

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta lesnická a dřevařská

Katedra ochrany lesa a entomologie



Symbionti dřevokazného hmyzu

Bakalářská práce

Autor: Denisa Jašková

Vedoucí práce: Mgr. Jan Šobotník, Ph. D.

2015

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Katedra ochrany lesa a entomologie

Fakulta lesnická a dřevařská

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Denisa Jašková

Hospodářská a správní služba v lesním hospodářství

Název práce

Symbionti dřevokazného hmyzu

Název anglicky

Symbiosis in wood-degrading insect

Cíle práce

Cílem práce je utřídit dosud získané informace o symbióze mezi mikroorganismy a dřevokaznými brouky. V praktické části práce bude využito kultivačních metod ke zjištění mikroorganismů spojených s dvěma druhy dřevokazných brouků.

Metodika

Literární rešerše.

Kultivace mikroorganismů z celkového homogenátu hmyzu, z galerií ve dřevě atp. Zjištění v kolika procentech se nachází sledovaní symbionti a vyhodnocení projektu ve vztahu k navrhované hypotéze.

30 stran

Klíčová slova

symbióza, mikroorganismy, dekompozice dřeva, dřevokazní brouci, mykangia

Doporučené zdroje informací

- Ayres, M. (2001). Symbiosis and competition: complex interactions among beetles, fungi and mites. *Symbiosis*, 30, 83-96.
- Douglas, A. E. (1989). Mycetocyte symbiosis in insects. *Biological Reviews*, 64 (4), 409-434.
- Hulcr, J., Rountree, N. R., Diamond, S. E., Stelinski, L. L., Fierer, N., & Dunn, R. R. (2012). Mycangia of ambrosia beetles host communities of bacteria. *Microbial ecology*, 64(3), 784-793.
- Martin, M. M., Jones, C. G., Bernays, E. A (1991). The Evolution of Cellulose Digestion in Insects [and Discussion]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 333 (1267), 281-288.
-

Předběžný termín obhajoby

2015/06 (červen)

Vedoucí práce

Mgr. Jan Šobotník, Ph.D.

Elektronicky schváleno dne 30. 3. 2014

prof. Ing. Jaroslav Holuša, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 1. 8. 2014

prof. Ing. Marek Turčáni, PhD.

Děkan

V Praze dne 11. 04. 2015

„Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma Symbionti dřevokazného hmyzu vypracovala samostatně pod vedením Mgr. Jana Šobotníka, Ph.D. a použila jen prameny, které uvádím v seznamu použitých zdrojů.

Jsem si vědoma, že odevzdáním bakalářské práce souhlasím s jejím zveřejněním dle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách v platném znění, a to bez ohledu na výsledek její obhajoby.“

V Praze dne 20. dubna 2015

podpis autora

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala Mgr. Janu Šobotníkovi, Ph.D. za odborné vedení a cenné rady při vypracování mé bakalářské práce.

Mé velké poděkování patří též Mgr. Barboře Křížkové a Mgr. Miroslavu Kolaříkovi, Ph.D. za odborné vedení, za pomoc a rady a za trpělivost při získávání údajů pro praktickou část práce.

ABSTRACT

Bachelor's thesis entitled "Symbiosis in wood-degrading insect" is focused on the protection of forests in terms of applied entomology (mainly on the most important insect pests and methods of protection against them, the most important natural enemies of pests in forest management in the Czech Republic, the impact of climate change on insect pest management, it examines also the taxonomy of different groups of insects) and forestry phytopathology. The work is focused on bark beetles occurring in ash trees. The aim of this thesis is to rank received information to date about the symbiosis between microorganisms and bark beetles. In the practical part will be used for cultivation methods to detect microorganisms associated with two types of wood-degrading beetle.

KEY WORDS

symbiosis, microorganism, wood-decomposition, bark beetles, mycangium

ABSTRAKT

Bakalářská práce „Symbionti dřevokazného hmyzu“ je zaměřena na problematiku ochrany lesů z hlediska užití entomologie (především problematika nejvýznamnějších hmyzích škůdců a metody ochrany proti nim, přirozených nepřátel nejdůležitějších škůdců v lesním hospodářství v České republice, dopadu klimatických změn na management hmyzích škůdců, zkoumá se také taxonomie různých skupin hmyzu) a lesnické fytopatologie. Práce je zaměřena na dřevokazné brouky vyskytující se na jasanu. Cílem bakalářské práce je utřídit dosud získané informace o symbióze mezi mikroorganismy a dřevokaznými brouky. V praktické části bude využito kultivačních metod ke zjištění mikroorganismů spojených s dvěma druhy dřevokazného brouka.

KLÍČOVÁ SLOVA

symbióza, mikroorganismy, dekompozice dřeva, dřevokazní brouci, mykangium

OBSAH

| | |
|--|----|
| Úvod | 9 |
| Cíle práce a hypotéza | 9 |
| O hmyzu | 10 |
| Brouci | 12 |
| 4.1. Čeled' nosatcovití | 12 |
| 4.1.1. Čeled' kůrovci | 13 |
| 4. 1. 2. Dekompozice | 16 |
| Symbióza | 17 |
| Nekróza jasanu | 19 |
| Rod <i>Hylesinus</i> | 21 |
| 7.1. <i>Hylesinus fraxini</i> (Lýkohub jasanový) | 21 |
| 7.2. <i>Hylesinus crenatus</i> (Lýkohub zrnitý) | 23 |
| Symbiotické houby dřevokazných brouků | 24 |
| 8.1. <i>Geosmithia</i> | 24 |
| 8.2. <i>Ophiostoma</i> | 25 |
| Metodika | 26 |
| 9. 1. Kultivace vzorků | 27 |
| Výsledky | 30 |
| Diskuze | 34 |
| Závěr | 36 |
| Seznam literatury a použitých zdrojů | 37 |
| Seznam příloh | 40 |
| Přílohy | 41 |

SEZNAM OBRÁZKŮ

| | | |
|---------|---|----|
| Obr. 1 | Trouchnivé dřevo "pařezu s mísou" | 16 |
| Obr. 2 | Rakovinné rány po loňské infekci (ŠLP Křtiny 2009) | 20 |
| Obr. 3 | Zasychající letorosty a listy působením infekce (Křtiny 2009) | 20 |
| Obr. 4 | <i>Hylesinus fraxini</i> | 22 |
| Obr. 5 | Požerky <i>H. fraxini</i> | 22 |
| Obr. 6 | <i>Hylesinus crenatus</i> | 23 |
| Obr. 7 | Požerky <i>H. crenatus</i> | 24 |
| Obr. 8 | Houba <i>Geosmithia</i> | 25 |
| Obr. 9 | Houba <i>Ophiostoma</i> | 25 |
| Obr. 10 | Mapka umístění CHKO Litovelské Pomoraví | 26 |
| Obr. 11 | Letecký pohled na obec Víška | 26 |
| Obr. 12 | Rod <i>Geosmithia</i> | 31 |
| Obr. 13 | Rod <i>Geosmithia</i> , kultivace na Petriho misce | 31 |
| Obr. 14 | Rod <i>Ophiostoma</i> , kultivace na Petriho misce | 33 |

SEZNAM TABULEK

| | | |
|-----------|--|----|
| Tabulka 1 | <i>Hylesinus fraxini</i> – počty kolonií rodu <i>Geosmithia</i> | 30 |
| Tabulka 2 | <i>Hylesinus crenatus</i> – počty kolonií rodu <i>Ophiostoma</i> | 32 |

1. ÚVOD

Fytopatogenní houby a škůdci rostlin jsou přirozenou součástí všech ekosystémů a mají v nich nezastupitelné místo. Jejich role nemusí být vždy pouze negativní. Např. některé fytopatogenní houby mohou být využívány pro biologickou likvidaci některých plevelů v porostech kulturních rostlin.

Škůdci a původci rostlinných chorob se stávají skutečně škodlivými teprve v okamžiku, kdy velikost populace daného druhu dosáhne prahu ekonomické škodlivosti, způsobí hospodářskou ztrátu. Přemnožení populací škůdců a fytopatogenů je vždy důsledkem porušení rovnováhy organismů v prostředí bez ohledu na to, který z mnoha faktorů toto porušení způsobil. Přitom platí obecně známý fakt, že čím větší je diversita organismů v prostředí - včetně mikroorganismů, tím stabilnější toto prostředí je a tím menší je riziko nežádoucího přemnožení některého druhu. (Kazda J. & Prokajnová E. 2000).

Tento výzkum hledá a třídí informace týkající se symbiózy mezi mikroorganismy a dřevokaznými brouky, kteří poškozují jasanů různého stáří.

2. CÍLE PRÁCE A HYPOTÉZA

Cílem práce je utřídit dosud získané informace o symbióze mezi mikroorganismy a dřevokaznými brouky. V praktické části práce bude využito kultivačních metod ke zjištění mikroorganismů spojených se dvěma druhy dřevokazných brouků, tj s *Hylesinus fraxini* Panzer 1779 a *Hylesinus crenatus* Fabricius 1787.

Naší hypotézou je, že *H. crenatus* bude mít jinou hlavní symbiotickou houbu než *H. fraxini*. Předpokládáme, že houby žijící v symbióze s dřevokaznými brouky mají také svoji ekologickou niku, stejně jako kůrovci. V našem případě se *H. crenatus* nachází pod silnou vrstvou borky, kde nedochází tolik k vysychání. Předpokládáme tedy, že bude v symbióze s houbou, která je známá pro svoji vyšší potřebu vlhkosti (rod *Ophiostoma* Syd. & P. Syd.). V tenčích větvích, kde žije *H. fraxini* naopak očekáváme houbu, která lépe zvládá sušší prostředí, a to rod *Geosmithia* Pitt.

3. O HMYZU

Vědu, zabývající se studiem a výzkumem hmyzu, nazýváme entomologií. První fosilní otisky hmyzu pocházejí z geologického období karbon, což je zhruba před 350 miliony lety. Hmyz se řadí do skupiny živočichů bezobratlých. Druhové počty bezobratlých živočichů vysoce převyšují ostatní organismy, přesto je jejich evoluční vývoj značně pomalejší než např. u savců (Pfeffer 1955). Je to současně nejstarší skupina živočichů na světě. Ve skupině bezobratlých je hmyz jednoznačně zastoupen nejpočetněji. O přesném počtu se tak můžeme dohadovat, jelikož na naší planetě existuje přes jeden milion popsáných druhů. Je jedinou skupinou bezobratlých, u které se vyvinula schopnost letu, což mělo výrazný vliv na jeho rozšiřování. Končetiny mají přizpůsobeny tomu, v jakém prostředí žijí. (Kodrík 2000).

Hmyz jako skupina organismů je velmi adaptabilní ke svému prostředí. Žije v každé ekologické nise, která poskytuje podmínky k životu. Výborné adaptační schopnosti hmyzu vedou k jeho velké početnosti, umožňují mu odolávat nepříznivým klimatickým podmínkám a jeho přirozeným nepřítelům. Hmyz má tagmatizované tělo a jednotlivá tagmata se nazývají hlava – hrud' – zadeček. Na hlavě mají tykadla a přívěsky formující ústní ústrojí, z hrudi vyrůstají 3 páry nohou a dva páry křídel. Většinou nevyklučuje se svými výměšky vodu, ale uskladňuje ji v těle, tento postup zpětného vstřebávání mu umožňuje odolávat horkému a suchému prostředí. Tělo zástupců třídy hmyzu je z vnější strany chráněno lehkým, avšak tvrdým exoskeletem, tzv. vnější kostrou, s voskovým povrchem a chitinovou kutikulou, který tvoří vodotěsnou bariéru proti vyschnutí, chrání je před škůdci a predátory. (Kodrík 2000).

Nejvíce druhů žije v půdě nebo na ní, nejrozmanitější druhy jsou v tropických oblastech, v pralesích. Vodní druhy hmyzu žijí na vodě i pod vodou, v mořích, nalezneme je i v dutinách kmenů nebo pařezů s dešťovou vodou, kdy se jedná o tzv. dendrotelmy. Výraz vzdušný plankton je určený pro velmi drobný hmyz, který tzv. plave ve vzduchu, je unášený vzdušnými proudy. Někteří zástupci hmyzu žijí dokonce v extrémních životních podmínkách polárních oblastí.

Mnoho druhů hmyzu je obecně považováno za obtížné a škodlivé. V lesnictví patří ke sledovaným druhům kalamitní hmyzí škůdci, jejichž seznam je stanoven vyhláškou Ministerstva zemědělství č. 101/1996 Sb. Jedná se o tyto druhy: bekyně mniška

(*Limantria monacha* Linnaeus, 1758), lýkožrout smrkový (*Ips typographus* Linnaeus, 1758), lýkožrout lesklý (*Pityogenes chalcographus* Linnaeus, 1761), klikoroh borový (*Hylobius abietis* Linnaeus, 1758), obaleč modřínový (*Zeiraphera griseana* Hübner, 1799) a ploskohřbetky (Pamphiliidae), (Švestka, Jančařík, Hochmut 1998).

Z celkového počtu druhů lze klasifikovat jako lesní škůdce pouze 5 až 10 % entomofauny lesních dřevin (Pfeffer 1961). Z nich je jen malá část schopna se kalamitně přemnožit a způsobit velké hospodářské škody. I přesto to, že ekonomické ztráty v lesnictví, které hmyz způsobuje, bývají výrazně nižší než škody, které způsobuje člověk (např. znečištění životního prostředí vypouštěním škodlivých látek do ovzduší) nebo škody způsobené abiotickými činiteli (větrné polomy, lesní požáry, námraza, sucho), je ochrana před hmyzími škůdci nezbytná. V porovnání s minulostí se zhoršil zdravotní stav lesa a jeho odolnost. A jelikož škůdci napadají stromy ve všech věkových třídách, jsou ohroženy přírůsty stromů, produkční výnosy z předčasně zlikvidovaných dřevin i snížení kvality dříví. (Švestka, Jančařík, Hochmut 1998). Majitelům lesů vznikají vedle produkčních ztrát ještě další výdaje, které jsou spojené s těžebními a zalesňovacími pracemi. Nelze opominout i nevyčíslitelné ekologické důsledky související s ohrožením funkcí lesa. Jedná se především o funkce vodohospodářské a protierozní, jejichž zachování má ve střední Evropě větší význam než samotná produkce dříví. (Švestka, Jančařík, Hochmut 1998).

