	Fytopatologická část – laboratorní práce	32
4.1.1	Popis metodiky laboratorních prací	32
4.1.2	Používaný kmen <i>Chalara fraxinea</i>	32
4.1.3	Pracovní pomůcky	32
4.1.4	Příprava živného média a práce s ním	32
4.1.5	Sterilizace pracovních nástrojů.....	34
4.1.6	Práce s izolovaným materiálem v podmínkách in vitro.....	35
4.1.7	Přípravky.....	35
4.1.8	Přikládání roztoku k myceliu houby	37
4.1.9	Časový harmonogram prováděných prací u jednotlivých pokusů.....	38
4.1.10	Metoda vizuálního hodnocení.....	40
4.1.11	Metoda statistického vyhodnocení.....	40
4.2	Pedologická část – terénní práce	40
4.2.1	Výběr a rozčlenění výzkumných ploch	40
4.2.2	Výkop půdní sondy a odběry půdních vzorků	41
4.2.3	Aplikace přípravků	42
4.2.4	Zhodnocení zdravotního stavu jednotlivých dřevin.....	42
4.3	Pedologická část – laboratorní práce.....	43
4.3.1	Stanovení fyzikálních a hydrofyzikálních vlastností půd	43
4.3.2	Stanovení fyzikálně-chemických a chemických vlastností půd	43
5	Výsledky.....	44
5.1	Fytopatologická část.....	44
5.1.1	Vizuální hodnocení	44
5.1.2	Statistické hodnocení	54
5.2	Pedologická část.....	59
5.2.1	Plocha 1.....	59
5.2.2	Plocha 2.....	67

6	Diskuze	71
7	Závěr.....	74
8	Summary.....	76
9	Seznam literatury	77
10	Seznam obrázků a tabulek	81
10.1	Seznam obrázků	81
10.2	Seznam tabulek	82
11	Přílohy	83

1 Úvod

Rostliny jsou v neustálém vztahu s půdou, která významně ovlivňuje jejich růst a vitalitu. Výrazně jim předurčuje budoucí vývoj. Lesní půda a její vlastnosti se mohou měnit nejen přirozenými vlivy, ale i působením lidské činnosti. V současné době, pokud půdní podmínky nesplňují pro rostliny některé základní požadavky, má člověk k dispozici určité prostředky, kterými může docílit zlepšení půdních vlastností nebo přímo ovlivnit růst, vitalitu a regeneraci rostlin (např. fytohormony). Ať už se jedná o různé typy přípravy půdy (biologická, chemická, mechanická) nebo aplikaci přípravků rovnou na rostlinu. Aby se rostliny mohly lépe bránit různým negativním vlivům, potřebují být v dobrém zdravotním stavu a co nejméně stresovány. Dále jim lze použitím vhodných látek (např. fungicidy) pomoci v boji s různými patogeny.

V současné době rod jasan zahrnuje cca 60 až 65 druhů, z nichž je v ČR lesnický nejvýznamnější jasan ztepilý (*Fraxinus excelsior* L.). V roce 2013 zaujímal z celkové dřevinné skladby ČR 1,4 %. Na území našeho státu se vyskytuje se ve třech ekotypech: lužní, horský, vápencový. Lze se s ním setkat od nížin do hor. Z jeho přirozeného výskytu lze vyvozovat přítomnost hlubších a kvalitních půd. Mezi hlavní přínos jasanu pro krajinu spočívá v meliorační a zpevňující funkci, zvyšování biodiverzity a pro lidstvo je také významné kvalitní dřevo. Je tedy velmi důležité, aby se jasan na našem území zachoval.

Mezi hlavní současně řešenou problematiku ve spojení s jasanými patří chřadnutí jasanů způsobené patogenem *Chalara fraxinea*. Není to záležitost pouze na území České republiky, ale v podstatě celého světa. Problém nespočívá jenom tam, kde se jasan vyskytuje, ale i v oblastech kam se dováží jeho kvalitní dřevo a výrobky. Proto v této práci budou zkoumány nové možnosti v boji proti patogenu *Chalara fraxinea*.

Chalara fraxinea byla poprvé popsána T. Kowalskim v Polsku v roce 2006, ačkoliv chřadnutí jasanů bylo pozorováno o několik roků dříve. V prvních fázích výzkumu byl za telemorfnní stádium považován *Hymenoscyphus albidus*, avšak později došlo k úpravě na *Hymenoscyphus pseudoalbidus*. Nejnovějším synonymem je pro toto stádium je *Hymenoscyphus fraxineus*. Mezi hlavní příznaky této patogenní houby patří léze v okolí pupenů a nasazení letošních letorostů, odumírání kambia, letorostů a předčasné usychání a opad listů. V důsledku obranných mechanismů se snaží uhynulé části nahradit ze spících pupenů tvorbou vlků, avšak v mnoha případech je napadení tak rozsáhlé, že jasan odumírájí.

2 Cíl práce

Prvním cílem je srozumitelně a uceleně zpracovat aktuální poznatky o hnojení, výživě rostlin, fytohormonech, jasanu ztepilém, patogenu *Chalara fraxinea*, použitých přípravcích a charakterizovat zájmové území. Hlavním cílem práce je pak ověřit, zdali organominerální přípravky a jejich varianty aplikované v laboratorních podmínkách a na výzkumných plochách potlačují růst *Chalara fraxinea*. Na výzkumných plochách je dalším záměrem zjistit vlastnosti půd. Dále pak zhodnotit celkovou situaci problematiky.

3 Literární přehled

3.1 Půda

Vavříček, Kučera (2015) definují půdu jako útvar, který je výsledkem rozpadu matečného materiálu a různých modifikací. Tyto přeměny se uskutečňují pod vlivem atmosférických, biologických, mechanických faktorů a jejich kombinacemi v průběhu času. Také ji formulují jako produkt rozpadu, přeměny a uspořádání svrchních vrstev zemské kůry, který podléhá organismům, atmosféře a změnám na určitém místě. Jedná se tedy o komplexní a dynamické prostředí, které vzniká pod vlivem vnějších činitelů (litosféra, hydrosféra, atmosféra, biosféra) a vnitřních činitelů (vlastní půdotvorné procesy).

Dále byla popsána jako „*samostatný přírodně historický útvar, který vzniká a vyvíjí se z povrchových zvětralin zemské kůry a zbytků organismů působením půdotvorných faktorů a je schopný zajišťovat životní podmínky organismům v něm žijících. Jako půda se také označuje svrchní část litosféry, do které zasahují půdotvorné procesy*“ (Šimek 2007).

Půda představuje útvar, který se podílí na tvorbě krajinného rázu se všemi jejími součástmi, jako jsou lesní, zemědělské a městské půdy (Vavříček, Kučera 2015). Neodmyslitelně patří mezi základní složky lesního ekosystému. Tvoří substrát, který umožňuje výživu, vodní režim a mechanickou stabilitu lesních porostů. Současný stav lesních půd je výsledkem dlouhotrvajícího vývoje (Šrámek, Novotný 2013).

Rostliny jsou v neustálé interakci s půdou. Právě ona podstatně určuje všechny vlastnosti lesního porostu – jeho složení, bonitu, lesní typ, obnovu lesa, jeho vývoj a zánik. Naproti tomu les podmiňuje typ půdních procesů – narůst nebo úbytek organických látek, strukturu půdy, zásoby minerálních látek, teplotu, vlhkost, klima, objem vzduchu. Les je tedy zároveň příčinou, tak i následkem utváření lesní půdy. Lesní půda se může měnit nejen přirozenými vlivy, ale i působením lidské činnosti, a dokonce se její stav může ovlivnit cílenými hospodářskými zásahy (Poleno a kol. 2007b). Narušení půdních vlastností negativně působí na les z hlediska zdravotního stavu i produkce. To může vézt až k celkovému rozkladu lesních ekosystémů na jiný typ rostlinných společenstev. V lesním hospodářství se počítá s dlouhotrvající udržitelností půdních vlastností. Jde-li o chemické vlastnosti půdy, tak se počítá s tím, že živiny a další prvky odnášené v rámci dlouhodobého produkčního cyklu se mohou doplnit zvětráváním nebo dalšími vstupy z okolního prostředí (Šrámek, Novotný 2013).

3.2 Minerální výživa rostlin

Minerální výživu rostlin je možno chápat jako proces zapojování zejména biogenních prvků do látek vytvářejících tělo rostliny (Kincl, Krpeš 2000). Také ji lze popsat jako začlenění látek s nízkou chemickou energií do struktury organických látek na účet energie získané různými metabolickými procesy (Vavříček, Kučera 2015).

Za rostlinné živiny se považují prvky, které jsou nepostradatelné pro normální růst a vývoj rostlin a nelze je plně nahradit jiným prvkem. Tyto prvky (15–18 biogenních prvků) se dělí na hlavní živiny/prvky makrobiogenní (C, O, H, N, S, P, K, Ca, Mg) a stopové prvky/prvky mikrobiogenní (Cu, Zn, Mn, Mo, B, Fe). Hranice mezi nimi se většinou uvádí koncentrace těchto prvků v rostlinné hmotě 100 ppm. Prvky C, O, H, N, S, P tvoří cca 90% živé hmoty. Z půdního roztoku jsou živiny přijímány převážně jako jednoduché sloučeniny v anorganické formě. Zdrojem živin v půdě jsou zvětrávající horniny, humus, ale také antropogenní imise (dusík) (Poleno a kol. 2007a).

Při dodávání látek do systému je důležité věnovat pozornost ekologii daného prostředí, ať jde o lesní stanoviště nebo lesní školky. V minerální výživě lesního prostředí se musí počítat s dlouhodobostí fyziologických procesů rostlin a koloběhů látek. Důležitou roli hraje také Liebigův zákon minima, ze kterého vyplývá, že životní podmínky organismu jsou limitované faktorem prostředí, který je v rámci určitého ekosystému v minimu. Jestliže tento faktor chybí, dochází k omezení života a rozvoje organismu (Vavříček, Kučera 2015).

3.3 Příjem živin rostlinami

Vavříček, Kučera (2015) popisují dva základní způsoby příjmu živin rostlinami: kořenová výživa a foliální (listová) výživa.

U kořenové výživy jsou živiny z půdy přijímány z půdního roztoku nebo z pevné fáze. Ionty z půdního roztoku se dále dostávají do cytoplazmy pomocí speciálních nosičů. Poté mohou být hned zapojeny do látkové výměny (N, P, S) nebo ionty jsou prozatím pohlceny a uloženy ve vakuolách nebo se pomocí xylému přemisťují do nadzemních orgánů. Prvky K, N, P a S se v rostlinných pletivech pohybují snadno, obtížněji Zn, Fe a Mn a obtížně Ca a Mg. Živiny rostliny přijímají buď pasivně, nebo aktivně. Pasivní transport nespotřebovává metabolickou energii, protože je založen na difuzi. Naopak aktivní transport probíhá proti koncentračnímu spádu, přičemž

spotřebovává metabolickou energii. Tuto činnost obstarává tzv. protonová pumpa (sodíko-draslíková pumpa).

Intenzita kořenové výživy záleží na množství vody a vzduchu v půdě, půdní reakci, obsahu živin v půdě, intenzitě syntézy živin do organických vazeb. Pokud se jedná o hnojení, tak na způsobu aplikace hnojiva.

K zvýšení účinnosti sorpční schopnosti kořenů přispívá vytvoření mykorrhizy. Na ní se podílejí hlavně plísňe, dále houby vřeckaté, stopkovýtrusé a především mycelium kloboukatých hub. Mykorrhiza příznivě působí v půdách s nedostatkem humusu a vody. Dále tam, kde se pomalu rozkládá organická hmota (Mosse, Roger 2004).

Foliální výživa se uskutečňuje nejen skrze asimilační orgány, ale i plody. Při tomto způsobu výživy se účinek hnojiv zvyšuje až o 85 %, dále dochází ke zvýšení příjmu některých živin kořenovým systémem. Výhodou je, že se snižuje riziko z přehnojení půdy a živiny lze cíleně aplikovat na určité místo (Vavříček, Kučera 2015).

Po aplikaci roztoku živin vstupují jednotlivé ionty do kutikuly tvořené z kutinu a vosku. Kutikula má houbovitou strukturu umožňující pomalý pohyb vody a v ní rozpuštěných živin. Navlhčení povrchu listu zvyšuje hydrataci a bobtnání kutikuly, což vede k větší propustnosti. Pro propustnost buněčných stěn jsou poměrně dobře vodivé pektinové látky prostupující kutikulou (Procházka a kol. 1998)

Podle Vavříčka, Kučery (2015) jsou hlavními aspekty ovlivňující efektivitu foliální výživy stavba a stáří listů, doba ošetření hnojivem během vegetační sezóny a koncentrace hnojivé látky.

3.4 Přehled vybraných prvků

3.4.1 Dusík

Dusík se řadí mezi nejrozšířenější prvky. Nachází se v atmosféře, hydrosféře a litosféře. V půdě celkový obsah kolísá v rozmezí 0,1–0,2 %. Nejvýznamnějším zdrojem pro rostliny nepřístupného dusíku je atmosféra, kde se vyskytuje převážně v dvouatomové formě jako N_2 . Některé bakterie a sinice mají schopnost vázat molekulární dusík (N_2) a zpřístupnit jej rostlinám.

Organická hmota v půdě představuje největší zásobárnu dusíku, v níž je dusík obsažený ve formě organického dusíku. Ten se stane pro rostliny přístupný, pokud se působením mikroorganismů přemění na minerální formu. Na celkovém obsahu dusíku v půdě se organický dusík podílí z 85–95 %. Minerální dusík zaujímá cca 10 %

z celkového obsahu půdního dusíku. V půdě se pro rostliny přístupný dusík vyskytuje ve dvou anorganických formách, a to jako amonný iont (NH_4^+), nebo jako nitrát (NO_3^-). Amoniakální forma dusíku je přítomna i v anaerobních podmínkách, zatímco pro nitráty jsou převážně typické aerobní podmínky. Amoniakální formu preferuje např. smrk.

Důležitost tohoto prvku spočívá při tvorbě chlorofylu, dále se podílí na stavbě aminokyselin, bílkovin, protoplazmy, DNA a RNA, chitinu, peptidoglykanů tvořících buněčné stěny, enzymů a mnoha dalších látek (Vavříček, Kučera 2015)

Mezi vizuální změny nedostatku dusíku patří barevné změny na starších jehlicích a listech ve spodní části koruny. Zbarvení je nejdříve světle zelené až žluté po celé ploše asimilačních orgánů, později se barví do hnědožluta, před opadem do oranžova až červena. Se zvyšujícím nedostatkem změny postupují k mladším částem koruny. Dále lze pozorovat zeslabení růstu, menší rozměry jehlic a listů, opožděný začátek rašení, předčasně ukončený růst a dřívější opad asimilačního aparátu (Poleno a kol. 2009).

3.4.2 Fosfor

Fosfor spadá mezi nepostradatelné makrobiogenní prvky. Primárním zdrojem jsou fosforečné minerály v matečných horninách (apatit...). V půdě se nachází v organických a anorganických vazbách (Klímko 2000) a v poměrně malém množství do 0,15 % (Vavříček, Kučera 2015).

Fosfor tvoří složku mnoha důležitých sloučenin. K nejdůležitějším patří zejména fosfolipidy jako složka membrán, fosforylované sacharidy a bílkoviny, ribonukleová a deoxyribonukleová kyselina, adenyláty a sloučeniny ADP a ATP. Významně se podílí na metabolických procesech (Procházka a kol. 1998).

Nedostatek fosforu ve výživě dřevin lze pomoci vizuálních změn asimilačního aparátu obtížně rozeznat. Typicky se zbarvuje do tmavozelena až modrozelená. Listy jsou matné, kožovité, na spodní straně čepele často červené až fialové. Někdy se na okrajích vyskytují žlutohnědé až červenohnědé pŕlměsíce. Později od špičky zasychají a dochází k jejich předčasnému opadu (Poleno a kol. 2009).

3.4.3 Draslík

Primárním zdrojem draslíku v půdě jsou sopečné minerály (živce, muskovit). Jejich zvětráváním draslík přechází na rozpustnější formy, které rostliny již mohou

využit (Klimo 2000). Podíl draslíku v půdách se pohybuje okolo 0,5–3,2 %, nižší je pouze v písčitéch a rašelinných půdách (Vavříček, Kučera 2015).

Význam draslíku se převážně spojuje s regulací vodního provozu. Řadí se mezi nejvýznamnější rostlinná osmotika. Dále hraje roli při dlouhivém růstu buněk. Přispívá k udržení iontové rovnováhy v rostlině a elektroneutrality v buněčných kompartmentech. Také je spojován s více než 60 enzymy. Podílí se na vytváření polymerů (škrob, bílkoviny). Představuje klíčovou roli při otevírání průduchů a nastických pohybech. Při fotosyntéze ovlivňuje syntézu bílkovin, především enzymu Rubisco (Procházka a kol. 1998). Při zlepšení výživy draslíkem se u rostlin zvýší odolnost vůči vadnutí a mrazu (Klimo 2000).

Při nedostatku draslíku je růst dřevin zpočátku normální, listy a jehlice jsou tmavozelené. Postupně na starších listech a jehlicích ve spodní části koruny dochází k nástupu lehké chlorózy, později k charakteristické nekróze na listových špičkách rozšiřující se až na okraj listů. Listy se stáčí dolů a lžičkovitě vyboolí (kadeřavost listů). U jehlic lze pozorovat zažloutnutí, případně měďnatě červené zbarvení. U listů se hnědě barví okraje a špičky. Listy následně odumírají, ale uschlé zůstávají na dřevinách. Výhony jsou málo zdřevnatělé a při větším deficitu odumírají. Asimilační orgány dosahují menších rozměrů. Roste náchylnost dřevin k plísňovým onemocněním (Poleno a kol. 2009).

3.4.4 Vápník

V půdním prostředí rostlin jsou zdrojem vápníku karbonátové horniny (vápenec, dolomit). Dále může být vázán ve formě silikátů (amfibol, angit), také se vyskytuje v horninách usazených (pískovec, opuka) nebo v dalších minerálech (apatit, sádrovec) (Klimo 2000).

Vápník patří mezi důležitou složku některých buněčných membrán a hraje podstatnou úlohu v jejich elasticitě. Snižuje membránovou propustnost a potlačuje vstup draslíku, železa a těžkých kovů do buněk. Zabraňuje tak intoxikaci rostliny. Nicméně může omezovat rostliny o některé oligoelementy kovů (Fe, Zn, Cu, Mn). Také snižuje příjem H^+ (působí jako pufr proti působení iontů H^+), Mg^{2+} a NH_4^+ , naopak podněcuje příjem NO_3^- a Cl^- . Vápník, tak jako draslík přispívají k elektroneutralitě mízy (Vavříček, Kučera 2015).

Na akutní nedostatek vápníku trpí dřeviny pouze v silně kyselých půdách a substrátech. Dochází k odumírání vrcholových partií výhonů a stáčení čepelí

u nejmladších listů. Příznaky nejsou snadno identifikovatelné, protože mají častý souběh s deficitem jiných živin (Poleno a kol. 2009).

3.4.5 Hořčík

V půdě se hořčík vyskytuje jako silikát (olovín, angit, ambifol), nebo v karbonátové formě je vázán spolu s vápníkem jako dolomit (Klimo 2000). Je tam přítomný především jako výměnný, navázaný na humuso-jílovém sorpčním komplexu, odkud ho rostliny z půdy odnímají. Půda obsahuje hořčík většinou v menší míře než vápník. Na sorpčním komplexu hořčík zaujímá 5–20 %, zatímco vápník cca 69–90 %. Toto neplatí na hadcových substrátech, kde je Mg obsažen v 3–9krát vyšších koncentracích než Ca. U těchto substrátů dochází k poruše výživy rostlin (Poleno a kol. 2009).

Hořčík má velký význam v procesu fotosyntézy, a to nejen jako složka chlorofylu, ale také se podílí na tvorbě gran a světlosběrných pigmentů v chloroplastech, kde je soustředěno cca 20 % Mg. Ve stromatu se podílí na aktivaci enzymu Rubisco. Syntéza bílkovin a aktivace DNA-polymerázy se také bez Mg neobejde (Procházka a kol. 1998).

Příznaky nedostatku hořčíku se opět objevují nejdříve u nejstarších jehlic a listů. Dochází k poruše tvorby chlorofylu, to má za následek tvorbu bledě zelených až žlutých chlorotických skvrn. Na listech vzniká typické mramorování. Při přetrvávajícím deficitu vznikají odumírající našedlé plošky, které se postupně rozšiřují a odumírají. Může také docházet ke svinování okrajů listů a hnědému zabarvení. Toto vše vede k dřívějšímu usychání a opadávání listů. U jehlic se nedostatek Mg projevuje podobně jako při nedostatku K (Poleno a kol. 2009).

3.4.6 Síra

Obsah síry v půdách se pohybuje v rozmezí 0,01–0,5 %. Anorganická síra je v půdě přítomna převážně ve formě solí a iontů. Sulfidy zvětrávají na sírany, jejichž podíl na celkovém obsahu síry v půdě zaujímá 10–15 %. Z nich se hlavně tvoří sádrovce, nebo v anaerobních podmínkách vznikají sulfidy.

Většinu síry v půdě tvoří organická síra, a to až 95 % z celkového obsahu síry. Váže se na obsah organických látek v půdě a vyskytuje se v mnoha sloučeninách (např. sírné aminokyseliny, methionin, cystein, cholinsulfát, sulfolipidy, sulfonové kyseliny, sulfátované polysacharidy). Podílí se na stavbě některých enzymů a bílkovin. Rostlinné kořeny přijímají síru ve formě aniontu SO_4^{2-} .

Sírany jsou efektivněji adsorbovány v podmínkách se zvýšeným obsahem hliníku, proto jich kyselé půdy obsahují více. K desorbci síranů dochází při vyšších hodnotách pH (např. v důsledku vápnění).

V posledních desetiletích vstupovala síra do půdy hlavně z atmosféry. K velkým producentům síry do atmosféry patřily tepelné elektrárny. Jejich odsířením došlo ke snížení kyselosti dešťů, zmírnění acidifikace půdy, ale také vznikl deficit ve výživě sírou.

Při nedostatku síry ve výživě lesních dřevin se hromadí nesíraté aminokyseliny (hlavně arginin). Právě ten slouží jako potrava pro foliální houbové patogeny (např. *Dilodia pinea*, *Dothistroma septospora*). Proto houby mohou rychleji růst a způsobovat větší škody. Houbový patogen v těchto případech patří mezi druhotné příčiny deformace růstu a defoliace jako následek narušené výživy (Vavříček, Kučera 2015).

Příznaky deficitu síry jsou podobné nedostatku dusíku. Projevem jsou světlezelené listy s nervaturou světlejší než pletivo a s nekrotickými skvrnami. Dochází ke zpomalení růstu (Poleno a kol. 2009).

