

# ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta lesnická a dřevařská

Excelentní tým pro mitigaci



**Porovnání aktivity oxidovaných monoterpenů ze smrku pro atraktivitu  
lýkožrouta smrkového *Ips typographus* (L.) v polním pokusu, vývoj  
odparníků oxidovaných monoterpenů.**

**Diplomová práce**

Autor: Bc. Luboš Cidlinský

Vedoucí práce: Ing. Anna Jirošová, Ph.D.

**2020**

# ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta lesnická a dřevařská

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Bc. Luboš Cidlinský

Lesní inženýrství  
Lesní inženýrství

Název práce

**Porovnání aktivity oxidovaných monoterpenů ze smrku pro atraktivitu lýkožrouta smrkového *Ips typographus* (L.) v polním pokusu, vývoj odparníků oxidovaných monoterpenů.**

Název anglicky

**Comparison of spruce oxygenated monoterpenes activity for *Ips typographus* (L.) attraction in field test, development dispensers for oxygenated monoterpenes.**

### Cíle práce

Kalamitní přemnožení lýkožrouta smrkového (*Ips typographus*) způsobuje v současné době rozsáhlé škody ve smrkových porostech střední Evropy. Alternativní metody ochrany lesa mohou být založeny na vyhledání chemických látek z ekologické niky lýkožrouta smrkového a testování jejich biologické aktivity. Látkami s prokázanou aktivitou na tykadle (metoda skrínungu fyziologicky aktivních chemikálií pro hmyz) jsou oxidované monoterpeny. Tyto látky emitované hostitelskými smrkami jsou potencionálně důležité pro atrakci či odpuzování lýkožrouta smrkového.

Cílem diplomové práce bude vývoj nových odparníků oxidovaných monoterpenů s daným koeficientem odparu a jejich testování v lese na určení biologické aktivity těchto látek pro chování lýkožrouta smrkového. V lesních pokusech budou testovány odparníky s oxidovanými monoterpeny ve feromonových lapačích v kombinaci s feromonem. Cílem bude zjistit jejich atraktivní či antiatraktivní aktivitu vztahenou vůči odchytům brouků na feromon a porovnat ji mezi jednotlivými látkami. Účinnost bude vyhodnocena pomocí statistických metod. Látky s případnou aktivitou budou potom navrženy pro testování v nově vyvíjených metodách přírodě blízkého lesního managementu lýkožrouta smrkového.

### Metodika

Pro oxidované monoterpeny (camphor, pinocamphone, isopinocamphone, terpinen-4-ol, carvon a  $\alpha$ -terpineol plus referenční 1,8-cineol a trans-4-thujanol) a fenol allylanisol budou vyvinuty odparníky s požadovaným poměrem odparu v mg látky/den. Odparníky budou použity v polním experimentu s feromonovými lapači Ecotrap, kam budou umístěny společně s vyšší dávkou syntetického feromonu lýkožrouta smrkového (2-methyl-3-buten-2-ol 50mg/den; cis-verbenol 1mg/den). V pokusu jako blank bude instalován rovněž lapač obsahující samotný feromon a prázdný lapač. Odchycení brouci budou odebráni a uskladněni k pozdějšímu vyhodnocení. Odparníky budou ve stabilně umístěných lapačích rotovány dle randomizačního schématu. Polní pokus bude instalován v lokalitě ŠLP Kostelec nad Černými lesy. Data budou statisticky vyhodnocena.

**Doporučený rozsah práce**

45-60 stran

**Klíčová slova**

Ips typographus, smrk ztepilý, lýkožrout smrkový, monoterpen, atraktant, anti-atraktant

---

**Doporučené zdroje informací**

- Raffa KF, Andersson MN, Schlyter F, 2016. Host selection by bark beetles: Playing the odds in a high-stakes game. In: Pine bark beetles. Ed. by C Tittiger, GJ Blomquist, Academic Press Ltd-Elsevier Science Ltd, London, 1-74. <https://doi.org/10.1016/bs.aiip.2016.02.001>
- Schiebe C, Hammerbacher A, Birgersson G, Witzell J, Brodelius PE, Gershenzon J, Hansson BS, Krokene P, Schlyter F, 2012b. Inducibility of chemical defenses in norway spruce bark is correlated with unsuccessful mass attacks by the spruce bark beetle. *Oecologia*, 170, 183-198. doi: 10.1007/s00442-012-2298-8.
- Schiebe C, Unelius CR, Ganji S, Binyameen M, Birgersson G, Schlyter F, 2019. Styrene, (+)-trans-(1R,4S,5S)-4-thujanol and oxygenated monoterpenes related to host stress elicit strong electrophysiological responses in the bark beetle *Ips typographus*. *J Chem Ecol*, 45, 474-489 doi: 10.1007/s10886-019-01070-8
- 

**Předběžný termín obhajoby**

2019/20 LS – FLD

**Vedoucí práce**

Ing. Anna Jirošová, Ph.D.

**Garantující pracoviště**

Excelentní tým pro mitigaci

**Konzultant**

Ing. Roman Modlinger, Ph.D.  
Ing. Kateřina Beránková

Elektronicky schváleno dne 2. 3. 2020

**prof. Ing. Marek Turčáni, Ph.D.**

Vedoucí ústavu

Elektronicky schváleno dne 3. 3. 2020

**prof. Ing. Róbert Marušák, Ph.D.**

Děkan

V Praze dne 02. 06. 2020

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci „**Porovnání aktivity oxidovaných monoterpenů ze smrku pro atraktivitu lýkožrouta smrkového *Ips typographus* (L.) v polním pokusu, vývoj odparníků oxidovaných monoterpenů**“ vypracoval samostatně pod vedením paní Ing. Anny Jirošové, Ph.D. a použil jen prameny, které uvádím v seznamu použitých zdrojů. Jsem si vědom, že zveřejněním diplomové 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 .....

Podpis autora .....

## **Poděkování**

Tímto bych velmi rád poděkoval vedoucí diplomové práce paní Ing. A. Jirošové, Ph.D. za odborné vedení práce, Ing. Kateřině Beránkové, v rámci jejíž dizertační práce byl výzkum uskutečněn, dále Ing. Romanu Modlingerovi, Ph.D. za odborné vedení při statistické analýze výsledků a všem dalším, kteří mi dopomohli ke zpracování této práce.

## Abstrakt

Diplomová práce se zabývá současným problémem v ochraně lesa, tím je kalamitní přemnožení lýkožrouta smrkového – *Ips typographus* (L.). V úvodu literární rešerše jsou uvedeny morfologické a binomické charakteristiky lýkožrouta smrkového, jeho monitoring a metody běžné ochrany proti němu. Následující částí rešerše je shrnutí poznatků o jsou alternativních metodách ochrany lesa, které jsou založeny na vyhledávání chemických látek z ekologické niky lýkožrouta smrkového a testování jejich biologické aktivity. Látkami s prokázanou aktivitou na tykadle (metoda skrínungu fyziologicky aktivních chemikálií pro hmyz) jsou v našem případě oxidované monoterpeny pocházející nejčastěji ze smrku ztepilého. Tyto látky mají předpokládanou biologickou aktivitu, kterou jsme testovali v experimentální části této diplomové práce.

Na základě získaných informací z literatury jsme navrhli polní pokus s feromonovými lapači odehrávající se na lokalitách ŠLP (školní lesní podnik) Kostelec nad Černými lesy, k ověření devíti látek camphor, pinocamphon, isopinocamphonu, terpinen-4-ol, carvon a  $\alpha$ -terpineol, fenolu estragolu plus referenčních 1,8-cineol a *trans*-4-thujanol. Pro každou z těchto látek jsme vytvořili odparníky se třemi koeficienty odparu, a to 0,01 mg/den, 0,1mg/den a 10 mg/den. Poměry odparů byly určeny pomocí gravimetrické metody. Testování odparníků probíhalo v polním pokusu ve feromonových lapačích a následně došlo k porovnání relativních odchytů brouků na látku s určitým koeficientem odparu v kombinaci s feromonem vůči odchytům na feromon samotný.

Celkový odchyt lýkožrouta smrkového do feromonových pastí byl v počtu **134 042** brouků. Účinnost byla vyhodnocena pomocí statistického zpracování relativních odchytů z jednotlivých rotací za použití negativního binomického modelu. Díky tomuto modelu jsme potvrdili největší anti-atraktivitu **1,8 cineolu a trans-4-thujanolu**, dále byly určeny nižší odchty vůči feromonu u **estragolu**. Slabou antiatraktivní aktivitu rovněž vykazovaly alpha-terpineol a terpinen-4-ol ve střední dávce. Na druhé straně látky, které statisticky zvyšovaly podíly odchycených brouků vůči samotnému feromonu byly **isopinocamphon a pinocamphon** a dále pak také carvon ve střední dávce odparu. Tyto látky budou testovány pro případné použití v managementu lýkožrouta smrkového.

**Klíčová slova:** *Ips typographus*, smrk ztepilý, lýkožrout smrkový, monoterpen, atraktant, anti-atraktant

## Abstract

The thesis deals with the current problem in forest protection, i.e. calamity overgrowth of Bark beetle - *Ips typographus* (L.). In the introduction of literary research are described its morphological and binomial characteristics, its monitoring and methods of common protection against it are presented in literature reviews. The following part of the research is a summary of knowledge about alternative methods of forest protection, which are based on the search for chemicals from ecological niche of spruce bark beetle and testing their biological activity. Substances with proven activity on antennae (a method of screening of physiologically active chemicals for insects) are in our case oxidized monoterpenes, originating mostly from Norway spruce. These substances have a presumed biological activity, which we tested in the experimental part of this diploma thesis.

Based on information obtained from the literatury, we proposed a field experiment with pheromone traps taking place in the ŠLP Kostelec nad Černými lesy locality, to verify the nine substances camphor, pinocamphon, isopinocamphon, terpinen-4-ol, carvone and  $\alpha$ -terpineol, estragole phenol plus reference 1,8-cineole and trans-4-thujanol. For each of these substances, we created dispensers with three evaporation coefficients, namely 0.01 mg / day, 0.1 mg / day and 10 mg / day. Evaporation ratios were determined by the gravimetric method. The testing of dispensers took place in a field experiment in pheromone traps and then the relative catches of beetles on a substance with a certain evaporation coefficient in combination with a pheromone were compared to the catches on the pheromone itself.

The total capture of the Bark beetle spruce in pheromone traps was **134,042** beetles. The efficiency was evaluated using statistical processing of relative catches from individual rotations using a negative binomial model. Thanks to this model, we were able to confirm the highest anti-attractivity **1,8 cineol** and **trans-4-thujanol**, furthermore were determined lower catches against pheromone of **estragol**. Weak antiattractive activity were reported with alpha-terpineol and terpinen-4-ol mixture in medium dosage. On the other hand, substances which have statistically increased the shares of caught bugs against the sole feromon were **isopinocamphon** and **pinocamphon** and then also **carvon** in

medium dosage of evaporation. These substances will be tested for potential usage in European spruce bark beetle management.

**Keywords:** Ips typographus, Norway spruce, Bark beetle, monoterpen, attractant, anti-attractant



## OBSAH

1	Úvod .....	14
2	Cíl práce.....	15
3	Literární rešerše .....	16
3.1	Současná situace.....	16
3.1.1	Nahodilé těžby, abiotická poškození, biotická poškození .....	16
3.1.2	Podkorní hmyz na smrku .....	17
4	Smrk ztepilý – [ <i>Picea abies</i> (L.) Karsten] – obecná charakteristika .....	18
4.1	Obrana smrku .....	19
5	Lýkožrout smrkový ( <i>Ips typographus</i> L.).....	20
5.1	Obecná charakteristika .....	20
6	Způsob napadení stromu.....	24
6.1	Způsob náletu na stromy .....	24
7	Feromony u lýkožrouta smrkového .....	26
7.1	Agregační feromon.....	26
8	Přehled klasických ochranných metod a monitoringu proti Lýkožroutu smrkovému.....	27
8.1	Pochůzková metoda .....	29
8.2	Feromonové lapače a feromony .....	29
8.3	Lapáky.....	31
8.4	Otrávené lapáky .....	32
8.5	Přirození nepřátelé .....	32
8.6	Alternativní metody .....	32
8.6.1	Použití antiatraktant .....	33
9	Asanace kůrovcového dříví a lapáků.....	34
10	Monoterpeny.....	35
10.1	Hmyz a monoterpeny .....	36
11	Oxidované monoterpeny .....	37
12	Elektroantenografie .....	42
12.1	Chemická ekologie a neurony na tykadle lýkožrouta smrkového.....	43
13	Metodika.....	44
13.1	Odparníky – design.....	44
13.2	Chemikálie.....	46
13.3	Lokality odchytu.....	46
13.4	Terénní pokus s feromonovými lapači .....	47

13.5	Vyhodnocování odchytů brouků .....	48
13.6	Randomizační schéma a jeho popis.....	48
13.7	Statistické zpracování dat .....	50
14	Výsledky.....	51
14.1	Odchyt brouků.....	51
14.2	Relativní počty odchytů brouků na jednotlivé látky v poměrech L, M, H., statistické zhodnocení atraktivní/anti-atraktivní aktivity.....	52
15	Diskuze .....	57
16	Závěr.....	59
17	Přehled literatury a použitých zdrojů .....	61
18	Přílohy .....	68

## Seznam obrázků

Obrázek 1: 1.) Průměrné měsíční teploty vzduchu v ČR v roce 2018 ve srovnání s dlouhodobým normálem (1981–2010). A 2.) Měsíční úhrny srážek v ČR v roce 2018 ve srovnání s dlouhodobým normálem (1981–2010). Zdroj: ČHMÚ. ....	16
Obrázek 2: Objemy smrkového kůrovcového dříví v období 1990–2018. Dostupné ze Zpravodaj ochrany lesa, svazek 22, 2019. Škodliví činitelé Česka 2018/2019. <a href="https://www.vulhm.cz/files/uploads/2019/06/ZOL_22_2019.pdf">https://www.vulhm.cz/files/uploads/2019/06/ZOL_22_2019.pdf</a> . ....	17
Obrázek 3: Objem smrkového kůrovcového dříví podle okresů rok 2017. Dostupné z <a href="https://www.lesaktualne.cz/aktuality/rozsah-kurovcove-kalamity-predstavuje-vysoke-riziko-pro-rok-2019">https://www.lesaktualne.cz/aktuality/rozsah-kurovcove-kalamity-predstavuje-vysoke-riziko-pro-rok-2019</a> . ....	17
Obrázek 4: Složení těkavých látek ze smrkových stromů. Záznam z GC×GC chromatogramu. Jirošová A. unpublished. ....	20
Obrázek 5: Areál výskytu a živné dřeviny lýkožrouta smrkového v Evropě a Asii. Zdroj: V. Skuhravý 2002. ....	21
Obrázek 6: 1.) Dospělec lýkožrouta smrkového. Dostupné z: <a href="http://www.kurovcoveinfo.cz/lykozrout">http://www.kurovcoveinfo.cz/lykozrout</a> . 2.) Larva lýkožrouta smrkového. Zdroj: <a href="https://www.forestryimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=1190023">https://www.forestryimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=1190023</a> . Autor: Daniel Adam. 3.) Kukla, dostupné z: <a href="https://www.biolib.cz/cz/image/id127047/">https://www.biolib.cz/cz/image/id127047/</a> . Autor: Miroslav Deml. 4.) Požerek lýkožrouta s. dostupné z: <a href="https://www.priroda.cz/clanky.php?detail=122">https://www.priroda.cz/clanky.php?detail=122</a> . Autor: Kamila Antošová. ....	22
Obrázek 7: Teoretické mechanismy regulace agregace a hustoty útoku (intraspecifická konkurence) a ukončení agregace. (Byers, John A., 1989). ....	25
Obrázek 8: Způsoby napadení stromu lýkožroutem smrkovým. 1. stojící strom a směr jeho napadení. 2. napadení vývratu. 3. Napadení polomu. Pfeffer, 1952. ....	25
Obrázek 9: Prvními identifikovanými feromonovými složkami kůrovce byly ipsdienol, ipsenol a verbenol (Silverstein et al., 1966). Kvůli jejich podobnosti s myrcenem a a-pinenem bylo navrženo, že feromonové složky vznikly z monoterpenů (Hughes, 1973, 1974). ....	27
Obrázek 10: Struktury feromonů a antiatraktantu. (Schiebe, 2012). ....	27
Obrázek 11: A.) feromonový lapač křížový - Ecotrap. Autor Cidlinský Luboš Bc., B.) šterbinový fer. lapač. Dostupné z <a href="https://www.lesnipedagogika.cz/">https://www.lesnipedagogika.cz/</a> . ....	31
Obrázek 12: Užití antiatraktantů a jejich stupně použití. (Jakuš a Blaženc 2015). ....	33
Obrázek 13: Chemické struktury anti-atraktantů. A.) 1,8 cineol, B.) Trans-4- thujanol a C.) Verbenone. Dostupné z <a href="http://www.chemspider.com/">http://www.chemspider.com/</a> . ....	34
Obrázek 14: Chemické struktury monoterpenů. Zhang Z., et. al., 2016. ....	36
Obrázek 15: Reprezentativní příklady nahrávek GC-EAD (celkem 170 běhů) od samců a samic I. typographus testovaných přírodních těkavých látkách z neporušené kůry stojících stromů. (Schiebe et. al., 2019). ....	39
Obrázek 16: Příklady nahrávek GC-EAD od samců a samic I. Typographus. Těkavé látky z pokáceného stromu odebrané do vzorku v den prvního útoku (25. dubna). (Schiebe et. al., 2019). ....	39
Obrázek 17: Příklady nahrávek GC-EAD od samců a samic I. Typographus. Těkavé látky z pokáceného stromu odebrané do vzorku koncem června. (Schiebe et. al., 2019). ....	40
Obrázek 18: Odpovědi na dávky podle tříd OSN upravené na základě volatility. (Schiebe et. al., 2019) ....	41

Obrázek 19: Struktury elektrofyziologicky aktivních sloučenin identifikovaných pro různé nalezené třídy OSN. Schiebe 2019. ....	41
Obrázek 20: Schéma GC-EAD. Dostupné z <a href="http://www.uochb.cz/web/structure/1141.html">http://www.uochb.cz/web/structure/1141.html</a> .....	43
Obrázek 21: A) Přední strana tykadla <i>Ips typographus</i> . ukazující uspořádání čichové senzily ve třech hlavních oblastech A,B,C. Na základě přítomnosti určitých funkčních tříd čichových sensorických neuronů (OSNs). Obrázek B) Přibližná umístění sensil obsahující OSN pro verbenon – červené kruhy, cis-verbenol (Cv) jenž představují žluté čtverečky a 1,8 cineol (Ci), které představují malé modré čtverečky. ( K. F. Raffa; M. N. Andersson a kol., 2016) .....	43
Obrázek 22: Ukázka designu feromonových odparníků. A. foliové sáčky, B. skleněná vialka s otvorem jehlou v septu, C. Kartellovy vialky připevněné na drátku. ....	44
Obrázek 23: A.) Lokality polního pokus. Zdroj: <a href="http://www.mapy.cz">www.mapy.cz</a> , B.) Snímek z dronu, pohled na rozmístění lapačů. ....	46
Obrázek 24: A.) Třídění a počítání brouků pod binokulární lupou. Luboš Cidlinský B.) Ostatní jedinci. Autor: Ing. Kateřina Beránková. ....	48

## Seznam tabulek

Tabulka 1: Tabulka pro stanovení počtu odchyťových zařízení pro letní rojení (tj. II. rojení. Dostupné z <a href="http://www.kurovcoveinfo.cz/ochrana-lesa">http://www.kurovcoveinfo.cz/ochrana-lesa</a> .....	29
Tabulka 2: GC-EAD analýza těkavých vzorků ze smrku. Celkem 19 provedených běhů GC-EAD pro 19 různých těkavých vzorků od sedmi pokácených a dvou stojících smrků. (Schiebe et al., 2019) .....	38
Tabulka 3: Přehled: sloučenin, zdrojů, čistoty, dávek, odpařovacího poměru mg/den a designu odparníků.....	45
Tabulka 4: Randomizační schéma. ....	49
Tabulka 5 až 10: Negativně binomický model: Výstupy monoterpenů. ....	73

## Seznam grafů

Graf 1: Absolutní množství odchyťených brouků IT během jednotlivých sběrů.....	51
Graf 2: Relativní počet odchyťených lýkožroutů na variantu odparu H (10 mg/den)....	53
Graf 3: Relativní počet odchyťených lýkožroutů na variantu odparu M (1 mg/den).....	54
Graf 4: Relativní počty odchyťených lýkožroutů na variantu odparu L. (0,1 mg/den)..	55
Graf 5: Porovnání odchyťů všech testovaných látek v odparnicích se třemi koeficienty odparu vůči odchyťům na samotný feromon.....	56
Grafy 6 až 28: které představují: Stanovení koeficientu odparu pro design odparníků..	68

## **Seznam použitých zkratek**

ŠLP – školní lesní podnik

L. – Linné

Cv – cis-verbeol

Ci – 1,8 cineol

MB - 2-methyl-3-buten-2-ol

GC-EAD - plynová chromatografie s elektroantenální detekcí

FID - plamenově ionizační detektor

MS – hmotnostní spektrometrie

EAD - elektroantenografická detekce

K.o. – koeficient odparu

# 1 Úvod

V posledních letech dochází k velkým klimatickým změnám na naší planetě. Výrazně se zvyšují průměrné denní teploty. Přibývá více suchých dnů, tj. dnů bez dešťových srážek. Klimatické změny způsobily, že stromy začaly strádat a jsou vystaveny stresu suchem, což je dělá náchylné k napadení podkorním hmyzem. Tento jev je obzvláště patrný u smrkových porostů, kde především druh kůrovce, lýkožrout smrkový (*Ips typographus* L.) působí rozsáhlé ekonomické a ekologické škody. Lýkožrout smrkový je sekundárním a zároveň největším škůdcem na smrkových porostech. Díky klimatickým změnám a nadbytku atraktivního dřeva, došlo k velkým gradacím tohoto druhu nejen na území ČR, ale také ve střední Evropě.