Je však třeba si uvědomit, že kůrovci jsou přirozenou součástí živého ekosystému lesů. Lidé je vnímají pouze jako škůdce, přesto mohou být pro lesnictví užiteční jako přirození „obnovitelé“ stavu lesů, především lesů v chráněných oblastech. Jedná se o tzv. přirozené lesy, které se vyvíjejí bez zásahu člověka a obnovují se přirozenou cestou.

4. BROUCI

Brouci (Coleoptera) tvoří nejpočetnější řád živých organismů na celé zeměkouli. Žijí ve všech typech prostředí s výjimkou oceánů. Na území České republiky se jich vyskytuje přibližně přes 7.000 druhů. Jejich typickými znaky jsou krovky, hladké či rýhované, které jsou vlastně přeměněnými prvními páry křídel. Krovky slouží jako ochrana pro tělo brouka, jelikož mu dodávají pevnost a chrání jej tak proti predátorům.

Brouci jsou hmyz s proměnou dokonalou, což znamená, že jejich životní vývoj se skládá z fází: vajíčko – larva – kukla – dospělec. Tento životní cyklus je charakteristický pro evolučně nejvyvinutější skupiny hmyzu. Z vajíček se líhnou larvy, které se dospělým exemplářům nepodobají ani tvarem ani vzhledem. Tento způsob života je přizpůsobením, jež značně rozšiřuje potravní zdroje jednoho druhu hmyzu. Larvy totiž mají často jiné potravní zdroje než dospělci, a tak si rozdílná stadia nekonkurují. Larvy rostou, několikrát se svlékají, fáze mezi jednotlivými svlékáními se nazývá instar. Nakonec se promění v kuklu. Uvnitř kukly se reorganizuje celé tělo, až se vylíhne okřídlený dospělý jedinec. Tento typ životního cyklu umožňuje larvě specializovat se na výživu a imagu (dospělci) na rozmnožování a hledání nového teritoria. Vosy, včely, mravenci, dvoukřídlí, brouci, denní i noční motýli, chrostíci, blechy, sít'okřídlí a srpice prodělávají proměnu dokonalou. Hmyz dělíme podle toho, zda je potravně vázán na jedinou rostlinu – monofág, na rostliny navzájem nepříbuzné - polyfág, nebo na rostliny nějakým způsobem příbuzné – oligofág (Cates 1980; Pfeffer 1955).

4.1 ČELEĎ NOSATCOVITÍ (Curculionidae)

Brouci z čeledi nosatcovitých (Curculionidae), kterých je na světě přes 50.000 druhů, se vyznačují nápadným znakem, a sice dlouhým protáhlým „nosem“, na jehož konci jsou kusadla. Nosec využívají pro získávání nepřístupné potravy, např. uvnitř semen. Řada nosatců je považována za škodlivý hmyz na polích, ve skladech potravin, nicméně v některých případech jsou využíváni i k přirozenému snižování stavů invazních druhů rostlin (Borovec, Košťál 1984).

Všichni zástupci této čeledi se vyznačují určitou péčí o své potomstvo. Matečné a larvální chodby tvoří pod kůrou nebo ve dřevě výrazně utvářené pozerky, které jsou charakteristické pro jednotlivé druhy této čeledi. Larvy nosatců jsou apodní (bez končetin). Ve svém žíru se živí buď částmi pletiv rostlin, nebo se přikrmují podhoubím

ambróziových hub. Většina druhů je býložravých, menší část je masožravých (Pfeffer 1989).

4.1.1 PODČELEĎ KŮROVCI (Scolytinae)

Kůrovci (Scolytinae) dříve tvořili samostatnou čeleď, proto jsou jejich rozpoznávací znaky odlišné od brouků z čeledi nosatcovitých. Podčeď kůrovci čítá více než 5.700 druhů. Jedná se o škůdce, kteří se přímo podílejí na poškozování lesních porostů po celém světě. Na Evropu připadá asi 5 % z tohoto množství. V České republice bylo dosud zjištěno 111 druhů kůrovců. (Pfeffer 1989).

Kůrovci jsou nejvíce rozšířeni v pásmu pahorkatin. Vysvětlujeme si to zastoupením nejrozmanitějších druhů dřevin, vhodných pro jejich vývoj a příznivým klimatem (Pfeffer 1955).

Mezi morfologické charakteristiky kůrovců patří jejich válcovité nebo krátce oválné tělo, bývají až černě zbarveni. Povrch těla je lesklý nebo matný, lysý nebo ochlupený, případně pokryt malými šupinkami. Hlava je kulovitá, vpředu rovně uťatá a pouze zřídka protažená v krátký nosec. (Pfeffer 1989). Jsou to takzvaně „nosatci bez nosu.“

Čelo u většiny kůrovců má druhotné pohlavní znaky, jeho struktura je proto důležitá při určování pohlaví. Ploché čelo převládá u samečků, vypouklé u samiček. Výjimka potvrzuje pravidlo, proto je několik zástupců, např. z rodu *Phloeophthorus* Wollaston 1854, kde sameček má vyduté čelo, sameček z rodu *Carphoborus* Eichhoff 1864 má čelo se dvěma hrbolky. Dalším příkladem je samička z rodu *Pityogenes* Bedel 1888, která má na čele kruhovitou jamku. (Pfeffer 1989).

Hrudní štít je buď krátce oválný, nebo krátce válcovitý. U většiny zástupců kůrovců je jeho délka rovná třetině délky celého těla. Struktura štítu je rozmanitá, povrch je rovnoměrně pokryt tečkami nebo zřetelnými hrbolky, případně je celý hladký. Krovky jsou většinou stejně široké jako štít, a tím dodávají tělu ucelený oválný tvar. Kryjí svrchu zadeček a zadohrudí. Nohy jsou krátké s vřetenovitými stehny a pětičlennými chodidly (Pfeffer 1989).

Kůrovci jsou býložraví, živí se částmi rostlin především na nutričně chudých půdách. Vyskytují se v lýkové části dřeva (floém), v kůře, v listech, ale i v semenech stromů. Nepoškozuji dřevní cévní svazky, tzv. xylém. V lesním hospodářství se mnohé druhy přemnoží při polomech způsobených větrem, sněhem nebo námrazou, a pak napadají i zdravé stromy v okolních porostech. (Pfeffer 1989).

Největší ekonomický dopad na lesní hospodářství je přítomnost agresivních druhů, které se živí rostlinnými pletivy stromů. V napadené dřevině musí čelit produkovaným ochranným mechanismům, jako jsou fenoly (sloučeniny obsahující alkohol), pryskyřice či terpenoidy (organické látky rostlinného původu). Nicméně vzhledem k velkému počtu popsaných druhů kůrovců jsou přibližně jen 2 % agresivních typů. (Six et al. 2003). Naproti tomu ambrózií brouci, kterých je mezi kůrovci popsaných asi 3.400 druhů, jsou tzv. zahrádkáři. Ve svých vyhloubených chodbičkách si pěstují houby, starají se o ně a následně je konzumují (Farrell et al. 2001).

Neuvěřitelně rozmanité je rozmnožování kůrovců, dokonce i nepohlavní rozmnožování se během evoluce vyvinulo několikrát a několika pozoruhodnými způsoby (Pfeffer 1955). Uspořádání jejich života zahrnuje systémy od nepřetržitého křížení mezi sourozenci, přes soužití v páru, kde rodinu i požerec (systém obývaných prostor) zakládá samice, až po harémové polygamie, kde jsou jak zdroje, tak samice pod plnou kontrolou samce.

Podčeled Scolytinae dělíme do tří hlavních kategorií (Six et al. 2003):

Fytofágní kůrovci se živí výhradně rostlinnými tkáněmi. Jejich životní strategie není zcela stejná a jednotná; existují zde druhy, u kterých může jejich vývoj proběhnout v živých dřevinách, aniž by je zahubili. (Šrůtka 2001). Dospělci vyhlodávají nepravidelné chodby nedaleko místa vylíhnutí a započne tzv. úživný žír.

Úživný žír je období, kdy čerstvě narozený dospělec požírá zbývající lýko nebo jiná rostlinná pletiva, případně zbytky houbových povlaků na stěnách chodeb v okolí larválních chodbiček a pomalu, až za několik měsíců, dozrává. Po ukončení úživného žíru opouští chodbu otvorem, který připravili jeho rodiče. (Pfeffer 1955).

Mycetofágové se neživí rostlinnými tkáněmi, živí se houbami, zvanými ambróziové houby, které si brouk přímo pěstuje ve vyhloubených chodbách, dokonce ani dospělci a jejich larvy se neživí ničím jiným. Je to jeden z nejvyspělejších oboustranně výhodných vztahů (Beaver 1989) a mají nejjednodušší úživný žír. Houby přenášejí pomocí mykangia.

Mykangium je orgán na těle brouka, který je umístěn buď na jeho povrchu, nebo vně zažívacího ústrojí. Jedná se o mikroskopické žláznaté prohlubně vyplněné olejovitými tekutinami. Do mykangií se symbiotické houby zachytávají ve formě spor a ven se dostávají v momentě, když kůrovec tvoří závrť v novém hostitelském stromě (Farrell et al. 2001). Fytofágní kůrovci přenášejí spory hub mezi ochlupením těla. Mutualistický vztah mezi kůrovci a houbami hrál důležitou úlohu při propuknutí holandské nemoci jilmů, tzv. grafiózy. (Brasier 1991).

Saprofágní druhy kůrovců získávají energii z odumřelých nebo rozpadajících se částí stromů. Oproti jiným druhům poměrně pozdě kolonizují hostitelský rostlinný materiál (Pfeffer 1955). Saproparazité obývají odumřelý strom do té doby, dokud nevyčerpají dostupné živiny (Kowalski, Kehr 1996). Významný podíl na dekompozici dřeva má nejen hmyz, ale i houby, lišejníky, mechorosty, byliny a semenáčky dřevin. (Vacek 1982).

4. 1. 2. DEKOMPOZICE DŘEVA

Dekompozice neboli rozklad dřevní hmoty začíná ve dřevě dávno před tím, než strom tzv. padne na zem. Postupně dochází vlivem hmyzu a jiných organických činitelů k rozkládání a hnilobě dřeva a k mechanickému poškození dřevin živočichy (Boddy 2001). Tlející dřevo není výlučně známkou rozpadu a následné obnovy lesních ekosystémů, je přirozenou součástí lesa ve formě opadaných větví, jednotlivých odumřelých stromů, tlejících kořenů, bazálních částí kmenů apod. (Jankovský, Vágner, Apltauer 2002).

Změny lesního biotypu v důsledku dekompozice odumřelých kmenů vytvářejí rozmanité ekologické niky, které v průběhu sukcese osídlují rostlinná, živočišná a mikrobiální společenstva. Odumřelá biomasa kmenů v daném prostředí není zdrojem šíření chorob lesních dřevin, ani ohniskem rozmnožování škodlivého hmyzu, ale naopak vhodným substrátem pro přirozené zmlazení dřevin, např. smrku. Na konci rozkladu se dřevo stává součástí půdy (Vacek 1982).



Obr. 1 trouchnivé dřevo "pařezu s mísou"

(zdroj: [Http://lesnizelva.blog.cz](http://lesnizelva.blog.cz))

5. SYMBIÓZA

Nejrozšířenějším typem symbiomy u hmyzu jsou houboví vnitro- či mimobuněční endosymbionti, kteří obývají speciální buňky a orgány nejčastěji napojené na střevo či malpighické trubice (vylučovací orgán). V mnoha případech je symbiomy tak těsná, že daný symbiont je nekultivovatelný a druhově specifický (Kolařík 2012).

V této práci se zaměřujeme na kůrovce žijící na jasanu – *Hylesinus fraxini* a *Hylesinus crenatus* a jejich houbové symbionty. Obecná symbiomy živočišných a rostlinných organismů spočívá ve vzájemné interakci dvou a více odlišných druhů. Může být definována jako získávání a udržování jednoho nebo více organismů, které mají za následek vznik nové struktury a (nebo) metabolismu (Zook 1998).

Dlouhotrvajícím výzkumem se zjistilo, že ve vzájemných interakcích mezi kůrovci a houbami může docházet k antagonismu, komensalismu či predaci. Při antagonismu kůrovců a hub houby pomáhají dřevinám vytvářet imunitní odpověď proti škodlivým účinkům kůrovců. Při komensalismu kůrovci využívají přítomnost houby, aniž by to na ni mělo negativní vliv. Při predaci brouci využívají k potravě houby, avšak nedochází k jejímu šíření. Mutualismus je oboustranně výhodný vztah mezi kůrovci a houbami (Klepzig, Kier, Six 2004). Na něj se více zaměříme v následujícím textu.

Zatímco se většinou hodnotí biologie a ekologie kůrovců vůči mikroorganismům, neodhalené mezery stále zůstávají ve znalostech o relativních výhodách plynoucích ze strany účastníků interakce. Mikroorganismy zahrnují tři taxonomické skupiny – houby, bakterie a kvasinky.