3.5 Hnojení v lesním ekosystému

Nárovec (2001) popisuje hnojení jako cílevědomou činnost, jejímž záměrem je dodat hnojivé látky (hnojiva) do životního prostředí. Slouží k upravení zásoby množství živin v půdě a jejich vzájemného poměru. Lesním dřevinám může hnojení přímo poskytovat i živiny ve snadno přijatelné formě. Hnojení lesů patří k cíleným péstebním opatřením.

Nárovec (2001); Poleno a kol. (2009); Vavříček, Kučera (2015) upozorňují na to, že hnojení a aplikaci různých látek musí nutně předcházet důkladný a komplexní rozbor situace a uvážení všech důsledků provedeného opatření. Před samostatným hnojením je nezbytné provést souhrnný rozbor půdy a také zpravidla rozbor asimilačního aparátu. Nejvyužívanější jsou dva základní typy hnojení, a to základní a operativní hnojení.

Pokud je cílem hnojení úprava fyzikálních, chemických a biologických vlastností půd (produkční schopnosti půd), jedná se o základní hnojení. Slouží pro nastartování regradčních a revitalizačních procesů na degradovaných stanovištích. Základní hnojení se dá podle účelu rozdělit na meliorační, kompenzační, udržovací,

startovací a zásobní hnojení. Hnojivé materiály obsahují nejčastěji vápník, hořčík a v menší míře fosfor (Vavříček, Kučera 2015).

Poleno a kol. (2009); Vavříček, Kučera (2015) se také shodují na rozmezí dávek hnojiv. U vápenatých hnojiv se tato hranice pohybuje okolo 400–1 600 kg čisté živiny Ca na 1 ha. U fosforečného hnojení může být 40–80 kg čisté živiny P na ha. Dávkování je ovlivněno stavem porostu, humusovou formou, půdním typem a chemizmem.

Operativní hnojení (přihnojování) představuje doplňování živin při akutním, latentním či chronickém deficitu určitého bioelementu nebo při zhoršeném zdravotním stavu. Přímo se tak ovlivňují podmínky výživy rostlin. Toto hnojení lze použít ve všech věkových stádiích porostů. U mlazin, středních a starších porostů se aplikace hnojiva provádí nejčastěji plošně. Lokálně se hnojí mladé a staré proředěné porosty. Nejvhodnější období pro aplikaci je jaro (období maximálního příjmu živin rostlinami).

3.6 Historie výzkumu rostlinných hormonů

Růst rostlin byl na přelomu 19. a 20. století vysvětlován hlavně v souvislosti s procesy výživy. Prvním kdo vyjádřil hypotézu o existenci chemických signálů (tzv. morfogenů), které umožňují komunikaci mezi jednotlivými orgány rostlin, byl německý botanik Julius von Sachs (1832–1897). Tuto domněnku dále rozvinul Rudolf Dostál (Procházka a kol. 1998). R. Dostál také patřil k významným profesorům na Vysoké škole zemědělské v Brně (Šebánek 2009). Na konci dvacátých let 20. století se začaly růstové látky rostlin označovat jako rostlinné hormony (fytohormony). Za nejdéle známý rostlinný hormon se považuje auxin, jehož podstatu objasnil F. W. Went (1928). Růstové regulátory jsou uměle syntetizované sloučeniny s účinky podobnými fytohormonům. Také je mohou přirozeně tvořit organismy, avšak mimo rostlin. Naopak fytohormony jsou syntetizovány pouze rostlinami (Procházka a kol. 1997).

Rostlinné hormony jsou nízkomolekulární látky podílející se podstatným způsobem na vývoji rostlin a regulaci růstu. Jejich důležitost spočívá v komunikaci mezi buňkami, pletivy a orgány v průběhu celého životního cyklu rostlin. Vývojové procesy rostlin nejsou regulovány jednotlivými hormony samostatně, naopak společně s dalšími hormony (Podlešáková a kol. 2012). Nenajde se růstový proces, který by byl regulován pouze jedním rostlinným hormonem a dále neexistuje rostlinný hormon, který by ovlivňoval výhradně jediný růstový proces. Hormony se syntetizují v jedné

části rostliny a dále se přemísťují do jiné části rostliny, kde vyvolají fyziologickou reakci (Procházka a kol. 1997).

Účinky hormonů mohou být synergické (v součinnosti), nebo antagonické (protichůdné). V rostlinách se navíc nacházejí další látky s růstově regulační aktivitou. Na rozdíl od látek s růstově regulační aktivitou se rostlinné hormony vyznačují nižšími koncentracemi a vyššími účinky. V rostlinných pletivech se rostlinné hormony vyskytují ve velmi nízkých koncentracích (Podlešáková a kol. 2012).

Procházka a kol. (1998) řadí mezi rostlinné hormony auxiny, cytokininy, gibbereliny, kyselinu abscisovou a etylen. Mezi látky s růstově regulační aktivitou člení zejména brassinosteroidy, polyaminy, kyselinu jasmonovou, oligosachariny a fenolické látky. Procházka a kol. (1997) uvádějí rozdělení rostlinných hormonů na „stimulátory“ (podporující růst) a „inhibitory“ (brzdící růst). Avšak dále vysvětlují, že toto rozdělení je nepřesné, protože i „stimulátor“ ve vyšších koncentracích může růst inhibovat a na druhou stranu „inhibitor“ v nízkých koncentracích může účinkovat jako „stimulátor“. Auxiny, cytokininy a gibbereliny mají na růstové a vývojové procesy spíše stimulační účinky, naopak kyselina abscisová má převážně účinky inhibující.

3.7 Použití růstových stimulátorů v lesnictví

Růstové stimulátory mohou být pevné nebo kapalné přípravky. Pevné přípravky jsou granulované či tabletované formy. Aplikace se většinou provádí přímo do půdy. Naopak přípravky v kapalném stavu, které se zpravidla získávají jako výluhy z kompostů, vermikompostů, se aplikují na list formou postřiku. V lesnictví se začaly růstové regulátory využívat teprve v nedávné době. Tomuto rozvoji napomohlo zjištění, že vápnění lesních porostů nemá pouze kladné účinky. Proto se hledala nová alternativa.

Využití těchto přípravků je v lesních školkách, na nepříznivých stanovištích s extrémním působením abiotických činitelů a stanovištích postižených antropogenními vlivy, dále pomáhají v boji proti houbovým patogenům. Uplatnění spočívá ve zvýšení produkce biomasy, zlepšení životaschopnosti a regenerace dřevin (Vavříček, Kučera 2015).

3.7.1 Auxiny

Objev auxinu, nejdéle známého rostlinného hormonu, vyšel ze studia gravitropizmu (ohyby kořenů ve směru gravitace při překonávání překážek)

a fototropizmu (ohyby nadzemních orgánů za světlem). Nejvíce se o tento objev zasloužili Charles Darwin a F. W. Went. Wentovi se podařilo prokázat, že špičky koleoptilí ovsu vytváří látku, která proniká do agaru a stimuluje prodlužovací růst (Procházka a kol. 1997). Kincl, Krpeš (2000) uvádějí další experiment: koleoptile ovsu se při jednostranném osvětlení nahnou ke světlu (tzv. pozitivní fototropismus). Tento ohyb koleoptile vyvolává auxin vznikající ve vrcholku koleoptile a pohybuje se na straně odvrácené od světla k bazální části, kde zrychlí prodlužování buněk. Následkem zrychlené prodlužovací fáze buněk se koleoptile nakloní za světlem. Pozitivní fototropismus nenastane, když odstraníme vrcholovou část nebo vrchol zatemníme.

Struktura všech auxinů má společný aromatický skelet s karboxylovou skupinou v postranním řetězci. Kyselina indolyl-3-octová (IAA) patří mezi hlavní zástupce přirozených auxinů. Dále se v rostlinách nacházejí látky auxinové povahy, které jsou však zastoupeny v mnohem menším množství než u přirozených auxinů. Mezi ně patří látky, jako jsou kyseliny 4-chlor-indolyl-3-octová (4-Cl-IAA), indolyl-3-máselná (IBA) nebo fenyl-3-octová (PAA) (Podlešáková a kol. 2012).

Auxin se syntetizuje především v primárních meristémech, hlavně ve vrcholových pletivech stonku, v mladých listech, ale i v sekundárních meristémech, např. v kambiu, lýku i felogenu. U auxinu převládá pohyb od vrcholu k bázi (bazipetální) nad pohybem od kořene k vrcholu (akropetální) (Kincl, Krpeš 2000).

Mezi hlavní fyziologické účinky auxinu patří stimulace prodlužujícího růstu, se kterou souvisí i úloha auxinu v regulaci tropizmů a tím přispívá k udržování polaritativy rostlin. Za další významnou funkci auxinu se považuje regulace apikální (vrcholové) dominance. Při oddělení vrcholu či inhibici transportu auxinu dochází k uvolnění úžlabních pupenů z inhibice a tím k jejich růstu. Podobným způsobem je udržována dominance plodů. K dalším podstatným účinkům auxinu patří tvorba adventivních kořenů a stimulace dělení buněk. Auxin se v minulosti využíval jako herbicid. V současné době se používá ke stimulaci zakořeňování řízků. Dále spolu s cytokininy patří mezi základní složku medií pro tkáňové kultury (Procházka a kol. 1998).

3.7.2 Cytokininy

K objevu cytokininů vedl rozvoj technik rostlinných tkáňových kultur. K cytokinezi v rostlinných explantátech směřlo dojít pouze za přítomnosti určitých látek

schopných stimulace buněčného dělení. Proto tyto látky byly nazvány jako cytokininy (Procházka a kol. 1997; Procházka a kol. 1998).

Procházka a kol. (1997) uvádějí, že v současnosti známe více než 30 přirozených cytokininů. Struktura veškerých cytokininů vychází z adeninu substituovaného na exocyklické aminoskupině v poloze N-6.

K jejich syntéze dochází v kořenech, zejména ve vrcholových částech kořenů. Odtud jsou vedeny do těla rostliny vzestupným transpiračním proudem uvnitř xylému (Kincl, Krpeš, 2000). V rostlinných buňkách je hladina cytokininů regulována ostatními fytohormony, zejména auxinem (Procházka a kol. 1997).

Nejdůležitějším účinkem cytokininů je stimulace buněčného dělení. Vysoké koncentrace aktivních cytokininů nalezneme především v meristematických, intenzivně se dělících pletivech. Dále cytokinin působí jako antagonist auxinu, tím dochází k potlačení apikální dominance. Aplikace cytokininů podporuje větvení stonku (Procházka a kol. 1998). Také se účastní klíčení semen, vývoji kořene a prýtu, řídí stárnutí listů, velikost semen a odpověď na stresy prostředí (Podlešáková a kol. 2012).

Procházka a kol. (1998) považují za nejvýznamnější využití cytokininů (spolu s auxiny) v rostlinných biotechnologiích (složka kultivačních médií). U okrasných rostlin se používají pro podporu větvení. Dále prodlužují období fotosyntetické výkonnosti rostlin a zvyšují produkci biomasy. Lze je také aplikovat pro zvyšování odolnosti rostlin ke stresovým podmínkám.

3.7.3 Gibereliny

V rostlinách byly gibereliny objeveny v padesátých letech minulého století. Avšak známy byly již dříve jako účinné látky houby *Gibberella fujikuroi*, která způsobuje chorobu rýže zvanou *bakanae*. Odtud získaly gibereliny své jméno. Účinkem choroby se urychluje dlouhý růst rostlin, což vede k polehávání rostlin. V extraktu houby vědci identifikovali nejvýznamnější účinnou látku – kyselinu giberelovou (Procházka a kol. 1997).

V současné době známe více než 100 giberelinů. Jsou to terpenoidní sloučeniny s charakteristickým giberelanovým skeletem. Označují se číslicemi GA₁, GA₂, GA₃, GA₄... (Kincl, Krpeš 2000). Procházka a kol. (1998) uvádějí dělení giberelinů podle struktury do dvou skupin. Jedna skupina má gibereliny s 19 atomy uhlíku a druhá s 20 atomy uhlíku. Dále se jednotlivé gibereliny odlišují počtem a polohou hydroxylových a karboxylových skupin.

Gibereliny se tvoří v místech aktivního růstu, zvl. v nejmladších listech, kořenových špičkách a v embryích semen.

Podobně jako auxiny stimulují prodlužovací růst. Avšak gibereliny stimulují pouze růst nadzemních částí rostlin, nikoliv i kořenů. Přerušují dormanci semen, hrají úlohu v procesu jarovizace, ovlivňují aktivitu amylázy a vyvolávají květovorný účinek u dlouhodobých rostlin (Kincl, Krpeš 2000).

V ovocnářství se gibereliny používají k zvýšení nasazení plodů. Pomocí kyseliny giberelové dosahují šlechtitelé zkrácení juvenilního období u jehličnanů (Procházka a kol. 1998).

3.7.4 Kyselina abscisová

Strukturu kyseliny abscisové (ABA) tvoří seskviterpen s 15 uhlíkovými atomy a cyklickou částí v molekule. Podle orientace karboxylové skupiny na C₂ uhlíku rozlišujeme *cis* a *trans*-isomery. Fyziologicky aktivní je výhradně její \pm S-isomer (Podlešáková a kol. 2012).

Kyselina abscisová se nejvíce syntetizuje v dospělých listech (chloroplastech) a dormantních orgánech, jako jsou pupeny, semena a hlízy. Dále se vytváří v mladých pletivech, kořenových špičkách a v mnoha dalších orgánech (Procházka a kol. 1998). Vzniká hlavně za stresových podmínek (Kincl, Krpeš 2000). Transport je nepolární (Procházka 2009) a probíhá ve floému, xylému i parenchymatických buňkách (Procházka a kol. 1997).

Brzdí prodlužovací fázi růstu buněk, urychluje stárnutí listů, opad listů a vstup do vegetačního klidu. Při nedostatku vody podněcuje zavírání průduchů a zvýšení vodivosti kořenů. Působí antagonicky k působení auxinů, giberelinů a cytokininů (Kincl, Krpeš 2000).

3.7.5 Etylen

Důkaz tvorby etylenu rostlinami byl předložen v roce 1934 v Anglii (Procházka a kol. 1997). Kincl, Krpeš (2000) píše, že etylen má zvláštní postavení mezi rostlinnými regulátory, protože ve fyziologické koncentraci jsou jeho účinky tak nejednoznačné (neurčité), že jej nelze považovat ani za stimulátor ani za inhibitor.

Etylen je bezbarvý plyn, jediný dosud známý plynný rostlinný hormon a nejjednodušší uhlovodík s dvojnou vazbou. Rozpouští se v cytoplazmě, kde jsou pro něho vytvořena specifická vazebná místa. Převážná část proniká do mezibuněčných prostorů a potom průduchy do atmosféry. Ve vyšších rostlinách a ve většině nižších

rostlin vzniká z aminokyseliny L-metioninu. Vznik etylenu ovlivňuje mnoho fyzikálních a chemických faktorů, mezi něž patří světlo, teplota (optimum 25–35 °C), hladina kyslíku a oxidu uhličitého. Tvorba je také vyvolávána stresem (Zvýšení tvorby etylenu je jednou z prvních reakcí rostlin na působení stresorů.), některými přirozenými i syntetickými růstovými regulátory a vlastními autoregulačními mechanismy (Procházka a kol. 1997).

Mezi hlavní fyziologické účinky etylenu patří inhibice prodlužovacího růstu, stimulace růstu radiálního, urychlení zrání plodů, stimuluje stárnutí a opad listů, květů a plodů. Etylen se využívá v ovocnářství pro zrychlení dozrávání ovoce (Procházka a kol. 1997; Procházka a kol. 1998).

3.7.6 Další látky s růstově regulační aktivitou

Jak již bylo výše uvedeno, mezi látky s růstově regulační aktivitou patří zejména brassinosteroidy, polyaminy, kyselina jasmonová, oligosachariny a fenolické látky.

Brassinosteroidy představují poměrně novou skupinu rostlinných hormonů (Podlešáková a kol. 2012). První rostlinný steroid s regulačním účinkem, brassinolid, byl izolován v roce 1979 z pylu řepky. Dnes jich známe více než 30. Nejvíce rozšířené jsou castasteron, typhasterol a již zmíněný brassinolid. Vyskytují se ve všech orgánech kromě kořenů. Reprodukční orgány jich obsahují nejvíce (Procházka a kol. 1998).

Brassinosteroidy stimulují prodlužovací růst, dokonce více než auxiny. Nemají vliv na transport ani metabolismus auxinů, ale zvyšují citlivost pletiv vůči auxinům. Zesilují rezistentnost ke stresům (Procházka 2009).

Kyselina jasmonová byla izolována z esenciálních olejů *Jasminum gstandiflorum*. Tuto kyselinu a její metylester obsahují všechny rostlinné orgány. Urychlují stárnutí listových segmentů, brzdí růst listových pochev a hypokotylů, atd. Dále zpomaluje klíčení i růst kořenů. Důležitou úlohou je její funkce jako signálu při reakci na dotyk, poranění a patogeny (Procházka a kol. 1998).

Polyaminy představují jednoduché organické sloučeniny s více aminoskupinami v molekule. V rostlinách se nejvíce vyskytují polyaminy, jako jsou putrescin, spermin a spermidin. Podněcují buněčné dělení, hlavně somatickou embryogenezi. Hrají významnou úlohu v obraně rostlin proti stresu a stabilizují buněčné pH.

Oligosachariny jsou části buněčné stěny uvolňované hydrolytickými enzymy. Dělí se do několika skupin: xyloglukanové, pektinové a glukózoaminové

oligosachariny. Inhibují dlouhivý růst. Při infekci houbami, bakteriemi, viry, atd. aktivují enzymy obraných látek typu fytoalexinů.

Fenolické látky tvoří skupinu sekundárních metabolitů (deriváty benzenu, kyselina benzoová a skořicová, flavonoidy, antokyany, kumarin, třísloviny a lignin). Nejčastěji inhibují dlouhivý růst (Krpeš, Kincl 2000).

3.8 Rostlinné hormony a stres způsobený houbovými patogeny

V současné době známe, že stres způsobený rozdílnými faktory prostředí (světlo, teplo, voda, pH, atd.) a účinky patogenů vyvolává změny v biologické syntéze, metabolismu a distribuci rostlinných hormonů v rostlině. Houbové onemocnění všeobecně zvyšuje hladinu auxinů v rostlině. Mechanizmy vedoucí k jejich výraznému zvýšení nejsou zcela objasněné. Zvýšení jejich koncentrace může být způsobeno např. vylučovanými produkty hub. Houby také výrazně ovlivňují hladinu giberelinů, konkrétně kyseliny giberelinové v její neprospěch. Hladina cytokininů a kyseliny abscisové se při napadení houbovými parazity zvyšuje. Produkce etylenu je v napadených rostlinných pletivech tak zvýšená, že ji lze považovat za ukazatele houbového onemocnění (Vizárová 1992).

3.9 Charakteristika rodu jasan

Rod jasan patří do čeledi olivovníkovité (*Oleaceae*). Jsou to opadavé stromy, v menší míře keře se vstřícnými lichozpeřenými listy, občas redukovanými na jediný koncový list. Drobné květy jsou uspořádané nejčastěji v latách, které se později po opylení mění v plod – křídlatou nažku (Úradníček 2004).

V současné době rod jasan zahrnuje cca 60 až 65 druhů (Košťálová, Sázelová 2010). Některé druhy jsou lesnicky významné, jiné se pěstují pro okrasu (Úradníček 2004). Mezi přirozeně se vyskytující druhy jasanu v Evropě patří jasan úzkolistý (*Fraxinus angustifolia* Vahl), jasan zimnář (*Fraxinus ornus* L.) a jasan ztepilý (*Fraxinus excelsior* L.), který jako jediný má výraznější význam pro lesní hospodářství. V ČR přirozeně rostou jasan ztepilý a jasan úzkolistý (Poleno 2009), ale také lze pozorovat nepůvodní druhy, mezi které patří např. jasan americký (*Fraxinus americana* L.) a jasan pensylvánský (*Fraxinus pensylvanica* Marsh.) (Úradníček 2004).

3.9.1 Jasan ztepilý (*Fraxinus excelsior* L.)

Podle Zelené zprávy v roce 2013 zaujímal jasan ztepilý 1,4 % z celkové dřevinné skladby ČR, přičemž jeho doporučené zastoupení je pouze 0,7 % a v přirozené skladbě dokonce pouhých 0,6 % (MZe 2014).

Jasan ztepilý je mnohomanželný strom dožívající se 250 let. Vyznačuje se rovným kmenem, poměrně řídkou a štíhle vejčitou korunou, výškou až 40 m a průměrem kmene do 1,5 m. Kůra je dlouho hladká se světle šedo zelenou až žlutošedou barvou, ve stáří mělce obdélníkovitě rozbrázděná. Borku charakterizuje šedá barva. Lichospeřené listy dosahují délky cca 20–30 cm a jsou 3–7 (11) jařmé. Lístky mají podlouhle vejčitý tvar s délkou 3–10 cm s okrajem pravidelně pilovaným a rovnými špičkami zubů. Na podzim listů opadáva zelené. Pupeny mají černou barvu. Kvete každoročně (ještě před rašením listů – duben, květen). Bezobalné květy tvoří bohaté laty (několik rozvětvených stopek z jednoho pupenu). Nažky zrají na podzim, na stromě často vydrží přes zimu. Solitérní stromy plodí již od 20. roku, v porostu od 30. roku. Mezi hlavní znaky semenáčku patří jazykovitě protáhlé dělohy, dále jednoduché, vejčité, pilovité primární listy a vysoká rychlost růstu (Tichá, Úradníček 2009). Úradníček (2004) popisuje kořenový systém jasanu jako panohovitý kořenový systém se silnými kořeny směřujícími nejprve do stran při povrchu a pak do hloubky. Naopak křulový kořen je slabě vyvinutý.

Zaujímá skoro celý evropský kontinent kromě nejvzdálenějšího chladného severu a severovýchodu. Jsou známy 3 různé ekotypy jasanu (lužní, horský, vápencový), které vyžadují určité stanovištní podmínky, a proto nelze jednoznačně stanovit výškové rozšíření uvnitř areálu. Lužní jasan roste v nížinách v blízkosti velkých vodních toků. Horský jasan se vyskytuje převážně v pásmu bučin (na severu areálu sestupuje do nižších nadmořských výšek, naopak na jihu vystupuje více do hor). Vápencový jasan osidluje chlumní polohy mezi oběma předcházejícími ekotypy, převážně na jižních svazích s nedostatkem vláhy. Z tohoto vyplývá, že jasan lze najít od nízkých poloh u hladiny moře až po výšku 1500 m n. m.

V ČR lze najít všechny 3 ekotypy. Lužní ekotyp roste nejčastěji spolu s dubem letním a jilmem habrolistým. Výskyt horského jasanu je soustředěn v hercynské a karpatské částí do pásma bučin s příznivými vlhkostními a půdními podmínkami. Vápencový jasan s dubem letním obývají výživné vápencové podklady.