Lýkožroutovi smrkovému současné klima a v minulých letech uměle vysázené smrkové monokultury na lokalitách smrku nepřírodných velmi vyhovuje a je pro něj daleko jednodušší vytvořit další generace potomstva. Proti přemnožení lýkožrouta jsou používána klasická obranná opatření, zahrnující včasnou asanaci kůrovcového dříví a použití lapáků a feromonových lapačů se střídavým úspěchem. Proto je snahou zařadit nové alternativní metody v ochraně lesa, které by přispěly k mitigaci následků kůrovcové kalamity. Důležitým prvkem je tak pochopit princip chemické komunikace kůrovců s jejich prostředím, což může vést k objevení nových látek, které ovlivňují jejich chování. Tyto látky by mohly být ve finále využity v ekologickém managementu kůrovcových kalamit. Mezi potenciální kandidáty patří sloučeniny s biologickou aktivitou jako oxidované monoterpeny původem ze smrků. Na tyto sloučeniny provedl Schiebe výzkum. Dokázal pro tyto látky objevit aktivitu na GC EAD (plynová chromatografie s elektroantenální detekcí) i specifické sensily na tykadle, kde byla zaznamenána velká odezva, a to ukazuje na jejich biologickou aktivitu. Z tohoto důvodu jsme se rozhodli otestovat tyto látky behaviorálně v lese, abychom zjistili, co právě pro lýkožrouta smrkového znamenají.

Ochrana lesa by měla být prioritou každého, kdo se v tomto sektoru vyskytuje a s tím i spojená snaha nějakým způsobem přispět k vyřešení nebo alespoň ke zlepšení této kritické situace. Právě z tohoto důvodu jsem si vybral toto téma k diplomové práci, abych se podílel a zkusil přispět novými poznatky a informacemi, které by mohly danou situaci zlepšit, a tak zachovat například kvalitní smrkové porosty pro budoucí generace.

## 2 Cíl práce

Cílem této diplomové práce je studium behaviorální aktivity oxidovaných monoterpenů na atraktivitu nebo anti-atraktivitu lýkožrouta smrkového v kombinaci s feromonem a porovnáním účinnosti jednotlivých látek a jejich dávek.

Dále pak testování kandidátních látek, které budou aplikovány v lesním pokusu ve feromonových lapačích a budou dávkovány pomocí námi nově vyvinutých feromonových odparníků se třemi poměry odparu. Počty odchycených brouků budou analyzovány a účinnost jednotlivých látek společně s jejich dávkou bude vyhodnocena pomocí statistických metod.

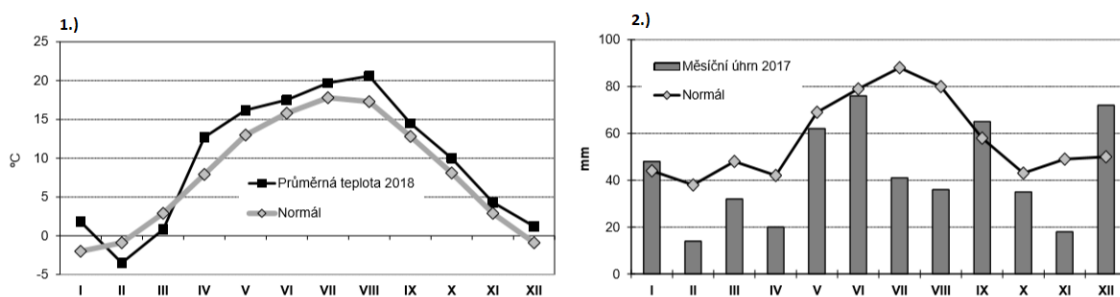
Látky s případnou aktivitou budou následně navrženy pro testování v nově vyvíjených metodách přírodě blízkého lesního managementu lýkožrouta smrkového.

### 3 Literární rešerše

#### 3.1 Současná situace

Za poslední tři desetiletí je zaevidováno několik rozsáhlých kalamit, které byly zaznamenány ve Skandinávii, v Pobaltských státech nebo třeba v Bělorusku, kde dosáhly desítek miliónů m<sup>3</sup> kůrovcového dříví. V období 2006-2009 ve střední Evropě dosáhl objem kůrovcového dříví kolem 43 mil. m<sup>3</sup>. V České republice pak v posledních 30 letech dosáhl objem napadeného dříví přes 29 mil. m<sup>3</sup>. Objem kůrovcového dříví nejen v ČR, ale i ve střední Evropě v posledních letech rapidně stoupá (**Zahradník, Geráková, 2010**).

Z celosvětového pohledu se rok 2018 zapsal podle světové meteorologické organizace WMO, NASA i NOAA (National Oceanographic and Atmospheric Administration, USA) jako čtvrtý nejteplejší rok v novodobé historii (od roku 1881). Teplejší než rok 2018 byly pouze předcházející roky počínaje od 2015 až 2017. Enormní teploty a s nimi spojené i nízké úhrny srážek pokračovaly během května a letních měsíců, což vedlo k výraznému suchu, které mělo vliv na přírodní ekosystémy umocněné tak, že následovalo po sérii teplých a suchých vegetačních sezón z předchozích teplých let. To způsobilo, že průměrná roční teplota 9,7 °C vzrostla o 1,8 °C oproti dlouhodobému normálu z let 1981–2010. Při pohledu na srážkový úhrn, byl rok 2018 silně podnormální. Roční úhrn byl 519 mm a představoval pouze 75 % dlouhodobého normálu (Viz obr. 1) (**Lubojacký J. a kol., 2019**).



**Obrázek 1:** 1.) Průměrné měsíční teploty vzduchu v ČR v roce 2018 ve srovnání s dlouhodobým normálem (1981–2010). A 2.) Měsíční úhrny srážek v ČR v roce 2018 ve srovnání s dlouhodobým normálem (1981–2010). Zdroj: ČHMÚ.

##### 3.1.1 Nahodilé těžby, abiotická poškození, biotická poškození

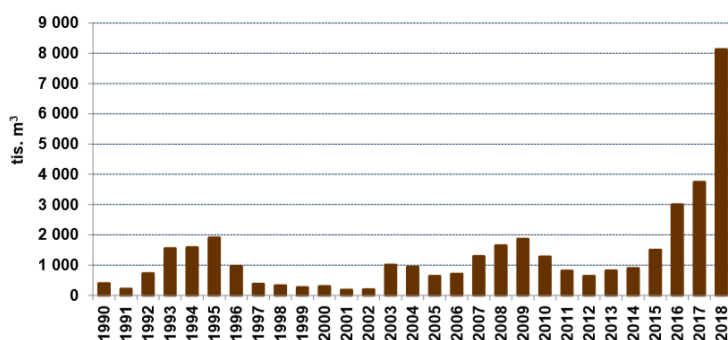
Podle evidence od LOS dosáhl v roce 2018 celkový objem nahodilých těžeb 14,8 mil. m<sup>3</sup>. Z evidovaného objemu 14,8 mil. m<sup>3</sup> tvořily abiotické činitele přibližně 43 % (6,4 mil. m<sup>3</sup>), biotické vlivy pak 57 % (8,4 mil. m<sup>3</sup>). Abiotickým příčinám poškození



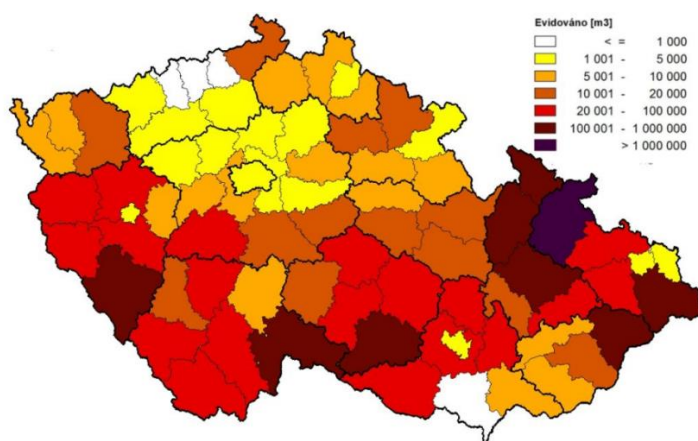
dřeva dominoval v roce 2018 znovu vítr, který podle hlášení způsobil škody 4,62 mil. m<sup>3</sup> na objemu dříví. (Lubojacký J. a kol., 2019).

### 3.1.2 Podkorní hmyz na smrku

V roce 2018 bylo evidováno cca 8,1 mil. m<sup>3</sup> kůrovcového dříví. To představuje rapidní nárůst na objemu tohoto dříví v porovnání s předešlými lety. (viz Obr. 2). Jedná se hlavně o dříve napadené lýkožroutem smrkovým (*Ips typographus*), který je obvykle doprovázen lýkožroutem lesklým (*Pityogenes chalcographus*), ale také i lýkožroutem severským (*Ips duplicatus*). Nicméně výše objemu těžeb v rámci celé České republiky je rozložena výrazně nerovnoměrně. (viz obr 3.) (Lubojacký J. a kol., 2019).



Obrázek 2: Objemy smrkového kůrovcového dříví v období 1990–2018. Dostupné ze Zpravodaj ochrany lesa, svazek 22, 2019. Škodliví činitelé Česka 2018/2019. [https://www.vulhm.cz/files/uploads/2019/06/ZOL\\_22\\_2019.pdf](https://www.vulhm.cz/files/uploads/2019/06/ZOL_22_2019.pdf).



Obrázek 3: Objem smrkového kůrovcového dříví podle okresů rok 2017. Dostupné z <https://www.lesaktualne.cz/aktuality/rozsah-kurovcove-kalamity-predstavuje-vysoke-riziko-pro-rok-2019>.

Lesy ČR pak uvádí, že pro rok 2019 v lesích, které patří pod jejich správu bylo vytěženo celkem 13 893 000 m<sup>3</sup> z čehož bylo 9 705 000 m<sup>3</sup> dřeva kůrovcového.

#### 4 Smrk ztepilý – [*Picea abies* (L.) Karsten] – obecná charakteristika

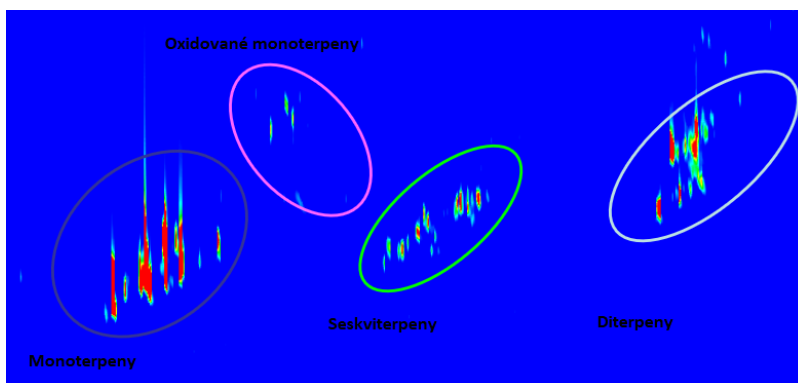
Jedná se o jehličnatou, stálezelenou dřevinu, která se dožívá kolem 350-400 let. Z taxonomického hlediska se smrk řadí mezi *Gymnospermophytae* (nahosemenné rostliny), do oddělení *Pinophyta* (jehličnaté rostliny), třídy *Pinopsida* (jehličnany), řádu *Pinales* (borovicotvaré), čeledi *Pinaceae* (borovicovité) a rodu *Picea* (smrk). V Evropě je smrk rozšířen na severu, východě a jihovýchodě až k pohoří Ural. Přirozeným výskytem smrku jsou polohy od 700 do 1 000 m n. m. U nás roste smrk nejvýše na Sněžce (**Musil a Hamerník, 2007**). Dorůstá do výšky až 50 m, dosahuje tloušťky kmene i 1,5 m. Dřevo je zbarveno do žlutobílé barvy, je bezjaderné a stejnorodé. Nejčastější využití smrku je ve stavebním, papírenském průmyslu, truhlářství, dále jako dřevo rezonanční, nábytkářské nebo k dalšímu využití, a to k získání pryskyřice nebo na palivo (**Úřadníček, 2001**). Kmen je štíhlý, přímý, válcovitý s pravidelným přeslenitým větvením (**Koblížek a kol., 2009**). Zprvu je pokryt světlehnědou kůrou a s přibývajícím věkem smrku mění na šedohnědou až červenohnědou šupinovitou, rozpukanou borku (**Slávik, 2016**). Jehlice jsou čtyřhranného průřezu, tuhé, zašpičatělé, leskle zelené, dosahují délky 1–3 cm a šířky 1 mm (**Úřadníček, 2001**). Kvetení nastává v dubnu až v červnu. Šišťice jsou elipsoidního tvaru. Samičí šišťice se nalézají v horní části koruny a jsou cca 6 cm dlouhé, vzpřímené, zelené nebo mohou být i červené. Samčí mají velikost od 2 cm až do 2,5 cm. Jsou stopkaté, žlutavě červené, nalézají se střední části koruny. Před dozráním jsou šišky nazelenalé nebo (červenofialové) (**Musil, 2003**). Plod je žlutohnědé, kapkovité semeno s blanitým křídlem, které je uloženo v hnědé válcovité šišce (**Holkup, Polanská, 2013**). Šišky jsou nerozpadavé, proměnlivé 8-20 cm dlouhé a 3-4,5 cm široké. Smrk ztepilý bohatěji plodí jednou za 5-8 let. Koruna je velmi často kuželovitá a pravidelná. Kořenový systém je plošně rozvinutý, díky čemuž dochází při nepříznivých podmínkách k častým vývrátům (**Slávik, 2016**).

Smrk ztepilý je nejvíce zastoupenou dřevinou u nás a zároveň je naší hlavní hospodářskou dřevinou. Její přirozený výskyt je zejména v podhůří a v horských oblastech. Je lesnicky naše nejvýznamnější dřevina. Její přirozené zastoupení je kolem 11 %. Současné je však něco kolem 51 % (**Koblížek, 2006**). Je charakterizován jako dřevina světlomilná až polostinná, v mládí dobře snášející zástín. Nemá vysoké nároky na půdu a živiny, ale má velké nároky na půdní a vzdušnou vlhkost. Je citlivější k vysokým teplotám naopak má dobrou mrazuvzdornost (**Musil, Hamerník, 2007**).

Ideální klimatické podmínky pro SM ve střední Evropě jsou označovány průměrnou roční teplotou vyšší 6 °C a srážkami 490-580 mm. Teplotní amplitudou mezi nejméně chladnějším a nejteplejším měsícem přesahující 19 °C. Na našem území SM preferuje kratší vegetační dobu, krátké a chladnější léto (Musil a kol., 2001). Smrk ztepilý je typický pro svou širokou, vnitrodruhovou variabilitou. Je nejpolymorfnějším taxonem svého druhu a jeho morfologická variabilita je k vidění především na tvaru koruny, typu borky, jehlicích, barvy samičích šištic a zralých šištic (Slávik, 2016).

#### 4.1 Obrana smrku

Jehličnaté stromy si vytvořily velmi účinný obranný systém, díky kterému odpuzují nebo zabíjí herbivory a brání se fyziologicky a chemicky proti průniku patogenů. Obranný systém se skládá z konstitutivních a indukovaných obranných mechanismů (Bonello, P.; Gordon, T.R., a kol., 2006). Konstitutivní obrana je ve tkáních před kolonizací stromu herbivory a patogeny. Hlavní složkou jehličnanů konstitutivní obrany je pryskyřice, komplexní směs monoterpenů, seskviterpenů a diterpenických kyselin (viz Obr. 4). Princip obrany smrku spočívá ve spuštění obranných mechanismů u stromů v době útoku herbivora. Základem je výron viskózní kapaliny složené z netěkavých a těkavých látek, hlavně terpenů neboli pryskyřice. Pryskyřice obsahuje mimo jiné toxické látky jako je pinosylvin, ale i další monoterpenické látky jako alpha-pinene, které jsou pro herbivory toxické, a proto se zvyšuje obranyschopnost stromu. Při napadení je pryskyřice vylučována až tlakem o velikosti 1,5 MPa. Nejdůležitější faktor je správná viskozita pryskyřice, ovšem ta se mění v závislosti na ročním období, počasí, ale i během dne. Strom je v tomto případě nejnáchylnější během odpoledne, kdy teploty dosahují svého maxima a ve druhé polovině srpna. Za suchých dnů může dokonce tlak pryskyřice nabývat i záporných hodnot. Pokud nastane tento jev, znamená to, že strom je zcela bezbranný, protože pryskyřice není schopna vytékat (Zahradník, 2004). Indukovaná obrana je u jehličnanů rozmanitá a zahrnuje strukturní změny a syntézu chemických látek (terpenů), fenolických látek a hydrolytických enzymů (Franceschi, V.R.; Krokene, P. a kol., 2005).



Obrázek 4: Složení těkavých látek ze smrkových stromů. Záznam z GC×GC chromatogramu. Jirošová A. unpublished.

## 5 Lýkožrout smrkový (*Ips typographus* L.)

### Taxonomické zařazení:

- Třída: Hmyz (*Insecta*)
- Řád: Brouci (*Coleoptera*)
- Čeleď: Nosatcovití (*Curculionidae*)
- Podčeleď: Kůrovcovití (*Scolytinae*)
- Rod: Lýkožrout (*Ips*)

### 5.1 Obecná charakteristika

Lýkožrout smrkový (*Ips typographus* L.) je klasifikován jako kalamitní škůdce. Jedná se o polygammí druh a je označován jako jeden z nejvýznamnějších sekundárních fyziologických podkorních škůdců, vyskytujících se na smrku. Lýkožrout mívá ve vyšších polohách kolem 800 m n.m. nejčastěji jednu generaci do roka. Jinak je tomu v nižších polohách, kde má lýkožrout 2 až 3 generace. Důležitým faktorem pro vývoj a reprodukční cyklus je ovšem počasí (Skuhravý, 2002; Pfeffer, 1954; Jakuš a kol., 2015).

Jedná se o Euroasijský druh, který zaujímá velký areál v Evropě a Asii (viz Obr. 5). Nejzápadnější místo jeho výskytu jsou Pyreneje na území španělsko-francouzských hranicích. Nejvýchodnějším místem výskytu je japonský ostrov Hokkaidó. V Evropě severní hranice prochází Laponskem a jižní hranice prochází severní částí Řecka

a Turecka. V Asii tvoří severní hranici výskytu jižní část arktické tundry a jižní hranice probíhá severní částí Kazachstánu, severní Čínou a Mongolskem (Skuhravý, 2002).

Je to druh, který se vyvíjí pod kůrou smrků a výjimečně modřínu nebo borovice. Jeho domovem byly ve střední Evropě hlavně horské smrčiny. Nicméně odsud se dostal také do nížin, díky uměle zaváděnému smrku do těchto oblastí, kde se dokázal velmi dobře adaptovat. K jeho přemnožení velmi často dochází ve starších porostech, které dosáhly přibližně 60 let a více. Tyto porosty bývají nejčastěji nějakým způsobem poškozeny, tj. abiotickými nebo biotickými činiteli a mají tak sníženou obranyschopnost (Skuhravý, 2002; Jakuš a kol., 2015).



Obrázek 5: Areál výskytu a živné dřeviny lýkožrouta smrkového v Evropě a Asii. Zdroj: V. Skuhravý 2002

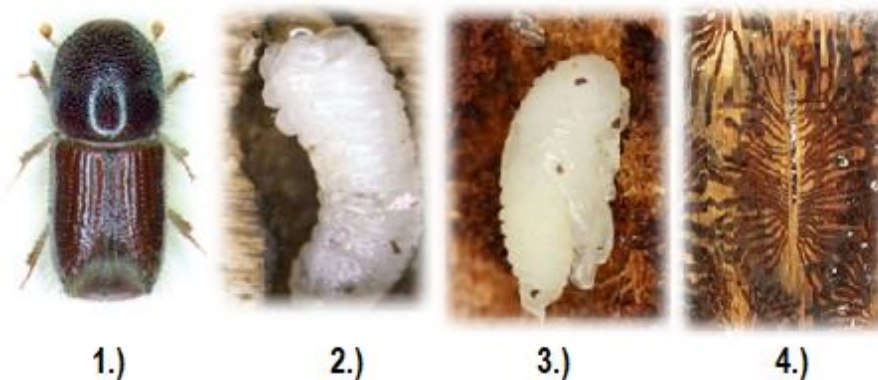
Dospělec je po vylíhnutí bílý a postupně se vybarvuje. Je lesklý černohnědě zbarvený se světležlutými chloupky. Tělo je válcovitého tvaru. Dorůstá do velikosti 4,8 mm - 5,5 mm a šířky 1,9 mm. Tykadla jsou žlutavá, paličkovitá. Štít je válcovitý o něco málo delší než širší. V zadní části krovek má 4 páry zoubků, kde třetí pár shora je největší. Mezirýží na krovkách jsou hladká a nejsou tečkovaná. Pohlavní dimorfismus je nepatrný. Čerstvě vylíhlí brouci nejsou schopni dalšího rozmnožování, a tak musí nejprve pohlavně dozrát (Jakuš a kol., 2015; Zumr, 1995, Křístek, Urban, 2013).