Kůrovci i houby měli stejný zájem, ale současně měli schopnosti, které „ti druhí“ postrádali. Proto se během evolučního vývoje mezi nimi vytvořil vzájemně výhodný vztah, přerůstající až do závislosti (Hulcr 2003). Vzájemné interakce mezi kůrovci a houbami sdílejí několik společných rysů a jsou propojeny pevnými vztahy. Pro vzájemné udržení vztahů vyžadují oba typy interakce složité morfologické, fyziologické i behaviorální specializace ze strany symbiontů. Tyto interakce se vyskytují i v rámci ekologicky a ekonomicky významných lesních škůdců (Klepzig, Kier, Six 2004).

Dřevokazný hmyz útočí na stromy tím, že zavleče symbiotické houby do stromu. Houby prvotně pomáhají broukům v likvidaci a oslabení obranných mechanismů stromů, usnadňují jim cestu k cévním svazkům. Přenášení spor a naočkování nového hostitelského stromu jsou protislužby, které kůrovec houbě poskytuje (Hulcr 2003). Následuje však doba, kdy se z hub mohou stát jejich protivníci, soupeřící s larvami o potravu, o konzumaci floému (Klepzig, Kier, Six 2004).

Hmyz (až na výjimky) není schopen trávit hlavní složku buněčných stěn rostlin, celulózu a lignin. Naopak houby účinně tyto látky rozkládají, pomáhají tedy broukům pomocí mimobuněčných enzymů s trávením a s dekompozicí dřeva či lýka. Do svých těl zabudovávají dusík, fosfor a síru z odpadních látek hmyzu, čímž tyto biogenní prvky recyklují. Další možnost vzájemné výpomoci vyplývá z faktu, že většina hmyzu nedokáže syntetizovat řadu aminokyselin (hlavně aromatické a ty se sírou), steroly, vitaminy skupiny B a různé mastné kyseliny. Klíčovou schopností mikrobiálních symbiontů je detoxikace. Druhotné metabolity rostlin, jako je například kofein či nikotin, slouží hlavně jako ochrana proti herbivorům, stejně jako u hub, kde jde patrně o ochranu před mykofágií (Kolařík 2012).

Vzhledem k dlouhé době společného vývoje došlo v koevoluci hub a brouků k řadě morfologických a behaviorních přizpůsobení. Ze strany hmyzu byla nejdůležitější adaptace již zmíněna: vývoj mykangií jako zásadního morfologického aparátu pro přenos spor hub. S touto strukturou se pojí i zisk specifického chování – nabírání hub z povlaku chodbičky před vylétnutím dospělého.

Primární houboví symbionti ztráceli schopnost pohlavního rozmnožování (Hsiau, Harrington 2003), což znamenalo, že se houby začaly přizpůsobovat svému prostředí, jehož stabilitu jim poskytli kůrovci. Systém, kde brouk přenese symbiotickou houbu na další lokalitu, je pro ně natolik výhodný, že některé druhy hub už spoléhají nevratně a pouze na nepohlavní rozmnožování (Klepzig, Kier, Six 2004).

„Zemědělská revoluce“ kůrovců začala někdy koncem kříd v kůře araukárií, stále zeleného exotického jehličnanu z čeledi blahočetovitých Araucariaceae. Již v té době na jehličnanech žily vřeckovýtrusné houby z řádu Ophiostomatales (Hulcr 2003). Počátky herbivorie a získávání potravy na krytosemenných rostlinách vedly ke zvýšení

diverzifikace hmyzu. Nedávná fylogenetická studie hmyzu a jejich hub odhalila jedinečný způsob pěstování. Prvopočátek se odhaduje před 50 miliony lety, avšak není to ojedinělá událost. Z toho vyplývá, že kůrovci závislí na ambóziových houbách, vznikli v evoluci vícekrát (Farrell et al. 2001).

Na základě našich získaných poznatků předpokládáme hlavního symbionta u druhu *Hylesinus fraxini* houbu rodu *Geosmithia*. U druhu *Hylesinus crenatus* je předpokládaným symbiontem houba rodu *Ophiostoma*. Jelikož *H. fraxini* ani *H. crenatus* nemají mykangium, přenášejí spory hub mezi ochlupením těla.

6. NEKRÓZA JASANU

Listnaté stromy rodu *Fraxinus L.* z čeledi olivovníkovité (Oleaceae) zahrnují na světě přibližně 60 – 65 druhů, z čehož pouze 2 druhy jsou v České republice původní. Jedná se o *Fraxinus excelsior L.* (jasan ztepilý) a *Fraxinus angustifolia Vahl.* (jasan úzkolistý).

V našich lesích je jasan ztepilý šestou nejrozšířenější dřevinou; jeho plošný podíl ve druhové skladbě činí 3,5 %. Roste roztroušeně v lužních lesích, přes suťové lesy v pahorkatinách, až do horských poloh celého území České republiky. Na konci 80. let minulého století se objevila neznámá choroba, která začala likvidovat jasanů. Rychle se rozšiřující choroba vyvolávala u vlastníků lesů značné obavy. Fytopatologický výzkum ukázal na častý výskyt houby *Verticillium dahliae* Kleb (Patočka 2013).

V současné době se jako příčina odumírání jasanů prokázala fytopatogenní houba *Chalara fraxinea* Kow., způsobující nekrózu jasanů (Kowalski a Holdenrieder 2008). Problémy se zdravotním stavem jasanů nejsou nové. Vleklé zdravotní problémy a jejich nadregionální chřadnutí v lesních porostech byly popisovány zejména v pobaltských zemích již od počátku 90. let minulého století. Nemocné stromy vykazují celou řadu příznaků: zasychání listů a letorostů, které poté odumírají, léze na kůře a letorostech mladých stromů, praskliny v kůře, vznik rakovinných ran a změny barvy dřeva. Napadené stromy se brání a snaží se zregenerovat tvorbou nahloučených výmladků (Kraj, Zarek, Kowalski 2012).



Obr. 2 rakovinné rány po loňské infekci, ŠLP Křtiny
(zdroj: <http://atlasposkozeni.mendelu.cz>)

Jasan ztepilý (*Fraxinus excelsior*) byl dlouhou dobu z hlediska zdravotního stavu a výskytu možných patogenů v ČR shledáván jako relativně bezproblémová dřevina (Kowalski 2006). I z praktických hledisek pěstování lesa bývá *Fraxinus excelsior* vnímán jako vhodná, nenáročná dřevina. (Nárovec, Trejtnarová, Jančařík 2008).

Od doby, co bylo v severní Evropě zhruba od poloviny 90. let pozorováno intenzivní chřadnutí jasanů, se tato situace zásadně změnila. Choroba napadá stromy v lesích, v lesních školkách, ale i ve městech. Ohnisko nemoci je obzvláště nebezpečné pro oblasti lužních lesů, jelikož jasanů tu jsou vysazovány namísto jilmů. Ty byly zasaženy velmi agresivní nemocí zvanou grafíóza, jejíž přenašeči jsou zřejmě taktéž dřevokazní brouci (Jankovský, Holdenrieder 2009).



Obr. 3 zasychající letorosty a listy působením infekce, ŠLP Křtiny
(zdroj: <http://atlasposkozeni.mendelu.cz>)

7. ROD *HYLESINUS*

Zástupci drobných kůrovců rodu *Hylesinus* Fabricius 1801 (lýkohub) jsou rozšířeni po celé Evropě, zasahují až na Britské ostrovy. Hostitelskými dřevinami těchto škůdců jsou jilmy (*Hylesinus toranio* Danthoine 1788), kaštany (*Hylesinus aesculi* Kugelann 1794) a především jasaný (*Hylesinus fraxini* Panzer 1779, *Hylesinus crenatus* Fabricius 1787, *Hylesinus wachtli* Reitter 1887, *Hylesinus aculeatus* Say 1824). Právě jasaný dříve patřily k hojně rozšířeným dřevinám, nejvíce rostly ve střední a jižní Evropě. Vzhledem k tomu, že se jasan využívá jako meliorační dřevina, dochází k masívnějšímu rozmnožování kůrovců.

7.1 *HYLESINUS FRAXINI* (lýkohub jasanový)

H. fraxini je v České republice hojně zastoupen. Kromě luhů jej nalezneme i v pahorkatinách všude tam, kde roste jasan. Nejčastěji napadá jasaný ve středním věku, mladší stromky a větve starších stromů. Nalezneme jej též na čerstvě poražených kmenech, v pařezech a na stromech oslabených. Jeho úživný žír má velmi škodlivé následky na zdravotní stav jasanu.

H. fraxini je drobný kůrovec oválného podlouhlého tvaru se skvrnitými rezavohnědými krovkami, které jsou hustě pokryté bílými a hnědými šupinkami. Pohlavní dimorfismus je nezřetelný (Pfeffer 1955).

H. fraxini se po přezimování rojí brzy z jara (březen, duben). Samičky po oplodnění kladou vajíčka do příčných matečních chodeb, které jsou hustě vedle sebe nahloučené. Larvy se několikrát svlékají (instar), obvykle se kuklí v bělí stromu, ve vnější části dřeva a již koncem měsíce června či července se objevují noví brouci. Ti po vylíhnutí zalétají na sousední mladší jasaný, kde se zavrtávají do jemné kůry kolem spících oček. Vyhlodávají krátké nepravidelné chodby a zde i přezimují. Zpravidla se na jednom místě zavrtává více brouků pohromadě a na stejné místo se slétají i v dalších letech brouci z nových pokolení. Opakovaným žírem brouků dochází k tvorbě hojivého pletiva – kůra se krabatí a vytváří se deformace ve tvaru tzv. „korových růžic“. (Pfeffer 1955).



Obr. 4 *Hylesinus fraxini*
(zdroj: www.kerbtiere.de)



Obr. 5 požerky *H. fraxini*, Hostěnice
(zdroj: <http://atlasposkozeni.mendelu.cz>)

7.2 *HYLESINUS CRENATUS* (lýkohub zrnitý)

H. crenatus patří v České republice mezi nepříliš rozšířené kůrovce. V Čechách jej nalezneme např. na Křivoklátsku, v Praze, v Polabí, na jižní Moravě se vyskytuje v lužních lesích kolem řeky Moravy. Je to největší a současně nejméně škodlivý zástupce celého rodu. Má matné, tmavě hnědé až skoro černé krovky, je řídce ochlupený, takže má vzhled lysého lýkohuba. Žije pod silnou kůrou kmenů jasanů, na starších, oslabených nebo čerstvě pokácených stromech, příp. na lesních polomech, často se objevuje ve stromořadích (Pfeffer 1955).

Pokolení je dvouleté. Brouci se rojí v letních měsících (červenec, srpen) a poprvé přezimují ve stadiu larvy. Vytváří až 30 cm dlouhé křížící se larvové chodby. Koncem června dalšího roku se líhnou noví brouci. Ti hlodají po celé léto a podzim pod kůrou ochořelých nebo čerstvých pařezů úživný žír, aniž strom nijak výrazně poškodí. Brouci poté přezimují pod kůrou pařezů. (Pfeffer 1955).



Obr. 6 *Hylesinus crenatus*
(zdroj: www.colpolon.biol.uni.wroc.pl)



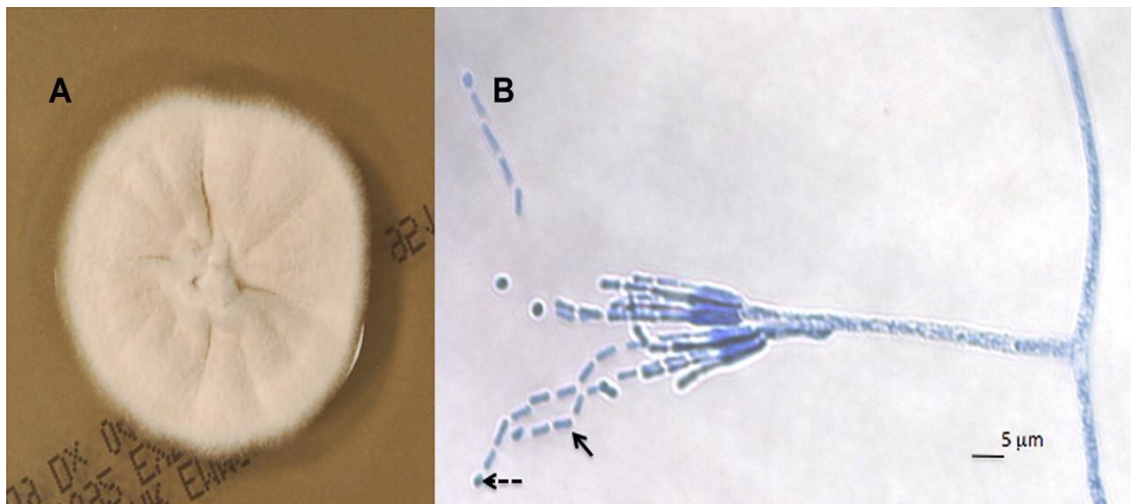
Obr. 7 požerky *H. crenatus*
(zdroj: www.forestryimages.org)

8. SYMBIOTICKÉ HOUBY DŘEVOKAZNÝCH BROUKŮ

V této bakalářské práci se zabývá mutualistickými vztahy mezi houbami a kůrovci, které nemají mykangium. Spory těchto hub přenášejí mezi chloupky na povrchu těla. Přestože se nejedná o ambroziové brouky, jsou zřejmě na svých houbových symbiontech závislí.

8.1 *GEOSMITHIA*

Rod *Geosmithia* vyčlenil v roce 1979 Pitt pro několik druhů dříve popsanych v rodě *Penicillium*. Odlišujícími znaky od rodu *Penicillium* je jiná barva kolonií a konidií (výtrusy hub), chybí typická šedomodrá a šedo zelená barva, drsný povrch konidioforu (houbové vlákno, kde se tvoří výtrusy) a cylindrické fialidy (buňka na konidioforu produkující konidie). Sběry z celého světa ukazují na kosmopolitní rozšíření rodu. Oproti ophiostomatálním houbám netvoří *Geosmithia* lepkavé spory, přesto však vykazuje vysokou efektivitu při přenosu podkorním hmyzem. To ukazuje, že tvorba lepkavých spor nemá pro asociaci zásadní význam (Kolařík et al. 2008).