Jasan je dřevinou smíšených listnatých lesů s charakterem pionýrské dřeviny (Uhlířová a kol. 2004). Zřídka také tvoří nesmíšené porosty, avšak ty jsou ekologicky

i ekonomicky nevhodné, protože pod řídkým zápojem dochází k silnému zabuřnění půdy. V raném mládí velmi dobře snáší zástin, nicméně to netrvá dlouho, a již ve stádiu mlaziny se jeho požadavky na světlo výrazně zvyšují. Následně v důsledku nesplnění světelných požadavků dochází k autoredukci, a proto již ve stadiu tyčovin lze pozorovat velmi řídké porosty, které jsou pro lesní hospodářství nevhodné (Poleno 2009).

Z hlediska půdní výživy patří jasan ztepilý mezi náročné listnáče. Jelikož vyžaduje hlubší, humózní a svěží půdy, nejlépe obohacené o dusík lze jeho přirozený výskyt považovat za indikátor nejlepších půd. Naopak neroste na zasolených a rašelinných půdách.

Vyskytuje se v několika kultivarech. Pro okrasu na hřbitovy a náměstí se nejčastěji vysazuje „smuteční“ jasan („Pendula“). Kultivar („Nana“) s kulovitou, hustou a malou korunou se výborně hodí do městských stromořadí. Jednolistý jasan („Diversifolia“) a převisle rostoucí forma s jednoduchým listem („Heterophylla Pendula“) jsou méně časté kultivary.

Díky vysoké kvalitě dřeva je velmi cennou dřevinou pro mnohostranné využití, např. slouží k výrobě nábytku, dýh, sportovního nářadí, parket a hudebních nástrojů. Využití nalezne také v soustružnictví a kolářství. Díky panohovitému kořenovému systému se silnými kořeny se vysazuje pro zpevnění vodních toků, hrází nebo také slouží jako meliorační a zpevňující dřevina (Úradníček 2004).

3.9.2 Choroby a škůdci jasanů

Kořenové hniloby jasanů mohou být způsobeny dřevomorem kořenovým (*Ustilina deusta* Hoffm.) a václavkami (*Armillaria* sp.). Dále mezi běžně se vyskytující druh na kořenech patří šupinovka kostřbatá (*Pholiota squarrosa* Batsch), která může být v některých oblastech hlavní příčinou destabilizace kořenového systému a tím celého stromu. Příznačným jasanovým druhem je troudnatec jasanový (*Perenniporia fraxinea* Bull.), jehož bílá hniloba výrazně destabilizuje kořenový systém a bázi kmene. Nebezpečí spojené s rezavcem štětinatým (*Inonotus hispidus* Bull.) tkví ve snížené mechanické odolnosti kosterních větví a kmenů zapříčiňující jejich nekontrolovaný pád (Kolařík 2005) a následně vzniklé pahýly odumřelých větví představují vstupní bránu pro další infekce (Uhlířová a kol. 2004). Dále lze na jasanech nalézt bělochoroše ovocného (*Aurantioporus fissilis* Berk.) a bělochoroše pěnového (*Spongipellis spumeus* Sowerby). Viditelné nádory na kmeni, větvích, rozpraskaný povrch a různé deformace

větví s následným rozvojem rakovin způsobuje bakterióza jasanu (*Pseudomonas savastanoi* Smith) (Kolařík 2005).

Mezi sekundární škůdce předmýtních a mýtních jasanů patří lýkohub jasanový (*Leperisinus fraxini* Panz.). Ten primárně osidluje oslabené stromy (pokles podzemní vody, krupobití). Starší dřeviny napadá ve vrcholových částech a dále se šíří na kmeny. Způsobuje odumírání středně starých i mladších jasanů. Zpravidla nenapadá stromky o průměru kmene pod 3 cm. Nejvíce se přemnožuje na čerstvě pokácených kmenech. Lýkohub zrnitý (*Hylesinus crenatus* F.) osidluje hlavně staré, oslabené, čerstvě odumřelé a pokácené stromy. Žír listů způsobuje puchýřník lékařský (*Lytta vesicatoria* L.) Při přemnožení může dojít až k lokálnímu holožírů. Housenky předivky jasanové (*Prays fraxinellus* Bjerk.) listy jasanů nejdříve minují, pak ožírají až na spodní pokožku, a nakonec děrují. Housenky na jaře také vyžírají pupeny, případně i výhonek, a tím zpomalují růst stromků a způsobují jejich vidličnatost. Housenice pilatky jasanové (*Tomostethus nigrinus* F.) je známá občasnými holožírů hlavně na starších jasanech v parcích, alejích a v lesních porostech (Křístek, Urban 2013). Hálkovité deformace listů způsobují sáním mšice, mery – mera jasanová (*Psyllopsis fraxini* L.) a bejlmorky (Uhlířová a kol. 2004)

Mezi další poškození jasanu patří poškození abiotickými činiteli (sníh, námraza, vítr, sucho, mráz, blesk, vysoké teploty...), antropogenními činiteli (imise, herbicidy, požáry...) a poškození způsobené zvěří (Čermák 2015).

3.10 Patogen *Chalara fraxinea*

3.10.1 Taxonomické zařazení

Kmen: Ascomycota

Podkmen: Pezizomycotina

Třída: Leotiomycetes

Řád: Helotiales

Čeleď: Helotiaceae

Rod: Hymenoscyphus

(Cannon 2015)

3.10.2 Hostitelé patogenu *Chalara fraxinea*

Největší škody způsobuje na jasanu ztepilém (*Fraxinus excelsior* L.) a jeho kultivarech, jasanu úzkolistém (*Fraxinus angustifolia* Vahl) a jasanu černém (*Fraxinus nigra* Marsh.). Dále byly v přírodě příznaky nemoci pozorovány u jasanu pensylvánského (*Fraxinus pennsylvanica* Marsh.) a jasanu amerického (*Fraxinus americana* L.), nebo v laboratorních podmínkách u jasanu zimnáře (*Fraxinus ornus* L.). Avšak tyto jasaný jsou většinou tolerantní a jenom mírně citlivé k onemocnění. Za přirozeného hostitele lze považovat jasan mandžuský (*Fraxinus mandshurica* Rupr.), u kterého škody nezpůsobuje (Andrin a kol. 2014).

3.10.3 Rozšíření v Evropě

Odumírání jasanů bylo nejprve v roce 1990 pozorováno v severovýchodní části Polska. Za důvod tohoto chřadnutí byly z počátku považovány abiotičtí a biotičtí činitelé (mráz, sucho atd.). Avšak v roce 2006 (Polsko) byl poprvé identifikován T. Kowalskim nový druh *Chalara fraxinea*, původce intenzivního onemocnění jasanů. Potom v poměrně krátké době došlo k identifikování patogena z mnoha míst Evropy: Litva, Lotyšsko, Švédsko, Německo, Česká republika, Dánsko, Slovensko, Bělorusko, Estonsko, Rakousko, Slovinsko, Norsko, Maďarsko, Finsko, Švýcarsko, severovýchodní Francie, severovýchodní Itálie, Belgie, Chorvatsko, Nizozemsko a Velká Británie. S masivním rozvojem patogena lze dále počítat i do míst, kde zatím nebyl rozšířen (Pautasso a kol. 2013). Podle Chandelier a kol. (2014) byl patogen zjištěn již také v Irsku.

Jedna z hypotéz o zavlečení této choroby do Evropy považuje za epicentrum Baltské země a Polsko. V období Sovětské okupace bylo do těchto zemí přivezeno

z východní Asie několik mladých rostlinek a semen jasanu mandžuského (*F. mandshurica*), který je přirozeným hostitelem *Hymenoscyphus pseudoalbidus* (syn. *H. fraxineus*). *Hymenoscyphus pseudoalbidus* se dále rozšířil na další druhy jasanů (Drenkhan a kol. 2014).

3.10.4 Rozšíření v ČR

V České republice docházelo k lokálním projevům chřadnutí jasanů od konce 90. let, avšak k výraznému rozvoji choroby došlo po roce 2003. Příznaky chřadnutí jasanů (prosychání korun, odumírání jednoletých letorostů, rozvoj podkorních nekrotů) byly pozorovány v letech 2004–2008 v různých částech ČR: Beskydy (LS Jablunkov, LS Ostravice), Jeseníky, Krkonoše, Šumava, okolí Prahy, východní Čechy (Luže, Vysoké Mýto, Polička), Českomoravská vrchovina, Dražanská vrchovina, Hostýnské vrchy, Chřiby, oblast LZ Židlochovice (Jankovský a kol. 2009). V ČR byla poprvé *Chalara fraxinea* laboratorně potvrzena ze vzorku odebraného O. Holdenriederem z *Fraxinus excelsior* cv. „Pendula“ dne 26. 9. 2007 v arboretu ve Křtinách (Jankovský, Holdenrieder 2009; Jankovský a kol. 2009).

3.10.5 *Chalara fraxinea* (telemorfa: *Hymenoscyphus pseudoalbidus*, syn. *H. fraxineus*)

V článcích „The teleomorph of *Chalara fraxinea*, the causal agent of ash Dieback“ (Kowalski, Holdenrieder 2009) a „Chřadnutí a odumírání jasanů. Původce: *Chalara fraxinea* Kowalski, 2006“ (Košťálová, Sázellová 2010) se za telemorfni stádium patogena *Chalara fraxinea* považoval *Hymenoscyphus albidus*. Avšak toto se později vyvrátilo, a jak se lze dočíst v „The invasive ash dieback pathogen *Hymenoscyphus pseudoalbidus* exerts maximal infection pressure prior to the onset of host leaf senescence“ (Hietala a kol. 2013) byl pomocí DNA markerů objeven nový druh *Hymenoscyphus pseudoalbidus*, který je velmi patogenní. V roce 2015 se v článku „*Hymenoscyphus fraxineus* can directly infect intact current-year shoots of *Fraxinus excelsior* and artificially exposed leaf scars“ (Kräutler a kol. 2015) pro označení telemorfniho stádia objevilo nové synonymum *Hymenoscyphus fraxineus*.

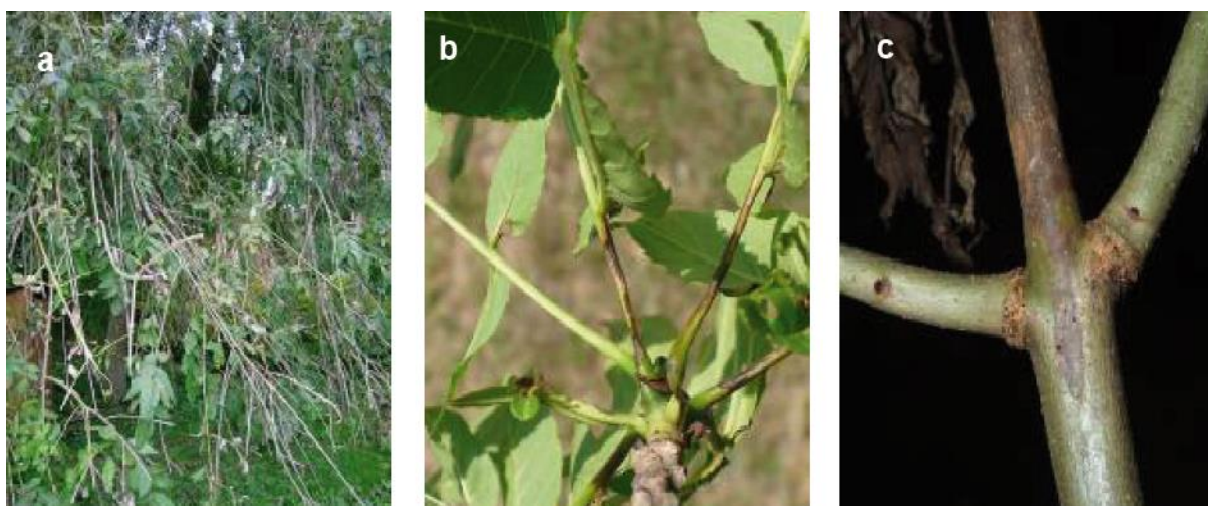
Telemorfni stádium rodu *Hymenoscyphus* sp. na hrabance a opadaných listech z předchozího roku tvoří četná bílá až krémová apotecia (většinou do průměru 3 mm), ze kterých volně unikají výtrusy. *Hymenoscyphus albidus* není patogenní a žije se saprofytický.

Anamorfní stádium *Chalara fraxinea* se vyznačuje hnědými fialidami o velikosti 16–24 μm x 4–5 μm , ve kterých se tvoří válcovité hyalinové jednobuněčné konidie (3,2–4,0 x 2,0–2,5 μm). Ty jsou z fialidů uvolňovány v krátkých řetězcích nebo ve slizových kapičkách (Andrin a kol. 2014).

3.10.6 Typické symptomy pro onemocnění houbou *Chalara fraxinea*

V okolí pupenů a nasazení letošních letorostů se vytvářejí léze a nekrózy bez mízotoku. Léze jsou nejdříve okrouhlé, postupně elipticky protáhlé a propadlé. Nekrózy se šíří transpiračním i asimilačním směrem. V důsledku napadení houbou lze na řezu pozorovat odumřelé kambium a šedohnědé zbarvení dřevní části. V podzimních měsících jednoleté zelené letorosty nad nekrózami hynou, ale neopadávají. Zůstávají zaschlé na větvích. U dvouletých a víceletých letorostů se mohou nekrózy zavalovat. Od konce srpna se na řapících listů tvoří tmavě hnědé nekrózy. Dosud zelené listy předčasně opadávají. Čepele listů se mohou zbarvovat ze svrchní strany do hněda. U starších stromů odumírají jednoleté, méně často i starší výhony. Tyto napadené stromy se snaží regenerovat, a proto lze často pozorovat vlky a čarověníky. Naopak mladé stromy často odumírají. Příznaky poškození jsou často podobné s poškozením stromů mrazem, zasolením půdy a padlím jasanovým (Jankovský a kol. 2009).

Pro potvrzení přítomnosti patogena *Chalara fraxinea* se používá izolace patogena z poškozených pletiv. K tomuto účelu slouží médium MEA (Malt extract agar) v Petriho miskách (Andrin a kol. 2014).



Obr. 1 Příznaky napadení patogenem *Chalara fraxinea* (Jankovský a kol. 2009)

3.10.7 Nákaza jasanu

Do této doby nebyla zjištěna přesná cesta a ani vektor nákazy. Rychlé a náhlé šíření této choroby po celé Evropě je pro choroby dřevin neobvyklé. Způsobuje nejen ekonomické, ale i ekologické škody. A proto se klade důraz na objevení způsobu nákazy. Pro choroby dřevin je velmi obtížné napadnout dřevinu přes neporušenou kůru. Proto jedna z teorií považuje za vstupní bránu pro patogen drobná poranění kůry způsobena bodavě savým hmyzem (červci, mšice, dutilky) (Jankovský a kol. 2009). Také se uvažuje o průniku choroby prostřednictvím průduchů na listech (Kirisits, Čech 2009). Jankovský a kol. (2009) uvádějí, že účinná ochrana proti chřadnutí jasanů není zatím známa.

3.11 Wormsaktiv Stimul

Přípravek Wormsaktiv Stimul (nebo také konkurenční řada o velmi podobných vlastnostech Vermaktiv Stimul) se používá hlavně pro zlepšení celkové vitality rostlin.

Jedná se o organominerální stimulační přípravek (kyselý alkoholicko-vodní výluh vermikompostu doplněný aminokyselinami a peptidickými štěpy z enzymolýzy rybí moučky a syrovátky). Obsahuje enzymy, fytostimulátory, humusové látky, aminokyseliny, cytokininy, auxiny a další látky (kyselina anthranilová, kyselina aminooctová, P, N, K, stopové prvky). Výluh se používá přímo pro postřik na listy nebo jako médium (nosič), do kterého se mohou přidat různé látky s cílem zničení houbových patogenů (fungicidní přípravky). Jako aditivní látky lze v nízkých koncentracích použít např. S, Cu, Mn atd. Také ho lze mísit s přípravky proti škůdcům a chorobám.

Wormsaktiv Stimul (Vermaktiv Stimul) povzbuzuje imunitní odezvu rostlin, zlepšuje vitalitu rostlin a s tím spojenou rezistenci proti nepříznivým faktorům, zvyšuje účinek použitých látek. Dále podporuje zakořeňování, růst, kvetení, množství zásobních látek, klíčení semen, vzházivost rostlin a aktivaci spících pupenů (Enzycorp Global s.r.o. 2015).

Pro současné řešení problematiky chřadnutí a poškozování porostů houbovými patogeny byla řada Vermaktiv Stimul směřována na posílení fungicidních vlastností. Vznikl Vermaktiv Stimul varieta Fungil. Tento nový přípravek je směs formovaná přidáním organických fungicidů a obohacená velmi účinnými komplexy fungicidních iontů na bázi N-heterocyklických sloučenin (ústní sdělení Smrček S., 28. 3. 2015).

Před použitím tohoto i podobných přípravků je důležité předem provést rozbory, které zjistí stav živin v půdě a rostlině. (Vavříček, Kučera 2015)

3.12 Širší charakteristika území

Zkoumaná oblast se nachází nedaleko obce Vranovice v dolním cípu jižní Moravy nedaleko Brna (Horníček 2015). Správu nad sledovanými územím vykonává LZ Židlochovice, který je jedním z přímo řízených lesních závodů v rámci podniku Lesy ČR, s. p. Podle katastrální rozlohy, 167 tis. ha, zahrnuje jižní část Jihomoravského kraje. V důsledku intenzivně zemědělsky obhospodařované krajiny se lesnatost území snížila na pouhých 15 %. Lesy zůstaly pouze v několika souborech, na půdách, které nebylo možné zemědělsky využít. Jsou to lesy na vátých písčích mezi Břeclaví a Valticemi, se zastoupením borovice lesní, černé, dubu ceru a akátu. V pahorkatinách Divácka, Mikulovska a Moravskokrumlovska se jedná především o listnatý pařezinový les s převahou dubu letního a zimního s příměsí habru a lípy. V jižní části Dyjsko-svrateckého úvalu a v pásech podél toku řek Moravy, Dyje, Svratky, Jihlavy s říčky Šatavy se zachovaly lužní lesy, které zaujímají rozlohu 9700 ha a 30 % všech lužních lesů České republiky.

Průměrná roční teplota, zároveň nejvyšší průměrná teplota v ČR, je 9,1 °C. Průměrným ročním úhrnem srážek pod 550 mm/rok spadá oblast LZ Židlochovice mezi semiaridní oblasti.

Nejvyšším bodem spravovaného území je vrchol Pavlovských vrchů o nadmořské výšce 550 m. Nejnižší nadmořskou výšku 150 m n. m. má soutok řek Moravy a Dyje na hranici České republiky, Slovenska a Rakouska (Lesy ČR s. p. 2015).

4 Metodika práce

4.1 Fytopatologická část – laboratorní práce

4.1.1 Popis metodiky laboratorních prací

Výzkum je založen na porovnání růstu inokula *Chalara fraxinea* v Petriho miskách, kde pomocí terčíkové metody jsou v různých koncentracích aplikovány roztoky Fungil, Wormsaktiv Stimul (Vermaktiv Stimul) a jeho různé modifikace. Aby bylo možné určit, jak by se inokulum chovalo za podmínek bez užití přípravků, je u každého pokusu vytvořena kontrolní varianta (místo přípravku – sterilizovaná destilovaná voda). Různé varianty se mezi sebou a kontrolní variantou porovnávají, dále se okulárně a statisticky hodnotí. Celkem bylo provedeno šest sérií pokusů. Pokusy č. 4 a 5 byly provedeny ve spolupráci s paní Ing. Dagmar Palovčíkovou.

Testování reakce inokula *Chalara fraxinea* na přípravky probíhalo v prostorách Fytopatologické a mykologické laboratoře UOLM Mendelovy univerzity v Brně. Práce v laboratoři byla vykonávána v souladu s laboratorním řádem za dodržení všech zásad bezpečnosti práce a ochrany zdraví.

4.1.2 Používaný kmen *Chalara fraxinea*

Pro všechny verze laboratorních pokusů byl použit kmen 1711 *Chalara fraxinea*. Sběr vzorku z lézí z napadených větví *Fraxinus excelsior* uskutečnil Ladislav Koudelka dne 18. 4. 2013 na lokalitě Třemošnice – Počátky (okres Chrudim). Izolace vzorku proběhla v laboratoři o dva dny později (20. 4. 2013).

4.1.3 Pracovní pomůcky

V laboratoři se využívaly tyto pracovní nástroje: plastová lžička, skleněné odměrné baňky na přípravu agarů o objemu 1000 ml, odměrný válec o objemu 500 ml, násypka, hliníková folie, kádinky o různých velikostech, sterilní skleničky s uzávěrem, pinzeta, pipety, skalpel, kahan, nůžky, parafinová fólie, pravítko, fixy, sterilní Petriho misky o průměru 90 mm a 55 mm, očkovací klička.

4.1.4 Příprava živného média a práce s ním

Do skleněné odměrné baňky se pomocí plastové lžičky a násypky naváží 25 g sušeného živného média, které se zaleje 500 ml destilované vody. Také se může přidat 10 g zdravého sušeného jasanového listí, které povzbuzuje růst mycelia houby *Chalara fraxinea*. Tohoto se využilo v pokusu č. 1. V důsledku vyluhování jasanového listí došlo ke ztmavení média, a tím ke zhoršené viditelnosti a jasnosti mycelia. Proto se od používání jasanového listí v dalších pokusech upustilo.



Obr. 2 Příprava živného média

Vše v baňce se pořádně protřepe a cca 15 minut v klidu bobtná. Baňka se uzavře alespoň třemi vrstvami hliníkové folie. Poté se nechá 15 minut při 121 °C sterilizovat v autoklávu. Práci s autoklávem mohou vykonávat pouze pověřeni pracovníci laboratoře. Když je možné baňku s médiem vyndat, umístí se do aseptické atmosféry flow-boxu. Společně s přípravou média je vhodné autoklávkovat vatové terčíky, skleničky s destilovanou vodou o objemu 50 ml a další pomůcky.