Vajíčka lýkožrouta jsou drobná, bílé barvy a eliptického tvaru s rozměry 0,6 až 0,9 mm. Průměrné stádium vajíčka trvá kolem 6-18 dnů. Za svůj život samička dokáže naklást 20-100 vajíček v průměru 1-2 vajíčka na den. V této fázi lýkožrout smrkový nikdy nepřezimuje (Skuhravý 2002; Pfeffer 1954).

Larvy jsou beznohé, světlé barvy (bělavé), rohlíčkovitě zahnuté a mají hnědou hlavovou schránku, která lehce vyniká z obrysu těla. V dospělosti měří 5-7 mm. Larvy se líhnou se z vajíček přibližně po 6-18 dnech a délka jejich vývoje je mezi 6-50 dny, přičemž má 3 instary a dochází ke svlékání larvy, kdy nabývá na objemu. Larva se zažírá do lýka a hlodá kolmo na směr matečné chodby a živí se lýkem (zralostní žír). Larvální chodby měří 3-6 cm (Skuhravý, 2002; Zumr, 1995; Pfeffer, 1954).

Kukly jsou volné, mléčně bílé a jsou na nich vidět známky rýsujících se nohou, křídel i tykadel. Na konci má 2 krátké trny. V tomto stádiu je lýkožrout obvykle 8-14 dnů (Skuhravý, 2002; Pfeffer, 1954).

Požerky jsou podélně hvězdicovité, 1 až 6 ramenné, jsou tvořeny snubní komůrkou nejčastěji obsahují 2-3 matečné chodby, které jsou velké přibližně 6-10 cm a široké 3-4 mm, směřující rovnoběžně s osou kmene. Z matečných chodeb pak vychází larvální chodby, které mají délku 4-5 cm. (Zumr, 1995; Jakuš a kol., 2015; Pfeffer, 1954).



Obrázek 6: 1.) Dospělec lýkožrouta smrkového. Dostupné z: <http://www.kurovcoveinfo.cz/lykozrout>. 2.) Larva lýkožrouta smrkového. Zdroj: <https://www.forestryimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=1190023>. Autor: Daniel Adam. 3.) Kukla, dostupné z: <https://www.biolib.cz/cz/image/id127047/>. Autor: Miroslav Deml. 4.) Požerek lýkožrouta s. dostupné z: <https://www.priroda.cz/clanky.php?detail=122>. Autor: Kamila Antošová.

Co se týče rojení, letové aktivity a přezimování, tak lýkožrout smrkový nejčastěji přezimuje pod kůrou stojících stromů nebo i padlých kmenů, a to hlavně ve stádiu dospělce, tj. zhruba 90 % jedinců. Další část brouků přezimuje v půdní hrabance 2-6 % jedinců. Zbylá část tohoto druhu také dokáže přezimovat ve stadiu larvy nebo kukly (Skuhravý, 2002). Po přezimování pod kůrou stromů nebo v půdě, opouštějí brouci svá zimoviště. Letová aktivita probíhá ve dne (nejčastěji v poledních hodinách) a za příhodných podmínek, kdy je denní teplota kolem 18-20 °C. Jeho aktivita se pohybuje v rozmezí 14-39 °C (Chararas, 1962). U teploty v rozmezí 40-49 °C dochází

u brouka ke strnulosti a při teplotách nad 50 °C dochází k uhynut. Jako tepelné optimum se považuje 29 °C (Zumr, 1995; Skuhřavý, 2002). Jako rojení můžeme v podstatě označit hromadný let dospělců, kteří vyhledávají nová místa ke svému vývinu. Období rojení závisí na více faktorech například počasí, nadmořská výška. Existuje více druhů rojení a to:

- Jarní rojení (hromadné)
- Sesterské rojení
- Letní rojení (rozptýlené)

Na jaře přibližně od poloviny dubna dochází k hromadnému rojení. V teplých odpoledních hodinách, nejlépe za úplného bezvětří, opouští brouci svá zimoviště v kůře nebo hrabance. Pokud se kůra a hrabanka zahřeje na 14 °C, pak se začínají brouci pohybovat a poletovat. Při růstu teploty na 20 °C, začíná být rojení velmi silné a při 29 °C, kdy je stav tepelného optima pro lýkožrouta rojení vrcholí. Pouze část samic zakládá tzv. sesterské rojení, což je kladení vajíček bez další kopulace, přibližně 2-3 týdny po prvním rojení, na stejném nebo jiném hostitelském stromě v blízkém okolí. V létě dochází k rozptýlenému rojení a objevuje se přibližně v druhé půlce června. Na rozdíl od jarního, kdy docházelo k rojení v odpoledních hodinách, tak u letního je rojení posunuto až do pozdnějších hodin (západu slunce) (Pfeffer, 1954; Zahradník, Geráková, 2010, b).

## 6 Způsob napadení stromu

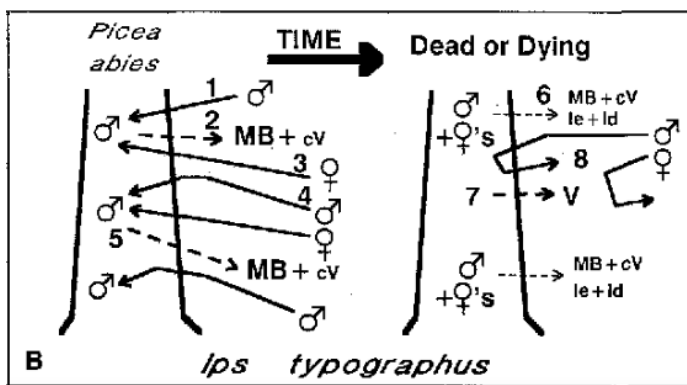
### 6.1 Způsob náletu na stromy

Přestože lýkožrout smrkový je u nás nejvýznamnější druhem z čeledi kůrovcovitých, který napadá dřeviny a živí se jejich lýkem, tak se nejedná o jediný druh. Do této čeledi u nás spadá 106 druhů kůrovce z nichž 20 parazituje na jednotlivých druzích smrku. Dalšími druhy jsou například lýkožrout severský (*Ips duplicatus*), lýkožrout lesklý (*Pityogenes chalcographus*) nebo třeba lýkožrout menší (*Ips amitinus*) (Zahradník, 2004).

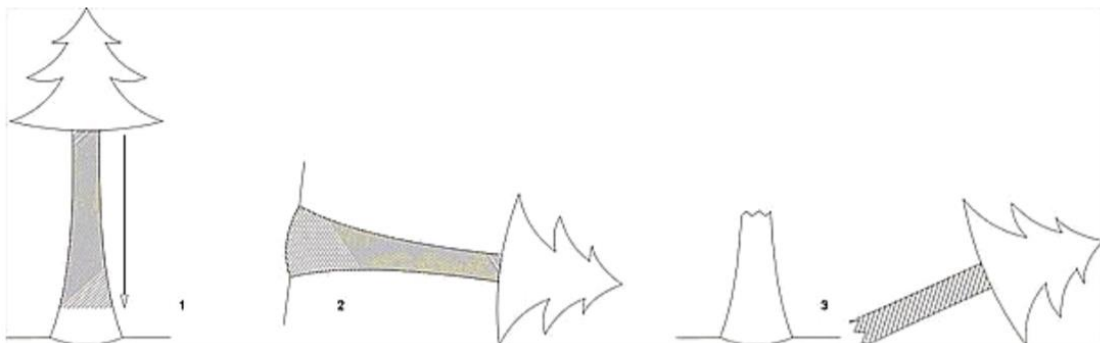
Způsob náletu lýkožrouta smrkového na smrk závisí na několika faktorech. Brouci před vstupem do stromu čelí složitým rozhodnutím. Faktory, které ovlivňují tato rozhodnutí jsou obranné reakce stromu. Brouci se s těmito výzvami vypořádávají tak, že používají několik integrovaných senzorních modalit. Kůrovci využívají směs neuronů k identifikaci hostitelských stanovišť. Jejich tykadla umožňují zpracování směsi vůní, aby se maximalizovala účinnost, s jakou kůrovci provádějí výběr hostitele. Dále je pak vztah brouka a hostitele velmi ovlivněn změnou klimatu (Raffa KF, Andersson MN, Schlyter F, 2016). Nicméně o způsobu náletu existují dvě hypotézy, jak brouci napadají stromy (Rudinsky, 1962). První teorie je, že samci preferují stromy oslabené, které vlivem změny chemismu lýka uvolňují primární atraktanta, čímž lákají lýkožrouty. Nedokážou se ale bránit hromadnému náletu brouků, který je podpořen agregací feromony, jež jsou produkovány žeroucími samci. Druhá teorie vychází z toho, že samci jako první náhodně a rovnoměrně nalétají na smrk splňující požadavky pro další rozvoj lýkožrouta smrkového, který v důsledku eliminace těchto jedinců postupně ztrácí vitalitu a následně schopnost zahubit další pionýrské brouky, kteří začnou produkovat agregací feromon, čímž se zahájí hromadný nálet lýkožrouta smrkového na cílový strom, ale i stromy rostoucí v okolí. Napadené stromy se brání a pionýrské brouky zalévají pryskyřicí a z principu je pak jasné, že více odolné stromy zalijí pryskyřicí větší množství jedinců než ti méně odolní. Tím dojde k situaci, že na méně vitálních stromech jsou přeživší brouci schopni začít dříve produkovat agregací feromony, které iniciují hromadný nálet nejen na napadený strom, ale po jeho obsazení i na stromy sousední (Skuhřavý, 2002).



Samci ve vyhledané snubní komůrce začínají vylučovat populačně pohlavní látky jako je a) cis-verbenol, který je společný pro několik druhů rodu *Ips*. Ten tvoří základní prvek agregačního feromonu samců. b) metylbutenol (2-metyl-3-buten-2-ol) je feromon typický pouze pro lýkožrouta smrkového. Je to základní prvek agregačního feromonu samců. c) verbenon, který vzniká z trans-verbenolu +  $\alpha$ -pinenu oxidací a představuje antiagregační feromon. Produkují ho samice jako prevenci, a tím regulují hustotu osídlení stromu. Nálet brouků musí zachovat prostor pro vývoj larev a je takto zastaven. Podle (Niemeyer et al., 1995) je 93 mg verbenou na strom nedostatečné množství k zastavení nalétávání lýkožrouta smrkového na strom. d) ipsdienol (2-methyl-6-methylen-2,7-octadien-4-ol) je fenolová sloučenina společná více druhům rodu *Ips*, má svoji podstatu ve směsi s cis-verbenolem a metylbutenolem, a tak se zvyšuje atraktivita především samic (v lapačích o 50 % a více brouků). e) ipsenol (2-methyl-6-methylen-7-octan-4-ol) má antiagregační účinky f) myrtenol g) transmyrtenol h) 2-phenylethanol (Schlyter, 1985, Bakke et al. 1977).



Obrázek 7: Teoretické mechanismy regulace agregace a hustoty útoku (intraspecifická konkurence) a ukončení agregace. (Byers, John A., 1989).



Obrázek 8: Způsoby napadení stromu lýkožroutem smrkovým. 1. stojící strom a směr jeho napadení. 2. napadení vývratu. 3. Napadení polomu. Pfeffer, 1952

Popis obrázku č. 8. Jako první na stromy nalétávají samci, takzvaní průzkumníci nebo pionýrstí brouci. K prvnímu náletu dochází na rozhraní suchých a zelených větví. Odtud se v menší míře šíří do koruny. Z velké části nedochází k napadání větví pod 10 cm tloušťky. Směrem dolů se již šíří nejvíce. Nedochází však k překročení výšky 1 - 1,5 m od země. U ležících kmenů a vývrátů dochází k napadení po celé délce. U polomů je napadena jen ležící část stromu, stojící část (zbytek) nikoliv (**Skuhřavý, 2002**).

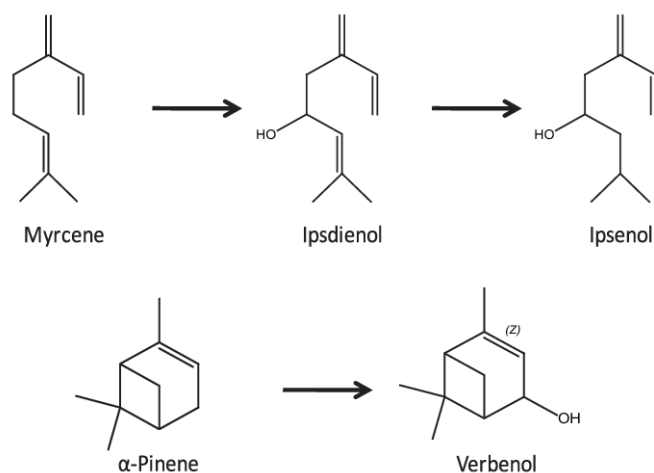
## 7 Feromony u lýkožrouta smrkového

### 7.1 Agregáčn  feromon

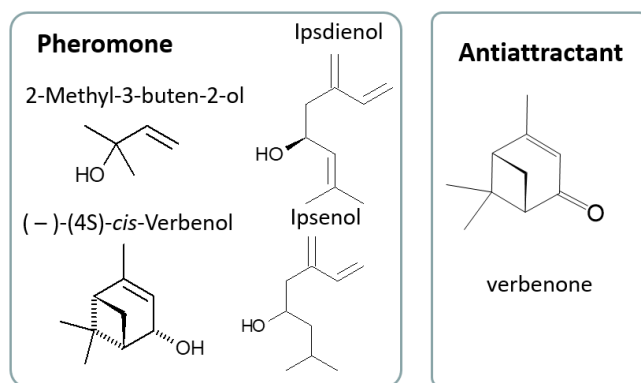
Agregační feromon, který je produkovaný lýkožroutem smrkovým vzniká, když brouk začíná hloubit snubní komůrku a tím se do jeho zažívacího traktu dostává lýko. Zažívání brouka je opatřeno mikroorganismy, které pomáhají při trávení celulózy, hemicelulózy atd. a současně tak přeměňují  $\alpha$ -pinen obsažený v lýku na složitější sloučeniny. Tyto sloučeniny jsou posléze vylučovány trusem brouka coby agregáčn  feromony, které působí na obě pohlaví. Agregáčn  feromony jsou tvořeny především cis-verbenolem, methylbutenolem a ipsdienolem, který v menším množství zvyšuje atraktivitu, ale při vyšším množství je tomu naopak. Pokud dojde k úplnému obsazení atraktivní plochy stromu, pak dochází k uplatnění antiagregačního feromonu, především ipsenolu a trans-verbenolu (**Mrkva, 1999**).

Agregace kůrovců k hostitelskému stromu je řízena feromony. Feromony byly u kůrovce zkoumány nejdříve u druhu *Ips paraconfusus* (Lanier, 1970), u kterého se prokázalo, že využívá kombinace ipsdienolu, ipsenolu a cis-verbenolu jako agregáčn  feromon (**Silverstein et al., 1966; Wood et al., 1966**). Všechny tři látky byly později prokázány jako produkty oxidace monoterpenových uhlovodíků hostitelské pryskyřice stromu (**Wood, 1982**). Nicméně pozdější výzkumy nám ukázaly, že ipsdienol a ipsenol může být syntetizován broukem samotným. Následně se ukázalo, že tyto látky jsou typické právě pro rod *Ips* a jedna nebo více z nich je přítomna ve střevě všech zkoumaných druhů (**Vité et al., 1972; Wood, 1982**). Velká část brouků používá právě hostitelské monoterpeny vyskytující se právě v jehličnanech, které brouk pomocí enzymů pak oxiduje a přeměňuje na agregáčn  feromon, který využívá. Jedná se například o  $\alpha$ -pinen nebo myrcen (**Erbilgin et al., 2007**). Látky ipsdienol společně s cis a trans-

verbenolem byly identifikovány a testovány v polních pokusech, kde představovaly samčí agregační feromon s poměrně velkým odchyťovým potenciálem (Bakke, 1976). Později došlo k identifikování pomocí GC-MS 2-methyl-3-buten-2-ol jako další složka feromonu (Bakke et al., 1977), která v kombinaci s cis-verbenolem a ipsdienolem ukázala nejvyšší odchýty a došlo tak k jeho navržení jako agregační feromonu, jenž je i nyní používán do komerčních odparníků pro lýkožrouta smrkového.



Obrázek 9: Prvními identifikovanými feromonovými složkami kůrovce byly ipsdienol, ipsenol a verbenol (Silverstein et al., 1966). Kvůli jejich podobnosti s myrcenem a α-pinenem bylo navrženo, že feromonové složky vznikly z monoterpenů (Hughes, 1973, 1974).



Obrázek 10 Struktury feromonů a antiattractantu. (Schiebe, 2012).

## 8 Přehled klasických ochranných metod a monitoringu proti Lýkožroutu smrkovému

Pro snížení populace a monitoring vývoje lýkožrouta smrkového se provádějí obranná a ochranná opatření. Základním prvkem ochrany je včasné odstranění kůrovcem napadeného dříví a zabránění výletu živých brouků asanací, odstranění atraktivního dříví

z porostů a soustředování brouků při jejich rojení do odchyťových zařízení – používání feromonů a lapáků, otrávených lapáky nebo dalších méně tradičních metod. Během aktivity brouků je za potřeby dříví neprodleně zpracovávat a odvážet pryč z lesa. Množství použitých kontrolních a obranných opatření pro jarní rojení (I. rojení) je stanoveno na základě objemu kůrovcového dřeva z předchozího roku, tj. „kalamitního základu“, který je definován podle ČSN 48 1000 „Ochrana lesa proti kůrovci na smrku“ jako objem dříví napadeného lýkožroutem smrkovým za období 1.8. až 31.3. Obvykle se dělí na kůrovcové dříví včas asanované a dříví částečně nebo úplně vylétlé. Počet obranných zařízení se stanoví jako 1/10 objemu včas zpracovaného kůrovcového dříví v rámci kalamitního základu; k takto stanovenému počtu obranných opatření se přidá potřebný počet obranných opatření, rovnajících se 1–2 násobku částečně nebo úplně vylétnutého dříví z kalamitního základu. Dále pak vyhláška MZe č.76/2018 Sb. stanovuje 3 stavy lýkožrouta smrkového: Základní stav, zvýšený stav a kalamitní stav. Nastane-li základní stav, který je označován jako objem kůrovcového dříví z předešlého roku, který v průměru nedosáhl 1 m<sup>3</sup> na 5 ha smrkových porostů, a nedošlo k vytvoření ohnisek výskytu lýkožrouta. Pak dochází k pochůzkové kontrole nebo ke kontrole kůrovce pomocí odchyťových zařízení, které se umisťují v jarním a letním období, a to nejméně 1 ks na každých 20 ha smrkových porostů. Dojde-li ke zvýšenému stavu, který je definován jako početní stav lýkožroutů, kdy objem kůrovcového dříví z předešlého roku v průměru dosáhl nebo přesáhnul 1 m<sup>3</sup> na 5 ha a nepřekročil 5 m<sup>3</sup> na 5 ha smrkových porostů nebo došlo k vzniku ohnisek výskytu lýkožrouta, pak nastává ochrana pomocí odchyťového zařízení, a to ve všech smrkových porostech starších 60 let, kde je smrk zastoupen alespoň z 20 %. Množství odchyťových zařízení pro zachycení prvního rojení se stanoví podle kalamitního základu, který se rovná ekvivalentu 1/10 objemu včas zpracovaného kůrovcového dříví. K takto stanovenému počtu se přidá jedno odchyťové zařízení na každý započatý 1 m<sup>3</sup> kůrovcového dříví, které je lýkožroutem nově částečně nebo zcela opuštěno. Kalamitní stav lýkožroutů je, když objem kůrovcového dříví z předešlého roku v průměru dosáhl nebo překonal 5 m<sup>3</sup> na 5 ha smrkových porostů. Hlavním cílem je pak zajistit vyhledávání kůrovcem napadených stromů, jejich úspěšnou asanaci a odvoz. V tomto stavu napadení porostu se k ochraně používá odchyťových zařízení nejméně v počtu, který odpovídá počtu odchyťových zařízení pro horní hranici zvýšeného stavu (Švestka a kol., 1996; Zahradník, 2005; Jakuš a kol., 2015).

**Tabulka 1: Tabulka pro stanovení počtu odchyťových zařízení pro letní rojení (tj. II. rojení. Dostupné z <http://www.kurovcoveinfo.cz/ochrana-lesa>**

Stupeň napadení, stupeň odchyťu	Lapák - počet závrtů na 1 dm <sup>2</sup>	Feromonový lapač, otrávený lapák - počet odchyťených lýkožroutů	Opatření
slabý	< 0,5	> 1 000	odchyťová zařízení se mohou přemístit na vhodnější lokalitu
střední	0,5 - 1,0	1000 - 4000	počet odchyťových zařízení se nemění
silný	> 1,0	> 4000	počet odchyťových zařízení se přiměřeně zvyšuje

Pokud nastane hrozba i III. rojení neboli možnosti založení 3. generace, pak je postup při stanovení obranných, odchyťových zařízení obdobný jako u ochrany při II. rojení.