Obr. 8 houba *Geosmithia*
(zdroj: cid.oxfordjournals.org)

8.2 OPHIOSTOMA

Houby rodu *Ophiostoma* se jako patogen nacházejí jak na jehličnatých, tak na listnatých stromech. Jemné štětkovité útvary této mikroskopické houby rostou v chodbičkách podkorního hmyzu. Na vrcholku štětky (svazky srostlých konidioforů) se vytvářejí spousty drobných spor, které se snadno nalepí na těla dalších prolézajících kůrovců a jsou takto přenášeny zase o kousek dál, kde mohou osídlit dosud neobsazenou niku.



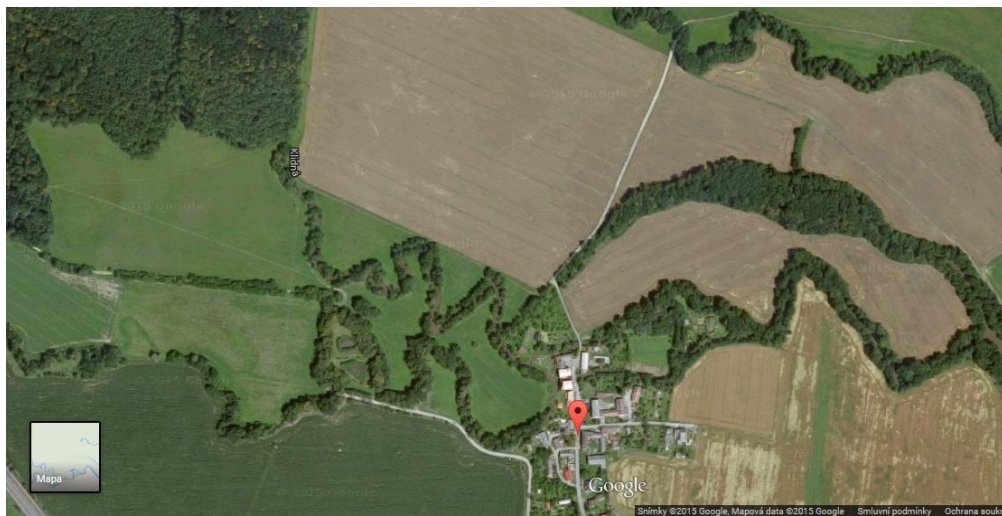
Obr. č 9 houba *Ophiostoma*
(zdroj: <http://vedajekrasna.cz>)

9. METODIKA

V CHKO Litovelské Pomoraví, blízko obce Víška byl proveden sběr materiálu určeného k výzkumu. Chráněná krajinná oblast se rozprostírá v údolní nivě řeky Moravy mezi Olomoucí a Mohelnicí v nadmořské výšce 250m. Svou rozlohou 96 km² je Litovelské Pomoraví pátou nejmenší CHKO v České republice.



Obr. 10 mapka umístění CHKO Litovelské Pomoraví



Obr. 11 letecký pohled na obec Víška

Sběr obsahoval části větví, kde jsme našli kůrovce *H. fraxini*, a kůru jasanu s kůrovcem *H. crenatus*. Sběr proběhl 10. června 2014, dřevní materiál byl až do upotřebení skladován v -18°C.

Praktická část této práce probíhala na Akademii věd České republiky v Praze – Krči, v Mikrobiologickém ústavu AV ČR.

Kultivace organismů probíhá jako množení kultur v laboratorním prostředí *in vitro*. Vzorčky se umístí na umělou půdu (médium) do Petriho misek, mělkých plastových kulatých misek s volně přiléhajícím víčkem o průměru 85mm. Vybrané médium 2% sladinový agar (MEA) nahrazuje jejich původní životní prostředí.

Složení média MEA 2% agar:

- 1l destilované vody (dH₂O)
- 20g sladinový extrakt (malt extrakt)
- 20g glukóza
- 1g pepton
- 20g agar

Kultivace na agarovém médiu proběhla ve více ředěních. Z předchozích pokusů jsme usoudili, že neoptimálnější ředění je 10x a 100x pro larvy i drtinky *H. fraxini*. Pro kukly a drtinky *H. crenatus* bylo použito ředění 100x a 1000x, zatímco pro jeho larvy pouze 10x a 100x. Celkový počet vzorků u jednoho druhu brouka dosáhl jednoho sta (50 larev nebo kulek a 50 drtinek), od každého vzorku 2 ředění (celkem 400 Petriho misek). Více ředění jsme zvolili proto, že některé druhy symbiotických hub vyžadují stabilní životní podmínky a nejsou konkurenčně schopné vůči ostatním druhům. V tom případě, pokud je ředění menší, zůstává v kultivovaném vzorku více spor od jiných druhů a rychleji rostoucí druhy potom překryjí námi sledované houby.

9. 1. KULTIVACE VZORKŮ

Průběh kultivace:

Ve vydezinfikovaném laminárním boxu značky VEB Elektromat Dresden jsme si připravili sterilizovaný nůž a pinzetu, stojánek s mikrozkušavkami o objemu 1,5 ml. Z mrazicího boxu jsme vytáhli nasbíraný materiál – části větví a kůry. Nožem jsme opatrně odkrojili vrstvy borky, až jsme objevili kukly a larvy. Vydezinfikovanou pinzetou jsme je opatrně vyjmuli a vložili do připravené mikrozkušavky. Ke každému nalezenému vzorku jsme vložili do další mikrozkušavky drtinky z místa nálezu. Každou zkušavku jsme označili číslem vzorku.

1/ denaturovaným ethanolem sterilizovat laminární box

- 2/ provést homogenizaci vzorků v 1ml sterilizované destilované vody (dH₂O)
- 3/ ředění vzorků 10x , 100x, 1000x pomocí dH₂O do finálního objemu 1000 μl
 - 10x ... 100μl homogenátu + 900μl dH₂O
 - 100x ... 10μl homogenátu + 990μl dH₂O
 - 1000x ... 1μl homogenátu + 999μl dH₂O
- 4/ pomocí sterilizované skleněné laboratorní hokejky provést výsev na sladový agar Petriho misky, 100ml vzorku se rozetře 1 laboratorní hokejkou
- 5/ v kultivační místnosti při stabilní teplotě 24° C nechat Petriho misky s výsevem vzorků 7 – 14 dní
- 6/ po kultivační době spočítat a zapsat morfotypy mikroorganismů z Petriho misek ve všech ředěních
- 7/ spočítat četnost kolonií každého morfotypu a zaznamenat, v jakém byly ředění
- 8/ každý morfotyp očkovat na malou Petriho misku (průměr 55mm), utěsnit fólií, tzv. parafilmem, aby se zabránilo kontaminaci látkami z vnějšího okolí, a nechat kultivovat několik dní, podle úspěšnosti růstu morfotypu
- 9/ z malých Petriho misek odebrat vzorek a zamrazit ve 3 mikrozkuřavkách pro další použití, které není součástí této bakalářské práce

Kultivace kontroly:

- 1/ zjišťovat zejména houby endofytické, jejich přirozenou populaci ve zdravém stromě
- 2/ vyříznout u středu dřeva nebo kůry štěpiny o rozměru 1cm x 2cm
- 3/ štěpiny povrchově sterilizovat:
 - 1 min v čistém EtOH 96%
 - 3 min v Savu
 - 0,5 min v čistém EtOH 96%
 - opláchnout v dH₂O

4/ na vysterilizovaném prkýnku naštípat vysterilizovaným skalpelem štěpiny na třísky o rozměru 1mm x 1cm

5/ třísky položit na sladový agar na Petriho misky, 5 ks třísek na 1 misku

6/ po čtyřech týdnech sledovat biodiverzitu hub, které vyrostly z třísek

10. VÝSLEDKY

U zkoumaného kůrovce *H. fraxini* byla zjištěna symbiotická houba *Geosmithia*. Celkem bylo kultivováno 50 vzorků larev (nebo kukel) a 50 vzorků drtinek. Od každého vzorku byla provedena 2 ředění, celkem tedy 200 Petriho misek vzorků *H. fraxini*. Petriho misky byly označeny symbolem BK 100 – BK 200 a počtem ředění (př. BK 100 10x). V příloze 3 je tabulka, která shrnuje všechny nalezené morfotypy. Jejich počty nejsou uvedeny, protože nejsou součástí bakalářské práce.

V tabulce č. 1 (viz níže) jsou uvedeny celkové počty zjištěných kolonií houby *Geosmithia* dle jednotlivých ředění, v příloze 1 je tabulka počtů kolonií v jednotlivých vzorcích.

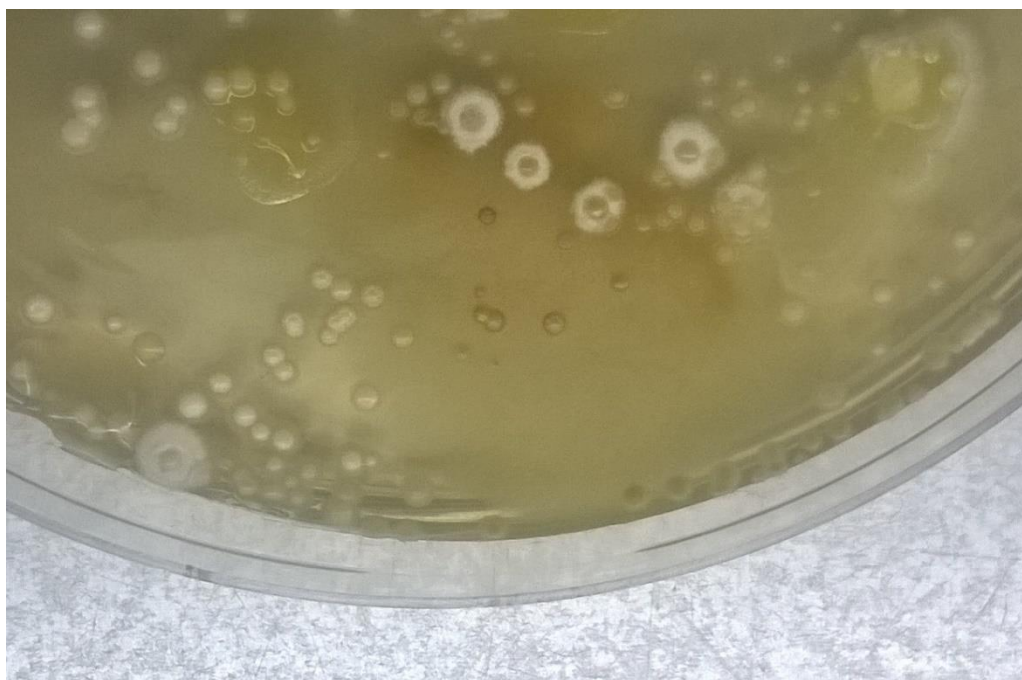
Tabulka 1 *Hylesinus fraxini* - počty kolonií rodu *Geosmithia*

| HYLESINUS FRAXINI | | | |
|--------------------------------------|-----------------------------------|---------------|-------------------------------------|
| GEOSMITHIA - POČET VZORKŮ 100 | | | |
| Petriho misek bez <i>Geosmithie</i> | Petriho misek s <i>Geosmithií</i> | | |
| 82% | 18% | | |
| ŘEDĚNÍ | POČET MISEK | POČET KOLONIÍ | NEPOČITATELNĚ KOLONIÍ (velmi mnoho) |
| 10x | 16 | 2750 | 1 |
| 100x | 8 | 908 | 0 |
| 1000x | 6 | 25 | 1 |

Podle výsledků uvedených v tabulce 1 lze vyvodit, že nejvíce houbových kolonií bylo nalezeno v miskách s ředěním 10x. Což znamená, že houba je vysoce konkurence schopná, která se rychle rozmnožuje. Ovšem tento růst byl zaznamenán pouze v 18% kultivovaných misek ze 100.