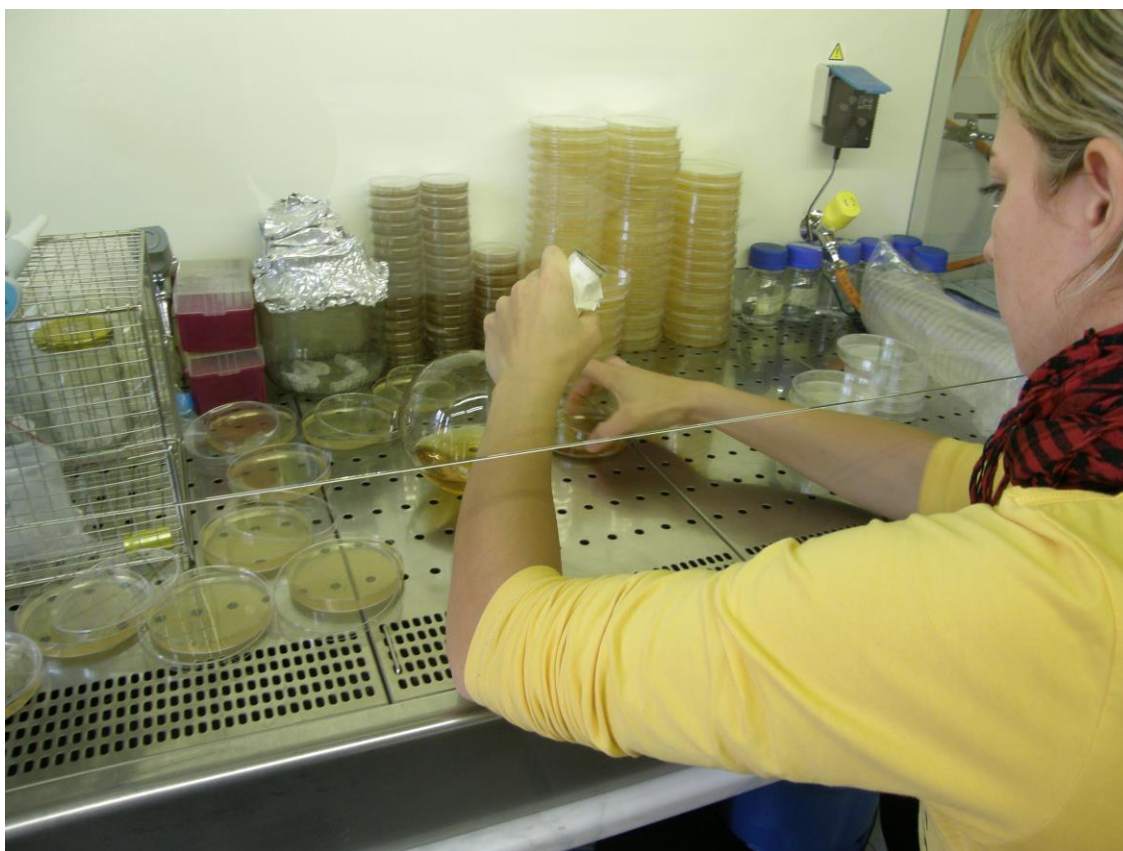
Pro účel mé bakalářské práce bylo použito sladivého agaru Malt extract agar base 137 od společnosti Himedia s.r.o.

Složení MEA 137:	Gramů/litr
sladinový extrakt	30,00
mykologický pepton	5,00
agar	15,00

Konečné pH (při 25 °C) se pohybuje okolo 5,4.

Od tohoto kroku je veškerá práce soustředěna pouze v ochranné atmosféře flow-boxu (kromě skladování a měření), aby se co nejvíce předešlo kontaminacím z okolního prostředí.

Poté co je možné baňku udržet holou rukou (cca 60 °C), lze ji otevřít a živné médium rozlít do sterilních Petriho misek (pokus č. 1, 2, 4, 5 a 6). U pokusu č. 3 se navíc v této fázi aplikovaly do viskózního živného média zkoumané přípravky (viz kapitola Přípravky). Je důležité, aby výška média v Petriho misce dosahovala alespoň poloviny výšky Petriho misky (cca 6 mm). Živné médium je nejvhodnější připravovat den před plánovaným naočkováním houby (kromě pokusu č. 3).



Obr. 3 Laboratorní práce ve flow-boxu: rozlévání živného média do Petriho misek

4.1.5 Sterilizace pracovních nástrojů

Z důvodu zamezení vstupu kontaminací do Petriho misek a přípravků, je nutné pracovní pomůcky povrchově sterilizovat. Sterilizace nástrojů se provádí opálením nad kahanem ve flow-boxu. Nejdříve se nástroj opálí, poté důkladně omyje v kádince s 96% etanolem, znova opálí a nechá vychladnout. Tato akce se opakuje vždy před kontaktem s izolovaným materiálem nebo přípravkem.

4.1.6 Práce s izolovaným materiálem v podmínkách in vitro

Na předem připravené vychladlé a ztuhlé médium misek se rozočkuje mycelium houby. Pomocí očkovací kličky se z okraje narostlého mycelia vykrojí inokulum houby o průměru 7 mm. S použitím pinzety, skalpelu nebo jehly se jedno inokulum umístí do středu Petriho misky (pokus č. 3), nebo dvě inokula vedle sebe na jednu stranu Petriho misky (pokus č. 1, 2, 4, 5 a 6). Poté se miska uzavře víčkem a bok omotá parafínovou fólií proti neúmyslnému otevření a vstupu látek z vnějšího okolí. Pro přehlednost se miska označí dnem rozočkování a použitým kmenem izolované houby. Nakonec se Petriho misky přemístí z flow-boxu do zatemněného termostatu se stálou teplotou 24 °C. Po 2–3 dnech je vhodné tyto misky zkontrolovat, jestli se neobjevila kontaminace, roztoči... Pokud ano, je nutné uvážit, zdali s těmito napadenými miskami pokračovat, nebo je vyřadit.

4.1.7 Přípravky

Z důvodu, že se názvy a dodavatelé přípravku v průběhu probíhajícího projektu vyvíjely a měnily, tak se můžeme setkat s více názvy přípravku – Vermaktiv Stimul, Wormsaktiv Stimul, Fungil. Přesné složení použitých přípravků a jejich různých variant, roztoků prvků a sloučenin bylo pro mne neznámé.

Koncentrované organominerální roztoky nebo roztoky prvků (sloučenin) uchovávané v ledničce (cca 6 °C) se před aplikací přemístí do pokojové teploty a důkladně protřepou. Pro usnadnění práce ve flow-boxu je vhodné, aby se přípravky přelily a ředily do menších sterilních skleniček.

Pokus č. 1

V pokusu č. 1 se testovaly tři přípravky. Prvním testovaným byl Wormsaktiv Stimul bez příměsí. Dále přípravek představuje směs Wormsaktivu Stimul + S, Cu. Jako třetím ověřovaným přípravkem v této sérii pokusu byl Wormsaktiv + CHM₂ (CHM₂ = označení pro cheláty kovů Mn a Zn). Od každého preparátu se vytvořila jedna varianta koncentrovaná (něředěná) a druhá ředěná sterilní destilovanou vodou v poměru 1 : 50. Poměr ředění 1 : 50 byl testován z důvodu, že se v tomto poměru přípravek aplikuje na jasaný na výzkumných plochách. Pro ověření se vytvořila kontrolní varianta pouze s destilovanou vodou.

Pokus č. 2

Pro tento pokus byly čerstvě namíchaný dva přípravky, a to Vermaktiv Stimul + S, Cu a Vermaktiv Stimul + CHM₂ (opět označení pro cheláty kovů Mn a Zn). Od každého přípravku se vytvořila varianta koncentrovaná a ředěná destilovanou vodou v poměru 1 : 50. Pro kontrolu se opět v jedné skleničce nechala pouze sterilní destilovaná voda.

Pokus č. 3

Přípravky zůstaly stejné jako ve druhém pokusu: Vermaktiv Stimul + S, Cu a Vermaktiv Stimul + CHM₂. Avšak tento pokus se oproti předchozím vyznačoval jinými koncentracemi přípravků a odlišným způsobem ředění. Ředění přípravků se neprovádělo sterilní vodou, ale viskózního živným médiem, v němž se přípravky důkladně promíchaly. Každý přípravek byl naředěn živným médiem v poměru 1 : 10, 1 : 50 a 1 : 100. Pro kontrolu se některé misky nechaly pouze s čistým živným médiem.

Pokus č. 4

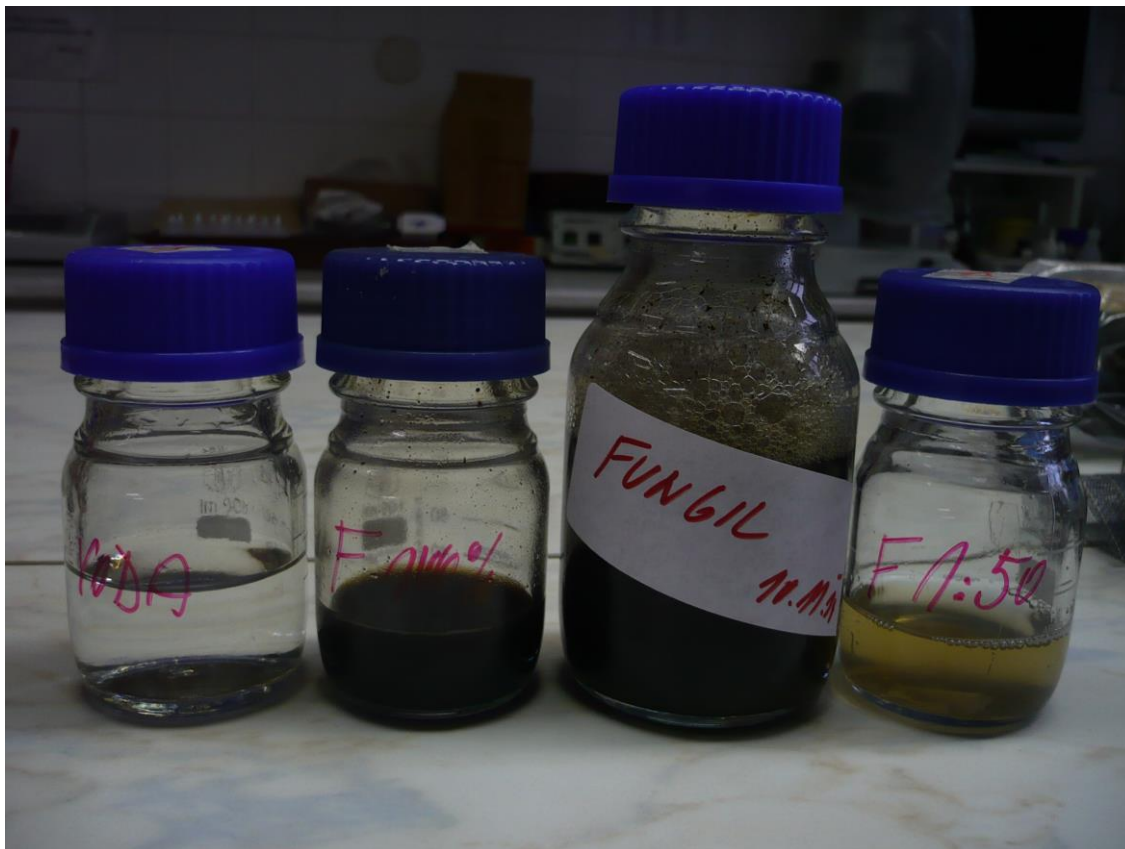
Zde se ověřovala účinnost přípravků: Wormsaktiv Stimul + Zn EDTA – 6 ml, Mn EDTA – 2 ml (značený jako W-6), Wormsaktiv Stimul + Zn EDTA – 10 ml, Mn EDTA – 2 ml (značený jako W-10) a nového přípravku Fungil. Testovaly se varianty koncentrované a ředěné destilovanou vodou v poměru 1 : 2 a 1 : 50. Pro ověření se vytvořila kontrolní varianta pouze s destilovanou vodou.

Pokus č. 5

V tomto případě se zkoumala vhodná aditiva pro přípravek Wormsaktiv Stimul (Vermaktiv Stimul). Proto byly aplikovány na terčíky k myceliu *Chalara fraxinea* pouze prvky nebo sloučeniny (Mn EDTA, Zn EDTA, ZnMn EDTA, Cu-17, Zn-17, Se, Cu-19, Zn-19, Co-19, Ni-19) ve speciálních roztocích v komplexech s kyselinou ethylendiamintetraoctovou (ZnEDTA, MnEDTA) a ostatní v komplexech s tetraaminy v kombinaci s kyselinami. Opět pro srovnání se vytvořila kontrolní varianta.

Pokus č. 6

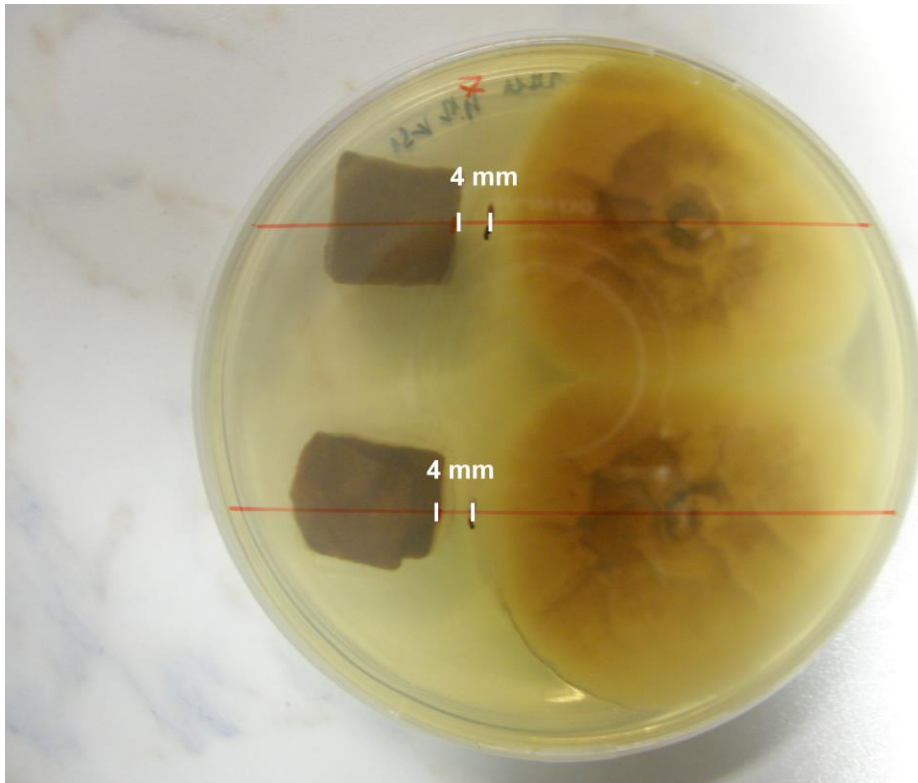
Jako poslední se testoval přípravek Fungil. Vytvořila se varianta koncentrovaná, ředěná sterilní destilovanou vodou v poměru 1 : 50 a kontrolní.



Obr. 4 Různé koncentrace přípravku Fungil

4.1.8 Příkládání roztoku k myceliu houby

Pokud mycelium dosahuje průměru cca 30 mm, je vhodné přikládat terčíky. Vysterilizované terčíky (vatové tampónky) o velikosti cca 10 mm x 10 se nechají nasáknout daným roztokem a pomocí pinzety se pokládají na předem vyměřenou vzdálenost od okraje mycelia, která byla pomocí fixy a pravítka vyznačena ze spodní strany Petriho misky. V pokusu č. 1 se zvolila vzdálenost 10 mm. V pokusech č. 2, 4, 5 a 6 se distance zmenšila na 4 mm z důvodu lepšího působení přípravku na mycelium. Misky se opět obvázaly parafinovou folií a uložily do stejného termostatu se stejnou teplotou.



Obr. 5 Vzdálenost mezi terčičkem a narostlým myceliem houby

V pokusu č. 3 nebyla použita terčičková metoda, ale přípravky se promíchaly přímo v neztuhlém agaru, na který se do středu Petriho misek očkovalo jedno inokulum.

4.1.9 Časový harmonogram prováděných prací u jednotlivých pokusů

Pokus č. 1

Příprava živného média:	24. 10. 2013
Naočkování inokula na Petriho misky:	25. 10. 2013
Přikládání roztoků na vatových terčících:	04. 11. 2013
1. měření růstu mycelia:	06. 11. 2013
2. měření růstu mycelia:	08. 11. 2013
Ukončení pokusu:	08. 11. 2013

Pokus č. 2

Příprava živného média:	10. 11. 2013
Naočkování inokula na Petriho misky:	11. 11. 2013
Přikládání roztoků na vatových terčících:	04. 12. 2013
1. měření růstu mycelia:	06. 12. 2013
2. měření růstu mycelia:	09. 12. 2013

3. měření růstu mycelia:	11. 12. 2013
4. měření růstu mycelia:	13. 12. 2013
5. měření růstu mycelia:	17. 12. 2013
Ukončení pokusu:	17. 12. 2013

Pokus č. 3

Příprava živného média:	03. 04. 2014
Aplikace roztoků do živného média:	03. 04. 2014
Naočkování inokula na Petriho misky:	03. 04. 2014
1. měření růstu mycelia:	07. 04. 2014
Ukončení pokusu:	07. 04. 2014

Pokus č. 4

Příprava živného média:	23. 06. 2014
Naočkování inokula na Petriho misky:	24. 06. 2014
Přikládání roztoků na vatových terčících:	08. 07. 2014
1. měření růstu mycelia:	11. 07. 2014
2. měření růstu mycelia:	14. 07. 2014
3. měření růstu mycelia:	17. 07. 2014
Ukončení pokusu:	17. 07. 2014

Pokus č. 5

Příprava živného média:	13. 07. 2014
Naočkování inokula na Petriho misky:	14. 07. 2014
Přikládání roztoků na vatových terčících:	30. 07. 2014
1. měření růstu mycelia:	01. 08. 2014
2. měření růstu mycelia:	03. 08. 2014
3. měření růstu mycelia:	05. 08. 2014
Ukončení pokusu:	05. 08. 2014

Pokus č. 6

Příprava živného média:	28. 10. 2014
Naočkování inokula na Petriho misky:	29. 10. 2014
Přikládání roztoků na vatových terčících:	21. 11. 2014

1. měření růstu mycelia:	24. 11. 2014
2. měření růstu mycelia:	25. 11. 2014
3. měření růstu mycelia:	26. 11. 2014
4. měření růstu mycelia:	27. 11. 2014
5. měření růstu mycelia:	28. 11. 2014
6. měření růstu mycelia:	01. 12. 2014
Ukončení pokusu:	01. 12. 2014

4.1.10 Metoda vizuálního hodnocení

Touto metodou se pozorovaly různé barevné změny (tmavé pigmentové zóny), které se mohou tvořit na myceliu. Dále se opticky hodnotilo, jestli se růst zpomalil, zastavil, nebo dokonce mycelium začalo ustupovat.

4.1.11 Metoda statistického vyhodnocení

Ve stanovené dny se pomocí milimetrového pravítka měřilo, zdali došlo k posunu mycelia. Změna velikosti mycelia se slabou lihovou fixou zaznamenala na misku a změřený údaj zapsal do zápisníku. Poté se tyto hodnoty zanášejí do různých typů grafů, které slouží pro vyhodnocení.

4.2 Pedologická část – terénní práce

4.2.1 Výběr a rozčlenění výzkumných ploch

Výzkumné plochy s porosty jasanu ztepilého (*Fraxinus excelsior*, L.) byly vybrány na území LZ Židlochovice v katastrálním území obce Vranovice, v lužní oblasti, nedaleko říčky Šatavy a řeky Svatky. Důvodem bylo, že se v této oblasti nacházely rozsáhlé jasanové porosty, které vykazovaly příznaky napadení patogenem *Chalara fraxinea* (zasychání letorostů, hnědnutí řapíků, tvorba typických lézí na výhonech, tvorba vlků). Také se na plochách na opadaných jasanových listech a hrabance vyskytovala apotecia rodu *Hymenoscyphus sp.*

Nejdříve o výzkumných plochách byly zjištěny základní údaje (lokality, GPS souřadnice, porost, HS, LT).

Terénní práce byly započaty v roce 2013, kdy se po důkladném prozkoumání terénu založily dvě výzkumné plochy označované jako Plocha 1 a Plocha 2. Na výzkumných plochách došlo k rozčlenění na jednotlivé varianty ošetření + kontrola

(bez ošetření). Hranice každé varianty ošetření a kontroly byly vytyčeny pomocí dřevěných kolíků s určitým barevným označením. Na Ploše 1 stejně jako na Ploše 2 se vyznačily tři varianty. Na modrožlutě označenou variantu byl následně aplikován přípravek Wormsaktiv Stimul + S, Cu a na modročerveně označenou variantu přípravek Wormsaktiv Stimul + CHM₂. Třetí červeně označená varianta zůstala bez ošetření jako kontrola. Současně se s vyznačováním variant počítaly stromy v jednotlivých variantách (mrtvé jasanů byly vyřezány a z plochy odstraněny).



Obr. 6 Rozčlenění výzkumných ploch na jednotlivé varianty

4.2.2 Výkop půdní sondy a odběry půdních vzorků

Na Ploše 1 byla před aplikací přípravků vykopaná do hloubky 130 cm vzorkovací půdní sonda, na jejímž základě byl popsán půdní profil. Odběr půdních vzorků se provedl ze všech půdních horizontů, které byly odkryty díky této sondě. A to ve formě Kopeckého fyzikálního válečku, který slouží pro vyhodnocení fyzikálních a hydrofyzikálních vlastností půdy a směšného půdního vzorku pro vyhodnocení fyzikálně-chemických a chemických vlastností půdy. Dále se půdní vzorky odebíraly z 8 zákopků z kořenové zóny opět ve formě Kopeckého fyzikálního válečku a směšného půdního vzorku. Na Ploše 2 nebyla půdní vzorkovací sonda vykopaná, a tak se půdní vzorky odebíraly pouze z 8 zákopků z kořenové zóny ve formě Kopeckého fyzikálního válečku a směšného půdního vzorku. Půdní jednotka se zde určila pomocí sondovací tyče.

4.2.3 Aplikace přípravků

Kapalné přípravky byly aplikovány na Ploše 1 a 2 na listy jasanů pomocí motorového postřikovače Solo (typ 423). Použitá dávka byla 17,3 l koncentrátu/ha v poměru 1 : 50 (přípravek:voda). Kontrolní varianty zůstaly bez ošetření.

1. ošetření: srpen 2013
2. ošetření: květen 2014
3. ošetření: září 2014



Obr. 7 Aplikace přípravků pomocí postřikovače

4.2.4 Zhodnocení zdravotního stavu jednotlivých dřevin

Ve spolupráci s p. Bc. Jiřím Rozsypálkem proběhlo ve dnech 9–10. 5. 2014 hodnocení zdravotního stavu podle metodiky Rozsypálek (2015). Stupnice obsahuje deset stupňů (1 - nejmenší poškození, 10 - největší poškození). Hodnocení se uskutečnilo pro každou variantu zvlášť a změřená data sloužila ke statistickému vyhodnocení v programu Statistika pomocí analýzy ANOVA. Hodnocení bude pokračovat i v následujících letech.