## 8.1 Pochůzková metoda

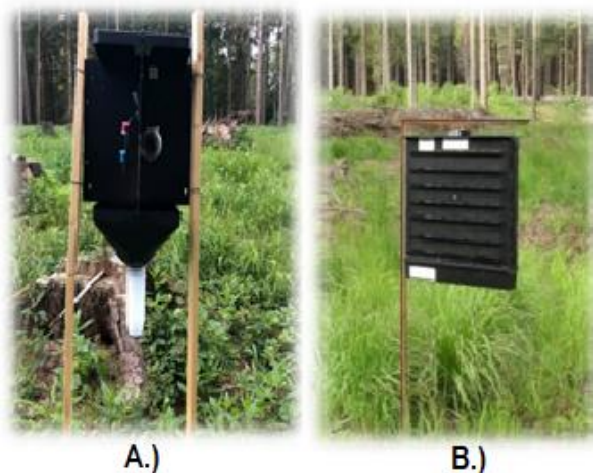
Tato metoda patří mezi jedno z preventivních opatření proti šíření lýkožrouta smrkového. Pochůzková metoda se uplatňuje zejména při základním stavu. Principem je kontrola, monitoring a označení napadených stromů kůrovcem, k budoucí těžbě předtím, než dojde k vylétnutí následné generace. Účinnost je v porostech, kde není lýkožrout smrkový přemnožen a provádí se ve starších smrkových porostech 60 a více let anebo v porostech, kde je zastoupení smrku alespoň 20 % (**Zahradník, 2006**).

K určení napadeného stromu je několik spolehlivých znaků, podle kterých napadené stromy rozpoznáváme. Jedním z nich je hnědá drť vyhazovaná brouky při hlodání snubní komůrky (**Pfeffer, 1954**). Dalšími příznaky můžou být výrony pryskyřice, kdy dochází k zalévání samců při jejich náletu na strom (**Zahradník, Geráková, 2010, b**). Dále se lze orientovat dle pozorování jehličí, u kterého je patrná barevná změna, kdy jehličí přibližně měsíc po náletu začne reznout a opadávat (**Zumr, 1995**).

## 8.2 Feromonové lapače a feromony

Feromony definujeme jako látky nebo směsi látek, které jsou produkovány živočichy a slouží k vnitrodruhové komunikaci. Jedná se o biologicky aktivní látky, které ovlivňují chování jedinců stejného druhu, a tím dochází především ke zlepšení podmínek rozvoje těchto populací. Významu feromonů bylo posléze využito při ochraně lesa (**Zahradník a kol., 2014; Zahradník, 1996**).

Feromonový lapač je umělá past sloužící k odchytu dospělců lýkožrouta pomocí feromonových odparníků, plní tak funkci kontrolní i obranou. Základní dělení feromonových odparníků je podle jejich konstrukce a použitého materiálu. Rozeznáváme odparníky fóliové, alufánové, lahvičkové, ampulkové nebo lineární. Jejich aplikace se provádí nejpozději 14 dní před rojením kůrovce. Počet jednotlivých lapačů se pro jarní rojení vypočítává podle objemu zpracovaného kalamitního dříví v období od 1. 8. do 31. 3. pro jednotlivá ohniska zvlášť. Pro letní rojení se počet lapačů vypočítává z množství nachytaných jedinců během jarního rojení. Bezpečnostní vzdálenost od nejbližšího stojícího smrku nesmí klesnout pod 10 m a maximální vzdálenost by neměla překročit 25 m. Aby nedocházelo ke snížení účinnosti, nesmí být lapač zakryt jakoukoliv buřicí a jejich instalace by měla být nejlépe v prsní výšce. Kontrola lapačů bývá z pravidla v rozmezí 7 až 10 dní a při silném výskytu je vhodné tento interval zkrátit. Feromonové lapače fungují na stejném principu jako agregační feromony lýkožroutů. Klasickou návnadou bývá směs základního komponentu agregačního feromonu lýkožrouta smrkového S-cis-verbenolu, s některou z dalších složek feromonu (2-metyl-3buten-2-olu nebo ipsenidolu). Nicméně velká část studií ukazuje, že se lýkožrout neorientuje pouze dle svého feromonu, ale také podle dalších látek. Důležitými prvky jsou těkavé produkty stromů, a to hostitelských (smrků), které zvyšují atraktivitu feromonu nebo těch nehostitelských, které, atraktivitu feromonu naopak snižují. Z aplikovaného odparníku se postupně samovolně uvolňuje jedna, popřípadě i více látek (v závislosti na typu odparníku) složek agregačního feromonu do ovzduší po určitou dobu a díky tomu láká lýkožrouty do lapače. Nalétávající brouci padají do sběrných nádob, kde následně umírají a jsou pravidelně vybírání. Nejčastějšími lapači používaných u nás jsou lapače křížové nebo štěrbinové (viz Obr. 11). Další význam lapačů je funkce monitoringu populační dynamiky lýkožrouta. Při evidenci lapačů se uvádí číslo lapače, datum vyvěšení odparníku, místo instalace, data kontrol, stupně odchytu a počty odchycených brouků (**Kindlmann Pavel a kol., 2012; Švestka et al. 1996; Jakuš, Blaženec, 2008; Holuša, Lubojacký, Lukášová, 2016; Hulcr, 2004**).



Obrázek 11: A.) feromonový lapač křížový - Ecotrap. Autor Cidlinský Luboš Bc., B.) štěrbinový fer. lapač. Dostupné z <https://www.lesnipedagogika.cz/>.

### 8.3 Lapáky

Lapák je tradiční a pravděpodobně nejvíce využívanou metodou kontroly lýkožrouta smrkového. Jedná se o pokácený, zdravý, evidovaný a odvětvový smrkový strom nebo jeho část o výčetní tloušťce nejméně 20 cm, na kterém je ponechána kůra. Aby nedošlo k zaschnutí lýka, kůry a prodloužila se jejich atraktivita a účinnost, přikrývají se lapáky po celé jejich délce větvemi. Jejich účinnost využívá uvolňování primárních atraktantů, které souvisí s postupným vysycháním lýka a následně lákají samce k náletu na kmen. Lapáky se nejčastěji umísťují ze 2/3 na výsluní a zbylá 1/3 do polostínů nejlépe před začátkem každého rojení. V základním stavu se zjišťuje výskyt lýkožrouta smrkového pomocí odchytových zařízení, která se aplikují v jarním a letním období, a to nejméně 1 kus na každých 5 ha lesních porostů nad 60 let věku se zastoupením smrku nad 20 %. Zároveň se v průběhu celého roku monitoruje výskyt kůrovcem napadených stromů a zajišťuje se jejich včasná asanace. Při zvýšeném a kalamitním stavu se aplikují další lapáky nebo dochází k instalaci lapačů v poměru 1:8, což představuje 1 lapák (lapač) na 8 včasně zpracovaných lapáků, a v poměru 1 až 2:1 k počtu nezpracovaných lapáků nebo kůrovcových stromů opuštěných lýkožroutem v roce předešlém. Evidence lapáků spočívá v uvedení čísla lapáku, datum, data kontrol, stupeň napadení, datum asanace, stupeň napadení a místo položení (**Kindlmann Pavel a kol., 2012; Jakuš a kol., 2015**).

## 8.4 Otrávené lapáky

Otráveným lapákem rozumíme polena získaná ze smrku, nejčastěji zkrácená na 1-1,5 m výřezy o minimální tloušťce 20 cm. Tato polena jsou sestavena do trojnožky, která je v horní části spojena dráty, hřebíky, provazy atd. a jsou ošetřena adekvátním insekticidním postřikem. Otrávenými lapáky rozumíme i odvětvený skácený smrk, který je zkrácen na přibližně 4 m výřezy, které jsou celopovrchově ošetřeny vhodným (schváleným) insekticidem a navnaděn feromonovým odparníkem (**Zahradník, Geráková, 2010; Jakuš a kol. 2015; Knížek, Zahradník, 2004**).

## 8.5 Přirození nepřátelé

Mezi přirozené nepřátele lýkožrouta smrkového řadíme predátory, kteří likvidují larvy a kukly lýkožrouta. Dalšími jsou parazitoidi, kteří se vyskytují uvnitř těla dospělců, larev nebo kukel. Poměrně velkou část kůrovců zahubí i ptáci, kterými jsou datlové, strakapoudí nebo brhlíci, houby nebo dravý hmyz jako jsou drabčící *Quedius laevigatus* Gyll., dlouhošíjky *Raphidia sp.*, kořenožrouti *Rhizophagus sp.* a zejména larvy a dospělci pestrokrovečnicka mravenčího *Thanasimus formicarius* (Linnaeus, 1758). Dalšími nepřáteli jsou patogenní organismy. Mezi nejznámější patří *Entomopoxvirus typographi*, který napadá a ničí střevní epitel brouků. Další je *Chytridiopsis typographi*, který napadá a ničí střeva dospělce nebo třeba *Malamoeba scolyti* atd. Dalším významným je houbový patogen *Beauveria bassiana*, na jehož bázi se vyrábí biopreparáty. (**Skuhravý, 2002; Vyskot a kol., 1962; Zumr, 1995**).

## 8.6 Alternativní metody

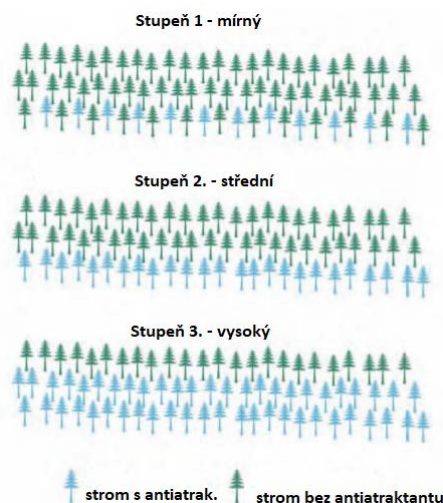
Alternativní metody týkající se ochrany lesa, mohou být založeny na vyhledání chemických látek například z ekologické niky lýkožrouta smrkového a testování jejich biologické aktivity. Látky, u kterých se prokáže aktivita na tykadle lýkožrouta smrkového tzv. metoda „skríningu“ fyziologicky aktivních chemikálií pro hmyz, jsou oxidované monoterpeny. Jsou to látky, které jsou emitované hostitelskými smrkem a mohou být potencionálně důležité pro atrakci či odpuzování lýkožrouta smrkového. Mezi další alternativní metody v ochraně lesa patří například použití entomopatogenních hub nebo třeba aplikace antiatraktantů.



## 8.6.1 Použití antiatraktant

Anti-atraktanty jsou odparníky obsahující směs synteticky vyrobených látek, které imitují vůni listnatých dřevin a plně kolonizovaného smrku. Po aplikaci na okraji porostu, nebo do vnitřku porostu zakryjí původní pach (vůni) vhodného hostitele, plní tak jakousi funkci repelentu na lýkožrouta smrkového a nutí dospělé brouky vyhledávat např. jiný zdroj potravy. Umisťují se na porostní stěny nejčastěji na severní strany kmenů ve výšce 2-5 m. Do porostů jsou instalovány nejčastěji před jarním rojením, to je před náletem. Účinnost je přibližně 8 týdnů a oproti lapačům nejsou ovlivněny osluněním. Porostní stěny by měly být minimálně 50 let staré s 50 % zastoupením smrku. Při správné aplikaci se úmrtnost smrků na aktivní porostní stěně snižuje až o 80 % v konfrontaci se stromy, kde nedošlo k použití antiatraktant. Tato metoda je účinná, pokud zóna ošetřených stromů není narušená ležícími kmeny, vývraty nebo zlomy (**Jakuš, Blaženec, 2015**).

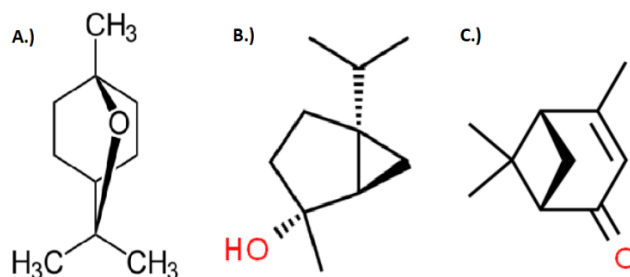
Antiatraktanty jsou umísťovány na stromy ve třech stupních podle intenzity. Při aplikaci prvního stupně (mírný) dochází k aplikaci antiatraktantů na každý druhý strom v první řadě porostní stěny. Při druhém stupni (střední) se umísťují antiatraktanty na každý strom v první řadě. A při třetím (vysokém) stupni se aplikují antiatraktanty na každý strom v prvních dvou řadách (viz Obr.12) (**Jakuš, Blaženec, 2015**)



Obrázek 12: Užití antiatraktantů a jejich stupně použití. (Jakuš a Blaženec 2015)

Kůrovci používají k vyhledání vhodných hostitelských stromů jak atraktivní, tak i anti-atraktivní semiochemikálie. O anti-atraktanty je velký zájem v lesnickém výzkumu, speciálně pokud se jedná o jejich využití s bojem proti škůdcům.

Jako nejvíce účinné anti-atraktanty působící na lýkožrouta smrkového můžeme označit známý verbenone, ale dále pak také 1,8-cineol, trans-4-thujanol.



Obrázek 13: Chemické struktury anti-atraktantů. A.) 1,8 cineol, B.) Trans-4- thujanol a C.) Verbenone. Dostupné z <http://www.chemspider.com/>.

## 9 Asanace kůrovcového dříví a lapáků

Asanace kůrovcového dříví spolu s lapáky se provádí dvěma způsoby:

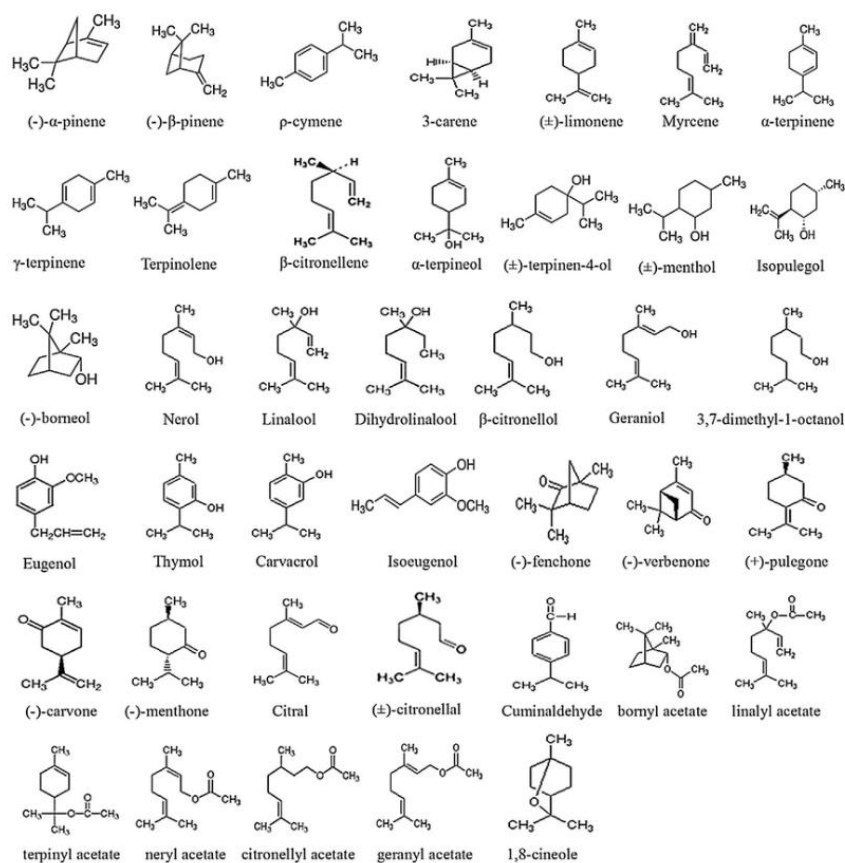
- Mechanicky
- Chemicky

Mechanická asanace se provádí strojně nebo manuálně. Odkorněním se rozumí oloupání kůry za pomoci loupáku, stroje nebo frézovým odkorňovacím adaptérem na motorové pile. Dalším mechanickým způsobem je štěpkování, pálení nebo drcení. Mechanická asanace je vhodná a účinná jen do stádia larvy, dále pak tato metoda postrádá smysl a je neúčinná.

Chemická asanace lze provést ve všech stádiích vývoje lýkožrouta smrkového. Dojde-li ke správné aplikaci daného insekticidu, je tato metoda velmi účinná. Při aplikaci musí být použity pouze přípravky, které jsou uvedeny v seznamu. Lýkožrout umírá po kontaktu a pozření kůry ošetřené insekticidem. Aplikovaná látka je účinná po dobu minimálně 8 týdnů. Postřik se musí provádět na suchou kůru a po následné aplikaci nesmí pršet, aby došlo ke kvalitnímu zaschnutí postřiku (Zahradník, Geráková, 2010; Jakuš a kol., 2015; Knížek, Zahradník, 2004).

## 10 Monoterpeny

Jedná se o acyklické, monocyklické nebo bicyklické C-10-isoprenoidy. Jde o látky strukturou odvozených od isoprenu. Monoterpeny jsou přírodní produkty s typickou vůní, uplatňující se v regulaci růstu, reprodukčním cyklu, obranných mechanismech a přenosu signálů různých organismů (**Singer A. C., Crowley D. E., a kol., 2003**). I když se nalézají ve všech organismech, tak je syntetizovat dokážou jenom rostliny, bakterie a některé druhy hmyzu (**Yassaa N., Peeken I., a kol., 2008**). Monoterpenů je k dnešku popsáno více než tisíc, ovšem nejvíce se vyskytujícími jsou  $\alpha$ -pinen a  $\beta$ -pinen, které jsou přítomny v pryskyřici jehličnanů. Monoterpeny jsou označovány jako sekundární metabolity rostlin, tedy za látky, které postrádají roli v základních rostlinných procesech (rostlina je produkuje, avšak je nevyužívá například jako zdroj energie nebo zásobních látek). Sekundární metabolity pomáhají rostlinám jako morforegulátory, detoxikační faktory, atraktanty, nebo obranné látky. V rostlinách jsou pak monoterpeny syntetizovány v parenchymatických buňkách a poté uloženy ve vakuolách, v buněčné stěně nebo ve speciálních exkretčních pletivech jako tzv. pryskyřičné buňky. U jehličnanů mohou být pryskyřičné buňky izolované (cedr), mohou tvořit puchýřky (jedle) nebo i vysoce složitý systém kanálků, který je schopný transportovat pryskyřici i několik metrů (borovice) (**Phillips M. A., Croteau R. B., 1999; Zulak K. G., Bohlmann J., a kol., 2010**). Monoterpeny jsou v první řadě důležité tím, že zprostředkovávají interakce mezi rostlinou a jejím prostředím. Obstarávají komunikaci mezi rostlinami, chrání rostliny například před vysycháním, napadením škůdci nebo lákají opylující hmyz. Jsou významné i pro vyšší organismy, kdy jsou využívány v potravinářském, kosmetickém a farmaceutickém průmyslu pro své aroma nebo jako insekticidy a herbicidy díky své toxicitě (**Mahmoud S. S., Croteau R. B., 2002**).



Obrázek 14: Chemické struktury monoterpenů. Zhang Z., et. al., 2016.

## 10.1 Hmyz a monoterpeny

Velká část rostlin je napadána hmyzem, kdy dochází k jejich žíru v různých vývojových stádiích hmyzu. Hmyz vyhledává vhodného hostitele čichem a rostlinné monoterpeny v řadě případů přeměňuje na feromony. Velmi často napadá oslabené stromy, které produkují menší množství/koncentraci monoterpenů než stromy zdravé. Přestože se v kůře zdravých stromů vyskytuje pouze stopové množství oxidovaných monoterpenů, tak jinak je tomu při kolonizaci stromů, kdy se množství oxidovaných monoterpenů rapidně zvyšuje jako obrana stromu (Leufvén a Birgersson, 1987; Pettersson a Boland, 2003). U jehličnatých stromů pak těkavé monoterpeny slouží současně jako rozpouštědlo pro diterpenické kyseliny, pomocí kterého obstarávají transport do místa poranění. Na vzduchu se monoterpeny odpařují a diterpenické kyseliny následně pomocí pryskyřice zacelí poraněné místo. Viz kapitola 4.1. obrana smrku (Phillips M. a kol. 1999; Hulcr J., 2003).