Obr. 12 rod *Geosmithia*
(zdroj: vlastní)



Obr. 13 rod *Geosmithia*, kultivace na Petriho misce
(zdroj: vlastní)

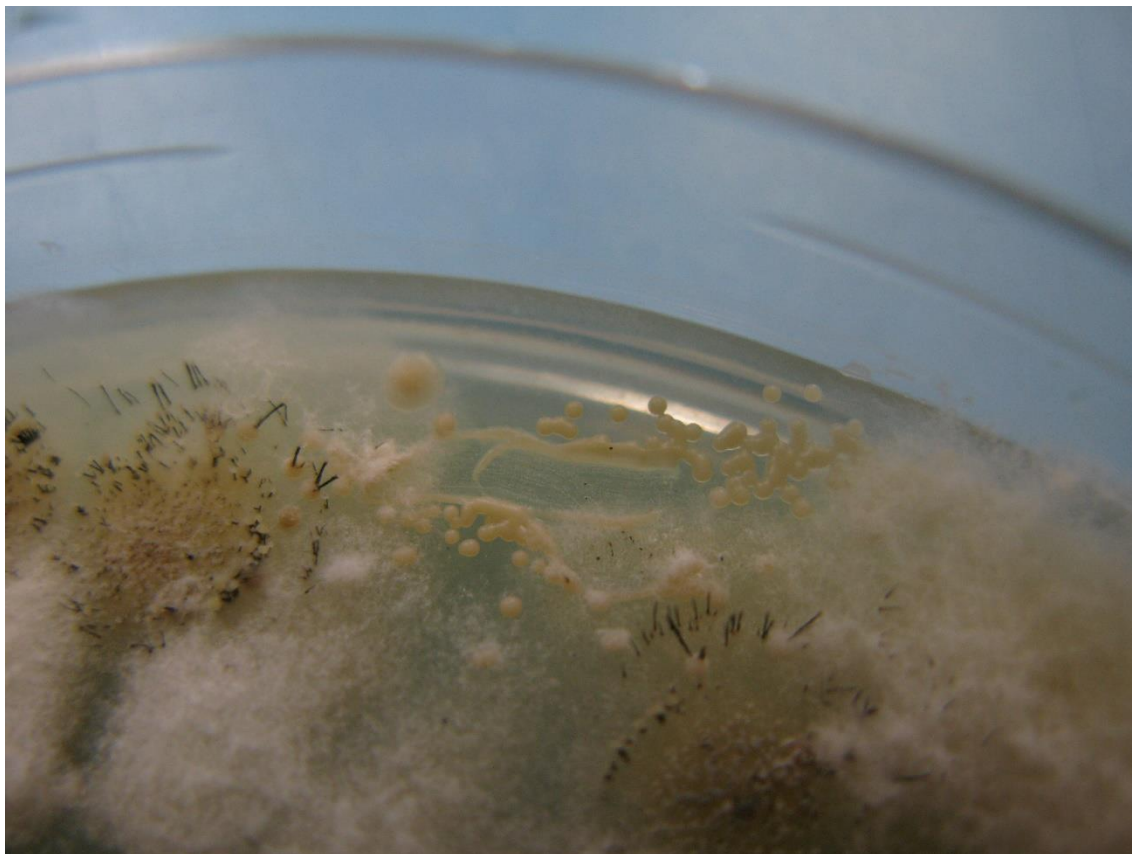
U zkoumaného kůrovce *H. crenatus* byla zjištěna symbiotická houba rodu *Ophiostoma*. Celkem bylo kultivováno 50 vzorků larev (nebo kukel) a 50 vzorků drtinek. Od každého vzorku byla provedena 2 ředění, celkem tedy 200 Petriho misek vzorků *H. fraxini*. Petriho misky byly označeny symbolem BK 1 – BK 99d a typem ředění (př. BK 99d 100x). V příloze 4 je tabulka, která shrnuje všechny nalezené morfotypy. Jejich počty nejsou uvedeny, protože nejsou součástí bakalářské práce.

V tabulce č. 2 (viz níže) jsou uvedeny celkové počty zjištěné houby *Ophiostoma* dle jednotlivých ředění, v příloze 2 je tabulka počtů kolonií v jednotlivých vzorcích.

Tabulka 2 *Hylesinus crenatus* - počty kolonií rodu *Ophiostoma*

| HYLESINUS CRENATUS | | | |
|-------------------------------------|------------------------------------|---------------|-------------------------------------|
| OPHIOSTOMA - POČET VZORKŮ 100 | | | |
| Petriho misek bez <i>Ophiostomy</i> | Petriho misek s <i>Ophiostomou</i> | | |
| 23% | 77% | | |
| ŘEDĚNÍ | POČET MISEK | POČET KOLONIÍ | NEPOČITATELNĚ KOLONIÍ (velmi mnoho) |
| 10x | 31 | 1442 | 3 |
| 100x | 63 | 2014 | 4 |
| 1000x | 36 | 3237 | 0 |

Podle výsledků uvedených v tabulce 2 lze vyvodit, že nejvíce houbových kolonií bylo nalezeno v miskách s ředěním 1000x. *Ophiostomu* v menším ředění přerůstají agresivně rostoucí mikroorganismy, proto potřebuje pro své rozmnožování méně konkurenční prostředí, což jí ředění 1000x umožňuje. Celkem se *Ophiostoma* nachází v 77 % misek ze 100.



Obr. 14 rod *Ophiostoma*, kultivace na Petriho misce
(zdroj: vlastní)

Kvůli ověření, zda probíhá růst endofytických hub v závislosti na symbiotickém vztahu s *H. fraxini* či *H. crenatus*, byla provedena kontrola na štěpinách větví. 5 ks třísek ze středu dřeva či z kůry bylo vloženo na 1 misku označené K1 – K20 (K1 - K10 z borky a dřeva kmene pro *H. crenatus* a K11 - K20 z tenkých větví pro *H. fraxini*) a po čtyřech týdnech se sledovala biodiverzita hub, které vyrostly z třísek. Bylo zjištěno, že ani jeden z kultivovaných vzorků neobsahoval houbu *Geosmithia* ani *Ophiostoma*. Přehled zjištěných morfotypů je uveden v příloze 5 Kontrola štěpin.

11. DISKUZE

Z výsledků vidíme, že se nám potvrdila hypotéza, že *H. fraxini* má jinou hlavní symbiotickou houbu než *H. crenatus*.

H. fraxini – symbiotická houba *Geosmithia* není náročná na vlhkost, snáší sušší a slunné prostředí, proto ji nacházíme v relativně tenkých větvích jasanů. Je rychle rostoucí, kompetičně schopná odolávat přerůstání ostatními morfotypy, a proto jsme jinacházeli zejména v nižších ředěních. Přesto nebyla nalezena v mnoha vzorcích, vyskytovala se pouze v 18 % kultivovaných vzorků. Důvodem může být, že větve jasanů byly již příliš vyschlé a neposkytovaly tak optimální podmínky ani této houbě. Během měsíce června se totiž larvy *H. fraxini* již připravují na kuklení, je tedy možné, že se zde mění vlhkostní podmínky. Dalším důvodem může být teorie, že kůrovec *H. fraxini* má i jiné zásadní symbiotické mikroorganismy než pouze houbu rodu *Geosmithia*. Na základě zjištěných dalších morfotypů, které byly nalezeny na kultivovaných vzorcích, byly identifikovány jednobuněčné mikroorganismy, tj. kvasinky a bakterie. O bakteriích již víme, že mohou mít významné funkce v rámci mykangii brouků (Hulcr et al. 2012) K tématu kvasinek a bakterií jako symbiontů dřevokazných brouků prozatím není mnoho studijního materiálu, proto si myslím, že je to zajímavý námět pro další výzkum.

Geosmithia evidentně vytváří symbiotické vztahy s dalšími druhy kůrovců, které mohou mít odlišné životní podmínky, a ona si tím může rozšiřovat a upevňovat své životní prostředí, svou ekologickou niku.

H. crenatus – oproti *Geosmithii* je houba *Ophiostoma* velmi náročná na vlhkost, proto ji nalezneme pod silnou kůrou dřevin. V našem výzkumu jsme ji nacházeli na vzorcích, které byly průměrně v hloubce 1,5 cm. Nejvíce kolonií bylo nalezeno v kultivacích s ředěním 1000x. Z toho vyplývá, že *Ophiostoma* není tolik konkurenčně schopná, v ředěních 10x nebo 100x ji přerostly agresivněji rostoucí houby. Jelikož byla nalezena v 77% misek, docházím k názoru, že pro *H. crenatus* se jedná o hlavní symbiotickou houbu.

Provedená kontrola vybraných vzorků nám jasně stanovila, že přítomnost endofytických hub je závislá na přítomnosti kůrovce. Jak už bylo zmíněno v předchozím odstavci o *H. fraxini*, velké množství dalších morfotypů patřilo kvasinkám. V tomto případě mají kvasinky pro brouky pravděpodobně pouze nutriční význam (Barras a Perry 1972, Berryman 1987).

Dle autorů Jankowiaka a kolektivu (2014) jsou houby *Geosmithia* a *Ophiostoma* silně ovlivněny vlhkostním gradientem ve smyslu výsledků mě bakalářské práce. Studie uvádí symbiotické vztahy mezi dřevokaznými brouky a houbami rodu *Geosmithia* a ophiostomatoidními houbami. Překvapivým zjištěním bylo, že se *Geosmithie* vyskytují ve větší míře v jehličnatých lesích, než se dříve předpokládalo. Vyhovuje jim symbiotický vztah s kůrovci, kteří žijí ve smíšených lesích, kterým nevadí suché a teplé podnebí. Ve velké míře se jednalo o borovicové lesy, především o *Pinus sylvestris* L. Tato dřevina je obecně méně náročná na půdu, roste na chudých substrátech. V čistě smrkových lesích *Picea abies* (L.) H. Karst. se vyskytují komunity specifických a stabilních druhů rodu *Geosmithia*. Houby rodu *Ophiostoma* zamořují dřeviny se silnými větvemi a větší tloušťkou kůry, jejich kolonie nalezneme na stromech rodu *Abies* Miller, kde se udržuje vyšší vlhkost, kterou *Ophiostoma* potřebuje ke svému životu.

12. ZÁVĚR

Bakalářská práce na téma „Symbionti dřevokazného hmyzu“ poskytuje přehled o houbových symbiontech dřevokazného hmyzu rodu *Hylesinus* Fabricius, 1801. Tito kůrovci napadají jasanů různých stáří a mohou způsobovat škody velkého ekonomického rozsahu.

Provedli jsme kultivaci vzorků kůrovce *Hylesinus fraxini* Panzer, 1779 a *Hylesinus crenatus* Fabricius, 1787. Naše hypotéza byla, že každý z obou brouků bude mít rozdílného hlavního houbového symbionta. Tato hypotéza se potvrdila. *Hylesinus fraxini*, který se vyvíjí převážně v relativně tenkých větvích a v mladých kmínkách jasanu, koexistuje s houbou *Geosmithia*. Jelikož se její přítomnost neprojevila v 82 % vzorků, usuzujeme, že byly vzorky sesbírány příliš pozdě nebo *Geosmithia* není jediným mutualistou.

Výsledky z kultivace vzorků kůrovce *Hylesinus crenatus* byly přesvědčivější, protože nám jako hlavní symbiont vyšla houba *Ophiostoma*. Ta se nacházela v 77% vzorků, převážně v ředěních 1000x. V menších ředěních *Ophiostoma* přerůstají agresivněji rostoucí morfotypy mikroorganismů. Tato houba potřebuje stabilní, méně konkurenční prostředí, aby začala růst.

Výsledky kontroly potvrdily, že houby rodu *Geosmithia* a *Ophiostoma* jsou existenčně závislé na dřevokazných broucích. Při kultivaci vzorků štěpin *Fraxinus*, nebyla ani v jednom případě zjištěna přítomnost těchto symbiotických hub.

Zajímavé bylo, že v dalších morfotypech se často projevovaly jednobuněčné mikroorganismy bakterie a houbové mikroorganismy zvané kvasinky. Jelikož není mnoho odborného materiálu zkoumající právě tyto mikroorganismy, mohlo by být další studium symbiotických vztahů mezi dřevokaznými brouky a mikroorganismy velmi zajímavé.

V navazujícím magisterském studiu bych ráda pokračovala ve výzkumu dalších morfotypů symbiontů dřevokazného hmyzu, ve kterém se však bude využívat metod molekulární biologie. Ty umožňují analýzu biologicky významných molekul, zejména těch, které nesou genetickou informaci – nukleových kyselin a bílkovin. Na základě testování biologické makromolekuly DNA budou výsledky zjišťování a porovnávání přítomných morfotypů daleko přesnější.

13. SEZNAM LITERATURY A POUŽITÝCH ZDROJŮ

BARRAS, S. J., PERRY, T. Fungal symbionts in the prothoracic mycangium of *Dendroctonus frontalis* (Coleopt.: Scolytidae). *Zeitschrift für angewandte Entomologie*, 1972. **71**: 95-104 s.

BEAVER, R. A. *Insect-fungus relationships in the bark and ambrosia beetles* in WILDING, N., COLLINS, N., HAMMOND, P. and WEBBER, J. (eds.) Symposia of the Royal Entomological Society of London, 1989. 121-143 s.

BERRYMAN, A. A. *Adaptive pathways in scolytid-fungus associations*. in WILDING, N., COLLINS, N., HAMMOND, P. a WEBBER, J. (eds.) Symposia of the Royal Entomological Society of London, 1989. 145-159 s.

BODDY, L. Fungal community ecology and wood decomposition processes in angiosperms: from standing tree to complete decay of coarse woody debris. *Ecology of Woody Debris in Boreal Forests*, 2001. **49**: 43-56 s.

BOROVEC, R.; KOŠTÁL, M. *Příspěvek k poznání fauny brouků čeledi Curculionidae v ČSSR*. Zpravodaj Československého společenství entomologů ČSAV, 1984. **20**: 107-117 s.

BRASIER, C. M. *Ophiostoma novo-ulmi* sp. nov., causative agent of current Dutch elm disease pandemics. *Mycopathologia*, 1991. **115**:151-161 s.

CATES, R. G. Feeding patterns of monophagous, oligophagous, and polyphagous insect herbivores: the effect of resource abundance and plant chemistry. *Oecologia*, 1980. **46**: 22-31 s.

FARRELL, B. D., SEQUEIRA, A. S., O'MEARA, B. C., NORMARK, B. B., CHUNG, J. H., JORDAL, B. H., PHILIPS, T. K., BYRNE, M. a DACKÉ, M. The evolution Latypodinae. *Evolution*. 2001. **55**,177-199 s

HSIAU, P.T. a HARRINGTON, T.C.. Phylogenetics and adaptations of basidiomycetous fungi fed upon by bark beetles (Coleoptera: Scolytidae). *Symbiosis*, 2003. **34**: 111-131.

HULCR, J.. Kůrovci miláči evoluce. *Vesmír*: přírodovědecký časopis. 2003, **82**, č. 12. [cit. 2015-04-02]. Dostupné z: <http://casopis.vesmir.cz/clanek/kurovci-milacci-evoluce>.