4.3 Pedologická část – laboratorní práce

4.3.1 Stanovení fyzikálních a hydrofyzikálních vlastností půd

Pro tento účel sloužily vzorky odebrané na Ploše 1 z vzorkovací půdní sondy ve formě Kopeckého válečku. Ty byly analyzovány v laboratoři ÚGP Lesnické a dřevařské fakulty Mendelovy univerzity v Brně. Byly šetřeny tyto vlastnosti: maximální kapilární kapacita, retenční vodní kapacita, objemová hmotnost, objemová hmotnost redukováná, hmotnostní vlhkost, objemová vlhkost, pórovitost, provzdušněnost, minimální vzdušná kapacita, nasycenost půdních pórů, relativní kapilární vlhkost, lentokapilární bod a obsah sušiny. Stanovení a vyhodnocení těchto vlastností půd bylo provedeno podle postupů a kritérií Rejšek (1999) a Vavříček, Kučera (2015).

4.3.2 Stanovení fyzikálně-chemických a chemických vlastností půd

Směsné vzorky odebrané z vzorkovací sondy a zákopků byly zaslány do Laboratoře Morava s.r.o. Pracovníci této laboratoře stanovili tyto vlastnosti: obsah přístupných živin (Ca, Mg, K, P), obsah celkového dusíku, obsah oxidovatelného uhlíku a pH. Vyhodnocení bylo opět provedeno podle Rejšek (1999).

5 Výsledky

5.1 Fytopatologická část

5.1.1 Vizuální hodnocení

Pro uvedení do problematiky, ve které fázi se pokusy na obrazcích nacházejí, bude vždy u každého pokusu zmíněn datum přikládání terčíků a datum focení. V popisu obrázků jsou zapsány varianty, tak jak jsou umístěny pod sebou na obrázku.

5.1.1.1 Pokus č. 1



Obr. 8 Reakce mycelia *Chalara fraxinea* na aplikované varianty roztoků

Vlevo: kontrola, Worms. (koncentr.), Worms. (ředěný 1 : 50)

Vpravo: kontrola, Worms. + S, Cu (ředěný 1 : 50), Worms. + S, Cu (konc.)

Uprostřed: kontrola, Worms. + CHM₂ (ředěný 1 : 50), Worms. + CHM₂ (konc.)

Přikládání terčků s přípravky: 4. 11. 2013

Foceno: 8. 11. 2013

Na první pohled je zřejmé, že zkoumané misky s aplikovanými roztoky (obr. 8) jsou zasaženy velkou kontaminací různých druhů kvasinek, plísní a jiných patogenů, které vylučují toxické látky a fyzicky zasahují do mycelia *Chalara fraxinea*, tím brání jeho normálnímu růstu a vývoji. Jak je z obr. 8 patrné, nejsou viditelné hranice mycelia ani terčků. Z tohoto důvodu proběhla pouze 2 měření a pokus se předčasně ukončil. Kontaminace nejspíše byly způsobeny použitými přípravky, protože se objevily již druhý den po přiložení terčků s roztoky. Tyto přípravky jsou organominerálního původu, a proto je není možné sterilizovat při vysoké teplotě z důvodu narušení jejich účinků. Proto je vhodné přípravky aplikovat co nejdříve po jejich namíchání. Ale ani tak není zajištěno, že se kontaminace z přípravku neobjeví. Některé kontrolní misky byly také kontaminované, ale tam se patogeny objevili později a v menší míře.

5.1.1.2 Pokus č. 2



Obr. 9 Reakce mycelia *Chalara fraxinea* na aplikované varianty: kontrola, Verm. + S, Cu (ředěný 1 : 50), Verm. + S, Cu (konc.)

Příkládání terčků s přípravky: 4. 12. 2013

Foceno: 13. 12. 2013

Obr. 9 znázorňuje desátý den od přiložení terčků nasycených přípravkem Vermaktiv + S, Cu. Kontrolní varianta představuje ničím neovlivněný růst inokula *Chalara fraxinea*. Pozorujeme podobný přírůst na obou stranách inokula. Ředěná varianta přípravku růst mírně zpomalila a přírůsty mycelia se oproti kontrolní variantě zmenšily. Vyskytla se zde kontaminace, avšak v této fázi by neměla mít významný vliv na průběh pokusu. Vysoká koncentrace přípravku růst zastavila a u některých misek způsobila tmavší zbarvení okrajů mycelia.



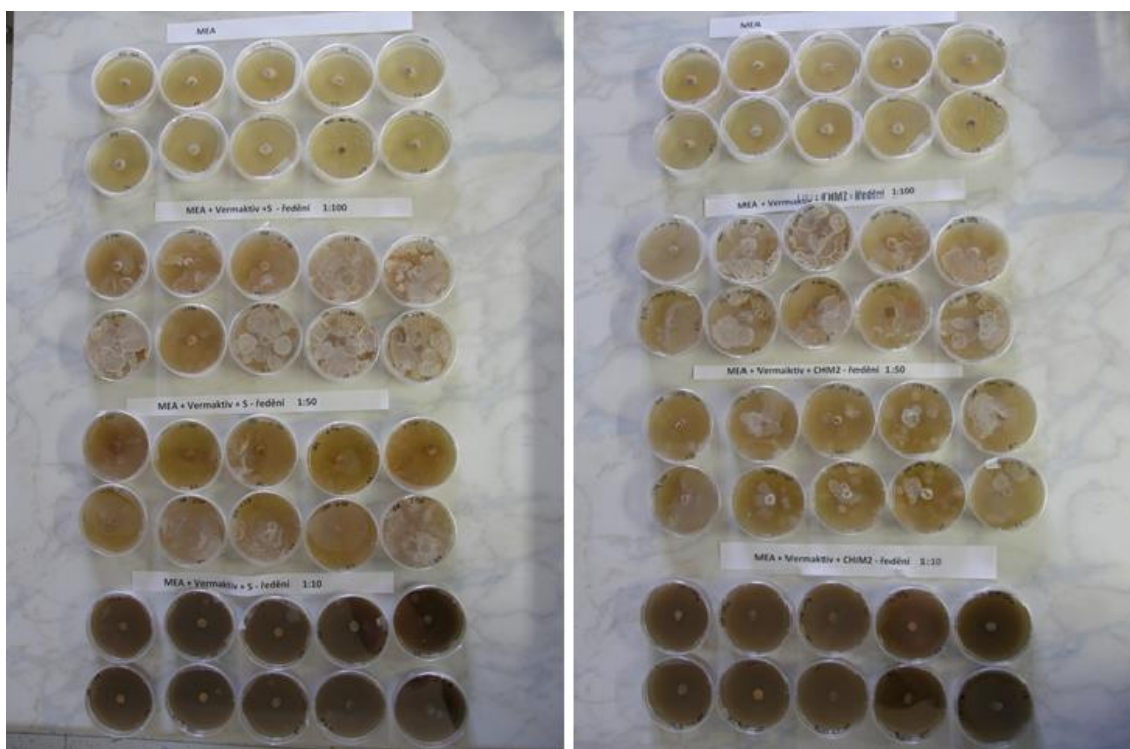
Obr. 10 Reakce mycelia *Chalara fraxinea* na aplikované varianty: kontrola, Verm. + CHM₂ (ředěný 1 : 50), Verm. + CHM₂ (konc.)

Přikládání terčičků s přípravky: 4. 12. 2013

Foceno: 13. 12. 2013

Obr. 10 představuje opět desátý den od přiložení terčičků s přípravkem označeným Vermaktiv + CHM₂. Na kontrolní variantě bez přípravku je vidět, že mycelium roste běžným způsobem, a dokonce terčičky už přerůstá. Naopak ředěná varianta růst mycelia zpomalila. Mycelium některých misek terčičky ještě nedorostlo. U koncentrované varianty roste mycelium jenom na straně, kde nejsou terčičky. Naopak strana přivrácená k terčičkům růst úplně zastavila a spíše začala „ustupovat“. Lze si povšimnout, že na okraji vznikají tmavé pigmentové zóny (příznak inhibice růstu). Také lze v této fázi pozorovat mírnou kontaminaci.

5.1.1.3 Pokus č. 3



Obr. 11 Metoda aplikace přípravků přímo do živného média

Vlevo: kontrola, MEA + Verm. + S,Cu (ředění 1 : 100), MEA + Verm. + S,Cu (ředění 1 : 50), MEA + Verm. + S,Cu (ředění 1 : 10)

Vpravo: (kontrola), MEA + Verm.+ CHM₂ (ředění 1 : 100), MEA + Verm.+ CHM₂ (ředění 1 : 50), MEA + Verm.+ CHM₂ (ředění 1 : 10)

Příkládání terčků s přípravky: 3. 4. 2014

Foceno: 7. 4. 2014

Na obr. 11 lze pozorovat nápadnou kontaminaci. Nejvíce byly postiženy u obou přípravků ředěné varianty 1:100 a 1:50, o něco méně varianty 1:10, avšak i u nich se kontaminace rychle rozvíjely. Naopak u naočkovaných Petriho misek s čistým živným médiem se kontaminace neobjevila. Proto původcem kontaminací jsou opět použité přípravky. V této fázi pokusu je mycelium u všech variant podobně velké, a aby bylo možné pozorovat a měřit nějaké výraznější rozdíly mezi přípravky a variantami, bylo by zapotřebí pokus nechat probíhat ještě nejméně 7–14 dní. Avšak pokus byl předčasně ukončen z důvodu výrazných kontaminací, které znemožňovaly pozorovatelnost narůstání a chování mycelia.

5.1.1.4 Pokus č. 4

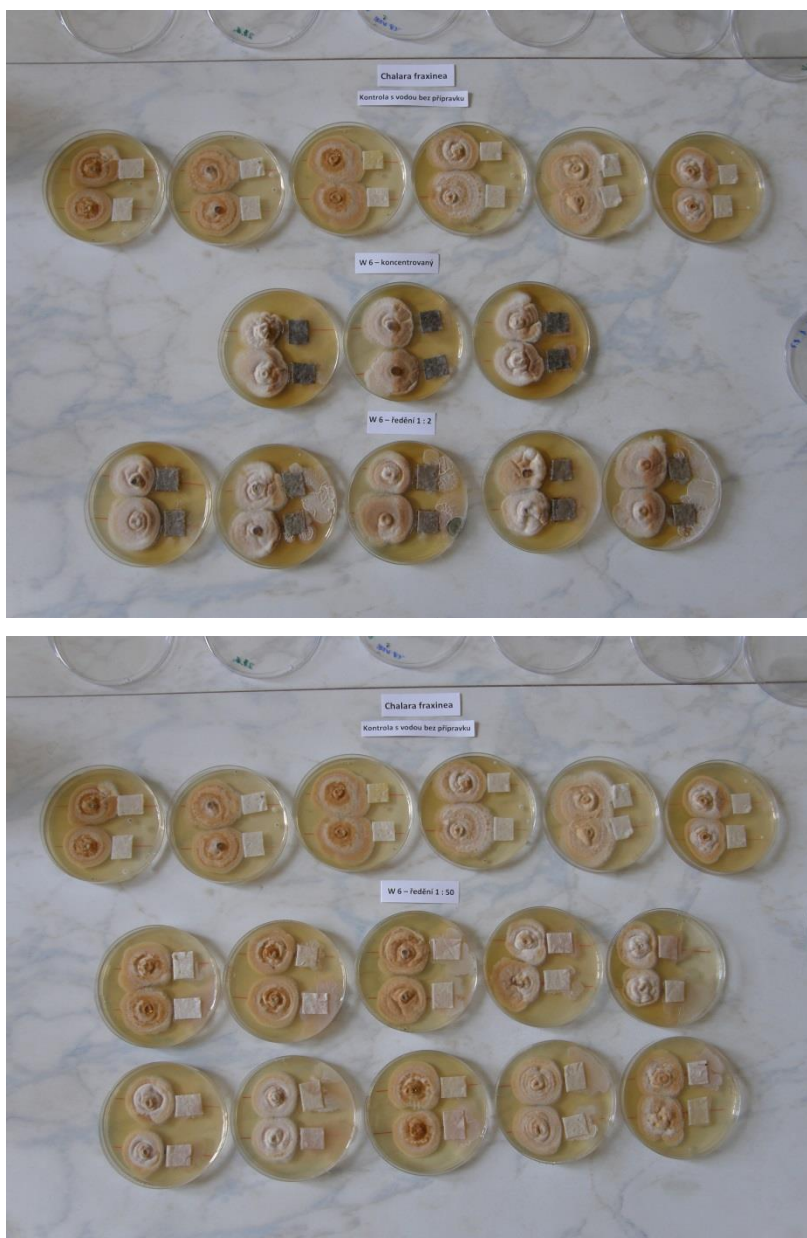


Obr. 12 Reakce mycelia *Chalara fraxinea* na aplikované varianty
Nahoře: kontrola, Fungil (konc.), Fungil (ředění 1 : 2)
Dole: kontrola, Fungil (ředění 1 : 50)

Přikládání terčků s přípravky: 8. 7. 2014

Foceno: 14. 7. 2014

Největší reakci lze pozorovat u Fungilu koncentrovaného a ředěného 1 : 2. Ta se projevila úplnou inhibicí růstu mycelia a tmavou pigmentací okraje mycelia přilehlého k terčíkům. Fungil ředěný 1 : 50 nevykazuje změnu barvy mycelia, ale oproti kontrolní variantě k určitému útlumu růstu mycelia došlo.



Obr. 13 Reakce mycelia *Chalara fraxinea* na aplikované varianty
Nahoře: kontrola, W-6 (koncentr.), W-6 (ředění 1 : 2)
Dole: kontrola, W-6 (ředění 1 : 50)

Přikládání terčků s přípravky: 8. 7. 2014

Foceno: 14. 7. 2014

Největší reakci lze pozorovat u přípravku W-6 koncentrovaného a o něco menší u ředěného 1 : 2. Tato reakce se opět projevuje inhibicí růstu mycelia a tmavou pigmentací okraje mycelia přilehlého k terčům. Varianta ředěná 1 : 50 nevykazuje žádné změny barvy mycelia, ale oproti kontrolní variantě k určitému útlumu růstu

mycelia došlo. U variant s přípravkem vznikla kontaminace, která však výrazně neovlivňuje průběh pokusu.



Obr. 14 Reakce mycelia *Chalara fraxinea* na aplikované varianty
Nahore: kontrola, W-10 (neředěný), W-6 (ředění 1 : 2)
Dole: kontrola, W-10 (ředění 1 : 50)

Přikládání terčiků s přípravky: 8. 7. 2014

Foceno: 14. 7. 2014

Stejně jako u předchozích variant má největší odezvu koncentrovaná varianta a o něco menší ředěná varianta W-10 1 : 2. Opět dochází k inhibici růstu mycelia a ztmavnutí okraje přilehlého k terčikům. Varianta ředěná 1 : 50 nevykazuje žádné

změny barvy mycelia, ale oproti kontrolní variantě k určitému útlumu růstu mycelia došlo. U variant s přípravkem vznikla kontaminace, avšak ta výrazně neovlivňuje průběh pokusu.

Z těchto tří přípravků (Fungil, W-6, W-10) nejsilnější diskoloraci a inhibici vykazoval Fungil.

5.1.1.5 Pokus č. 5



Obr. 15 Reakce mycelia *Chalara fraxinea* na aplikované varianty:

Vlevo: kontrola, Se

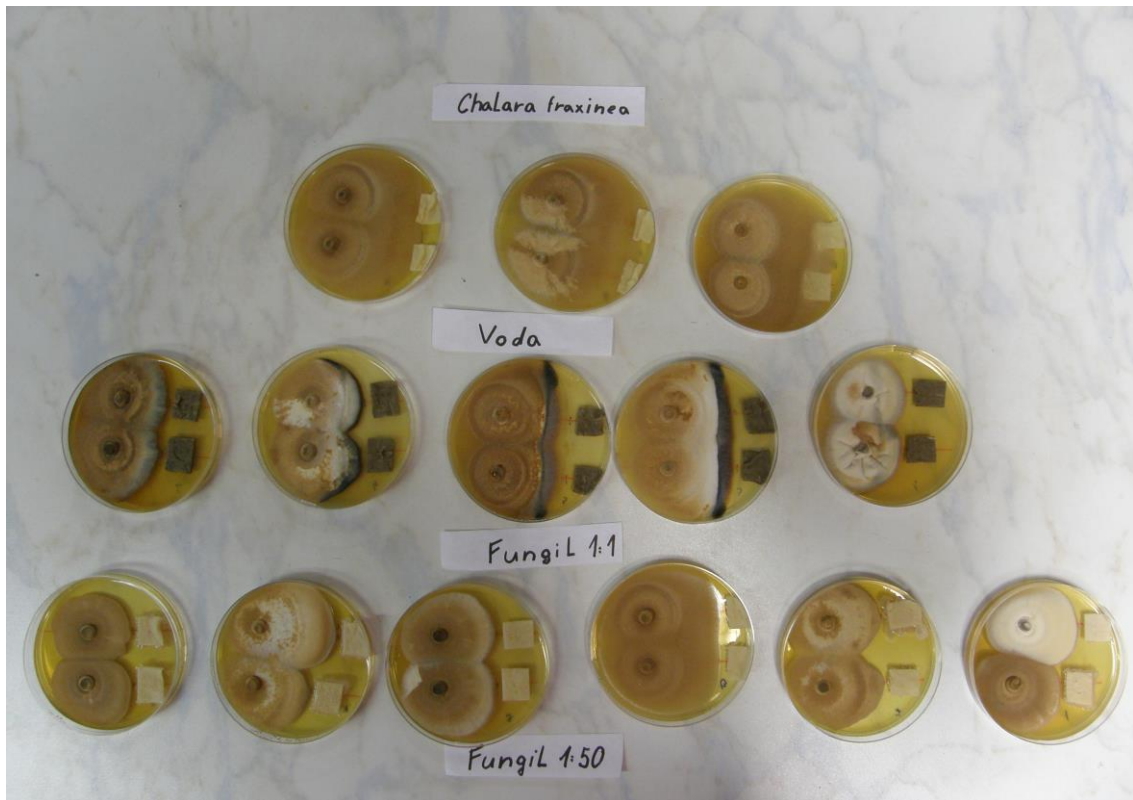
Vpravo: kontrola, Ni-19

Přikládání terčičků s přípravky: 30. 7. 2014

Foceno: 3. 8. 2014

Pro vizuální hodnocení byly vybrány pouze dvě varianty s nejmenšími přírůsty, a to Se a Ni-19. V porovnání s kontrolní variantou je vidět u obou variant menší přírůst mycelia.

5.1.1.6 Pokus č. 6



Obr. 16 Reakce mycelia *Chalara fraxinea* na aplikované varianty: kontrola, Fungil (konc.), Fungil (ředění 1 : 50)

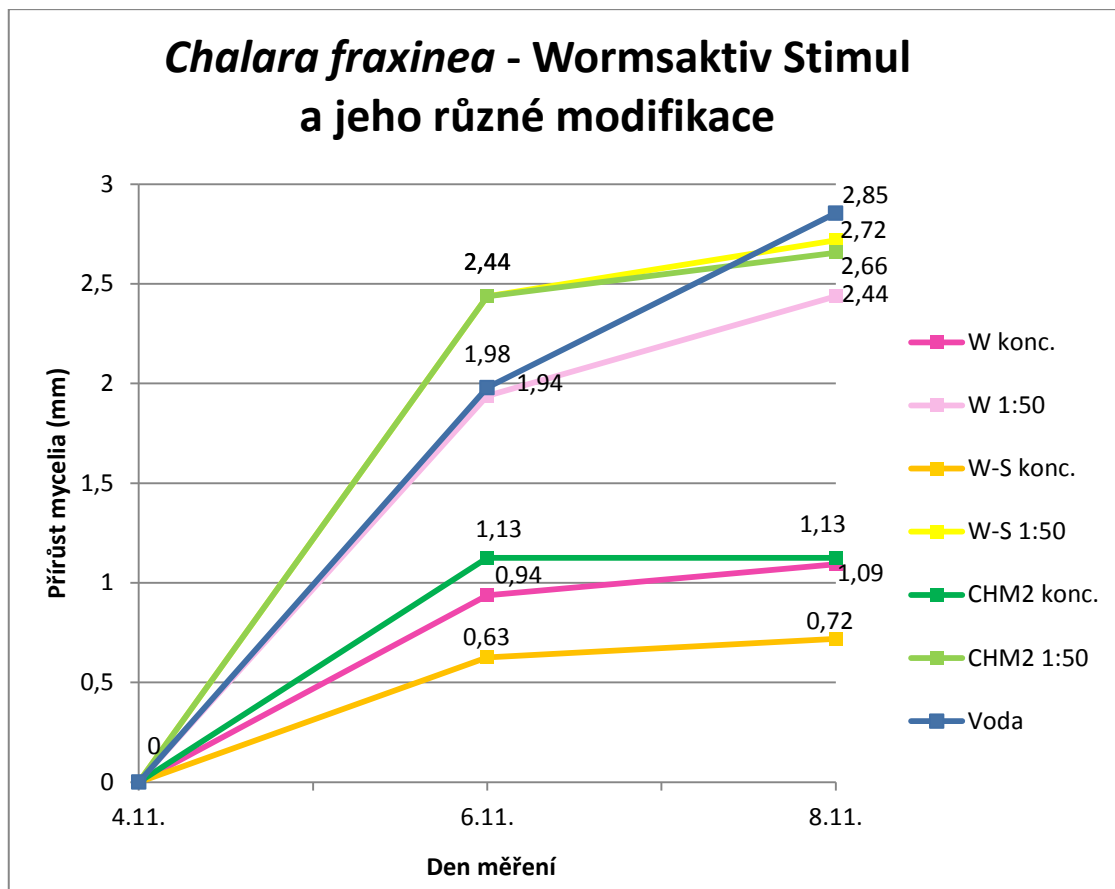
Příkládání terčíků s přípravky: 21. 11. 2014

Foceno: 1. 12. 2014

V tomto případě se testovala reakce patogena *Chalara fraxinea* pouze na nový přípravek Fungil. U kontrolní varianty je viditelný výrazný nárůst mycelia na obou stranách inokula. Mycelium misek s ředěným roztokem oproti vodě dosahuje menších rozměrů. Mezera mezi terčíky a myceliem zůstala alespoň z části zachovaná. Největší reakce proběhla u koncentrované varianty. Mycelium po celou dobu pozorování nepovyrostlo a u některých misek se u okrajů mycelia přilehlých k terčíkům vytvořila velmi výrazná tmavá pigmentová zóna.