## 11 Oxidované monoterpeny

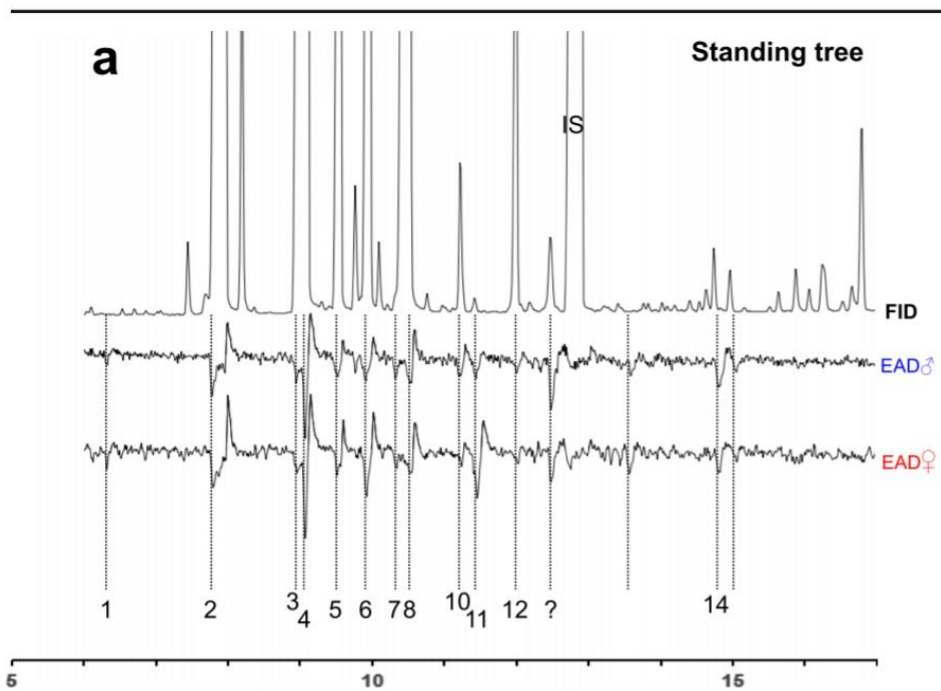
Oxidované monoterpeny mohou být odvozeny autooxidací, ale jejich produkce je hlavně založena na mikrobiální oxidaci uhlovodíkových prekurzorů (**Birgersson a kol., 1984; Hunt a kol., 1989; Leufvén a kol., 1984; Lindmark-Henriksson a kol., 2004**). Stejně tak jako verbenon, existují i další oxidované monoterpeny, které se vyskytují v kůře zdravých stromů a jsou přítomny jen ve velmi malém množství. Nicméně po napadení stromu kůrovcem dochází k zvyšování jejich produkce (**Azeem et al., 2013; Pettersson a Boland, 2003**), stejně tak jako po aplikaci umělé obrany methyl jasmonátu. (**Martin et al., 2003**). Methyl jasmonát je fytohormon, o kterém je známo, že vyvolává obranné reakce, aniž by způsoboval fyzické poškození stromu (**Krokene a kol., 2008; Martin et al. 2002**). Tyto oxidované monoterpeny mohou poskytnout broukům zásadní informace o zdravotním a obranném stavu potenciálního hostitelského stromu. U lýkožrouta smrkového v reakci GC-EAD (plynová chromatografie s elektroantenální detekcí) byly vyvolány několika sloučeninami souvisejícím se stresem např. 1,8-cineole, trans-4-thujanol, terpinene-4-ol, camphor a pinocarvone (**Blažyte-Čereškiene et al., 2015; Schiebe, 2012**). U trans-4-thujanolu bylo prokázáno, že jeho množství se s věkem stromu snižuje a indukuje odpuzující reakce (**Blažyte-Čereškiene et al., 2015**). Získ vzorků oxidovaných terpenů probíhá odběrem paralelně z kůry pokácených stromů přibližně 50 cm od kořenového konce nebo uprostřed koruny stromu, dále také ze stojatých stromů, a to přibližně z prsní výšky. Některé stromy je pak možné ošetřit methyl jasmonátem, a to za účelem vyvolání chemické obrany stromu. Získané vzorky je nutné analyzovat pomocí GC-EAD. Sloučeniny, které vyvolají reakce v nahrávkách GC-EAD musí být dále testovány v Single Sensillum Recordings (SSR). (více kapitola 12 a 12.1 a Obr. 15, 16 ,17) (**Schiebe et al., 2019**).

**Tabulka 2: GC-EAD analýza těkavých vzorků ze smrku. Celkem 19 provedených běhů GC-EAD pro 19 různých těkavých vzorků od sedmi pokácených a dvou stojících smrků. (Schiebe et al., 2019)**

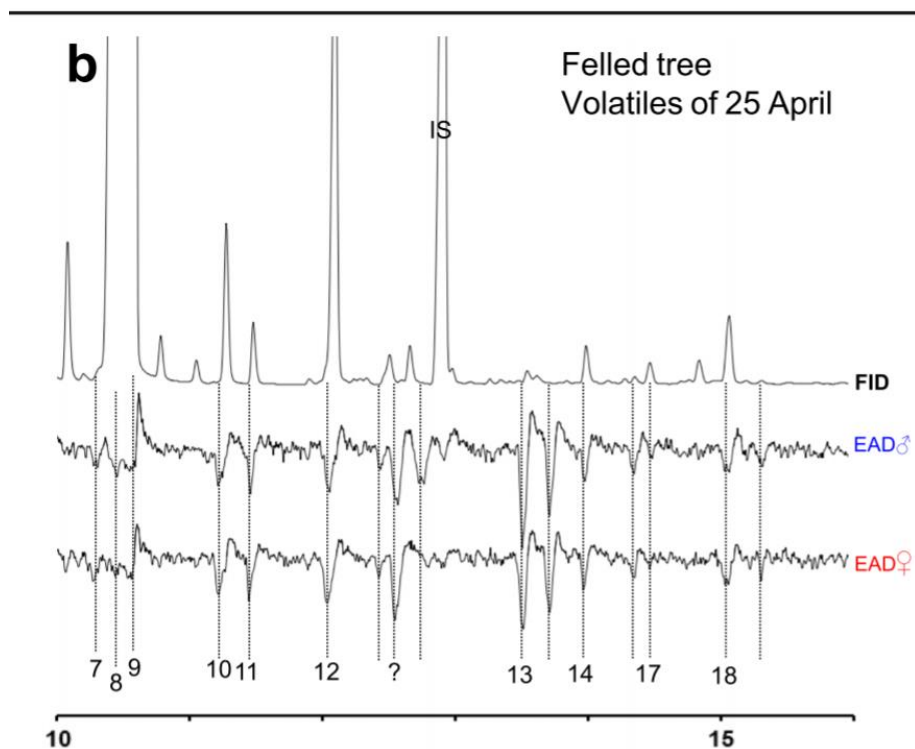
Compound classes	Sampling date (Julian date)		Temperature (°C)		Attack density
	Felled (N = 60)	Standing (N = 13)	Felled (N = 56)	Standing (N = 7)	Felled (N = 60)
Monoterpene hydrocarbons	-0.54**	-0.04	-0.44**	0.32	0.37**
Oxygenated terpenes	0.51**	-0.33	0.41**	0.10	-0.38**
Aromatic hydrocarbons					
Styrene	0.71**	0.52	0.39**	-0.64	0.57**
<i>p</i> -Cymene	0.16	-0.33	0.17	0.54	-0.05
Monoterpene hydrocarbons					
(±)- $\alpha$ -Pinene	0.31*	-0.18	0.17	-0.66	0.17
(±)-Camphene	0.16	0.34	-0.09	-0.03	-0.08
Sabinene & $\beta$ -Pinene <sup>a</sup>	0.27*	0.37	0.22	0.13	0.20
Myrcene	-0.32*	-0.11	-0.18	-0.54	-0.15
3-Carene	-0.34**	-0.07	-0.14	-0.02	-0.33
(±)-Limonene & (±)- $\beta$ -Phellandrene <sup>a</sup>	-0.55**	-0.56*	-0.36**	0.17	-0.39**
Terpinolene	-0.54**	-0.15	-0.31	-0.22	-0.45**
$\gamma$ -Terpinene	-0.61**	-0.33	-0.32	0.02	-0.52**
Oxygenated compounds					
4-Thujanol	0.21	–	0.12	–	0.22
1,8-Cineole	0.63**	-0.04	0.63**	0.09	0.44**
(±)-Camphor	0.50**	0.00	0.33*	0.43	0.30
Pinocamphone	0.57**	0.23	0.40**	0.09	0.46**
Pinocarvone	0.56**	0.41	0.28*	-0.43	0.41**
(±)-Terpinen-4-ol	0.08	-0.35	0.14	0.30	0.12
$\alpha$ -Terpineol	0.05	-0.33	0.03	0.30	0.09
Estragole	0.36**	0.00	0.32*	0.65	0.31*
Verbenone	0.64**	–	0.31*	–	0.55**

<sup>a</sup> These compound pairs co-eluted

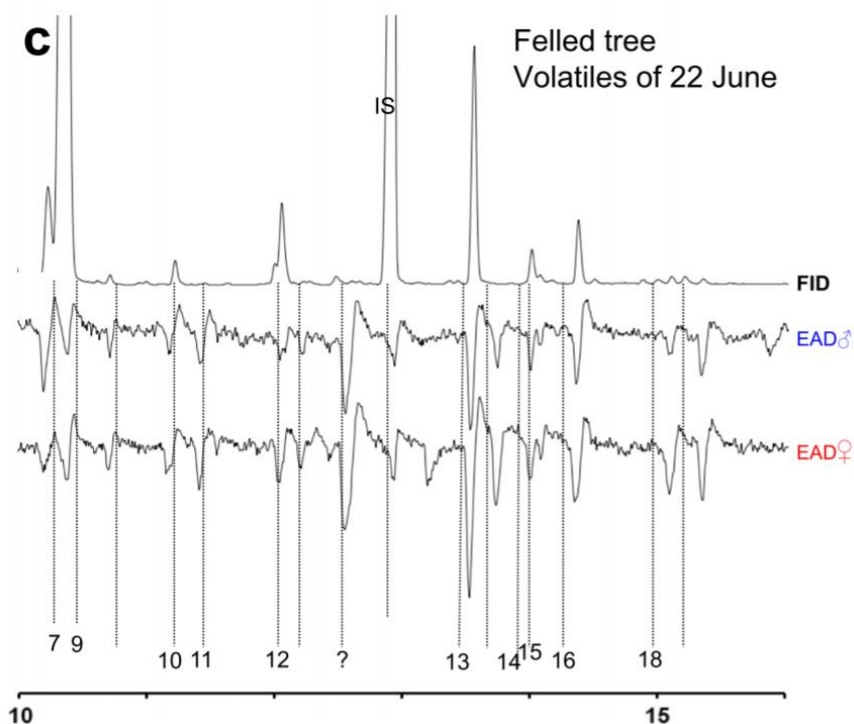
Tabulka představuje korelaci (rS, Spearmanův koeficient korelace rho), podíly celkového uvolnění všech analyzovaných sloučenin s datem odběru vzorků, teplotou při odběru vzorků a hustotou útoku *ips typographus* (\* a \*\* označují korelaci, která je významná (oboustranná), 0,05, respektive 0,01; pozitivní rS: podíl sloučeniny roste s faktorem; negativní rS: podíl sloučeniny klesá s faktorem; - označuje, že sloučenina nebyla detekována ve stojatých stromech) (Schiebe et al., 2019).



Obrázek 15: Reprezentativní příklady nahrávek GC-EAD (celkem 170 běhů) od samců a samic *I. typographus* testovaných přírodních těkavých látkách z neporušené kůry stojících stromů. (Schiebe et. al., 2019).



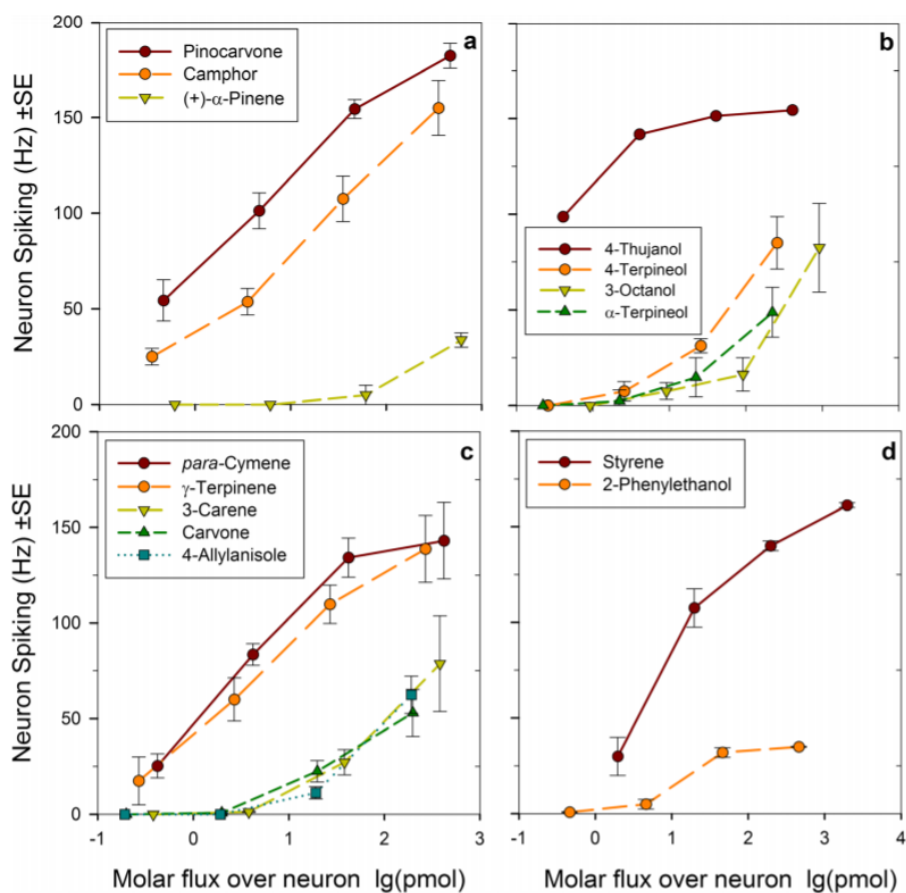
Obrázek 16: Příklady nahrávek GC-EAD od samců a samic *I. Typographus*. Těkavé látky z pokáceného stromu odebrané do vzorku v den prvního útoku (25. dubna). (Schiebe et. al., 2019).



Obrázek 17: Příklady nahrávek GC-EAD od samců a samic *I. typographus*. Těkavé látky z pokáceného stromu odebrané do vzorku koncem června. (Schiebe et. al., 2019).

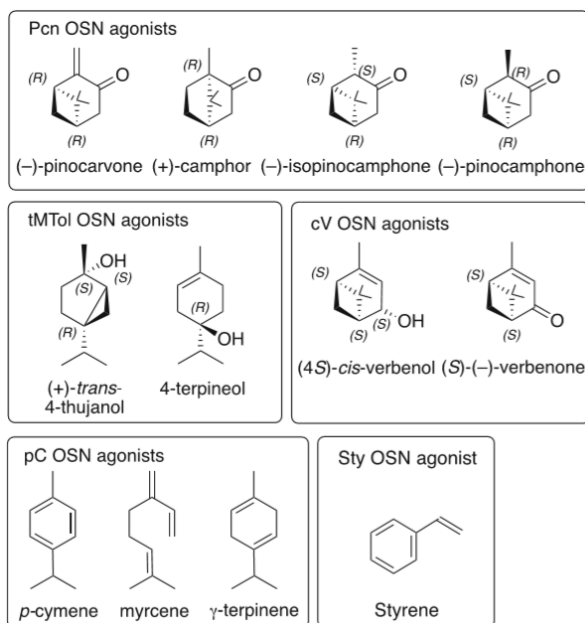
Obrázky 15, 16 a 17 představují nahrávky GC-EAD jak samců, tak samic lýkožrouta smrkového. Jedná se o záznamy odebraných těkavých sloučenin. Signál FID (plamenově ionizační detektor) a dvě dolní stopy jsou odpovídajícími anténním záznamům jednoho samce a jedné samice brouka. Látky, které prokázaly aktivitu byly 1) styrene 2)  $\alpha$ -pinene 3) sabinene 4)  $\beta$ -pinene 5) myrcene 6) 3-carene 7) p-cymene 8) limonene 9) 1,8-cineole 10)  $\gamma$ -terpinene 11) 4-thujanol 12) terpinolene 13) camphor 14) pinocamphone 15) pinocarvone 16) isopinocamphone 17) 4-terpineol 18) 4-allylanisole (estragole). Bylo zjištěno že, čichový systém *I. typographa*, jak na úrovni EAD (elektroantenografická detekce), tak na úrovni jednotlivých neuronů, vykazuje vysokou citlivost na hostitelské sloučeniny, které souvisejí se stresem. Dále bylo vyzorována řada nových odpovědí EAD vztažených na hostitelské sloučeniny, z nichž většina byla ověřena zaznamenanou reakcí na syntetické sloučeniny a dále pomocí SSR. Podle SSR je možnost identifikovat tři další sloučeniny vyvolávání reakcí OSN. Šest z těchto 10 sloučenin jsou okysličené monoterpeny. Jedna ze sloučenin vyvolávající nejsilnější odpověď byla identifikována jako (+) - trans-4-thujanol. Ostatní menší sloučeniny vyvolávající silné a pravidelné reakce. Jedná se o camphor, pinocarvone, a pinocamphone (Schiebe et. al., 2019).





Obrázek 18: Odpovědi na dávky podle tříd OSN upravené na základě volatility. (Schiebe et al., 2019)

Odpovědi na dávky podle tříd OSN upravené na základě volatility, kde a) představuje pinocarvone a další ketony (Pcn), b) terciární monoterpenové alkoholy (tMTol), c) deriváty cymenu (pC), d) fenylethanové deriváty (Sty).

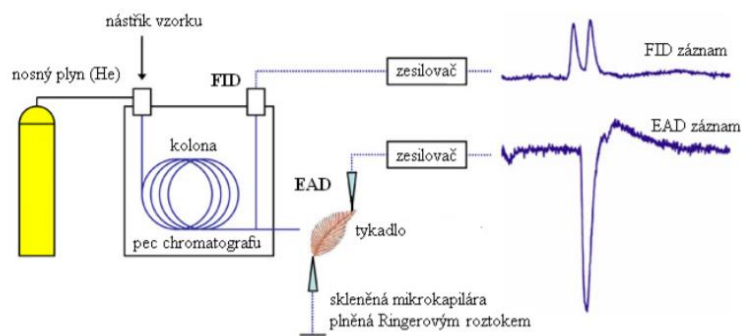


Obrázek 19: Struktury elektrofyziologicky aktivních sloučenin identifikovaných pro různé nalezené třídy OSN. Schiebe 2019.

Z výzkumu, který provedl (Schiebe et. al., 2019) je patrné, že našel pro tyto látky aktivitu na GC EAD i specifické sensily na tykadle s velkou odezvou. To je primární ukazatel, který představuje jejich biologickou aktivitu. Z tohoto důvodu se tato diplomová práce zabývá jejich behaviorálním testováním v lese, a to proto abychom zjistili, co pro lýkožrouta smrkového znamenají.

## 12 Elektroantenografie

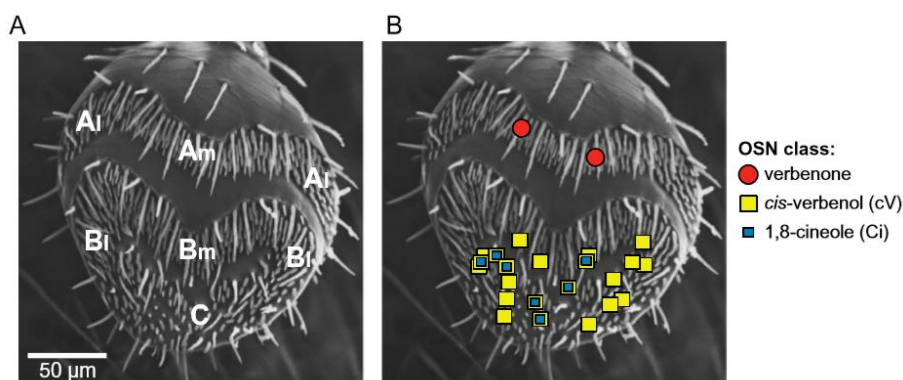
Elektroantenografie (EAG) je neurofyzilogická metoda, která byla vyvinuta Schneiderem (**Schneider, D., 1957**). Princip této metody je založen na identifikaci specifických těkavých látek, které vyvolávají fyziologické odpovědi například u hmyzu. (**Myrick, A.J.; Baker, T.C., 2011**). Velmi často se tato metoda používá ve spojení s plynovým chromatografem (GC-EAD). Dojde k využití tykadla hmyzu, které slouží jako biologický detektor. Tykadlo je umístěno mezi dvě elektrody, které jsou tvořeny skleněnými kapilárami s mikrohrotem a jsou naplněné Ringerovým roztokem. V roztoku každé elektrody jsou umístěné drátky, které jsou spojené se zesilovačem. Dojde ke vniku napětí. To vzniká mezi referenční elektrodou umístěnou na bázi tykadla a snímací elektrodou umístěnou ve smyslovém epitelu tykadla, je zesilováno zesilovačem a signál je dále veden do počítače, kde je zaznamenáván, analyzován a vyhodnocován softwarem. Souběžně k biologickému detektoru, který zaznamenává jen antenálně aktivní látky, se používá plamenově-ionizační detektor (FID). Ten není selektivní, a tak zaznamenává všechny látky. Při GC-EAD-FID analýze je eluát rozdělen na dvě poloviny. Jedna část je vedena do FID a druhá do proudu vzduchu, který vede na tykadlo. Obě ramena jsou vyrobena z křemenné kolony o stejné délce a také průměru. Díky tomu dojde k zajištění stejného retenčního chování. Látky tak procházejí FID a EAD detektorem současně. Do splitteru je přiváděn pomocný plyn (dusík). Ten pak vyrovnává pokles průtoku v rozdělených ramenech kolony. Tím brání kondenzaci eluátu ve splitteru. Rozdělení snižuje citlivost pro každý detektor o polovinu a umožňuje současné srovnání odezvy detektorů. Tykadlo má v klidu klidovou aktivitu. Ovšem při podráždění vzniká negativní elektrický potenciál, který trvá po celou dobu podráždění. Jestliže signál FID odpovídá signálu EAD, tak se jedná o antenálně aktivní látku (semiochemikálii) (**Byers J.A., 2003**).



Obrázek 20: Schéma GC-EAD. Dostupné z <http://www.uochb.cz/web/structure/1141.html>.