HULCR, J., ROUNTREE, N. R., DIAMOND, S. E., STELINSKI, L. L., FIERER, N., a DUNN, R. R. Mycangia of ambrosia beetles host communities of bacteria. *Microbial ecology*, 2012. **64**: 784-793.

JANKOVSKÝ, L., HOLDENRIEDER, O. Ash Dieback in the Czech Republic. *Plant Protect. Sci. Short Communication Chalara fraxinea*, 2009. **45**: 74–78

JANKOVSKÝ, L., VÁGNER, A., APLTAUER, J. Rozklad dřevní hmoty v podmínkách klimaxových smrčín porostů v Krkonoších a návazná mykoflóra. *Forest Science: vědecký časopis*, 2002. **48**: 78 s.

JANKOWIAK, R., KOLAŘÍK, M., a BILAŃSKI, P. Association of *Geosmithia* fungi (Ascomycota: Hypocreales) with pine-and spruce-infesting bark beetles in Poland. *Fungal Ecology*, 2014. **11**: 71-79.

KAZDA, J., a PROKAJNOVÁ, E. Výskyt chorob a škůdců na rekultivačních plochách uhelných dolů v severočeském kraji. In 12th Regional Central European Conference IUAPPA and 4th International Conference on environmental impact assessment Prague, Prague, Czech Republic, 2000. 15-18 s.

KLEPZIG, K. D., KIER, D. SIX, D. L. Bark Beetle-Fungal Symbiosis: Context Dependency in Complex Associations. *Symbiosis*, 2004. **37**: 189-205 s.

KODRÍK, D. *Fyziologie hmyzu učební texty*. Entomologický Ústav AV ČR a Biologická fakulta Jihočeská Univerzita, 2000.

KOLAŘÍK, M. Nové objevy ze světa houbových symbiontů podkorního hmyzu. (*Vesmír: přírodovědecký časopis*. 2012. 91, č. 226) [cit. 2015-04-02]. Dostupné z: <http://casopis.vesmir.cz/clanek/nove-objevy-ze-sveta-houbovych-symbiontu-podkorniho-hmyzu>

KOLAŘÍK, M., KUBÁTOVÁ, A., HULCR, J., a PAŽOUTOVÁ, S. *Geosmithia* fungi are highly diverse and consistent bark beetle associates: evidence from their community structure in temperate Europe. *Microbial Ecology*, 2008. **55**: 65-80 s.

KOWALSKI, T., KEHR, D. *Endophytic fungi in grasses and woody plants: systematics, ecology, and evolution*, Department of Forest Pathology, Faculty of Forestry, Cracow, Poland, 1996. 67-86 s. ISBN 0-89054-213-9.

KOWALSKI, T, HOLDENRIEDER, O. Eine neue Pilzkrankheit an Esche in Europa. *Schweiz Z Forstwes*, 2008. **159**: 45-50 s.

KOWALSKI, T. *Chalara fraxinea* sp. nov. associated with dieback of ash (*Fraxinus excelsior*) in Poland. *Forest Pathology*, 2006. **36**: 264-270 s.

KRAJ, W., ZAREK, M. a KOWALSKI, T. Genetic variability of *Chalara fraxinea*, dieback cause of European ash (*Fraxinus excelsior* L.). *Mycological Progress*, 2012. **11**: 37-45 s. NÁROVEC, V., TREJTNAROVÁ, J., JANČAŘÍK, V. Čeká jasany chřadnutí? *Lesu zdar* (Hradec Králové), 2008. **14**: 4 – 6 s.

PATOČKA, J. *Chalara fraxinea*: houba, která ničí jasany. [cit. 2015-04-04]. Dostupné z: <http://www.toxicology.cz/modules.php?name=News&file=article&sid=593>.

PFEFFER, A. *Fauna ČSR.: Kůrovci - Scolytoidea*. Svazek 6. Praha: Nakladatelství ČSAV, 1955. 324 s.

PFEFFER, A.. *Kůrovcovití a jádrohlodovití: Scolytidae, Platypodidae*. Praha: Academia, 1989. 137 s., ISBN 80-200-0089-5.

SIX, D. L. *Bark beetle-fungus symbioses* in BOURTZIS, K., MILLER, T. A., (eds) *Insect symbiosis*, Boca Raton: CRC Press, 2003. 97-114 s.

ŠRŮTKA, P. *Vztah kambiofágního a xylofágního hmyzu a jeho doprovodné mykobioty*. Disertační práce. Praha: Česká zemědělská univerzita, 2001. 92 s.

ŠVESTKA, M., JANČAŘÍK, V., HOCHMUT, R. *Praktické metody v ochraně lesa*. Kostelec nad Černými lesy: Lesnická práce, 1998, 311 s. ISBN 80-902-5030-0.

VACEK, S. Ekologické aspekty dekompozice biomasy v autochtonních ochranných smrčínách. *Zprávy lesnického výzkumu*, 1982. **27**: 5-11 s.

ZOOK, D., 1998. *Symbiosis education: the challenge before us, symbiosis*, Boston, 1998. **25**: 349-355 s.

14. SEZNAM PŘÍLOH

1. *H. fraxini* – počty kolonií houby *Geosmithia*
2. *H. crenatus* – počty kolonií houby *Ophiostoma*
3. *H. fraxini* – morfotypy mikroorganismů
4. *H. crenatus* – morfotypy mikroorganismů
5. Kontrola štěpin

15. PŘÍLOHY

1. *HYLESINUS FRAXINI* – POČTY KOLONIÍ HOUBY *GEOSMITHIA*

| Kód | Vzorek, L1-L3 velikost, hloubka závrtu | Ředění, druh houby |
|-------|--|---|
| BK101 | larva L2 | |
| BK102 | larva L2 | |
| BK103 | larva L2 | |
| BK104 | larva L2 | |
| BK105 | larva L2 | |
| BK106 | larva L2 | |
| BK107 | larva L2 | |
| BK108 | larva L2 | |
| BK109 | larva L3 | |
| BK110 | larva L2 | |
| BK111 | drtinky | |
| BK112 | drtinky | |
| BK113 | drtinky | |
| BK114 | drtinky | |
| BK115 | drtinky | |
| BK116 | drtinky | |
| BK117 | drtinky | |
| BK118 | drtinky | |
| BK119 | drtinky | |
| BK120 | drtinky | |
| BK121 | larva L2+trochu drtinek | 100x - 1 kolonie <i>Geosmithia</i> |
| BK122 | drtinky | 10x - nepočítatelně <i>Geosmithia</i> 100x - 20 kolonií <i>Geosmithia</i> 1000x - 4 kolonie <i>Geosmithia</i> |
| BK123 | larva L2 černá+trochu drtinek | |
| BK124 | drtinky | 10x - 344 kolonií <i>Geosmithia</i> 100x - 120 kolonií <i>Geosmithia</i> 1000x - 13 kolonií <i>Geosmithia</i> |
| BK125 | larva L2 | |
| BK126 | drtinky | 10x - 1000 kolonií <i>Geosmithia</i> 100x - 65 kolonií <i>Geosmithia</i> 1000x - 2 kolonie <i>Geosmithia</i> |

| | | |
|-------|----------|--|
| BK126 | drtinky | 10x - 1000 kolonií <i>Geosmithia</i> 100x - 65 kolonií <i>Geosmithia</i> 1000x - 2 kolonie <i>Geosmithia</i> |
| BK127 | larva L2 | 10x - 200 kolonií <i>Geosmithia</i> 100x - 13 kolonií <i>Geosmithia</i> |
| BK128 | drtinky | 10x - 680 kolonií <i>Geosmithia</i> 100x - 280 kolonií <i>Geosmithia</i> 1000x - 3 kolonie <i>Geosmithia</i> |
| BK129 | larva L2 | 10x - 9 kolonií <i>Geosmithia</i> |
| BK130 | drtinky | 10x - 230 kolonií <i>Geosmithia</i> 100x - 408 kolonií <i>Geosmithia</i> 1000x - 3 kolonie <i>Geosmithia</i> |
| BK131 | larva L3 | |
| BK132 | drtinky | |
| BK133 | larva L3 | |
| BK134 | drtinky | |
| BK135 | larva L2 | |
| BK136 | drtinky | |
| BK137 | larva L3 | |
| BK138 | drtinky | |
| BK139 | larva L2 | |
| BK140 | drtinky | |
| BK141 | larva L2 | 10x - 1 kolonie <i>Geosmithia</i> |
| BK142 | drtinky | |
| BK143 | larva L3 | 10x - 250 kolonií <i>Geosmithia</i> 1000x - nepočitatelně <i>Geosmithia</i> |
| BK144 | drtinky | |
| BK145 | larva L2 | |
| BK146 | drtinky | |
| BK147 | larva L2 | |
| BK148 | drtinky | |
| BK149 | larva L2 | 10x - 1 kolonie <i>Geosmithia</i> |
| BK150 | drtinky | |
| BK151 | larva L3 | 10x - 1 kolonie <i>Geosmithia</i> |
| BK152 | drtinky | |
| BK153 | larva L3 | |

| | | |
|-------|----------|------------------------------------|
| BK154 | drtinky | |
| BK155 | larva L2 | |
| BK156 | drtinky | |
| BK157 | larva L1 | |
| BK158 | drtinky | |
| BK159 | larva L1 | |
| BK160 | drtinky | |
| BK161 | larva L3 | |
| BK162 | drtinky | |
| BK163 | larva L2 | |
| BK164 | drtinky | |
| BK165 | larva L3 | 10x - 1 kolonie <i>Geosmithia</i> |
| BK166 | drtinky | |
| BK167 | larva L1 | |
| BK168 | drtinky | |
| BK169 | larva L1 | |
| BK170 | drtinky | |
| BK171 | larva L2 | |
| BK172 | drtinky | |
| BK173 | larva L2 | |
| BK174 | drtinky | |
| BK175 | larva L2 | |
| BK176 | drtinky | |
| BK177 | larva L2 | |
| BK178 | drtinky | 10x - 2 kolonie <i>Geosmithia</i> |
| BK179 | larva L2 | |
| BK180 | drtinky | |
| BK181 | larva L1 | |
| BK182 | drtinky | |
| BK183 | larva L2 | |
| BK184 | drtinky | |
| BK185 | larva L2 | 10x - 5 kolonií <i>Geosmithia</i> |
| BK186 | drtinky | 10x - 25 kolonií <i>Geosmithia</i> |

| | | |
|-------|----------|------------------------------------|
| BK187 | larva L2 | |
| BK188 | drtinky | |
| BK189 | larva L1 | |
| BK190 | drtinky | |
| BK191 | larva L2 | |
| BK192 | drtinky | |
| BK193 | larva L2 | 100x - 1 kolonie <i>Geosmithia</i> |
| BK194 | drtinky | |
| BK195 | larva L2 | |
| BK196 | drtinky | |
| BK197 | larva L2 | |
| BK198 | drtinky | |
| BK199 | larva L2 | |
| BK200 | drtinky | 10x - 1 kolonie <i>Geosmithia</i> |

2. *HYLESINUS CRENATUS* – POČTY KOLONIÍ HOUBY *OPHIOSTOMA*

| Kód | Vzorek, L1-L3 velikost, hloubka závrtu | Ředění, druh houby |
|------|--|---|
| BK1 | kukla | 10x - <i>Ophiostoma</i> nepočítatelně 100x - 22 kolonií <i>Ophiostoma</i> 1000x - 100 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK2 | drtinky | 10x - 5 kolonií <i>Ophiostoma</i> 100x - 1 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK3 | larva L2; 1,4 cm | |
| BK4 | larva L3; 0,6 cm | 100x - 1 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK5 | drtinky | 10x - 132 kolonií <i>Ophiostoma</i> 100x - 16 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK6 | larva L2; 1,2 cm | 10x - 8 kolonií <i>Ophiostoma</i> 100x - 2 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK7 | drtinky | 10x - <i>Ophiostoma</i> nepočítatelně 100x - <i>Ophiostoma</i> nepočítatelně 1000x - 34 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK8 | drtinky | 10x - <i>Ophiostoma</i> nepočítatelně 100x - 130 kolonií <i>Ophiostoma</i> 1000x - 24 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK9 | larva L3; 1,2 cm | |
| BK10 | drtinky | 100x - 2 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK11 | larva L2; 1,2 cm | 10x - 2 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK12 | drtinky | 100x - 1 kolonie <i>Ophiostoma</i> 1000x - 2 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK13 | larva L1; 2 cm | |
| BK14 | drtinky | |
| BK15 | kukla; 0,5 cm | 100x - 48 kolonií <i>Ophiostoma</i> 1000x - 32 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK16 | drtinky | 100x - 86 kolonií <i>Ophiostoma</i> 1000x - 29 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK17 | larva L2; 2 cm | 10x - 7 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK18 | drtinky | 100x - 3 kolonie <i>Ophiostoma</i> 1000x - 1 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK19 | larva L3 | |
| BK20 | drtinky | 100x - 2 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK21 | kukla; 1,5 cm | 100x - 90 kolonií <i>Ophiostoma</i> 1000x - 57 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK22 | drtinky | |