5.1.2 Statistické hodnocení

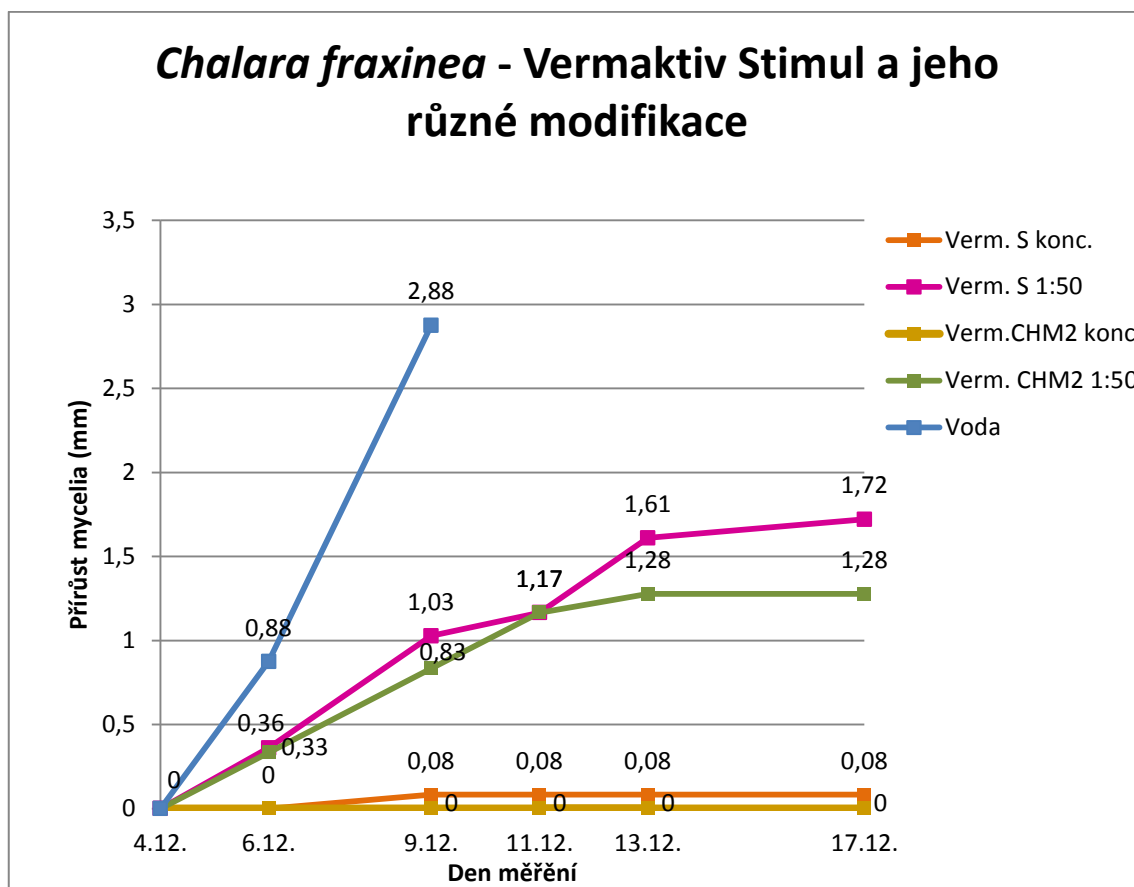
5.1.2.1 Pokus č. 1



Obr. 17 Průběh růstu mycelia *Chalara fraxinea* po aplikaci terčků s přípravky řady Wormsaktiv Stimul nebo s vodou.

Z hlediska nejmenšího celkového přírůstu mycelia nejlépe působily koncentrované varianty, z nichž nejmenší přírůst vykazovala varianta Wormsaktiv Stimul + S, Cu, potom Wormsaktiv Stimul bez příměsí a nakonec Wormsaktiv Stimul + CHM₂. Naopak ředěné varianty u prvního měření měly obdobný, nebo dokonce větší přírůst než voda. Avšak u druhého měření kontrolní varianta přirostla nejvíce, a proto velikost mycelia této varianty dosahovala největších rozměrů ze všech zkoumaných variant. Naopak je vidět, že u druhého měření u variant s přípravkem došlo k výrazné inhibici růstu mycelia oproti prvnímu měření (u kontrolní varianty pokles růstu mycelia není tak rapidní).

5.1.2.2 Pokus č. 2



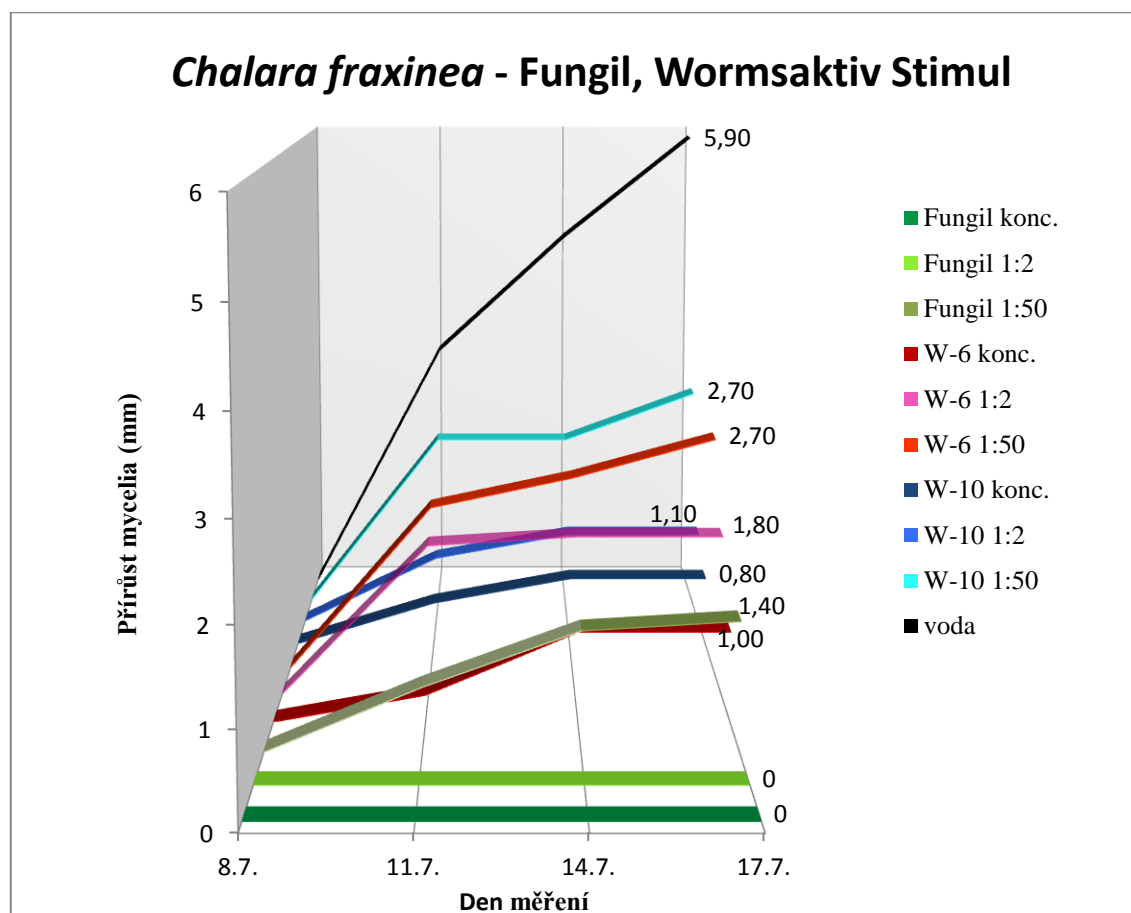
Obr. 18 Průběh růstu mycelia *Chalara fraxinea* po aplikaci terčků s přípravky řady Vermaktiv Stimul nebo s vodou.

Kontrolní varianta oproti ostatním variantám vykazovala velmi rychlý přírůst mycelia. Z důvodu špatně rozeznatelných přírůstu se u této varianty změnila pouze dvě měření. I tak lze pozorovat, že kontrolní varianta vykazuje odlišný trend růstu od ostatních variant a její přírůsty jsou několikanásobně větší. Opět lze vidět pozorovat inhibici růstu mycelia patogena *Chalara fraxinea* u koncentrovaných variant. Koncentrovaná varianta Vermaktiv Stimul + CHM₂ dokonce za celou dobu měření nevykazovala žádné známky růstu. U neředěné varianty Vermaktiv Stimul + S, Cu se pouze u druhého měření mycelium mírně zvětšilo. Ředěné varianty měly podobný trend vývoje a oproti koncentrátu vykazovaly větší přírůst. Z těchto ředěných variant vyšla o něco lépe varianta Vermaktiv Stimul CHM₂ 1 : 50.

5.1.2.3 Pokus č. 3

Z důvodu velké kontaminace nebyla změřena potřebná data pro statistické vyhodnocení.

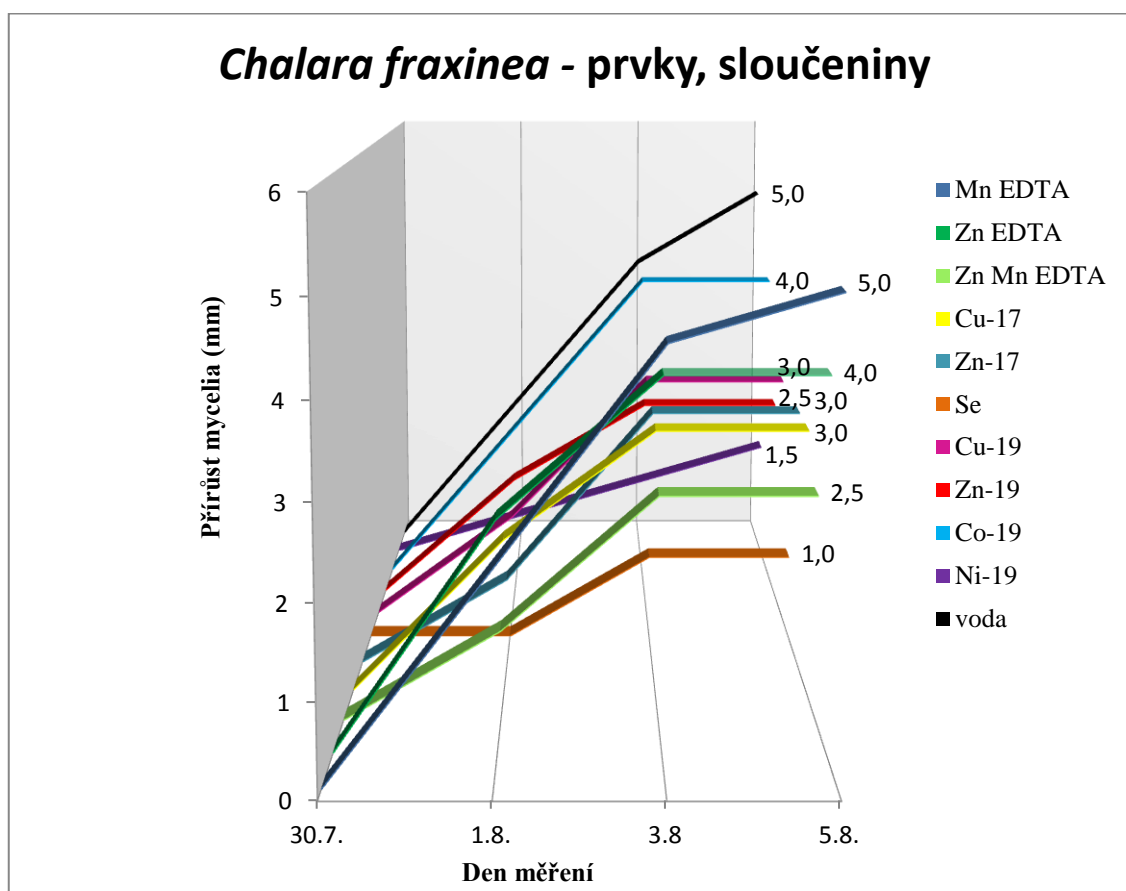
5.1.2.4 Pokus č. 4



Obr. 19 Průběh růstu mycelia *Chalara fraxinea* po aplikaci terčků s přípravky Fungil, Wormsaktiv Stimul a s vodou.

Na obr. 19 lze pozorovat nejsilnější inhibiční účinek u koncentrovaného roztoku Fungilu a ředěného roztoku Fungilu 1 : 2. Tyto dvě varianty po celou dobu konání pokusu nevykazovaly žádné známky růstu mycelia. Z ředěných variant 1 : 50 opět nejlépe účinkoval přípravek Fungil. Oproti kontrolní variantě všechny varianty s přípravky mají mnohem menší přírůsty mycelia.

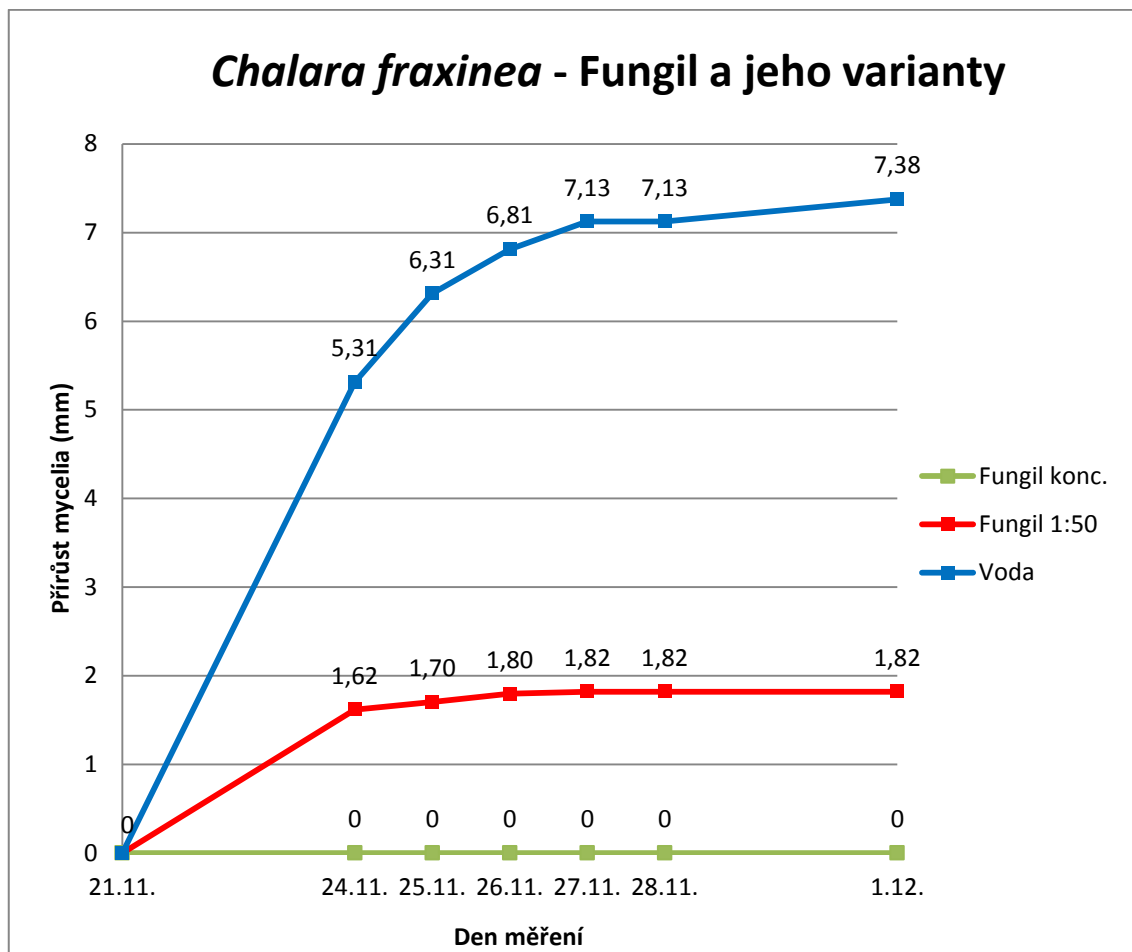
5.1.2.5 Pokus č. 5



Obr. 20 Průběh růstu mycelia *Chalara fraxinea* po aplikaci terčků s prvky, sloučeninami a vodou.

Nejsilnější inhibici růstu mycelia vykazovaly varianty Se a Ni-19. U varianty Ni-19 se první známky růstu objevily třetí den, u varianty Se až pátý den od přiložené terčků s roztoky. Naopak neuspěly varianty Co-19 a Zn EDTA, které měly podobný průběh růstu mycelia jako kontrolní varianta s vodou.

5.1.2.6 Pokus č. 6



Obr. 21 Průběh růstu mycelia *Chalara fraxinea* po aplikaci terčičků s přípravkem Fungil nebo s vodou.

Modrá křivka na obr. 21 zobrazuje růst mycelia kontrolní varianty, která vykazuje velké přírůsty oproti variantám s přípravkem Fungil. Naopak koncentrovaný Fungil nedovolil myceliu žádný přírůst během celé doby pozorování. Mycelium u ředěné varianty Fungilu v prvních fázích mírně přirůstalo, ale při pátém a šestém měření se růst se také zastavil.

5.2 Pedologická část

5.2.1 Plocha 1

5.2.1.1 Základní údaje

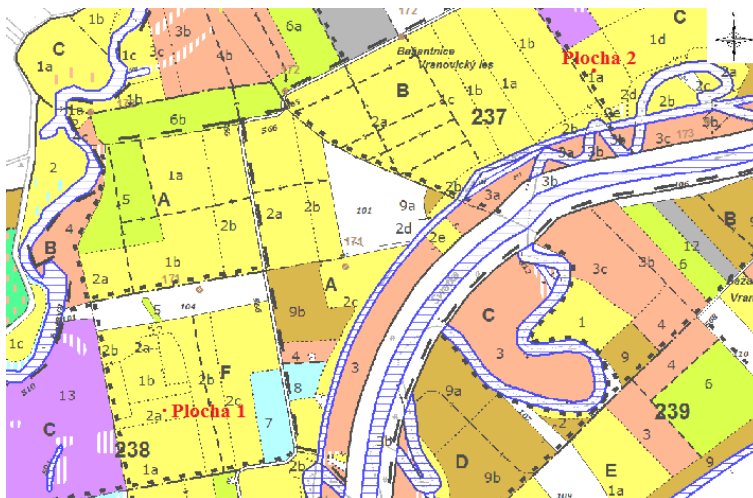
Lokalita: Vranovice (LZ Židlochovice)

GPS souřadnice: N 48°56'39.4", E 16°36'9.1"

Porost: 238 F 2a

Hospodářský soubor: 8185

Lesní typ: 1L9



Obr. 22 Porostní mapa lokality (Lesy ČR s. p. 2015)



Obr. 23 Prosychání korun jasanů a jejich opětovná regenerace

5.2.1.2 Popis jednotky

Fluvizem oglejená na těžkých aluviálních polygenetických hlínách FLg

Stratigrafie půdního profilu: O-Am-M1-M2-M3-M4-M5-M6

Humusová forma: mul

L 0-3 cm

Mezernatý, nepravidelný, letošní opad, převážně jasanu. Pomístně je vyvinuté mechové patro.

Am 3-18 cm

Hnědošedý, humózní, kyprý, polyedrická struktura. Mírně vlhký, hlinité textury. Skelet 0%, Střední prokořenění. Ostrý rovnoměrný přechod.

M1 18-30 cm

Hnědý, humózní, kyprý, polyedrická struktura. Mírně vlhký. Textura jílovito-hlinitá až jílovitá. Skelet 0%. Prokořenění slabé. Přechod zřetelný, vlnitý.

M2 30-48 cm

Hnědý, místy okrový, silně ulehlý, polyedrická struktura. Mírně vlhký. Jílovito-hlinitá/prachovo-jílovitá textura. Skelet 0%. Prokořenění velmi slabé. Zřetelný, vlnitý až rovnoměrný přechod.

M3 48-60 cm

Červeno-hnědá až hnědá, ulehlý, polyedrická struktura. Mírně vlhký. Textura jílovito-hlinitá. Skelet 0%. Prokořenění velmi slabé. Přechod zvlněný až rovnoměrný.

M4 60-87 cm

Hnědý až hnědo-rezivý, silně ulehlý, polyedrická struktura, mírně vlhký, jílovito-hlinitá textura. Skelet 0%. Přechod ostrý, rovnoměrný, Prokořenění velmi slabé. Novotvary - Mn-Fe bročky, drobné uhlíky.

M5 87-112 cm

Hnědošedý, ulehlý, polyedrická struktura, mírně vlhký, hlinitá textura. Skelet 0%. Přejichod zřetelný, rovnoměrný. Prokořenění velmi slabé. Mramorování, Mn-Fe bročky, popeloviny

M6 > 112 cm

Šedý až šedomodrý rezivé novotvary, mírně ulehlý, polyedrická struktura, středně vlhký, hlinitý, mírný přechod. Prokořenění velmi slabé, popeloviny

Půda vzniklá na humózních polygenetických hlínách s nevýraznou stratifikací a nevýraznou barevnou diferenciací a rychlým, ale nevýrazným přechodem horizontů. Bezskeletnatá půda na středně těžkém až těžkém substrátu s nepravidelnou příměsí popelovin a zuhelnatělého materiálu. Vysoká biologická aktivita žížaly, mnohonožky, červci apod.