## 12.1 Chemická ekologie a neurony na tykadle lýkožrouta smrkového

Hmyz využívá specifických dorozumívacích prostředků. Jde o signály fyzikálního rázu, jako třeba zvukové, zrakové a hlavně chemické. Při chemické komunikaci, využívá hmyz čichové a chuťové vjemy. Čichová komunikace je zprostředkována chemickými látkami rozptýlenými ve vzduchu chuťová pak ve vodě. Těkávé chemické látky využívané k dorozumívání živočichů jsou označovány jako semiochemikálie a hmyz na ně reaguje pomocí čichových receptorů, které má umístěné na tykadlech. Slouží například k vnitrodruhové komunikaci (feromony) nebo mezidruhové (allomony) (Nascimento, R.R.; Morgan E.D., 1996). Bylo zjištěno, že na tykadlech, jednotlivých „chlupech“ lýkožrouta smrkového, se nachází velká škála neuronů, díky kterým lýkožrout dokáže reagovat na zápach/vůni různých rostlin. Na tykadle se vyskytují chloupky (neurony) reagující například na cis-verbenol (Cv), 1,8 cineol (Ci), myrcen atd. (Andersson et al., 2009; Schiebe, 2012). (Viz obr.21).



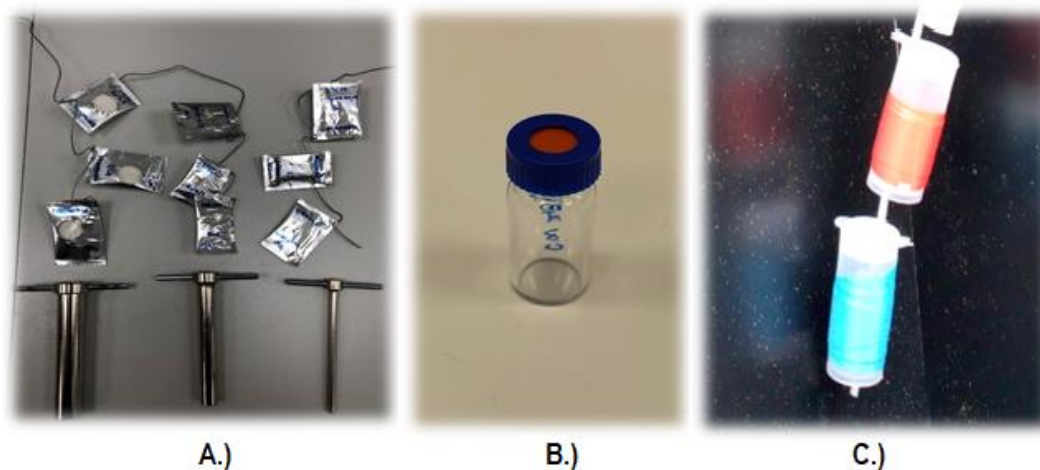
Obrázek 21: A) Přední strana tykadla *Ips typographus*. ukazující uspořádání čichové sensily ve třech hlavních oblastech A,B,C. Na základě přítomnosti určitých funkčních tříd čichových senzorních neuronů (OSNs). Obrázek B) Přibližná umístění sensil obsahující OSN pro verbenon – červené kruhy, cis-verbenol (Cv) jenž představují žluté čtverečky a 1,8 cineol (Ci), které představují malé modré čtverečky. ( K. F. Raffa; M. N. Andersson a kol., 2016)

## 13 Metodika

### 13.1 Odparníky – design

Námi vytvořené odparníky vznikly ve školních laboratořích na FLD (fakulta lesnická a dřevařská). Odparníky testovaných oxidovaných monoterpenů camphoru, pinocamphonu, isopinocamphonu, terpinen-4-olu, carvonu a  $\alpha$ -terpineolu, fenolu estragolu plus referenčních 1,8-cineolu a trans-4-thujanolu byly vytvořeny ve třech verzích, a to každý s jiným koeficientem odparu (k.o.) 0,1 mg/den pro nízkou dávku, pro střední dávku 1 mg/den a pro vysokou dávku pak 10 mg/den. Pro každý požadovaný k.o. bylo u všech směsí připraveno několik typů designů. Jednalo se o pytlíky zavařené do aluminové (alufánu) nebo plastové fólie s vytvořenými otvory o konkrétním průměru odvíjející se podle poměru odparu, dále pak o skleněné vialky nebo plastové lahvičky Kartel s otvorem nebo bez otvoru ve víčku (viz Obr. 22). K.o. jednotlivých variant jak pro laboratorní, tak i pro k.o. v terénu byly vypočítány pomocí gravimetrické analýzy, kde došlo k vážení jednotlivých odparníků ve známých časových intervalech. Následný úbytek jejich váhy byl zaznamenáván v grafech (viz příloha grafy č. 6 – 28). Z přepočtu průměrného úbytku hmotnosti za 24 hodin, byl spočítán průměrný k.o. a optimální odparníky byly vybrány pro polní pokus. (viz Tab. č. 3). V tabulce č. 3. jsou uvedeny průměrné k.o. a dále terénní k.o. zjištěné gravimetrickou analýzou odparníků umístěných v lapačích při samotném pokusu.

V pokusu byl rovněž použit syntetický feromon lýkožrouta smrkového, který se skládal ze dvou odparníků (2-methyl-3-buten-2-olu k.o. 50 mg/den; cis-verbenol k.o. 1 mg/den).



Obrázek 22: Ukázka designu feromonových odparníků. A. foliové sáčky, B. skleněná vialka s otvorem jehlou v septu, C. Kartellovy vialky připevněné na drátku.

Tabulka 3: Přehled: sloučenin, zdrojů, čistoty, dávek, odpařovacího poměru mg/den a designu odparníků.

Sloučenina	Zdroj	Čistota %	Dávka	Odpařovací poměr mg/den		Design	
				nominální	laboratoř		
Anisole (Estragole)	Sigma Aldrich	98	nízká	0,1	0,13±0,04	0,14±0,03	skleněná lahvička (2ml), jehlou udělaný otvor do víčka
			střední	1	1,19±0,17	1,72±0,94	foliový sáček s kapilárou udělaným otvorem 2mm
			vyšoká	10	8,78±1,71	1,86±0,4	foliový sáček s otvorem 9 mm pomocí nástroje K1
terpinen-4-ol	Sigma Aldrich	96	nízká	0,1	0,07±0,04	0,35±0,06	skleněná lahvička (2ml), jehlou udělaný otvor do víčka
			střední	1	0,41±0,21	0,52±0,49	2x PE lahvička (Kartell 730), uzavřená bez otvoru
			vyšoká	10	9±2,34	7,8±10,16	foliový sáček s otvorem 18 mm pomocí nástroje K3
1,8-cineol=Eucalyptol	Sigma Aldrich	99	nízká	0,1	0,06±0,07;0,43±0,33	0,01±0,01	lahvička z PE (Kartell 731), uzavřená, naplněná parafinovým olejem
			střední	1	0,66±0,12	0,92±0,12	2x skleněná lahvička (2 ml), jehlou otvor do víčka
			vyšoká	10	5,20±0,30	5,7±6,07	2x PE-lahvička (Kartell 730), 2 mm otvor kapilárou
carvone	Sigma Aldrich	98	nízká	0,1	0,13±0,05	0,27±0,13	skleněná lahvička (2 ml), drátem otvor ve víčku 1 mm
			střední	1	0,66±0,28	0,22±0,16	PE lahvička (Kartell 730), uzavřená bez otvoru
			vyšoká	10	9,1±2	4,92±3,45	foliový sáček s otvorem 18 mm pomocí nástroje K3
camphor	Alfa Aesar	98	nízká	0,1	0,09±0,05	0,14±0,9	skleněná lahvička (2 ml), jehlou otvor do víčka
			střední	1	0,58±0,06	0	2x PE lahvička (Kartell 730), drátem otvor ve víčku
			vyšoká	10	7,33±0,94	0,67±0,10	PE sáček, bez otvoru, větší o 1/4
alfa-terpineol	Sigma Aldrich		nízká	0,1	0,11±0,05	0,05±0,02	PE lahvička (Kartell 730), uzavřená bez otvoru
			střední	1	1,37±0,27	0,14±0,07	foliový sáček s otvorem 9 mm pomocí nástroje K1
			vyšoká	10	4,01±0,4	1,11±0,48	2x tvrdší PE sáček, bez otvoru a fólie
Isopinocampnon	Unknown		nízká	0,1	0,37±0,08		foliový sáček, otvor jehlou
			střední	1	1,47±0,18		PE lahvička (Kartell 730), uzavřená bez otvoru
			vyšoká	10			PE lahvička (Kartell 731) otvor ve víčku 2 mm
Pinocampnon	Unknown		nízká	0,1	0,4±0,11		foliový sáček, otvor jehlou
			střední	1	1,01±0,34		PE lahvička (Kartell 730), uzavřená bez otvoru
			vyšoká	10			PE lahvička (Kartell 731) otvor ve víčku 2 mm
2-methyl-3-buten-2-ol	Across	97	vyšoká	50	32,20±20,57	9,10±16,12	PE lahvička (Kartell 731) s 1 mm-diam.ho???
cis-Verbenol	Sigma Aldrich	95	vyšoká	1	1,53±0,15	0,85±1,34	PE-lahvička (Kartell 731) s 9 mm diam ?
trans-4-thujanol	Sigma Aldrich	96	nízká	0,1	0,04 ± 0,09	1,7	lahvička PE (Kartell 730) uzavřená
			střední	1	2,6 ± 1,2	3,3	PE sáček (3,5 x 5 cm, 0,25 mm) tlustý;(2,5x3,1 cm) bavlněného čtverce
			vyšoká	10	45,9±24,8	22,5	PE sáček (6,5 x 11,5 cm, 0,05 mm) tlustý, (5,5 x 11 cm) bavlněný čtverec

## 13.2 Chemikálie

Čistota a původ chemikálií použitých v terénním pokusu jsou uvedeny v Tab. č. 3. Chemikálie byly do odparníků dávkovány neřaděné. Isopinocamphon a pinocamphon byly dodány z laboratoře Dr. R. Uneliuse z Department of Chemistry and Biomedical Sciences, Linnaeus University, Kalmar, Sweden, kde byly připraveny organickou syntézou.

## 13.3 Lokality odchyty

Lokality zvolené pro terénní pokus a aplikaci odchyťového zařízení, byly umístěny na pozemcích školního lesního podniku Kostelec nad Černými lesy v Oplanech, které spadají do správy LÚ Vlkančice. Jedná se o 2 lokality (holiny), u kterých vznikla po těžbě kůrovcového dříví v roce 2018 a 2019 čerstvá porostní stěna tvořena především ze smrku ztepilého.

První lokalita ležela na souřadnicích [49.9334300N, 14.8770400E] a jedná se o porost 624E9.

- lokalita cca 120 m
- porostní stěna na západě
- svažité terén
- dřeviny na porostní stěně smrk (SM), jedle (JD)

Druhá lokalita se vyskytovala na souřadnicích [49.9325200N, 14.8786400E] a jedná se o porost 624E9.

- lokalita 100 – 120 m
- svažité terén
- dřeviny na porostní stěně převládal smrk, ojediněle jedle



Obrázek 23: A.) Lokality polního pokusu. Zdroj: [www.mapy.cz](http://www.mapy.cz), B.) Snímek z dronu, pohled na rozmístění lapačů.

### 13.4 Terénní pokus s feromonovými lapači

Výzkum probíhal v proměnlivých meteorologických podmínkách od dubna do srpna 2019. Na vybraných lokalitách ŠLP Kostelec nad Černými lesy, kde byl zaznamenán výskyt lýkožrouta smrkového (*ips typographus* L.) jsme nainstalovali na dvou lokalitách sérii 31 křížových lapačů Ecotrap (15 lapačů na jedné lokalitě a na druhé 16), navnaděných, námi designovanými odparníky ve vzdálenosti cca 15 m od sebe a přibližně 25 – 50 m od porostního okraje lesa. Lapače jsme rozmístili ve střídavém vzoru, pevně uchytili a ukotvili, aby nedošlo k jejich porušení například při nepříznivém počasí. Další prioritou bylo, umístit je tak, aby nebyly zakryty vysokou trávou, stromky nebo jinou vegetací, která by nějakým způsobem mohla ovlivnit odchyt brouků. Nárazová plocha lapače byla umístěna přibližně v prsní výšce (1,5 m).

V experimentu bylo použito několik druhů nástrah. Lapače byly navnaděny vždy feromonem a odparníkem s testovanými látky (camphor, pinocamphon, isopinocamphon, terpinen-4-ol, carvon a  $\alpha$ -terpineol, referenční 1,8-cineol, trans-4-thujanol a fenol allylanisole neboli estragol) o daném k.o. Při pokusu byly použity dva typy kontrol. Prázdný lapač a lapač obsahující pouze samotný feromon tzv. „blank“. Odparníky byly měněny za čerstvé přibližně 1x za 14 dní, aby se dodržoval konstantního k.o.

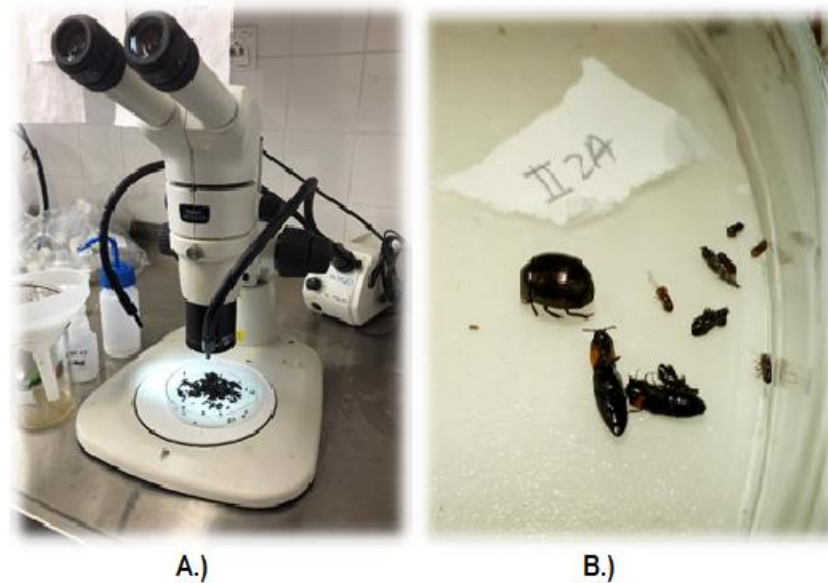
Rotace odparníků ve stabilně umístěných lapačích probíhala dle vytvořeného randomizačního schématu (viz Tab. 4). Podmínkou při softwarovém generování randomizačního schématu bylo, aby každá testovaná návnada byla ideálně umístěna v každém stabilním lapači, abychom snížili riziko pozičního efektu umístění jednotlivých lapačů. Další podmínkou bylo, aby se na každé testované lokalitě nacházel vždy jeden prázdný feromonový lapač a jeden lapač čistě jen s feromonem (viz. Tab. 4). Srovnání odchytů na stejnou návnadu bylo použito při zhodnocení ekvivalence obou vybraných lokalit. Srovnání odchytů na stejnou návnadu bylo použito při zhodnocení ekvivalence obou vybraných lokalit.

Před každou rotací byly odchycení brouci odebíráni do plastových lahvíček s obsahem 95 % etanolu a uskladněni k pozdějšímu roztrídění a spočítání.



### 13.5 Vyhodnocování odchytů brouků

Laboratorní práce nespočívala jen ve tvorbě odparníků. Protože se do lapačů dostaly i ostatní druhy, jako třeba lýkožrout lesklý (*Pityogenes chalcographus*), pavouci nebo další drobný hmyz. Z tohoto důvodu bylo za potřebí všechny jedince roztřídit a spočítat pod binokulární lupou na cílové brouky – *Ips typographus* a počty zanést do tabulek ke statistické analýze.



Obrázek 24: A.) Třídění a počítání brouků pod binokulární lupou. Luboš Cidlinský B.) Ostatní jedinci. Autor: Ing. Kateřina Beránková.

### 13.6 Randomizační schéma a jeho popis

V tabulce č. 4 modrá barva znázorňuje sběry brouků, které proběhly v pořádku. Červená barva signalizuje ty, které jsou špatně. To znamená, že se na jedné pasece vyskytoval například 2x feromon a na druhé zase třeba jen 2x drát (prázdné trapy). Z tohoto důvodu byly po uvědomění této chyby vyřazeny z pokusu a nebyly započítány do finální statistiky. Stejně tomu je tak i u těch s označením písmenem X a červenou barvou. Co se týče odchytů znázorněných žlutou barvou, tak neproběhly přesně podle představ, ovšem byly sebrány a zařazeny do výzkumu a finální statistiky. Číslem 15 jsou pak označeny pouze feromony, číslem 16 pouze dráty (prázdné trapy), číslem 30 jsou označeny opět feromony a číslem 31 pak znovu prázdné dráty.





### 13.7 Statistické zpracování dat

Vyhodnocení absolutních odchytů brouků proběhlo za pomoci programu Excel. V tomto editoru pak došlo i k vytvoření jednotlivých grafů vztahujících se například k počtům odchycených brouků, k určení grafů odpařovacího poměru látek v terénu a laboratoři atd.

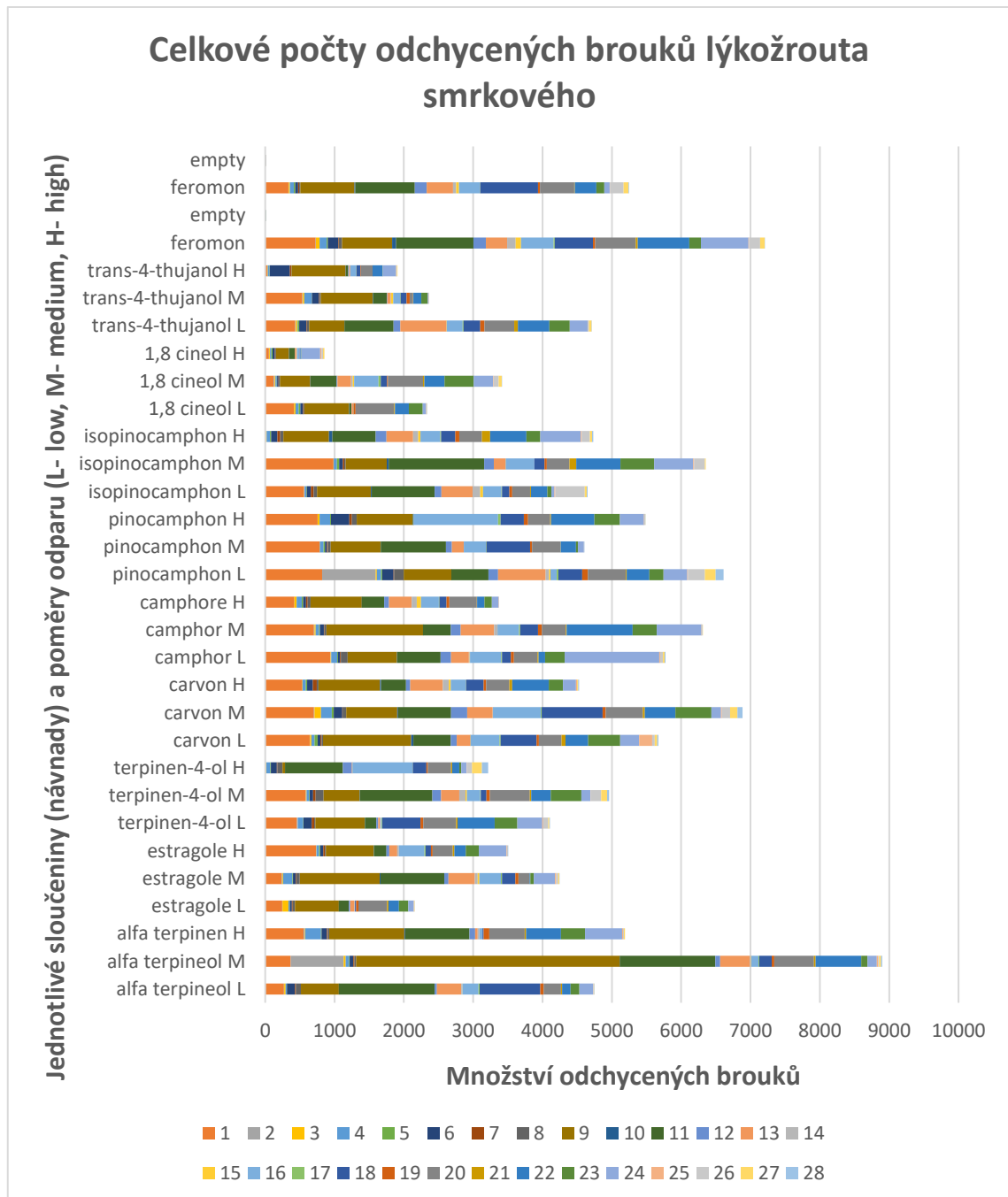
K porovnání aktivit jednotlivých testovaných látek, byl jako závislá proměnná použit relativní počet odchycených jedinců lýkožrouta smrkového. Relativní počet byl stanoven podílem zachycených jedinců v konkrétním termínu odběru na danou látku, vůči celkové sumě zachycených jedinců lýkožrouta smrkového (tj. ze všech pastí).

Ke statistickému vyhodnocení byl vytvořen jednoduchý regresní model relativní počet jedinců ~ testovaná varianta. Z důvodu četnostního charakteru závisle proměnné bylo v první fázi tvorby modelu použito Poissonovo rozdělení pravděpodobnosti. Z důvodu mírné overdispersion byl následně použit Quasipoissonovský model, a poté negativně binomický model. Použitý postup odpovídá doporučením dle Pekár & Brabec (2009). Pro každý koeficient odparu testovaných látek byl tímto postupem vytvořen separátní regresní model. Ve všech případech dosahoval nejnižší odchylku reziduí negativně binomický model. Nejlepší regresní model pro každý koeficient odparu byl poté porovnán pomocí analýzy rozptylu (ANOVA). Jednotlivé úrovně testovaných variant odchytů na látky byly při signifikantním výsledku ANOVA testovány pomocí treatment kontrastů. Jako komparační úroveň byla vždy nastavena varianta odchytů na samotný feromon (blank) a jako druhý pohled byla testována i odlišnost od odchytů na 1,8 cineol, jakož látky s potvrzenou anti-atraktivní účinností. Vyhodnocení dat se uskutečnilo v prostředí R (R CORE TEAM 2018).