| | | |
|------|--------------------------|---|
| BK23 | larva L1; 2 cm | 10x - 2 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK24 | drtinky | |
| BK25 | larva L3; 1,3 cm | 10x - 11 kolonií <i>Ophiostoma</i> 100x - 2 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK26 | drtinky | |
| BK27 | larva L2; 1,2 cm | 10x - 24 kolonií <i>Ophiostoma</i> 100x - 2 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK28 | drtinky | |
| BK29 | larva L2; 1,5 cm | |
| BK30 | drtinky | 100x - 6 kolonií <i>Ophiostoma</i> 1000x - 2 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK31 | larva L2; 1,5 cm | 10x - 5 kolonií <i>Ophiostoma</i> 100x - 1 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK32 | drtinky | |
| BK33 | larva L2; 1 cm | 10x - 312 kolonií <i>Ophiostoma</i> 100x - 43 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK34 | drtinky | 100x - 5 kolonií <i>Ophiostoma</i> 1000x - 17 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK35 | zavrtávající se dospělec | 10x - 1 kolonie <i>Ophiostoma</i> 1000x - 1 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK36 | drtinky | 1000x - 1 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK37 | larva L3; 0,9 cm | 10x - 6 kolonií <i>Ophiostoma</i> 100x - 1 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK38 | drtinky | 1000x - 1 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK39 | larva L3; 1 cm | |
| BK40 | drtinky | 100x - 8 kolonií <i>Ophiostoma</i> 1000x - 9 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK41 | larva L3; 0,2 cm | 10x - 55 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK42 | drtinky | 1000x - 5 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK43 | larva L2; 1,5 cm | |
| BK44 | drtinky | |
| BK45 | larva L1; 1,5 cm | |
| BK46 | drtinky | |
| BK47 | larva L2; 1,5 cm | 10x - 5 kolonií <i>Ophiostoma</i> 100x - 4 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK48 | drtinky | 100x - 57 kolonií <i>Ophiostoma</i> 1000x - 45 kolonie <i>Ophiostoma</i> |

| | | |
|------|------------------|--|
| BK49 | kukla; 1 cm | 100x - nepočítatelně <i>Ophiostoma</i> 1000x - 936 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK50 | drtinky | 100x - 2 kolonie <i>Ophiostoma</i> 1000x - 1 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK51 | kukla; 1,2 cm | 100x - nepočítatelně <i>Ophiostoma</i> 1000x - 1055 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK52 | drtinky | 100x - 122 kolonií <i>Ophiostoma</i> 1000x - 133 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK53 | kukla; 1,2 cm | 100x - 263 kolonií <i>Ophiostoma</i> 1000x - 200 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK54 | drtinky | 100x - 50 kolonií <i>Ophiostoma</i> 1000x - 40 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK55 | larva L1; 1,1 cm | 10x - 55 kolonií <i>Ophiostoma</i> 100x - 5 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK56 | drtinky | 100x - 8 kolonií <i>Ophiostoma</i> 1000x - 5 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK57 | larva L3; 1,1 cm | 10x - 24 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK58 | drtinky | 100x - 1 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK59 | larva L3; 1,4 cm | 10x - 5 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK60 | drtinky | 100x - 1 kolonie <i>Ophiostoma</i> 1000x - 1 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK61 | kukla; 1 cm | 100x - 25 kolonií <i>Ophiostoma</i> 1000x - 28 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK62 | drtinky | 100x - 4 kolonie <i>Ophiostoma</i> 1000x - 5 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK63 | larva L3; 1,3 cm | 10x - 17 kolonií <i>Ophiostoma</i> 100x - 2 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK64 | drtinky | 100x - 1 kolonie <i>Ophiostoma</i> 1000x - 1 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK65 | larva L2; 1,2 cm | 10x - 1 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK66 | drtinky | 100x - 1 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK67 | larva L3; 1,3 cm | 10x - 34 kolonií <i>Ophiostoma</i> 100x - 10 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK68 | drtinky | 100x - 3 kolonie <i>Ophiostoma</i> 1000x - 2 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK69 | larva L2; 1 cm | |
| BK70 | drtinky | 100x - 19 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK71 | larva L3; 1,1 cm | 10x - 4 kolonie <i>Ophiostoma</i> 100x - 1 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK72 | drtinky | |

| | | |
|------|---|---|
| BK72 | drtinky | |
| BK73 | larva L2; 0,9 cm | 10x - 22 kolonií <i>Ophiostoma</i> 100x - 1 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK74 | drtinky | 100x - 9 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK75 | larva L1; 1,8 cm | |
| BK76 | drtinky | |
| BK77 | larva L1; 1,8 cm | 10x - 14 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK78 | drtinky | |
| BK79 | larva L2; 1,8 cm | 10x - 6 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK80 | drtinky | 100x - 1 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK81 | kukla?; 1,5 cm; zvláštní jako by se to dalo oloupat | 100x - 2 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK82 | drtinky | 100x - 12 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK83 | larva L2; 1,5 cm | 10x - 29 kolonií <i>Ophiostoma</i> 100x - 2 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK84 | drtinky | 100x - 16 kolonií <i>Ophiostoma</i> 1000x - 3 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK85 | larva L2; 1 cm | 10x - 17 kolonií <i>Ophiostoma</i> 100x - 1 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK86 | drtinky | 100x - 14 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK87 | kukla; 1 cm | 100x - 296 kolonií <i>Ophiostoma</i> 1000x - 22 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK88 | drtinky | |
| BK89 | kukla; 0,5 cm | 100x - nepočitatelně <i>Ophiostoma</i> 1000x - 360 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK90 | drtinky | 100x - 5 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK91 | larva L1; 1,3 cm | |
| BK92 | drtinky | 100x - 24 kolonií <i>Ophiostoma</i> 1000x - 5 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK93 | larva L2; 1,4 cm | 10x - 35 kolonií <i>Ophiostoma</i> 100x - 6 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK94 | drtinky | 100x - 27 kolonií <i>Ophiostoma</i> 1000x - 1 kolonie <i>Ophiostoma</i> |
| BK95 | kukla; 1 cm | 100x - 180 kolonií <i>Ophiostoma</i> 1000x - 52 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK96 | drtinky | 100x - 25 kolonií <i>Ophiostoma</i> 1000x - 1 kolonie <i>Ophiostoma</i> |

| | | |
|-------|------------------|---|
| BK97 | larva L2; 1,2 cm | 10x - 600 kolonií <i>Ophiostoma</i> 100x - 200 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK98 | drtinky | 100x - 26 kolonií <i>Ophiostoma</i> 1000x - 14 kolonií <i>Ophiostoma</i> |
| BK99 | larva L1; 1 cm | |
| BK100 | drtinky | 100x - 70 kolonií <i>Ophiostoma</i> |

3. *HYLESINUS FRAXINI* – MORFOTYPY MIKROORGANISMŮ

| Kód | Název | Petriho miska k očkování | Popis |
|-----|-----------------------|--------------------------|--|
| A | kvasinka lesklá | BK101 10x | narůžovělá, spíše béžová, lesklá, kruhová kolonie, poměrně velká |
| B | houba vláknitá | BK101 10x | roste rychle, vlákna bílé barvy, boběček uprostřed, okraj výrazně difuzní. |
| C | houba bílá | BK101 100x | roste pomalu, do výšky, zesponu bílá |
| D | kvasinka vrásčitá | BK101 100x | narůžovělá, velká, na povrchu zvláště vrásněná, není hladká ani lesklá |
| E | kvasinka růžová | BK121 1000x | výrazně růžová, lososová, na povrchu lesklá |
| F | kvasinka bílá | BK101 1000x | malá, tuhá, jakoby kapka uschlého primalexu, matná |
| G | houba malá bílá | BK103 1000x | vláknitá malá bílá houba, pod lupou podobná houbě vláknité, bez kapiček - mladé <i>Pencilium</i> |
| H | houba růžová | BK104 10x | růžová hmota, výrazný boběček uprostřed, když je starší, tak je okolo boběčku hnědočerná, roste rychle, okraj ostrý, žádná vlákna, jenom kapičky |
| I | houba obláčková | BK115 10x | vláknitá houba, B, ale často více vlhká, roste do výšky, je chlupatější, okraje má více ostré než B; roste rychle, obrovsky pevná, je cítit odpor i při propichování kolonie jehlou. |
| J | kvasinka matná | BK113 100x | kruhové kolonie, okraje více ostré, světlejší žluto-béžová, často prohlubeň nebo jsou hrbaté |
| K | kvasinka hrbatá | BK121 10x | okraj i střed kolonie hrbatý, barva béžová |
| L | houba hnědá tečkovaná | BK122 100x | střed tečkovaný hnědý, okraje výrazně difuzní, paprscité |
| M | kvasinka žlutá | BK122 100x | vcelku průsvitná, střed hutnější, malá, hezky žlutá |

| | | | |
|----|------------------------|-------------|--|
| N | <i>Geosmithia</i> | BK122 100x | uprostřed kvasinkový boběček, okolo ovšem bílá hutná síť kapiček a vláken, barva primalexově bílá |
| O | houba zelená | BK122 100x | na okrajích paprsčitá, vláknitá, plochá houba; khaki zelená, podobná endofytům. |
| P | kvasinka žlutá hrbatá | BK122 100x | větší než kvasinka žlutá, hrbaté okraje, ale více světlá barva |
| Q | kvasinka matná | BK122 1000x | kruhové kolonie, okraje více ostré, světlejší žlutobéžová, často prohlubeň |
| R | kvasinka lesklá béžová | BK123 10x | je výrazněji zbarvená než ostatní béžové kvasinky, ale žlutá to ještě není; hladká, lesklá, kruhová, bez prohlubně |
| S | černá tečka | BK124 100x | tečka uprostřed je lesklá, okraje jsou vláknité, difuzní, roste velmi pomalu |
| T | houba žlutá vláknitá | BK126 100x | žlutý porost, nevypadá skoro ani jako houba, je to plochý vláknitý porost |
| U | kvasinka žlutá vodová | BK126 100x | žlutá slizká hmota, průhledná |
| V | kvasinka průhledná | BK126 100x | slizká hmota světlá, béžová, průhledná |
| W | kvasinka svráštělá | BK127 10x | povrch svráštělý jako škraloup, spíše kulovitá s hrbatými okraji |
| X | kvasinka vodová | BK133 1000x | hodně lesklá, ale není to ten velký sliz jako vzorek K, průhledná, roste pomaleji, světlá, béžová; vedlejší kolonie ovšem rády splývají |
| Y | houba černo-oranžová | BK135 10x | malá, výrazně černá, dva boběčky a mezi nimi oranžová hmota |
| Z | kvasinka drobná | BK149 10x | malá lesklá, béžová |
| AA | plíseň sametová | BK147 100x | kruhová kolonie, ale lehce rozostřené a nepravidelné okraje, občas až trochu dožluta, zvrchu khaki zelená, sametová, zesponu tmavá, po očkování tvrdá, ale šla překrojit |
| AB | houba vločková | BK150 100x | béžová, malá, nepravidelná, vláknitá; mohla by být podobná <i>Geosmithii</i> , ale nemá tu kvasinkovost uprostřed a nejdou z ní tečky. |

| | | | |
|----|--------------------------|------------|--|
| AC | bakterie | BK 151 10x | miniaturní průhledné kolonie |
| AD | plíseň šedá | BK151 10x | po očkování tvrdá, skoro nešla překrojit, malá vláknitá šedivá kolonie, poměrně řídká |
| AE | houba krajková | BK151 100x | relativně difusní okraje, střed řidší než okraje, ty jsou bílé a načechrané |
| AF | plíseň růžová | BK151 100x | zelenkavý střed, růžová okolo a bílý okraj s jednotlivými vlákny přesahujícími kruhovou kolonii, zespodu tmavý střed |
| AG | plíseň šedá II | BK154 10x | zcela koncentrovaná masa vláken, tmavě šedá, zespodu tmavá, dozelená |
| AH | bakterie hnědá | BK 171 10x | plochá, uprostřed často tečka, ne úplně ostré okraje, poměrně veliká |
| AI | bakterie žlutá | BK171 10x | často malá, žlutá, lesklá |
| AJ | kvasinka růžová II malá | BK171 100x | malá, tmavší, lesklá |
| AK | kvasinka růžová II velká | BK171 100x | velká, více světlá než AK, lesklá |
| AL | bakterie hnědá rozplizlá | BK172 10x | uprostřed boběček, okolo zvláště nepravidlené okraje, kulovitá kolonie |
| AM | kvasinka kořenující | BK172 10x | malá, světle béžová, pravidleně kulovitá, s často ne úplně výrazným ufoidním okrajem, který připomíná spíš vláknitou houbu |
| AN | kvasinka hrbatá | BK172 10x | hrbatá, světle béžová, často menší, prostředek občas jako boběček, bez výrazného středu |
| AO | houba žlutobílá | BK174 10x | ostré okraje, jako pěna od piva nebo bouřkové mraky na okrajích, žlutý okraj, uprostřed spíš doběla |
| AP | bakterie drobná | BK174 100x | nenakultivováno |
| AQ | Geosmithia velká | BK178 10x | podobná jako <i>Geosmithia</i> , ale vyrostla velká kolonie |
| AR | houba mlhavá | BK178 10x | nenakultivováno |
| AS | kvasinka matná hrbatá | BK178 10x | podobná AN |
| AT | kvasinka matná | BK178 100x | nenakultivováno |
| AU | bakterie béžová | BK179 10x | tmavě béžová, lesklá a střední velikosti |

| | | | |
|----|-----------------------------------|------------|--|
| AV | houba bílá II | BK181 100x | nepravidelně kruhový okraj, placatý, bílý; asi v třetině obvodu vyrůstá vláknitý bílý střed, který je vcelku řídký a jde dost do výšky |
| AW | bakterie nepohyblivá UFO | BK182 10x | běžová, malá, kulovitá, lesklá, okraj jakoby průsvitnější než střed, proto ufo |
| AX | kvasinkobakterie lesklá | BK182 10x | lesklá, větší, spíš dožluta |
| AY | bakterie světlá velká | BK182 100x | lesklá, větší, spíš do bíla |
| AZ | bakterie oranžová | BK183 10x | krásná, drobná, oranžová, lesklá |
| BA | bakterie rozplizlá velká, čeká se | BK184 100x | plochá, uprostřed často tečka, ne úplně ostré okraje, poměrně veliká, vypadá jako vzorek AH, ale je světlejší |
| BB | bakterie rozplizlá malá | BK184 100x | beztvarý, lesklý, průhledný, vodnatý flek |
| BC | bakterie velká žlutá | BK185 10x | lesklá, velká |
| BD | bakterie rozplizlá střední | BK185 100x | nenakultivováno |
| BE | houba souvislá | BK186 10x | bílá vláknitá houba přerostlá přes všechny ostatní kolonie |
| BF | houba žlutá | BK186 10x | neostré okraje, vláknitá, žlutá, ne vysoká |
| BG | bakterie žlutá velká hrbatá | BK186 100x | jako volské oko, zvlněné okraje |
| BH | <i>Pithiomyces</i> plíseň | BK188 100x | spodek šedivý a na vršku bílé chloupky |
| BI | houba bílá III | BK189 10x | vypadá jako vzorek AM (malá, světle béžová připomíná spíš vláknitou houbu), ale je na povrchu chlupatá |
| BJ | bakterie žlutá vodová | BK190 10x | nenakultivováno |
| BK | bakterie talířková hnědá | BK190 10x | hnědobéžová kulovitá kolonie s velkou prohlubní v centru a valem na okraji |
| BL | plíseň šedá | BK190 10x | podobná BH (spodek šedivý a na vršku bílé chloupky) |

| | | | |
|----|------------------------------|------------|--|
| BM | houba dvoubarevná | BK193 100x | vypadá jako endofyt, obláčkový nepravidelný tvar, na části kořenové vlášení a na části bílé chloupky, podklad hnědý |
| BN | bakterie růžová tyčinková | BK194 100x | hodně malá růžová tečka, pod mikroskopem tyčinky |
| BO | houba tvarohová | BK196 10x | bílá, hutná, ale nízká houba, tvarohový porost |
| BP | kvasinka světle žlutá | BK200 10x | běžová, dožluta, střední velikosti, s vrcholem uprostřed |
| BQ | bakterie béžová | BK200 10x | tmavší, menší, plochá, ale ne jako bakterie hnědá |
| BR | houba obláčková III | BK200 100x | krásně chlupatá, ne vysoká, okraje celkem ostré, mírně přesahují chloupky |