Obr. 24 Půdní sonda

5.2.1.3 Půdní vlastnosti

Tab. 1 Fyzikální a hydrofyzikální vlastnosti půdy na Ploše 1 (vzorky odebírané z půdní sondy)

Fyzikální a hydrofyzikální vlastnosti		Am		M1		M2	
$\Theta_{\text{MKK}} (\%)$	maximální kapilární kapacita	52,64	velmi silně vododržný	46,58	silně vododržný	47,30	silně vododržný
$\Theta_{\text{RVK}} (\%)$	retenční vodní kapacita	47,61		41,71		42,65	
$\rho_w (\text{g/cm}^3)$	objemová hmotnost	1,36		1,69		1,83	
$\rho_d (\text{g/cm}^3)$	objemová hmotnost redukována	1,11		1,36		1,48	
w (%)	hmotnostní vlhkost	23,29	čerstvě vlhký	23,75	čerstvě vlhký	15,3	mírně vlhký
Θ (%)	objemová vlhkost	25,74		32,36		29,24	
P (%)	pórovitost	54,46	středná	47,12	středná	48,02	středná
A (%)	provzdušněnost (okamžitá)	28,72		14,76		18,78	
$A_{\text{MKK}} (\%)$	minimální vzdušná kapacita	1,82	velmi nízká/ neprovzdušněný	0,54	velmi nízká/ neprovzdušněný	0,72	velmi nízká/ neprovzdušněný
$R_{\text{NP}} (\%)$	nasycenost půdních pórů	47,26		68,67		62,56	
$R_v (\%)$	relativní kapilární vlhkost	48,9		69,47		60,00	
LB (%)	lentokapilární bod	24,23		23,53		24,37	
S (%)	obsah sušiny	96,16		96,43		96,77	

Tab. 2 Fyzikální a hydrofyzikální vlastnosti na Ploše 1 (vzorky odebírané z půdní sondy)

Fyzikální a hydrofyzikální vl.	M3		M4		M5		M6	
Θ_{MKK} (%)	50,05	velmi silně vododržný	49,34	silně vododržný	39,32	silně vododržný	38,61	silně vododržný
Θ_{RVK} (%)	46,66		46,03		36,37		35,71	
ρ_w (g/cm ³)	1,7		1,72		1,77		1,85	
ρ_d (g/cm ³)	1,35		1,35		1,49		1,53	
w (%)	25,96	Vlhký	27,56	vlhký	19,1	čerstvě vlhký	20,94	čerstvě vlhký
Θ (%)	35,09		37,13		28,46		32,03	
P (%)	46,89	Středná	51,08	středná	42,17	nízká	41,75	nízká
A (%)	11,8		13,95		13,71		9,72	
A_{MKK} (%)	-3,16	velmi nízká/ neprovzdušněný	1,74	velmi nízká/ neprovzdušněný	2,85	velmi nízká/ neprovzdušněný	3,14	velmi nízká/ neprovzdušněný
R_{NP} (%)	74,84		72,00		67,49		76,71	
R_v (%)	70,11		72,68		72,38		82,92	
LB (%)	26,85		26,83		22,92		23,22	
S (%)	95,78		95,7		96,36		96,28	

Tab. 3 Fyzikálně-chemické a chemické vlastnosti půdy na Ploše 1 (vzorky odebírané z půdní sondy)

Plocha 1, horizont	Menlich II mg/Kg								%		%		pH		
	P		Mg		Ca		K		N		C		pH H ₂ O	pH KCL	
Am	125	velmi vysoký	677	velmi vysoký	5670	velmi vysoký	330	velmi vysoký	0,35	velmi vysoký	4,63	silně humózní	6,79	6,4	neutrální
M1	23	střední	587	velmi vysoký	6555	velmi vysoký	107	vysoký	0,19	střední	2,84	humózní	7,57	6,86	mírně alkalická
M2	19	střední	559	velmi vysoký	6492	velmi vysoký	82	střední	0,14	střední	2,52	humózní	7,82	7,02	mírně alkalická
M3	19	střední	660	velmi vysoký	6034	velmi vysoký	96	vysoký	0,13	střední	2,34	humózní	7,91	7,04	mírně alkalická
M4	13	nízký	727	velmi vysoký	6361	velmi vysoký	81	střední	0,15	střední	2,58	humózní	7,99	7,11	mírně alkalická
M5	9	nízký	671	velmi vysoký	5451	velmi vysoký	47	nízký	0,08	střední	1,55	humózní	8,1	7,07	mírně alkalická
M6	34	vysoký	649	velmi vysoký	6138	velmi vysoký	128	vysoký	0,06	střední	1,27	humózní	8,08	7,06	mírně alkalická

Tab. 4 Fyzikálně-chemické a chemické vlastnosti půdy na Ploše 1 (vzorky odebírané z půdních zákopků)

Plocha 1, číslo zákopku	Menlich II mg/Kg								%		%		pH		
	P		Mg		Ca		K		N		C		pH H ₂ O	pH KCL	
1	72	velmi vysoký	685	velmi vysoký	5195	velmi vysoký	151	velmi vysoký	0,29	vysoký	3,42	silně humózní	6,75	6,17	neutrální
2	56	vysoký	655	velmi vysoký	6534	velmi vysoký	228	velmi vysoký	0,31	velmi vysoký	4,12	silně humózní	7,08	6,53	neutrální
3	54	vysoký	660	velmi vysoký	5183	velmi vysoký	188	velmi vysoký	0,25	vysoký	3,77	silně humózní	6,86	6,32	neutrální
4	64	velmi vysoký	692	velmi vysoký	6360	velmi vysoký	161	velmi vysoký	0,28	vysoký	4,28	silně humózní	7,00	6,43	neutrální
5	58	vysoký	652	velmi vysoký	5313	velmi vysoký	196	velmi vysoký	0,30	vysoký	3,86	silně humózní	6,91	6,13	neutrální
6	74	velmi vysoký	631	velmi vysoký	6022	velmi vysoký	211	velmi vysoký	0,36	velmi vysoký	4,65	silně humózní	7,03	6,41	neutrální
7	62	velmi vysoký	679	velmi vysoký	5746	velmi vysoký	196	velmi vysoký	0,30	vysoký	4,2	silně humózní	7,14	6,45	neutrální
8	63	velmi vysoký	661	velmi vysoký	6129	velmi vysoký	191	velmi vysoký	0,29	vysoký	3,96	silně humózní	7,04	6,42	neutrální

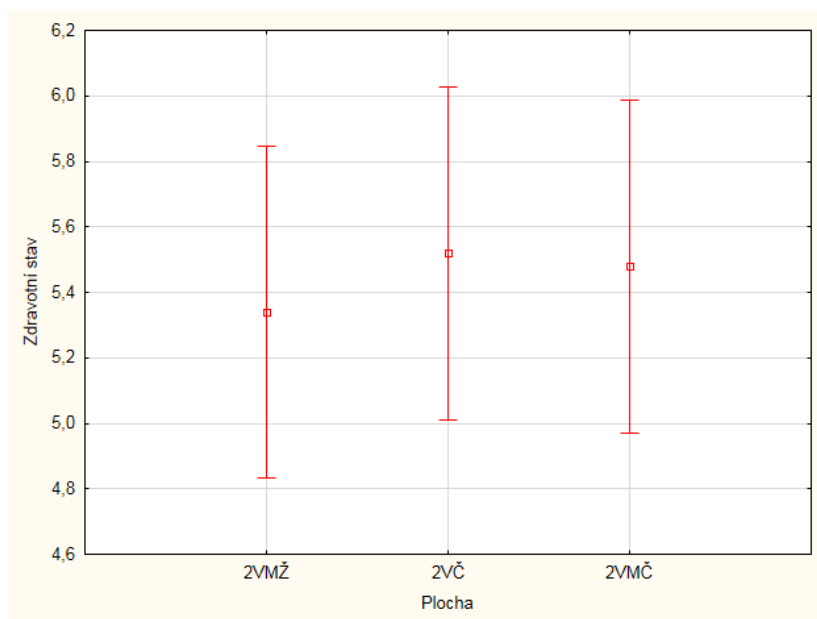
Z půdní sondy a výsledků půdních analýz vyplývá, že půda je na této ploše pro výskyt jasanu ztepilého vhodná. Pro existenci edafonu je limitujícím faktorem velmi nízký obsah vzduchu v půdě.

5.2.1.4 Počet stromů v jednotlivých variantách

Tab. 5 Počet jedinců v jednotlivých variantách

Plocha1 Varianta	Počet jedinců
V + S, Cu	155
V + CHM	172
Kontrola	147

5.2.1.5 Zdravotní stavu stromů v jednotlivých variantách



Obr. 25 Zhodnocení zdravotního stavu na Ploše 1 podle metodiky Rozsypálek (2015) (VMŽ = Worms. + S, Cu, VČ = kontrola, VMČ = Worms. + CHM₂), (Rozsypálek 2015)

Obr. 25 vyjadřuje zdravotní stav stromů v různých variantách necelých deset měsíců po první aplikaci přípravků. Nejlepší zdravotní stav stromů vykazuje varianta, kde byl pomocí rozprašovače aplikován přípravek Wormsaktiv Stimul + S, Cu. Varianta Wormsaktiv Stimul + CHM₂ vyšla o něco hůře, ale oproti kontrolní variantě má lepší zdravotní stav. Avšak rozdíly mezi variantami zatím nejsou nijak výrazné a teprve

v následujících letech se projeví, zdali přípravky mají význačnější účinnost. U starších porostů lze očekávat, že reakce na přípravky budou prokazatelné později, než u porostů mladších.

5.2.2 Plocha 2

5.2.2.1 Základní údaje

Lokalita: Vranovice (LZ Židlochovice)

GPS souřadnice: N 48°57'8.1", E 16°36'41.0"

Porost: 237 C 1a

Hospodářský soubor: 8185

Lesní typ: 1L9

5.2.2.2 Půdní jednotka

Pomocí sondovací tyče byla určena půdní jednotka Fluvizem oglejená. Lze tedy očekávat fyzikální i chemické vlastnosti půdotvorného substrátu podobné vlastnostem zjištěným na lokalitě Plocha 1.

5.2.2.3 Vlastnosti půdy

Tab. 6 Fyzikálně-chemické a chemické vlastnosti půdy na Ploše 2 (vzorky odebírané z půdních zákopků)

Plocha 2, číslo zákopku	Menlich II mg/Kg								%		%		pH		
	P		Mg		Ca		K		N		C		pH H ₂ O	pH KCL	
1	77	velmi vysoký	429	velmi vysoký	7125	velmi vysoký	96	vysoký	0,27	vysoký	4,17	silně humózní	7,41	6,79	mírně alkalická
2	48	vysoký	374	velmi vysoký	5036	velmi vysoký	103	vysoký	0,23	vysoký	3,91	silně humózní	7,37	6,80	mírně alkalická
3	54	vysoký	378	velmi vysoký	6196	velmi vysoký	92	vysoký	0,24	vysoký	4,14	silně humózní	7,49	6,89	mírně alkalická
4	59	vysoký	471	velmi vysoký	5383	velmi vysoký	99	vysoký	0,25	vysoký	3,91	silně humózní	7,32	6,75	mírně alkalická
5	60	vysoký	340	velmi vysoký	5260	velmi vysoký	88	střední	0,24	vysoký	3,70	silně humózní	7,39	6,88	mírně alkalická
6	44	vysoký	392	velmi vysoký	5238	velmi vysoký	112	vysoký	0,28	vysoký	3,90	silně humózní	7,34	6,85	mírně alkalická
7	58	vysoký	398	velmi vysoký	5777	velmi vysoký	102	vysoký	0,24	vysoký	3,92	silně humózní	7,18	6,66	neutrální
8	59	vysoký	407	velmi vysoký	5859	velmi vysoký	98	vysoký	0,25	vysoký	3,82	silně humózní	7,33	6,86	mírně alkalická

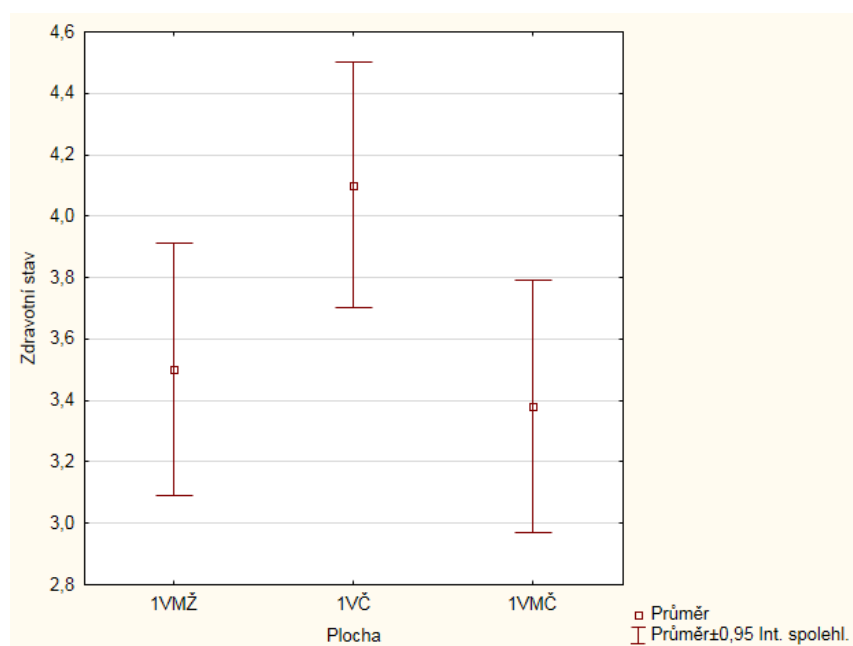
Z půdní sondy a výsledků půdních analýz vyplývá, že je půda na této ploše velmi podobná půdě na Ploše 1. Pro výskyt jasanu ztepilého je opět vhodná. Avšak i zde představují riziko výrazné letní přísušky, které mohou jasanům způsobit stres a snížit odolnost proti patogenům. I zde se dá předpokládat, že obsah vzduchu v půdě bude velmi nízký a bude limitujícím faktorem pro život edafonu.

5.2.2.4 Počet stromů v jednotlivých variantách

Tab. 7 Počet jedinců v jednotlivých variantách

Plocha2 Varianta	Počet jedinců
V + S, Cu	178
V + CHM	189
Kontrola	152

5.2.2.5 Zdravotního stavu stromů v jednotlivých variantách



Obr. 26 Zhodnocení zdravotního stavu na Ploše 2 podle metodiky Rozsypálek (2015) (VMŽ = Worms. + S, Cu, VČ = kontrola, VMČ = Worms. + CHM₂), (Rozsypálek 2015)

Necelých deset měsíců od první aplikace přípravků se varianty Wormsaktiv Stimul + S, Cu a Wormsaktiv Stimul + CHM₂ projevují lepším zdravotním stavem než varianta kontrolní. V tomto pokusu nejlépe účinkovala varianta Wormsaktiv Stimul

+ CHM₂. Na Ploše 2 jsou oproti Ploše 1 viditelně větší rozdíly mezi zdravotním stavem jednotlivých variant. Toto je pravděpodobně způsobeno tím, že u mlaziny nastupuje rychlejší a silnější reakce na přípravky.

6 Diskuze

U jasanů se typické symptomy napadení patogenem *Chalara fraxinea* projevují tvorbou lézí v okolí pupenů a nasazení letorostů, odumřením kambia, zasycháním zelených letorostů a tvorbou hnědých lézí na řapících listů, které následně hynou. Poškozené stromy mají snahu o regeneraci poškozených částí tvorbou vlků (Jankovský a kol. 2009). V průběhu výzkumu se většina těchto výše uvedených příznaků na výzkumných plochách objevila. Například na obr. 23 lze pozorovat zaschlé letorosty, které se jasaný snaží nahradit tvorbou vlků. Dalším signifikantním příznakem tohoto onemocnění je tvorba bílých apotecí telemorfního stádia *Hymenoscyphus pseudoalbidus* (syn. *H. fraxineus*) na opadaném listí a hrabance (Andrin a kol. 2014). Tato drobná apotecia byla na výzkumných plochách během výzkumu pozorována ve velkém množství.

Pokud u dřevin odumře vrcholový pupen dohází k inhibici auxinu a tím k uvolnění pupenů úžlabních. Začnou převažovat cytokininy, které podporují větvení stonku a zvyšují odolnost proti stresu (Procházka a kol. 1998). Na základě uvedeného výstupu Procházka a kol. (1998) byly tyto fytohormonální složky součástí aplikovaných přípravků řady Wormsaktiv Stimul (Vermaktiv Stimul) a výrazně se podílely na regeneračních procesech poškozených jasanů, tak jak uvádí autor. Dále fytohormony zvyšují produkci biomasy a životaschopnost dřevin (Vavříček, Kučera 2015). Přípravky Wormsaktiv Stimul (Vermaktiv Stimul) a Fungil povzbuzují imunitní odezvu rostlin, zlepšují jejich vitalitu a s tím spojenou rezistenci proti nepříznivým faktorům. Také podporují zakořeňování, růst, kvetení, množství zásobních látek, klíčení semen, vzcházivost rostlin a aktivaci spících pupenů (EnzyCorp Global s.r.o. 2015; ústní sdělení Smrček S. 28. 3. 2015). Přimíchané látky s fungicidními účinky (S, Cu atd.) by měly působit i proti houbovým patogenům (Procházka a kol. 1998). V porostních i laboratorních podmínkách se některé tyto výše popisované reakce potvrdily.

Na Ploše 1 a Ploše 2 došlo po aplikaci přípravků Wormsaktiv Stimul + CHM₂ 1 : 50 a Wormsaktiv Stimul + S, Cu 1 : 50 k mírnému zlepšení regenerace a vitality dřevin oproti kontrolním variantám. Toto zlepšení lze přisuzovat právě použitým přípravkům (viz obr. 25 a 26). Na Ploše 1 nejlépe účinkoval Wormsaktiv Stimul + S, Cu 1 : 50, naopak na Ploše 2 Wormsaktiv Stimul + CHM₂ 1 : 50. Tento rozdíl v účinnosti variant přípravků může být způsoben rozdílnými růstovými fázemi, ve kterých se právě porosty nacházejí (mlazina versus tyčkovina). U mladších porostů lze pravděpodobně očekávat rychlejší a výraznější reakce na aplikované přípravky

(viz obr. 25 a 26). V porostních podmínkách je problematické určit, zdali došlo v důsledku použitých přidaných fungicidních látek k inhibici rozvoje *Chalara fraxinea* a tedy, zdali je zlepšení vitality dřevin odezva na inhibici patogenu nebo reakcí na povzbuzení regenerace prostřednictvím fytohormonů. Protože v porostních podmínkách nelze jednoznačně stanovit a rozpoznat reakci *Chalara fraxinea* na přípravky, tak jak je tomu v laboratorních podmínkách. Jejich účinnost je v porostu ovlivňována mnoha faktory: další naředění přípravku rostlinnými roztoky, transport cévním systémem, velikost listové plochy, výživa, klima stres, věk, zdravotní stav dřeviny atd. Dalším důvodem je intenzivnější, přímá a bezprostřední reakce mycelia v laboratorních podmínkách Petriho misek. Proto je důležité pro zjištění a zpřesnění dalšího chování a zdravotního stavu dřevin pokračovat v pokusu i v dalších letech. Spolu s již probíhajícími pokusy se bude navíc zkoumat účinnost přípravku Fungil, který se v laboratoři projevil z výše uvedených jako nejlepší.

V laboratorních podmínkách, na rozdíl od výzkumných ploch, na přípravky nepůsobí žádné vedlejší faktory, které by ovlivňovaly jejich funkčnost. Dále je přesně zachovaná aplikovaná koncentrace. Proto lze sledovat přímou reakci patogenu *Chalara fraxinea* pouze na přípravky o přesně daných koncentracích. Koncentrované varianty prokazatelně výrazně inhibovaly růst mycelia (viz obr. 9, 10, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 19, 21). Dále se na myceliu *Chalara fraxinea* objevily tmavé pigmentové (diskolorační) zóny, především po aplikaci Fungilu (viz obr. 12 a 16), jakožto další příznak inhibice růstu. Ačkoliv se ukázala velmi dobrá působnost koncentrovaných variant proti patogenu, nelze tyto varianty v porostu užít. V důsledku nenaředění přípravku by bylo na postřik porostů spotřebováno jeho velké množství, což by se z ekonomického hlediska výrazně prodražilo. Ani z ekologického hlediska to není možné, protože by mohlo dojít k překročení maximální přípustné koncentrace některých látek aplikovaných do životního prostředí. Proto se také zkoumala naředěná varianta vodou v poměru 1 : 50 (přípravek : voda). Dalo se očekávat, že reakce nebude tak výrazná jako u koncentrátu, avšak i u koncentrace 1 : 50 byla pozorována ve všech variantách velmi dobrá inhibice růstu mycelia. Z variant ředěných 1 : 50 absolutně nejvíce účinkoval Fungil (viz obr. 12, 16, 19, 21), také varianty Wormsaktiv (Vermaktiv) + S, Cu (viz obr. 9, 17, 18), Wormsaktiv (Vermaktiv) + CHM₂ (viz obr. 10, 17, 18), W-6 (viz obr. 13, 19) a W-10 (viz obr. 14, 19) viditelně mycelium inhibovaly. Výstupem celé škály laboratorních pokusů je potvrzení využití přípravků ředěných o koncentraci 1 : 50, které

jsou základním předpokladem úspěšného opatření prováděného v porostních podmínkách.

Jankovský a kol. (2009) uvádějí, že obrana proti chřadnutí jasanů není dosud známa. V této bakalářské práci byla tato skutečnost částečně vyvrácena. V laboratorních podmínkách bylo zjištěno, že přípravky a Wormsaktiv Stimul (Vermaktiv Stimul) a jejich varianty a především Fungil inhibují růst mycelia *Chalara fraxinea*. V porostních podmínkách se po aplikaci přípravků ředěných 1 : 50 zjistila také lepší vitalita (viz kapitola Výsledky).

Jasan ztepilý patří z hlediska půdní výživy mezi náročné listnáče. Vyžaduje hlubší, humózní a svěží půdy, nejlépe s vyšším obsahem dusíku (Úradníček 2004). Tyto nároky se shodují s výsledky půdních analýz a půdní sondy odebrané před aplikací přípravků (viz tab. 1, 2, 3, 4 a 6). Půda na výzkumných plochách tvoří pro vývoj jasanů nadstandartní podmínky. Z abiotických činitelů největší riziko mohou představovat silné přisušky, které mohou i hluboko kořenicí jasanů (Úradníček 2004) oslabit a usnadnit patogenům jejich napadení. Kořenový systém jasanů se vyskytoval v hloubce cca jednoho metru a pravděpodobně by rostl hlouběji. Avšak jeho další vývoj a růst je na daných stanovištích ovlivněn velmi nízkou hodnotou minimální vzdušné kapacity a periodickým kolísáním vody.

7 Závěr

V bakalářské práci byly nejdříve shrnuty aktuální poznatky o řešené problematice.

V průběhu let 2013, 2014 a 2015 se uskutečnilo ověřování účinnosti přípravků v laboratorních podmínkách (6 pokusů) a na 2 výzkumných plochách u obce Vranovice.

Laboratorní podmínky

Jako významný poznatek pro práci s přípravky v laboratorních podmínkách se zjistilo, že přípravky velmi často způsobují nechtěné kontaminace, které mohou ovlivnit průběh pokusu. Pokud se roztoky na Petriho misky aplikují co nejkratší dobu od namíchání (a také roztoky byly vhodně skladovány) způsobují menší kontaminace.

V laboratorních podmínkách vždy v konečné fázi vykazovaly největší celkový přírůst mycelia kontrolní varianty. Z toho lze vyvodit, že použité přípravky a jejich varianty o různých koncentracích vykazují určitou reakci a účinnost proti *Chalara fraxinea*. Všechny koncentrované varianty velmi dobře inhibovaly růst mycelia, avšak toto zjištění není možné praktikovat v porostech z ekonomického i z ekologického hlediska. Proto nejdůležitějším laboratorním výstupem pro praxi jsou výsledky přípravků ředěných vodou v poměru 1 : 50.

V pokusu č. 1 a 2 o něco lépe reagovala varianta Worms. (Verm.) + CHM₂ 1 : 50 než Worms. (Verm.) + S, Cu 1 : 50. V pokusu č. 4 nejlépe působil Fungil 1 : 50 s celkovým přírůstem mycelia 1,40 mm oproti variantám W-6 1 : 50 a W-10 1 : 50, které měly celkový přírůst stejný 2,70 mm. Velmi výrazná reakce Fungilu 1 : 50 se potvrdila i v pokusu č. 6. Pokud porovnáme nejlépe reagující varianty Verm.+ CHM₂ 1 : 50 a Fungil 1 : 50 (pokus č. 2 a 6) zjistíme, že ze všech odzkoušených ředěných variant 1 : 50 absolutně nejvíce inhiboval růst mycelia přípravek Fungil 1 : 50.