## 14 Výsledky

### 14.1 Odchyt brouků

Během tohoto výzkumu bylo v období od 26.4. 2019 až do 15.8. 2019 provedeno 28 rotací v polním pokusu. Celkově bylo odchyceno do feromonových lapačů Ecotrap **134 042** cílových brouků lýkožrouta smrkového (*Ips typographus* L.).



Graf 1: Absolutní množství odchycených brouků IT během jednotlivých sběrů

Z grafu č.1 je možné vyčíst, že nejvyšší absolutní odchyt brouků *ips typographus* byl na feromonový odparník, který obsahoval směs **alfa terpineol** (M, k.o. 1 mg/den) a feromon (2-methyl-3-buten-2-ol MB a cis-verbenol cV). Z těchto navnaděných lapačů bylo odebráno celkově **8 898** ks cílového brouka. Druhou nejvíce účinnou složkou, aktivní na odchyt, byla směs **carvon** (M, střední k.o. 1 mg/den) v počtu **6 887** ks v kombinaci s feromonem. Naopak nejmenší odchvy byly evidovány na lapačích navnaděných směsí **1,8 cineol** (H, k.o.10 mg/den) a feromonem. Do takto navnaděného lapače jsme nachytali **852** brouků. Druhý nejmenší odchyt byl evidován na lapači obsahující směs **trans-4-thujanol** (H, k.o.10 mg/den) a feromonu v počtu **1908** ks. Kontrolní prázdné lapače nám ukázaly nejmenší odchvy, a to nás ujistilo, že odchvy brouků neovlivnila žádná činnost jako je např. hromadný přelet brouků a že samotný lapač není pro brouky atraktivní. Ostatní feromonové lapače zaznamenaly odchvy: Alfa terpineol (L) 4 746 ks, alfa terpinen (H) 5 188 ks, estragole (L) 2 158 ks, estragole (M) 4 241, estragole (H) 3 505 ks, terpinen-4-ol (L) 4 105 ks, terpinen-4-ol (M) 4 959 ks, terpinen-4-ol (H) 3 214 ks, carvon (L) 5 672 ks, carvon (H) 4 526 ks, camphor (L) 5 772 ks, camphor (M) 6 312 ks, camphore (H) 3 368 ks, pinocamphon (L) 6 610 ks, pinocamphon (M) 4 605 ks, pinocamphon (H) 5 483 ks, isopinocamphon (L) 4 648 ks, isopinocamphon (M) 6 353 ks, isopinocamphon (H) 4 732 ks, 1,8 cineol (L) 2 333 ks, 1,8 cineol (M) 3 415 ks, trans-4-thujanol (L) 4 710 ks, trans-4-thujanol (M) 2 361 ks. Co se týkalo feromonových lapačů, které byly navnaděny pouze feromonem bez obsahu oxidovaných feromonů, tak na první lapač s obsahem jenom feromonu došlo k odchytu **7 208** ks a na druhý **5 248** ks lýkožrouta smrkového.

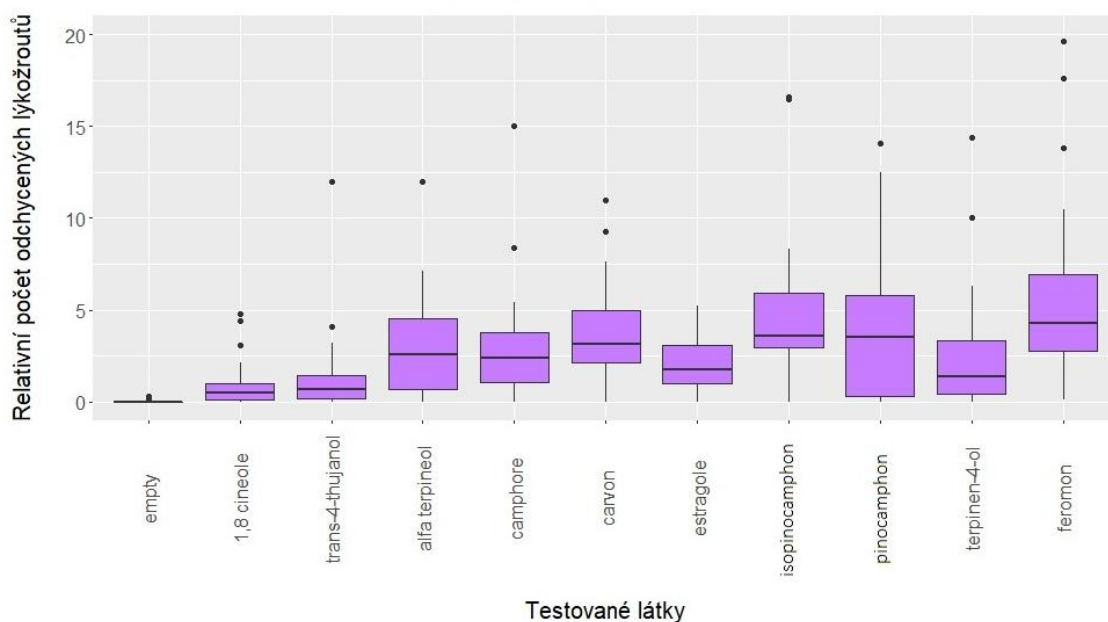
#### **14.2 Relativní počty odchytů brouků na jednotlivé látky v poměrech L, M, H., statistické zhodnocení atraktivní/anti-atraktivní aktivity.**

1. **Testování varianty H** – odparníky testovaných látky s vysokým koeficientem odparu v kombinaci s feromonem (cíleno 10mg/den + MB, + cV, reálné koeficienty odparu v Tab. 3).

Mezi testovanými látkami dávkovanými do odparníků s vysokým k.o. v kombinaci s feromonem byl zjištěn statisticky významný rozdíl v relativním počtu odchycených brouků (ANOVA GLM NB: df=9, n=308,  $p < 0,001$ ). Na většinu testovaných látek s vysokým koeficientem odparu v kombinaci s feromonem byly v porovnání se samotným feromonem (blank) statisticky významně nižší odchvy brouků. Od odchytu na feromon

(blank) se z hlediska odchycených jedinců neodlišovaly pouze látky **carvon**, **isopinocamphon** a **pinocamphon** (Tab. 5).

Ve variantě porovnávání odchyťů nově testovaných látek vůči potvrzenému anti-atraktantu 1,8-cineolu, se na nově testované chytil statisticky významně vyšší relativní počet brouků. Výjimkou byl odparník s trans-4-thujanolem, u kterého se relativní odchyty statisticky od odchyty na 1,8 cineol nelišily (Tab. 6).

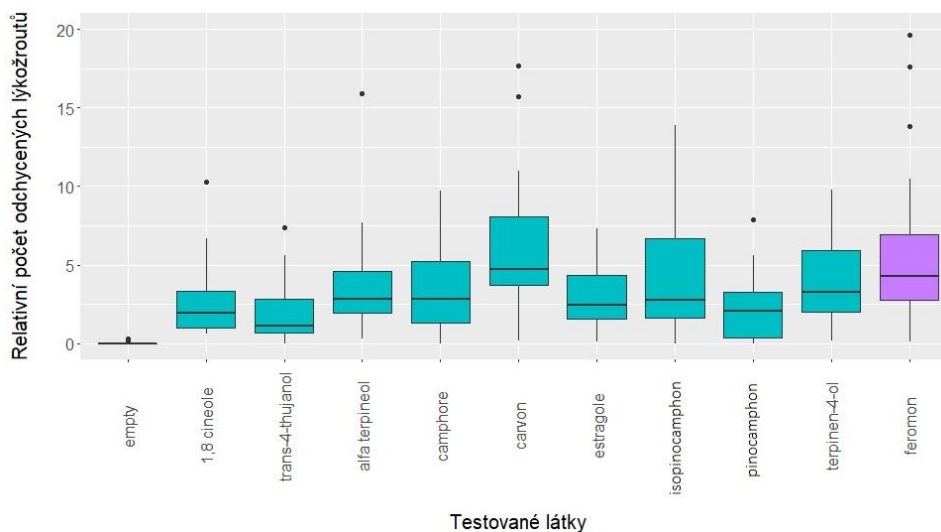


Graf 2: Relativní počet odchycených lýkožroutů na variantu odparu H (10 mg/den)

2. **Testování varianty M.:** Odparníky testovaných látek se středním k.o. v kombinaci s feromonem (cíleno 1mg/den + MB, +cV, reálné koeficienty odparu v Tab. 3).

Mezi testovanými látkami dávkovanými do odparníků se středním koeficientem odparu v kombinaci s feromonem byl také zjištěn statisticky významný rozdíl v relativním počtu odchycených brouků (ANOVA GLM NB:  $df=9$ ,  $n=308$ ,  $p < 0,001$ ). Při porovnání relativních odchyťů odparníků nově testovaných látek se středním koeficientem odparu v kombinaci s feromonem, nebyly statisticky odlišné od relativních odchyťů na samotný feromon, relativní odchyty na **carvon**, **isopinocamphon**, **alfa-terpineol**, **terpinen-4-ol**. Carvon dokonce vykazoval mírně vyšší podíl odchycených jedinců lýkožrouta než samotný feromon (Tab. 7).

Při porovnání odchyťů na látky se středním koeficientem odparu vůči 1,8-cineolu se díky vyššímu odchyťu lýkožroutů na 1,8-cineol, neukázalo relativně více látek od tohoto anti-atraktantu statisticky odlišných, dokonce trans-4-thujanol a pinocamphon dosáhly průměrně nižších odchyťů (Tab. 8).

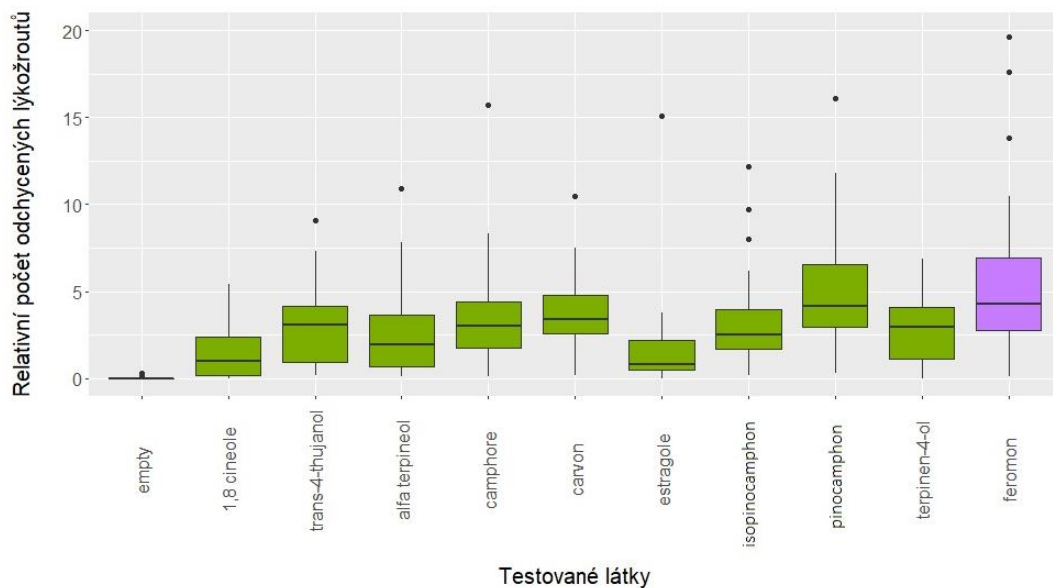


Graf 3: Relativní počet odchycených lýkožroutů na variantu odparu M (1 mg/den)

3. **Testování varianty L:** Odparníky testovaných látky s nízkým k.o. v kombinaci s feromonem (cíleno 0,1mg/den + MB, + cV, reálné koeficienty odparu v Tab.3).

Relativní odchyty na látky v odparnících s nejnižším koeficientem odparu v kombinaci s feromonem mezi sebou rovněž vykazovaly statisticky významné rozdíly (ANOVA GLM NB:  $df=9$ ,  $n=308$ ,  $p < 0,001$ ). V porovnání odchyťů látek s odchyty na samotný feromon byl na testované látky odchycen statisticky signifikantně nižší podíl lýkožroutů. Ovšem odchyty na odparníky dvou látek, **carvonu** a **isopinocamphonu** s nízkým koeficientem odparu v kombinaci s feromonem se od odchyťů na feromon statisticky významně nelišily (Tab. 9) a odchyty na nízkou dávku **pinocamphonu** v kombinaci s feromonem byly dokonce signifikantně vyšší než odchyty na samotný feromon.

Při porovnání nízkých koeficientů odparu ukázaly všechny testované látky (včetně trans-4-thujanolu) signifikantně vyšší odchyť vůči odchyťům na 1,8-cineol, který měl v nejnižším koeficientu odparu velice slabý odchyť. Odchyty na jedinou látku, která se od odchyťů na 1,8 cineol statisticky významně nelišila byl **estragol** (allylanisol) (Tab 10).

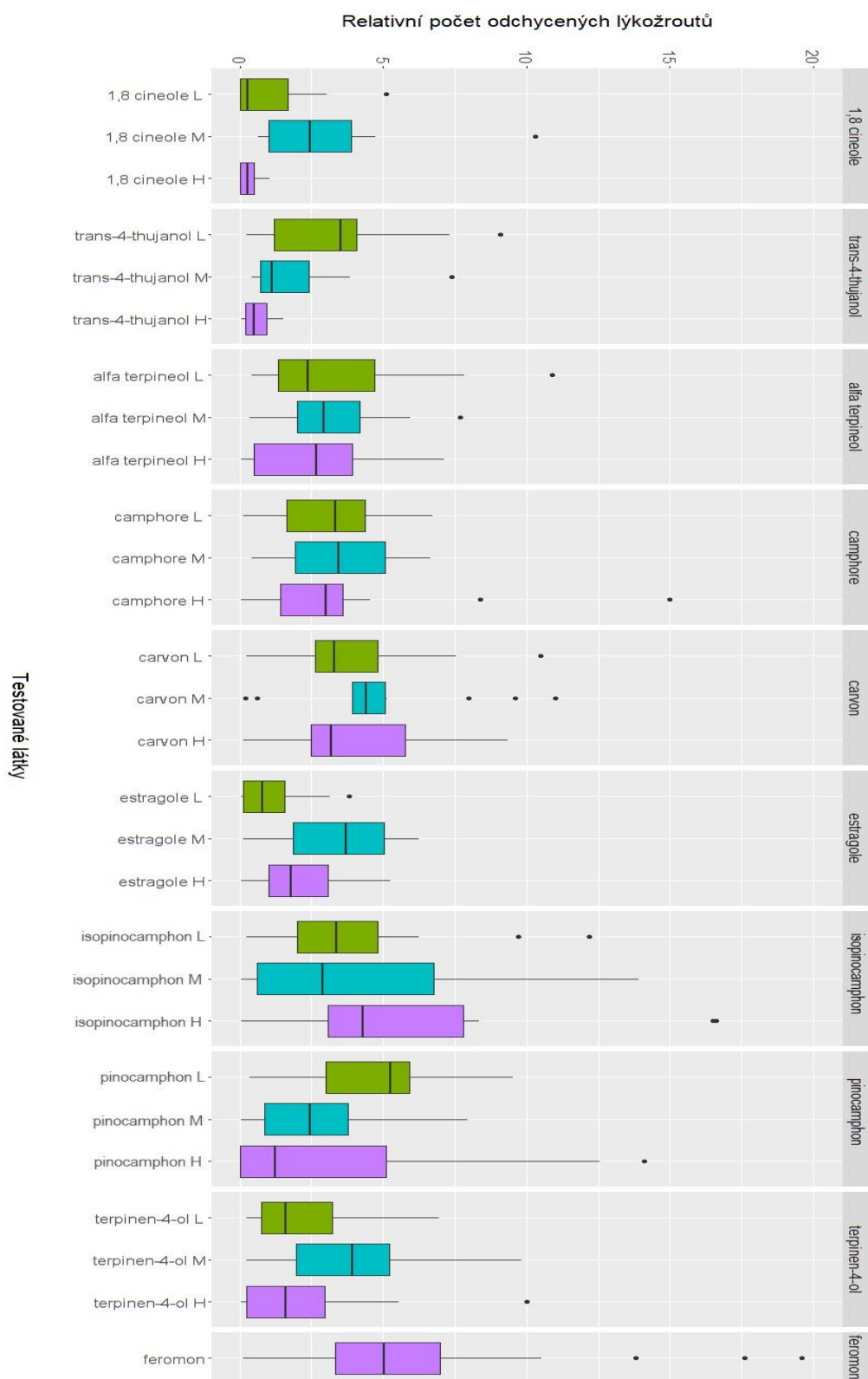


Graf 4: Relativní počty odchycených lýkožroutů na variantu odparu L. (0,1 mg/den).

- Porovnání odchyťů na **všechny testované látky** v odparnicích se třemi k.o. (L., M., H.) vůči odchyťům na samotný feromon.

Při celkovém porovnání většina testovaných látek nezvyšovala ani nesnižovala odchyty vůči samotnému feromonu. Jednoznačné trendy se prokázaly u látky **trans-4-thujanol**, která významně snižovala odchyty, což se projevilo výrazně se stoupajícím koeficientem odparu. To potvrdilo předchozí studie s aktivitou této látky. Další látka, která snižovala odchyty na feromon byl **estragol** (allylanisol).

Látky s konzistentní odpovědí byly **isopinocamphone** a **pinocamphone**, které zvyšovaly podíl odchycených lýkožroutů vůči samotnému feromonu. Mezi atraktivní látky můžeme rovněž zařadit **carvon**, který zejména se středním koeficientem odparu zvyšoval odchyty. Z hlediska celkového trendu bohužel u většiny látek poskytovalo testování se střední dávkou feromonu poněkud odlišné výsledky.



**Graf 5: Porovnání odchyťů všech testovaných látek v odparnicích se třemi koeficienty odparu vůči odchyťům na samotný feromon.**



## 15 Diskuze

Pokus byl ukončen po 28 rotacích, a to z důvodů pokročilé sezóny a změněných podmínek, kdy byla část porostní stěny asanována z důvodu napadení lýkožroutem smrkovým. I přes tyto důvody, byl tento počet provedených rotací dostačující pro statistické vyhodnocení aktivity jednotlivých testovaných látek. V randomizačním schématu (Tab. 4) jsou barevně vyznačeny sběry, u kterých došlo, že na jedné lokalitě byly dvě stejné kontroly nebo v okolí docházelo ke kácení a v ovzduší se tedy zvýšil obsah přirozených terpenů. Tyto odběry byly zhodnoceny, před jejich zařazením do statistického zpracování.

Zkoumali jsme vliv oxidovaných monoterpenů na chování lýkožrouta smrkového. Polní experiment byl zaměřen na testování nových odparníků oxidovaných monotepenů a jejich využití pro odchyt lýkožrouta smrkového ve vztahu na feromon a konfrontace těchto látek, zdali jsou pro brouka atraktivní nebo anti-atraktivní. Po absolutním součtu jsme vyhodnotili největší odchvy pro: alfa terpineol a carvon a nejnižší na známé anti-atraktanti 1,8 cineol a trans-4-thujanol, nicméně součet brouků ovlivnily meteorologické podmínky, které vedly k výrazně silným odchytům viz rotace č.9 (Graf. 1). Z tohoto důvodu jsme atraktivní/anti-atraktivní aktivitu vyhodnotili až po statistické analýze relativních odchytů.

Díky tomuto výzkumu jsme došli ke shodě s publikovanými výsledky (**Andersson et al., 2010; Binyameen et al., 2014**) že **1,8 cineol** je sloučenina, která má anti-atraktivní účinky a snižuje tak přitažlivost *ips typographus* k jeho agregačnímu feromonu. Látka 1,8 cineol je produkovaná smrkem, který je nejčastěji vystaven stresovým podmínkám nebo je více odolný vůči náletu lýkožrouta smrkového. (**Kalinova et al., 2014; Schiebe, 2012**). Otázkou je proč odparník s nejnižší dávkou feromonu neměl nejmenší anti-atraktivní aktivitu. Pravděpodobně se jedná o nedokonalý design odparníku s nízkým k.o., protože vývoj odparníků s nízkým k.o. u těkavých látek je velmi obtížné a mohlo dojít k zanesení chyb z naší strany.

Další látkou, která snižovala odchvy na feromon byl **trans-4-thujanol**, a to v závislosti na dávce. Tuto látku **trans-4-thujanol** testoval ve své i **Kamil Košík**, který ve své diplomové práci na téma „Určení aktivity trans-4-thujanolu na odchyt

lýkožrouta smrkového (*Ips typographus* L.) do feromonových lapačů“ (2019) FLD, CZU v Praze dokázal, že právě tato látka snižuje odchyty lýkožroutů smrkových. Tyto látky se neoznačují jako repelent, protože nejsou menší odchyty na trans-4-thujanol než do prázdného lapače.