4. HYLESINUS CRENATUS – MORFOTYPY MIKROORGANISMŮ

| Kód | Název | Petriho miska k očkování | Popis |
|-----|-------------------|--------------------------|--|
| A | kvasinka lesklá | BK6, BK26 100x | kruhové kolonie, barva více dožluta |
| B | kvasinka matná | BK3, BK11 10x | kruhové kolonie, okraje ostré, světlejší žluto-béžová, často prohlubeň |
| C | choroš | BK7, BK15 100x | vláknitá houba se žlutým boběčkem uprostřed, vlákna s kapičkami, okraje ostré |
| D | houba žlutá | BK3 | zespodu bílá, jen vlákna a minikapičky, roste pomalu, difuzní okraje |
| E | houba bílá | BK3, BK70 1000x | roste i do výšky, bílá, vzhled vatového chomáčku, zespodu žlutá |
| F | <i>Ophiostoma</i> | BK1, BK27 10x | relativně ostrý okraj, roste rychle, bílá vata, žlutavé kapičky, černé tečky nebo čárky |
| G | kvasinka hrbatá | BK4 100x | roste pomalu, nepravidelné kolonie, hrbaté po okraji a po povrchu |
| H | kvasinka UFO | BK12 100x | žlutá, uprostřed tečka a okolo jemnější okraj (průhledný), vypadá jako létající talíř |
| I | houba zelená | BK15 100x | obrovský porost, zespodu zelená, navrchu šedivo-zelená, maskáčová, po očkování vyrostla houba hnědo-žlutá |
| J | kvasinka drobná | BK16 100x | patrně kvasinka lesklá, ale kolonie mají malý průměr okolo 1 mm, rostou v mezerách mezi <i>C. rosea</i> a <i>Ophiostomou</i> |
| K | kvasinka žlutá | BK19 10x | poloprůhledná, vodová a výrazně žlutá; kolonie cca 1 mm i menší |
| L | kvasinka vodová | BK22 1000x | dost tmavá, ne tak žlutá jako kvasinka žlutá, hodně průhledná |

| | | | |
|---|--------------------------|--------------------------|---|
| M | houba fialová | BK21 100x | navrchu fialovo-šedý porost, nahoře bílá vlákna bez kapiček, zespodu tmavá, šedivá |
| N | bakterie tečková | BK24 100x | velmi malé tečky, i když se nikde netísni |
| O | kvasinka vlnová | BK26 100x | jako vlna v moři, ¼ misky porostlá jakoby kvasinkou, ale ne v koloniích |
| P | houba malá šedá | BK68 1000x | miniaturní, šedivá, ale v očkování vyrostla velká šedo-žlutá |
| Q | <i>Conostachys rosea</i> | BK47 10x | vláknitá narůžovělá houba, zespodu úplně růžová |
| R | kvasinka šedá | BK34 1000x, BK34 100x | poměrně malá, šedivá.; později přechází do vínovo-růžové barvy. |
| S | houba vlněná | BK34 1000x | černý podklad, roste rychle (u kraje petrisky); na povrchu běžová vlákna – jako ovčí vlna; spodní patro hodně černé, ale ne jako <i>Ophiostoma</i> |
| T | kvasinka průhledná | BK41 10x | jedna nebo více kolonií jakoby v kapce vody; hodně lesklá, někdy hodně veliká, běžová; střed je tmavší, okolí je průhledné a vodové |
| U | kvasinka hnědá | BK54 100x | malá běžovo-hnědá, ne moc lesklá |
| V | kvasinka růžová | BK54 100x | růžová, možná se jedná o starší kvasinku šedou, možná je to houba |
| W | houba s kroužky | BK59 100x | uprostřed žlutá, pak hnědá, pak světle růžová, pak bílá; roste rychle, okraj lehce difuzní |
| X | houba závojová | BK35 10x | vláknitý střed, okolo jako závoj velké kolo jemných vláken s kapičkami; na kraji kolonie vlákna bez kapiček; bílá či běžová, zespodu též, okraj difuzní; roste rychle |
| Y | kvasinka okrovo-žlutá | BK68 100x | žlutá ale s nádechem dohněda, uprostřed hrbolek, pak údolí, pak opět vyvýšenina - výrazný střed, rychle ustupující do až vodových okrajů |

| | | | |
|----|---------------------|------------|---|
| Z | houba sýrová | BK36 1000x | bílý střed, mlžné okraje kolonie; vlákna s kapičkami všude až na úplný okraj; při odhrnování vláken středu má chování plísně na hermelínu |
| AA | houba šedá | BK81 100x | větší než houba malá šedá, jen světle šedivá, hlavně uprostřed, hodně do výšky, jako Říp; okraj je lehce difuzní a bílý, vláknitá houba |
| AB | houba mechová | BK81 100x | kulatá, na povrchu vláknitá, šedo- zelená s vrchními bílými vlákny, zespodu žluto-hnědo-zelená, okraje poměrně ostré |
| AC | houba svraštělá | BK81 100x | kulatá, se zvlněnými okraji, tmavě zelená, ostrý okraj; opět vypadá větší než prostor, na kterém roste; spodek zdeformován a mírně tmavý |
| AD | černá tečka | BK81 1000x | ostré okraje, bez vláken |
| AE | houba kopečková | BK81 1000x | bílá, vláknitá, uprostřed boběček, pak prohlubeň, pak okraj - jakoby rozlezlá vata, zespodu bílá |
| AF | houba krajková | BK81 1000x | bílá, vláknitá, uprostřed boběček, pak velká prohlubeň či mezera, pak opět vzestup nahoru – val z vláken, řidší než houba kopečková |
| AG | houba malá šedá | BK82 100x | trošku méně chlupatá než houba šedá, jakoby vrůstá do agaru, deformuje jej, ostré okraje, roste pomalu |
| AH | houba růžová | BK83 100x | vláknitá houba bez boběčku, okraje poměrně ostré, je narůžovělá, zespodu růžová |
| AI | plíseň sametová | BK83 100x | jako sametový boběček mechu, zespodu tmavá, mírně svraštělá |
| AJ | houba okrajová | BK84 100x | jen na okraji misek, malé kolonie vláknité, šedivé hmoty |
| AK | houba vetřelcová | BK84 1000x | růžová, puchýřková, relativně pevná |
| AL | plíseň vlněná | BK84 1000x | asi podobná houbě mechové, nahoře bílá vlákna, jinak zelená, zespodu tmavá a mozaiková, kulatá kolonie, ostré okraje |

| | | | |
|----|------------------------|-------------|---|
| AM | houba roztroušená | BK86 1000x | opět na kraji petrisky, hnědo-šedá, relativně řídká a vysoká, okraje přesahují v houbu boběčkovou |
| AN | houba bílo-zelená | BK87 1000x | na povrchu bílá, vláknitá, zesponu bílá se zeleným flekem |
| AO | houba boběčková | BK87 1000x | na povrchu bílá, zesponu též; spíš plocha s mnoha boběčky, nemá střed; jde těžko propíchnout, tuhý porost |
| AP | houba rezavo-bílá | BK88 1000x | bílá vláknitá s rezavými vrcholky kolonie a s rezavými okraji |
| AQ | kvasinka drobná matná | BK93 10x | běžová, světlá, malá, lesklá |
| AR | houba fuchsiová | BK96 100x | malá, výrazně růžová |
| AS | kvasinka stříbrná | BK96 1000x | nepravidelná a plochá, neroste nahoru, hrbatý okraj, málo hmoty |
| AT | kvasinka okrová | BK98 1000x | tmavší v porovnání s kvasinkou lesklou |
| AU | houba podivná | BK99d 1000x | tuhá, jakoby proužkovaná, tvar zátky od piva, vypadá skoro jako plodnice, hnědá; přikryta bílými vlákny |
| AV | houba bledá | BK99d 1000x | vypadá podobně jako houba bílá, roste do výšky, ale je řídkší, než houba bílá |
| AW | kvasinka drobná okrová | BK81 100x | malá, béžovo-hnědá, ne moc lesklá, hutná, neprůhledná |

5. KONTROLA ŠTĚPIN

| Kód | Název | Petriho miska k očkování | Popis |
|-----|----------------------|--------------------------|---|
| A | kvasinka oranžová | K1 | lesklá, oranžová |
| B | kvasinka růžová | K3 | lesklá, růžová |
| C | endofyt zelený | K3 | spíš šedivý, huňatý, zesponu též šedivý |
| D | endofyt khaki | K4 | šedivo-zelený bobek uprostřed, difuzní okraje, šedivo-zelenorůžová vlákna |
| E | kvasinka růžová | K16 | lesklá, růžová |
| F | endofyt bílý vlnitý | K16 | nažloutlá vlna, uprostřed tmavší, velké kapky |
| G | endofyt slizký | K16 | slizkého vzhledu, uprostřed hnědé, jinak světlé |
| H | endofyt kloboukový | K16 | sametová, až skoro černá kolonie, někde vyšší - tvar klobouku s nižší krepou |
| I | endofyt žlutý | K17 | žluto-okrový, relativně malý |
| J | endofyt kořenový | K17 | struktura jako kořeny stromu, oranžové okraje kolonie |
| K | endofyt zeleno-žlutý | K17 | bílý bobček uprostřed, žlutozelená kolonie, průhledná, vlákna na konci kolonie bílá |
| L | endofyt zeleno-šedý | K17 | šedý bobček uprostřed, khaki vlákna, na konci bílá, průhledná kolonie |
| M | endofyt kroužkový | K17 | žlutohnědá, koncentrické kruhy (proti světlu), vláknitá |
| MN | endofyt mlékový | K17 | průsvitný, malý, bílý, jakoby zaschlý flek |
| N | endofyt petrolejový | K18 | zeleno-petrolejová barva, střed kolonie tmavý, vlhký, na okraji vlákna hodně paprsčité |
| O | endofyt hrbatý | K18 | běžový, difuzní okraj, uprostřed šedivo-bílý hrbol |
| P | endofyt šedý | K18 | šedivá, průsvitná vláknitá kolonie |
| Q | endofyt sametový | K18 | přerostlý endofytem mračnovým, tmavě khaki, neprůsvitná kolonie, vlákna nejsou vidět |
| R | endofyt mračnový | K18 | světlá vlákna na okraji, jinak opět tmavě zelený |
| S | endofyt stříbrný | K19 | bílý, vatový |
| T | endofyt prstencový | K19 | tmavý prstenec vláken okolo světlého pole (1cm v průměru), okolo prstence světlá vlákna |

| | | | |
|----|----------------------|-----|---|
| | | | |
| U | endofyt bobekový | K19 | tmavý uprostřed, světlá vlákna okolo |
| V | endofyt plesnivý | K19 | zelenohnědé chloupky uprostřed, okraje na jedné straně paprsčité, na druhé vláknité |
| W | endofyt bílý | K20 | uprostřed bílá načechraná peřinka, směrem k okraji jenom vlákna, ostrý okraj |
| X | kvasinka lesklá | K20 | lesklý, malý, ale po čase změněno |
| Y | houba bílá | K20 | malá, bílá, vláknitá, ale po čase změněno |
| Z | endofyt tečkovaný | K1 | žluté nebo růžové vrcholky na vláknitém podkladě |
| AA | endofyt obludný I | K1 | šedivo-hnědý vláknitý podklad s vytékající lesklou tekutinou |
| AB | endofyt obludný II | K2 | šedivo-hnědý vláknitý podklad bez tekutiny |
| AC | endofyt kruhový | K4 | hnědý s kroužky uvnitř |
| AD | kvasinka oranžová II | K6 | lesklá, oranžová |
| AE | endofyt omítkový | K6 | bílý, hrudkovitý, jako když se seškrábne omítka |
| AF | kvasinka růžová II | K13 | malé bobčky okolo štěpiny |