Z výsledku pokusu č. 5 lze jako případná aditiva do přípravků vyzkoušet i Se a Ni-19, kterým mycelium za dobu zkoumání přirostlo pouze 1 mm a 1,5 mm.

Výzkumné plochy

V lesním ekosystému bylo zjištěno, že na Ploše 1 (tyčkovina) vykazuje kontrola mírně zhoršený zdravotní stav jasanů oproti variantám s přípravky. Nejlepší zdravotní stav vyšel u varianty Worms. + S, Cu. Na Ploše 2 (mlazina) opět kontrola vykazuje mírně zhoršený zdravotní stav jedinců oproti variantám s přípravky. Naopak zde nejlépe

vyšla varianta Worms. + CHM₂. Přípravek Fungil nebyl zatím v porostních podmínkách odzkoušen. Tato problematika bude řešena v následujících letech.

Na Ploše 1 a Ploše 2 byla identifikovaná stejná půdní jednotka: Fluvizem oglejená. Z rozborů půdních vzorků se zjistilo, že půdy obou ploch mají podobné půdní vlastnosti. Půdní reakce je neutrální až mírně alkalická. Obsahují vysoké množství živin a vody. Jsou poměrně hluboké, avšak velmi málo provzdušněné. Celkově jsou tyto půdy optimální pro výskyt jasanu.

Na závěr lze konstatovat, že přípravky koncentrované a o něco méně ředěné (především Fungil) v laboratorních podmínkách vykazovaly významnou účinnost proti *Chalara fraxinea* (inhibice růstu patogenu). Také v porostních podmínkách se tyto přípravky projevíly pozitivním vlivem na zdravotní stav dřeviny.

8 Summary

In this thesis there were summarized current knowledge about *Chalara fraxinea* and related topics. During the years 2013, 2014 and 2015 in the laboratory and research areas there were tested effects of the preparations.

Laboratory Conditions

As an important finding for work with preparations in laboratory conditions it was found that preparations often cause unwanted contamination. Contamination may affect the experiment. But if the preparations are applied to Petri dishes shortest time from mixing they cause less contamination.

All concentrated variants of preparations inhibited mycelial growth very well. But concentrated variants can not be applied in the forest from an economic and from an environmental perspective. Therefore the preparations were applied at a concentration of 1 : 50 (preparation: water). Fungil most inhibited mycelial growth of all diluted variants. But variants Wormsaktiv (Vermaktiv) + S, Cu, Wormsaktiv (Vermaktiv) + CHM₂, W-6 and W-10 inhibited mycelium too. Experiment number 5 showed that selenium and nickel can be used as an additive to preparations

Research areas

In the forest ecosystem, there was found: the variant with the preparation Worms. + S, Cu 1 : 50 has the best health status of trees on the Area 1. On the contrary, the Area 2 has the best health status of trees variant with preparation Worms. + CHM₂ 1 : 50.

On the Area 1 and the Area 2 there was identified the same soil unit: fluvisol. The soils of both areas have similar soil characteristics. Soil reaction is neutral to slightly alkaline. They contain high levels of nutrients and water. They are quite deep, but very little aerated. Overall, the soils are optimal for the occurrence of ash.

9 Seznam literatury

- 1) Andrin, G., Holdenrieder, O., Pautasso, M., Queloz, V., Sieber, T. 2014. *Hymenoscyphus pseudoalbidus*, the causal agent of European ash dieback. *Molecular plant pathology* 15(1). 5–21.
- 2) Cannon, P. *Hymenoscyphus pseudoalbidus* (chalara ash dieback) [online] citováno 8. dubna 2015. Dostupné na World Wide Web: <<http://www.kew.org/science-conservation/plants-fungi/hymenoscyphus-pseudoalbidus-chalara-ash-dieback>>
- 3) Čermák, P. Atlas poškození dřevin: abiotická poškození [online] citováno 20. března 2015. Dostupné na World Wide Web: http://atlasposkozeni.mendelu.cz/kategorie/1-abioticka_poskozeni.html
- 4) Drenkhan, R., Sander, H., Hanso, M. 2014. Introduction of Mandshurian ash (*Fraxinus mandshurica* Rupr.) to Estonia: Is it related to the current epidemic on European ash (*F. excelsior* L.)?. *Eur J Forest Res* 133 (2014). 769–781.
- 5) ENZYCORP Global s.r.o. Wormsaktiv Stimul [online] citováno 28. března 2015. Dostupné na World Wide Web: <<http://www.enzycorp.cz/wormsaktiv-stimul/>>
- 6) Hietala, A., Timmermann, V., Borja, I., Solheim, H. 2013. The invasive ash dieback pathogen *Hymenoscyphus pseudoalbidus* exerts maximal infection pressure prior to the onset of host leaf senescence. *Fungal ecology* 6 (2013). 302–308.
- 7) Horníček, J. Současnost, obec Vranovice [online] citováno 4. dubna 2015. Dostupné na World Wide Web: <<http://www.vranovice.eu/obec-vranovice/o-obci-vranovice/soucasnost/>>.
- 8) Chandelier, A., Helson, M., Dvorak, M., Gischer, F. 2014. Detection and quantification of airborne inoculum of *Hymenoscyphus pseudoalbidus* using real-time PCR assays. *Plant pathology* 63 (2014). 1296–1305.
- 9) Jankovský, L., Holdenrieder, O. 2009. *Chalara fraxinea* – Ash Dieback in the Czech Republic. *Plant Protection Science* 45 (2). 74–78.
- 10) Jankovský, L., Šťastný, P., Palovčíková, D. 2009. Nekróza jasanu *Chalara fraxinea* v ČR. *Lesnická práce* 88 (1). 16–17.
- 11) Kincl, M., Krpeš, V. 2000. *Základy fyziologie rostlin*. Ostrava, Montanex, 221 s. ISBN 80-7225-041.

- 12) Kirisits, T., Cech T., 2009. DWF-Erhebungen zum Eschentriebsterben ab 2009. Forstschutz Aktuell (47). 11–12.
- 13) Klimo, E. 2000. Lesnická pedologie. Brno, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 259 s.
- 14) Kolařík, J. 2005. Péče o dřeviny rostoucí mimo les – II. Vlašim, ČSOP, 720 s. ISBN 80-86327-44-2.
- 15) Košťálová, V., Sázellová, V. 2010. Chřadnutí a odumírání jasanů. Původce: *Chalara fraxinea* Kowalski, 2006. Praha, Ministerstvo zemědělství ve spolupráci se Státní rostlinolékařskou správou, 8 s.
- 16) Kowalski, T., Holdenrieder, O. 2009. The telemorph of *Chalara fraxinea*, the causal agent of ash dieback. Forest Pathology 39 (2009). 304–308.
- 17) Kräutler, K., Treitler, R., Kirisitis, T. 2015. *Hymenoscyphus fraxineus* can directly infect intact current-year shoots of *Fraxinus excelsior* and artificially exposed leaf scars. Forest Pathology (2015). 1–7.
- 18) Křístek, J., Urban, J. 2013. Lesnická entomologie. Praha, Academia, 445 s. ISBN 978-80-200-2237-0
- 19) Lesy ČR, s. p. Charakteristika spravovaného území [online] citováno 5. dubna 2015. Dostupné na World Wide Web: <<http://www.lesy.cz/lz4/charakteristika/Stranky/charakteristika.aspx>>
- 20) Mosse, B., Roger, T. 2004. A history of research on arbuscular mycorrhiza. Mycorrhiza 14 (3). 145–163.
- 21) Mze. 2014. Zpráva o stavu lesa a lesního hospodářství České republiky v roce 2013. Praha, 134 s. ISBN 978-80-7434-153-3.
- 22) Nárovec, V. 2001. 100x o hnojení v lese. Lesnická práce, 31 s. ISBN 80-86386-16-3.
- 23) Pautasso, M., Aas, G., Queloz, V., Holdenrieder, O. 2013. European ash (*Fraxinus excelsior*) dieback – A conservation biology challenge. Biological Conservation 158 (2013). 37–49.
- 24) Podlešáková, K., Tarkowská D., Pěkčík, A., Oklešťková, J., Turečková, V., Floková, K., Tarkowski, P. 2012. Nové trendy v analýze fytohormonů. Chemické listy, 106(5). 373-379.
- 25) Poleno, Z., Vacek, S., Podrázský, V. 2007a. Pěstování lesů 1. Kostelec nad Černými lesy, Lesnická práce, 315 s. ISBN 978-80-87154-07-6.

- 26) Poleno, Z., Vacek, S., Podrázský, V. 2007b. Pěstování lesů 2. Kostelec nad Černými lesy, Lesnická práce, 463 s. ISBN 978-80-7084-656-8
- 27) Poleno, Z., Vacek, S., Podrázský, V. 2009. Pěstování lesů 3. Kostelec nad Černými lesy, Lesnická práce, 951 s. ISBN 978-80-87154-07-6.
- 28) Poleno, Z., Vacek, S., Podrázský, V. 2009. Pěstování lesů 3. Kostelec nad Černými lesy, Lesnická práce, 951 s. ISBN 978-80-87154-07-6.
- 29) Procházka a kol. 1997. Regulátory rostlinného růstu. Praha, Academia, 395 s. ISBN 80-200-0597-8.
- 30) Procházka, S. 2009. Botanika: morfologie a fyziologie rostlin. Brno, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 242 s. ISBN 978-80-7375-125-8
- 31) Procházka, S., Macháčková, I., Kredule, J., Šebánek, J. 1998. Fyziologie rostlin. Praha, Academia, 484 s. ISBN 80-200-0586-2.
- 32) Rejšek, K. 1999. Lesnická pedologie cvičení. Brno, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 152 s. ISBN 80-7157-352-3.
- 33) Rozsypálek, J. 2015. Infekční biologie *Chalara fraxinea* a faktory ovlivňující fruktifikaci teleomorfy *Hymenoscyphus pseudoalbidus* jako zdroje infekce nekrózy jasanu. Diplomová práce. Brno: Mendelova univerzita v Brně, Lesnická a dřevařská fakulta. 98 s.
- 34) Šebánek, J. 2009. Devadesát let výzkumu morfogeneze a hormonologie rostlin na MZLU v Brně. Brno, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 64 s. ISBN 978-80-7375-313-9.
- 35) Šimek, M. 2007. Základy nauky o půdě: neživé složky půdy. České Budějovice, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 152 s.
- 36) Šrámek, V., Novotný, R. 2013. Stav lesních půd a chřadnutí smrku. Lesnická práce, 92(6). 22-23.
- 37) Tichá, S., Úradníček, L. 2009. Multimediální obrazový atlas dřevin. Elektronické skriptum na DVD. Brno, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. ISBN 978-80-7375-274-3
- 38) Uhlířová, H. a kol. 2004. Poškození lesních dřevin. Kostelec nad Černými lesy, Lesnická práce, 288 s. ISBN 80-86386-56-2.
- 39) Úradníček, L. 2004. Lesnická dendrologie II.: (*Angiospermae*). Brno, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 178 s. ISBN 80-7157-760-X.
- 40) Vavříček, D., Kučera, A. 2015. Lesnická pedologie pro posluchače LDF Mendelu v Brně. Brno, Mendelova univerzita v Brně, 259 s.

- 41) Vizárová, G. Rastové látky a stres způsobený patogény. In: Problematika využívání růstových regulátorů: sborník ze semináře pořádaného 26. září 1991 Ústavem botaniky a fyziologie rostlin VŠZ v Brně a komisí fyziologie rostlin AZV ČSFR na téma "Ekologické zřetele využívání regulátorů rostlinného růstu". Brno, Vysoká škola zemědělská, 1992, 19–28.

10 Seznam obrázků a tabulek

10.1 Seznam obrázků

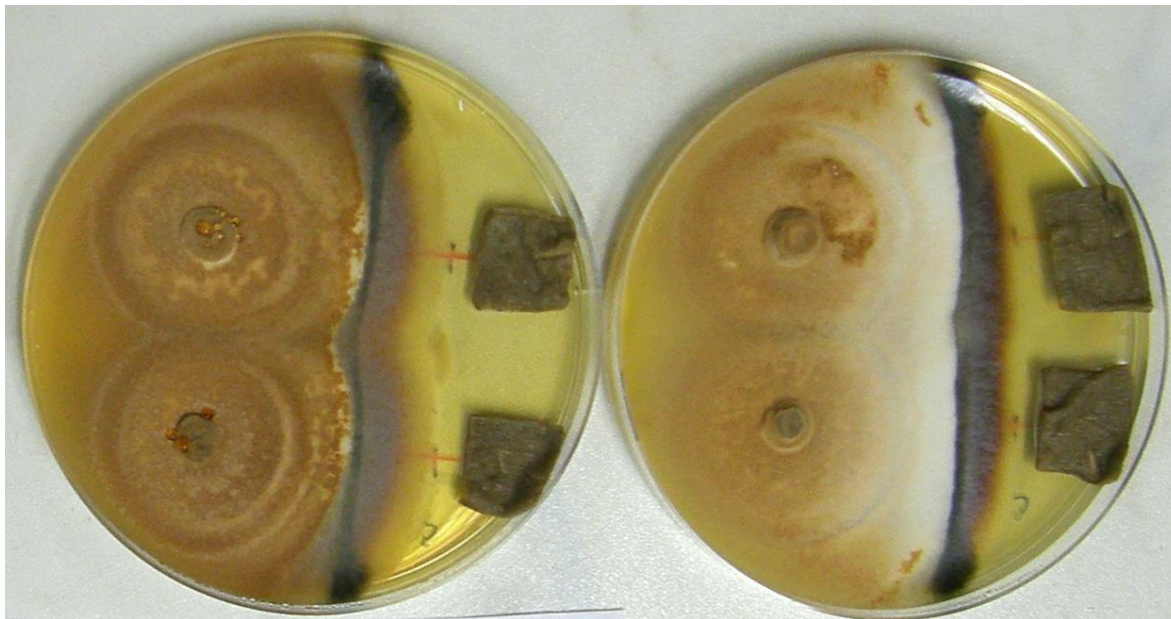
- Obr. 1** Příznaky napadení patogenem *Chalara fraxinea* (Jankovský a kol. 2009)
- Obr. 2** Příprava živného média
- Obr. 3** Laboratorní práce ve flow-boxu: rozlévání živného média do Petriho misek
- Obr. 4** Různé koncentrace přípravku Fungil
- Obr. 5** Vzdálenost mezi terčíkem a narostlým myceliem houby
- Obr. 6** Rozčlenění výzkumných ploch na jednotlivé varianty
- Obr. 7** Aplikace přípravků pomocí postřikovače
- Obr. 8** Reakce mycelia *Chalara fraxinea* na aplikované varianty roztoků
Vlevo: kontrola, Worms. (koncentr.), Worms. (ředěný 1 : 50)
Vpravo: kontrola, Worms. + S, Cu (ředěný 1 : 50), Worms. + S, Cu (konc.)
Uprostřed: kontrola, Worms. + CHM₂ (ředěný 1 : 50), Worms. + CHM₂ (konc.)
- Obr. 9** Reakce mycelia *Chalara fraxinea* na aplikované varianty: kontrola, Verm. + S, Cu (ředěný 1 : 50), Verm. + S, Cu (konc.)
- Obr. 10** Reakce mycelia *Chalara fraxinea* na aplikované varianty: kontrola, Verm. + CHM₂ (ředěný 1 : 50), Verm. + CHM₂ (konc.)
- Obr. 11** Metoda aplikace přípravků přímo do živného média
Vlevo: kontrola, MEA + Verm. + S,Cu (ředění 1 : 100), MEA + Verm. + S,Cu (ředění 1 : 50), MEA + Verm. + S,Cu (ředění 1 : 10)
Vpravo: (kontrola), MEA + Verm.+ CHM₂ (ředění 1 : 100), MEA + Verm.+ CHM₂ (ředění 1 : 50), MEA + Verm.+ CHM₂ (ředění 1 : 10)
- Obr. 12** Reakce mycelia *Chalara fraxinea* na aplikované varianty
Nahoře: kontrola, Fungil (konc.), Fungil (ředění 1 : 2)
Dole: kontrola, Fungil (ředění 1 : 50)
- Obr. 13** Reakce mycelia *Chalara fraxinea* na aplikované varianty
Nahoře: kontrola, W-6 (koncentr.), W-6 (ředění 1 : 2)
Dole: kontrola, W-6 (ředění 1 : 50)
- Obr. 14** Reakce mycelia *Chalara fraxinea* na aplikované varianty
Nahoře: kontrola, W-10 (neředěný), W-6 (ředění 1 : 2)
Dole: kontrola, W-10 (ředění 1 : 50)
- Obr. 15** Reakce mycelia *Chalara fraxinea* na aplikované varianty:
Vlevo: kontrola, Se
Vpravo: kontrola, Ni-19
- Obr. 16** Reakce mycelia *Chalara fraxinea* na aplikované varianty: kontrola, Fungil (konc.), Fungil (ředění 1 : 50)
- Obr. 17** Průběh růstu mycelia *Chalara fraxinea* po aplikaci terčíků s přípravky řady Wormsaktiv Stimul nebo s vodou.
- Obr. 18** Průběh růstu mycelia *Chalara fraxinea* po aplikaci terčíků s přípravky řady Vermaktiv Stimul nebo s vodou.
- Obr. 19** Průběh růstu mycelia *Chalara fraxinea* po aplikaci terčíků s přípravky Fungil, Wormsaktiv Stimul a s vodou.

- Obr. 20** Průběh růstu mycelia *Chalara fraxinea* po aplikaci terčků s prvky, sloučeninami a vodou.
- Obr. 21** Průběh růstu mycelia *Chalara fraxinea* po aplikaci terčků s přípravkem Fungil nebo s vodou.
- Obr. 22** Porostní mapa lokality (Lesy ČR s. p. 2015)
- Obr. 23** Prosychání korun jasanů a jejich opětovná regenerace
- Obr. 24** Půdní sonda
- Obr. 25** Zhodnocení zdravotního stavu na Ploše 1 podle metodiky Rozsypálek (2015) (VMŽ = Worms. + S, Cu, VČ = kontrola, VMČ = Worms. + CHM₂), (Rozsypálek 2015)
- Obr. 26** Zhodnocení zdravotního stavu na Ploše 2 podle metodiky Rozsypálek (2015) (VMŽ = Worms. + S, Cu, VČ = kontrola, VMČ = Worms. + CHM₂), (Rozsypálek 2015)
- Obr. 27** Detail okraje mycelia – tmavá pigmentová zóna způsobená přípravkem Fungil (konc.)
- Obr. 28** Detail kontrolní varianty – přerůstání terčků
- Obr. 29** Detail varianty 1 : 50 – růst mycelia částečně inhibován (varianta Fungil)
- Obr. 30** Detail Petriho misek zasažených kontaminacemi
- Obr. 31** Detail půdní sondy (horizont M4)
- Obr. 32** Lokalizace výzkumných ploch (Lesy ČR s. p. 2015)
- Obr. 33** Porostní situace na Ploše 1
- Obr. 34** Porostní situace na Ploše 2

10.2 Seznam tabulek

- Tab. 1** Fyzikální a hydrofyzikální vlastnosti půdy na Ploše 1 (vzorky odebírané z půdní sondy)
- Tab. 2** Fyzikální a hydrofyzikální vlastnosti na Ploše 1 (vzorky odebírané z půdní sondy)
- Tab. 3** Fyzikálně-chemické a chemické vlastnosti půdy na Ploše 1 (vzorky odebírané z půdní sondy)
- Tab. 4** Fyzikálně-chemické a chemické vlastnosti půdy na Ploše 1 (vzorky odebírané z půdních zákopků)
- Tab. 5** Počet jedinců v jednotlivých
- Tab. 6** Fyzikálně-chemické a chemické vlastnosti půdy na Ploše 2 (vzorky odebírané z půdních zákopků)
- Tab. 7** Počet jedinců v jednotlivých variantách

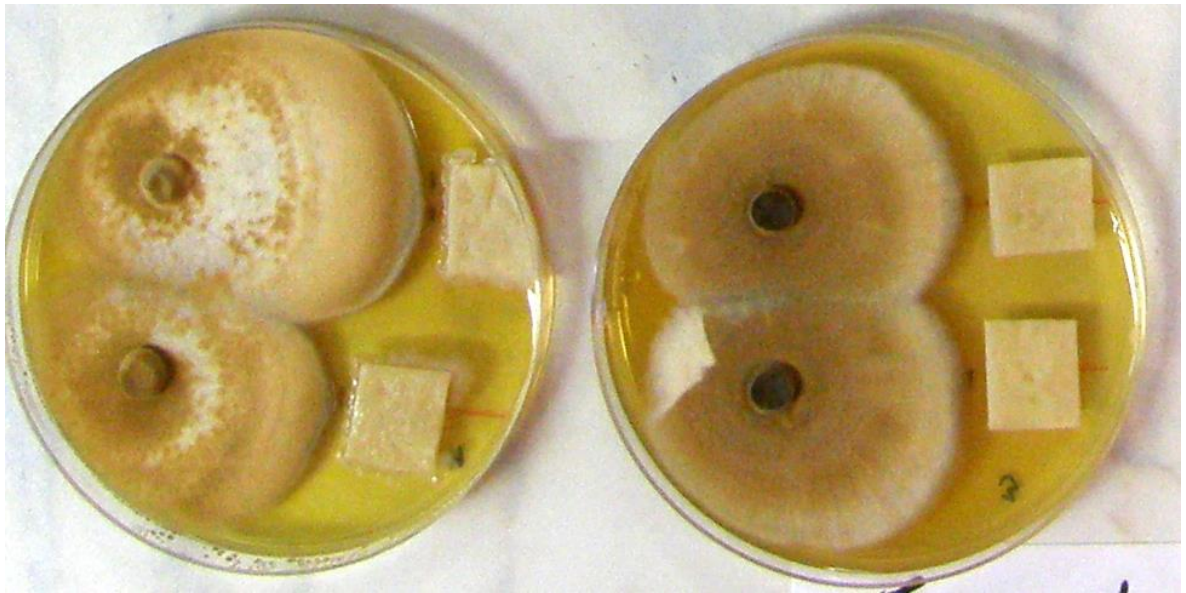
11 Přílohy



Obr. 27 Detail okraje mycelia – tmavá pigmentová zóna způsobená přípravkem Fungil (konc.)



Obr. 28 Detail kontrolní varianty – přerůstání terčků myceliem



Obr. 29 Detail varianty 1 : 50 – růst mycelia částečně inhibován (varianta Fungil)



Obr. 30 Detail Petriho misek zasažených kontaminacemi



Obr. 31 Detail půdní sondy (horizont M4)



Obr. 32 Lokalizace výzkumných ploch v rámci ČR (Lesy ČR s. p. 2015)



Obr. 33 Porostní situace na Ploše 1



Obr. 34 Porostní situace na Ploše 2