Látka, na kterou bych dále rád poukázal je **estragole** (allylanisole). U této látky bylo detekována anti-atraktivní aktivita obzvláště v nízké dávce a mohlo by se jednat o potenciální anti-atraktant. Estragole má již prokázanou anti-atraktivní aktivitu u jiných druhů kůrovců, např. u *dendroctonus ponderosae* a *ips pini*. (**Hayes and Strom 1994**). V tomto výzkumu byla tato látka použita na lýkožrouta smrkového a po vyhodnocení se prezentovala jako potencionální anti-atraktant. Odchyty brouků však byly sníženy hlavně u odparníku, který odpařoval slabou dávku, tj. 0,1 mg/den a odchytilo se na něj 2 158 ks. Tento počet nám ukázal jisté snížení.

Podle našich výsledků látky, které na druhou starnu mohou mít atraktivní účinek, a zvyšují tak atraktivitu a potenci feromonu jsou **pinocamphone**, **isopinocamphone** a **carvone**, a to hlavně u středního k.o. Pokud by došlo k dalšímu testování těchto látek a projevila se u nich následná aktivita, tak by mohly postoupit jako látky do praktického testování zaměřeného na zvýšení účinnosti feromonových odparníků pro praktický management lýkožrouta smrkového.

Na základě našich výsledků můžeme potvrdit, že pro lýkožrouta smrkového je nanejvýš důležité pro životaschopnost, a hlavně pro další reprodukci získat co nejvíce informací o fyziologickém stavu potencionálního hostitelského stromu. Složení buketu hostitelského stromu, včetně látek, které jsou v minoritní kvantitě, ale mají fyziologický (receptory na tykadle) i behaviorální, (viz výsledky této DP) význam, může mít vliv na konečné rozhodnutí brouků, zda strom obsadí nebo ne.

Důležitou poznámkou je, že během průběhu tohoto výzkumu probíhala kousek od našich testovaných ploch těžba kůrovcem napadeného dřeva společně s jeho asanací. Tato činnost mohla mít vliv na počty odchycených brouků, kdy mohlo dojít k lehkému nadhodnocení nebo podhodnocení počtu odchycených brouků.

## 16 Závěr

Diplomová práce byla zaměřena na alternativní metody v ochraně lesa v boji proti lýkožroutu smrkovému (*ips typographus L.*). V polním pokusu s feromonovými lapači jsme otestovali aktivitu devíti oxidovaných monoterpenů původem ze smrku ztepilého. U těchto látek byla zaznamenána aktivita na tykadle lýkožrouta smrkového (Schiebe et al. 2019).

Pro těchto devět testovaných látek camphor, pinocamphon, isopinocamphonu, terpinen-4-ol, carvon a  $\alpha$ -terpineol, fenolu estragolu plus referenčních 1,8-cineol a trans-4-thujanol jsme vyvinuli nové odparníky s daným koeficientem odparu, který jsme zjistili pomocí gravimetrické metody v laboratorních a polních podmínkách. Pro každou látku jsme vybrali 3 designy odparníků, a to s nejbližším koeficientem námi požadovaného odparu, který jsme si stanovili. Jednalo se o 0,01 mg/den pro nízký k.o (L), pro střední k.o. (M) 0,1 mg/den a pro vysoký k.o. (H) 10 mg/den.

Biologickou aktivitu látek jsme testovali v polním pokusu společně s feromonovými odparníky pro porovnání odchytů lýkožrouta smrkového na kombinaci testovaných látek s feromonem, vůči feromonu samotnému. V polním experimentu jsme ve 31 stabilně umístěných feromonových lapačích rotovali dle softwarově generovaného randomizačního schématu 32 různých návnad. Během výzkumu jsme provedli celkem 28 rotací. Celkově bylo do feromonových lapačů odchyceno **134 042** brouků lýkožrouta smrkového, a to byl dostatečný počet pro vyhodnocení pomocí statistické analýzy.

Aktivita testovaných látek byla porovnávána pro každý koeficient odparu a pro všechny koeficienty odparu se zpracováním relativních odchytů brouků pro každou rotaci s použitím negativně binomického modelu. Získané výsledky pak potvrdily největší anti-atraktivní aktivitu u dvou již známých anti-atraktantů **1,8 cineolu a trans-4-thujanolu**. Také byla prokázána slabší anti-atraktivní aktivita u **estragolu**. Nižší odchyty vůči feromonu prokazovaly také alpha-terpineol a terpinen-4-ol ve střední dávce odparu.

Na druhé straně látky, které statisticky prokazatelně zvyšovaly podíl na odchycených broucích lýkožrouta smrkového vůči samotnému feromonu byly

**isopinocamphon** a **pinocamhon**. Další látkou, kterou můžeme zařadit mezi atraktivní je **carvon** ve střední dávce odparu.

Přestože variabilita mezi jednotlivými rotacemi, kdy její příčinou bylo provedení pokusu v dlouhém časovém úseku, a také v průběhu probíhaly lesnické asanační zásahy v blízkém okolí testovacích ploch byla veliká, tak i přes to, jsou závěry z našeho experimentu prokazatelné.

S látkami, u kterých byla zjištěna aktivita budou provedeny další pokusy s ochranou stromů pomocí anti-atraktantů (1,8-cineol, trans-4-thujanol, estragol) nebo se zvýšením efektivity feromonových odparníků (jedná se především o komerčně dostupný carvon). Na základě získání jejich výsledků pak bude vyhodnocováno, zda mají tyto látky potenciál právě pro management lýkožrouta smrkového.

## 17 Přehled literatury a použitých zdrojů

ANDERSSON, Martin N. Mechanisms of Odor Coding in Coniferous Bark Beetles: From Neuron to Behavior and Application. *Psyche: A Journal of Entomology* [online]. 2012, 2012, 1-14 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.1155/2012/149572. ISSN 0033-2615. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/psyche/2012/149572/>

ANDERSSON, Martin N., Mattias C. LARSSON a Fredrik SCHLYTER, 2009. Specificity and redundancy in the olfactory system of the bark beetle *Ips typographus*: Single-cell responses to ecologically relevant odors. *Journal of Insect Physiology*. 55(6), 556-567. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2009.01.018. ISSN 00221910. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022191009001346>

BAKKE, A., P. FRÖYEN a L. SKATTEBÖL. Field response to a new pheromonal compound isolated from *Ips typographus*. *Naturwissenschaften* [online]. 1977, 64(2), 98-99 [cit. 2020-06-03]. DOI: 10.1007/BF00437364. ISSN 0028-1042. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/BF00437364>

BIES, Roman. *Lesnícka botanika špeciálna a fytoológia: návody na cvičenia*. Zvolen: Technická univerzita, 1999. ISBN 80-228-0807-5.

BIRGERSSON, G., Schlyte a F. LÖFQVIS. Quantitative variation of pheromone components in the spruce bark beetle *Ips typographus* from different attack phases. *Journal of Chemical Ecology*. 1984, 1029–1055(10).. DOI: 10.1007/BF00987511. ISSN 0098-0331. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/BF00987511>

BLOMQUIST, G., Russell JURENKA, Coby SCHAL a Clous TITTIGER. *Insect Endocrinology: Pheromone Production: Biochemistry and Molecular Biology*. USA: Copyright © 2012 Elsevier B.V. All rights reserved, 2012. ISBN 978-0-12-384749-2.

BONELLO, Pierluigi, Thomas R. GORDON, Daniel A. HERMS, David L. WOOD a Nadir ERBILGIN. Nature and ecological implications of pathogen-induced systemic resistance in conifers: A novel hypothesis. *Physiological and Molecular Plant Pathology* [online]. 2006, 68(4-6), 95-104 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.1016/j.pmpp.2006.12.002. ISSN 08855765. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0885576506000877>

BYERS, John A. Equations for nickel–chromium wire heaters of column transfer lines in gas chromatographic–electroantennographic detection (GC–EAD). *Journal of Neuroscience Methods* [online]. 2004, 135(1-2), 89-93 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2003.12.004. ISSN 01650270. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S016502700300431X>

BYERS, J. A. Chemical ecology of bark beetles. *Experientia* [online]. 1989, 45(3), 271-283 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.1007/BF01951813. ISSN 0014-4754. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/BF01951813>

481000. ČSN 48 1000: Ochrana lesa proti kůrovčům na smrku. 72354. 481000: EAN kód: 8590963723549, 2005.

DASS, Chhabil, Dominic M. DESIDERIO a Nico M. NIBBERING. *Fundamentals of Contemporary Mass Spectrometry*. John Wiley, 2007. ISBN 0471682292.

DOLEZAL, Petr, Jan OKROUHLIK a Marketa DAVIDKOVA. Fine fluorescent powder marking study of dispersal in the spruce bark beetle, *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae). *European Journal of Entomology* [online]. 2016, 113 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.14411/eje.2016.001. ISSN 12105759. Dostupné z: <http://www.eje.cz/doi/10.14411/eje.2016.001.html>

ERBILGIN, Nadir, Paal KROKENE, Torstein KVAMME a Erik CHRISTIANSEN. A host monoterpene influences *Ips typographus* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) responses to its aggregation pheromone. *Agricultural and Forest Entomology* [online]. 2007, 9(2), 135-140 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.1111/j.1461-9563.2007.00329.x. ISSN 1461-9555. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1461-9563.2007.00329.x>

FRANCESCHI, Vincent R., Paal KROKENE, Erik CHRISTIANSEN a Trygve KREKLING. Anatomical and chemical defenses of conifer bark against bark beetles and other pests. *New Phytologist* [online]. 2005, 167(2), 353-376 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2005.01436.x. ISSN 0028646X. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1469-8137.2005.01436.x>

HAYES, J. L. a B. L. STROM. 4-Allylanisole as an Inhibitor of Bark Beetle (Coleoptera: Scolytidae) Aggregation. *Journal of Economic Entomology* [online]. 1994, 87(6), 1586-1594 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.1093/jee/87.6.1586. ISSN 1938-291X. Dostupné z: <http://academic.oup.com/jee/article/87/6/1586/853055/4Allylanisole-as-an-Inhibitor-of-Bark-Beetle>

HOLUŠA, Jaroslav, ZAHRADNÍK, Petr, ed. *Metodická příručka integrované ochrany rostlin pro lesní porosty*. Kostelec nad Černými lesy: Lesnická práce, 2014. ISBN 978-80-7458-057-4.

HOLUŠA, Jaroslav, Jan LUBOJACKÝ a Karolina LUKÁŠOVÁ. Využití otrávených lapáků ve formě trojnožek proti lýkožroutu smrkovému (*Ips typographus* L.) a lýkožroutu severskému (*Ips duplicatus* Sahlberg) (Coleoptera: Curculionidae): certifikovaná metodika. Strnady: Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, 2016. Lesnický průvodce. ISBN 978-80-7417-113-0.

HUNT, D. W. A., J. H. BORDEN, B. S. LINDGREN a G. GRIES. The role of autoxidation of  $\alpha$ -pinene in the production of pheromones of *Dendroctonus ponderosae* (Coleoptera: Scolytidae). *Canadian Journal of Forest Research* [online]. 1989, 19(10), 1275-1282 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.1139/x89-194. ISSN 0045-5067. Dostupné z: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.1139/x89-194>

JAKUŠ, Rastislav a Miroslav BLAŽENEC, ed. *Principy ochrany dospělých smrekových porastov pred podkôrnym hmyzom*. Zvolen: Ústav ekológie lesa SAV, 2015. ISBN 978-80-89408-21-4.

JAKUŠ, Rastislav, Jaroslav HOLUŠA a Miroslav BLAŽENEC. *Principy ochrany dospělých smrkových porostů před podkorním hmyzem*. 1. vydání. ČZU Praha, 2015, 198 s. ISBN 978-80-213-2605-7.

KINDLMANN, Pavel, Karel MATĚJKA a Petr DOLEŽAL. *Lesy Šumavy, lýkožrout a ochrana přírody*. Praha: Karolinum, 2012. ISBN 978-80-246-2155-5.

KROKENE, P., N. E. NAGY a H. SOLHEIM. Methyl jasmonate and oxalic acid treatment of Norway spruce: anatomically based defense responses and increased resistance against fungal infection. *Tree Physiology* [online]. 2008, 28(1), 29-35 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.1093/treephys/28.1.29. ISSN 0829-318X. Dostupné z: <https://academic.oup.com/treephys/article-lookup/doi/10.1093/treephys/28.1.29>

KREMER, Bruno P. *Stromy: v Evropě zdomácnělé a zavedené druhy*. Ilustroval Hans HELD. Praha: Knižní klub, 1995. Průvodce přírodou (Knižní klub). ISBN 80-7176-184-2.

KŘÍSTEK, Jaroslav a Jaroslav URBAN. *Lesnická entomologie*. Vyd. 2., upr. Praha: Academia, 2013. ISBN 978-80-200-2237-0.

LEUFVÉN, Anders, Gunnar BERGSTRÖM a Enevold FALSEN. Interconversion of verbenols and verbenone by identified yeasts isolated from the spruce bark beetle *Ips typographus*. *Journal of Chemical Ecology* [online]. 1984, 10(9), 1349-1361 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.1007/BF00988116. ISSN 0098-0331. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/BF00988116>

LEUFVÉN, A. a G. BIRGERSSON. Quantitative variation of different monoterpenes around galleries of *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae) attacking Norway spruce. *Canadian Journal of Botany* [online]. 1987, 65(5), 1038-1044 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.1139/b87-144. ISSN 0008-4026. Dostupné z: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/10.1139/b87-144>

LINDMARK-HENRIKSSON, Marica, Dan ISAKSSON, Tomáš VANĚK, Irena VALTEROVÁ, Hans-Erik HÖGBERG a Kristina SJÖDIN. Transformation of terpenes using a *Picea abies* suspension culture. *Journal of Biotechnology* [online]. 2004, 107(2), 173-184 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2003.10.009. ISSN 01681656. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168165603002876>

MADĚRA, Petr a Luboš ÚRADNÍČEK. *Dřeviny České republiky*. Písek: Matice lesnická, c2001. ISBN 80-86271-09-9.

MAHMOUD, Soheil S a Rodney B CROTEAU. Strategies for transgenic manipulation of monoterpene biosynthesis in plants. *Trends in Plant Science* [online]. 2002, 7(8), 366-373 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.1016/S1360-1385(02)02303-8. ISSN 13601385. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1360138502023038>

MUSIL, Ivan a Jan HAMERNÍK. *Jehličnaté dřeviny: přehled nahosemenných i výtrusných dřevin: lesnická dendrologie 1*. Praha: Academia, 2007. ISBN 978-80-200-1567-9.

MYRICK, Andrew J. a Thomas C. BAKER. Chopper-stabilized gas chromatography-electroantennography: Part I. Background, signal processing and example. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 2012, 31(1), 197-204 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.1016/j.bios.2011.10.017. ISSN 09565663. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956566311006853>

PETTERSSON, Eva a Wilhelm BOLAND. Potential parasitoid attractants, volatile composition throughout a bark beetle attack. *Chemoecology* [online]. 2003, 13(1), 27-37 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.1007/s000490300003. ISSN 0937-7409. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s000490300003>

PFEFFER, Antonín. *Kůrovec: Lýkožrout smrkový a boj proti němu*. 2. přeprac. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1954, 46 s.

*Praktická rukověť lesnická*. Praha: SZN, 1962. Lesnická knihovna (Státní zemědělské nakladatelství).

RAFFA, K.F., M.N. ANDERSSON a F. SCHLYTER. Host Selection by Bark Beetles. *Pine Bark Beetles* [online]. Elsevier, 2016, 2016, s. 1-74 [cit. 2020-06-02]. *Advances in Insect Physiology*. DOI: 10.1016/bs.aiip.2016.02.001. ISBN 9780128027233. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065280616300029>



RUDINSKY, J. A. Ecology of Scolytidae. Annual Review of Entomology [online]. 1962, 7(1), 327-348 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.1146/annurev.en.07.010162.001551. ISSN 0066-4170. Dostupné z: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.en.07.010162.001551>

SHIEBE, Christian. Attraction and Resistance in the *Picea abies* – *Ips typographus* System: Host Choice in the Eurasian Spruce Bark Beetle. Christian Schiebe, Alnarp, 2012. ISBN 978 -91-576-7738-9.

SCHIEBE, Christian, Almuth HAMMERBACHER, Göran BIRGERSSON, et al. Inducibility of chemical defenses in Norway spruce bark is correlated with unsuccessful mass attacks by the spruce bark beetle. Oecologia [online]. 2012, 170(1), 183-198 [cit. 2020-06-03]. DOI: 10.1007/s00442-012-2298-8. ISSN 0029-8549. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00442-012-2298-8>

SCHLYTER, Fredrik, GÉran BIRGERSSON, John A. BYERS, Jan LÖFQVIST a Gunnar BERGSTRÖM. Field response of spruce bark beetle, *Ips typographus*, to aggregation pheromone candidates. Journal of Chemical Ecology [online]. 1987, 13(4), 701-716 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.1007/BF01020153. ISSN 0098-0331. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/BF01020153>

SCHNEIDER, Dietrich. Elektrophysiologische Untersuchungen von Chemo-und Mechanorezeptoren der Antenne des Seidenspinners *Bombyx mori* L. Zeitschrift für Vergleichende Physiologie [online]. 1957, 40(1), 8-41 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.1007/BF00298148. ISSN 0340-7594. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/BF00298148>

SINGER, Andrew C, David E CROWLEY a Ian P THOMPSON. Secondary plant metabolites in phytoremediation and biotransformation. Trends in Biotechnology [online]. 2003, 21(3), 123-130 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.1016/S0167-7799(02)00041-0. ISSN 01677799. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167779902000410>

SKUHRAVÝ, Václav. Lýkožrout smrkový *Ips typographus* (L.) a jeho kalamity. Praha: Agrospoj, 2002. ISBN 80-7084-238-5.

SLÁVIK, Martin a Václav BAŽANT. Dřevařská dendrologie I. V Praze: Česká zemědělská univerzita, 2016. ISBN 9788021326224

Škodliví činitelé v lesích Česka: Sborník referátů z celostátního semináře s mezinárodní účastí: ... Praha: Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, [199]-. ISBN 80-86461-27-0. ISSN 1211-9342.

ŠVESTKA, Milan, Vlastislav JANČAŘÍK a Richard HOCHNUT. Praktické metody v ochraně lesa. 2. dopl. vyd. Praha: Ministerstvo zemědělství ČR, 1996. ISBN 80-902033-1-0. Dostupné také z: <http://www.digitalniknihovna.cz/mzk/uuid/uuid:48e190c0-a474-11e2-9a08-005056827e52>

VĚTVIČKA, Václav. Evropské stromy. Ilustroval Jan MAGET. Praha: Aventinum, 1999. Průvodce přírodou (Aventinum). ISBN 80-7151-104-8.

VITÉ, J. P., A. BAKKE a J. A. A. RENWICK. PHEROMONES IN IPS (COLEOPTERA: SCOLYTIDAE). The Canadian Entomologist [online]. 1972, 104(12), 1967-1975 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.4039/Ent1041967-12. ISSN 0008-347X. Dostupné z: [https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0008347X00023208/type/journal\\_article](https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0008347X00023208/type/journal_article)

Vyhláška MZe č.76/2018 Sb.

WOOD, D.L., L.E. BROWNE, R.M. SILVERSTEIN a J.O. RODIN. Sex pheromones of bark beetles—I. Mass production, bio-assay, source, and isolation of the sex pheromone of *Ips confusus* (LeC.). Journal of Insect Physiology [online]. 1966, 12(5), 523-536 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.1016/0022-1910(66)90091-6. ISSN 00221910. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0022191066900916>

WOOD, D L. The Role of Pheromones, Kairomones, and Allomones in the Host Selection and Colonization Behavior of Bark Beetles. Annual Review of Entomology [online]. 1982, 27(1), 411-446 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.1146/annurev.en.27.010182.002211. ISSN 0066-4170. Dostupné z: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.en.27.010182.002211>

ZAHRADNÍK, Petr, Jan ŽDÁREK a Jan LIŠKA. Feromony hmyzu v ochraně lesa. Praha: Ministerstvo zemědělství ČR, 1993. ISBN 80-7084-068-4.

ZAHRADNÍK, Petr. Základy ochrany lesa v praxi. Jiloviště-Strnady: VÚLHM, 2005. ISBN 80-86461-61-0.

ZHANG, Zhilin, Ting YANG, Yike ZHANG, Lihua WANG a Yongjian XIE. Fumigant toxicity of monoterpenes against fruitfly, *Drosophila melanogaster*. Industrial Crops and Products [online]. 2016, 81, 147-151 [cit. 2020-06-02]. DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.11.076. ISSN 09266690. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669015305793>

ZUMR, Václav. Lýkožrout smrkový-biologie, prevence a metody boje. Písek: Matice lesnická, 1995. ISBN 80-900043-2-9.

## **Internetové zdroje**

HULCR., 2004: Lýkožrout v lese z pohledu entomologa. Databáze online [cit. 2008-02-13]. Dostupné z <http://lesprace.silvarium.cz>.

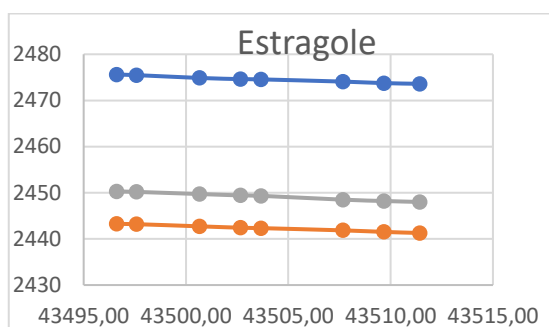
CHUDOBA, Josef. Centrální laboratoře VŠCHT Praha: Hmotnostní spektrometrie [online]. 1.2.2016. Dostupné z: <https://clab.vscht.cz/ms/spektrometrie-ms>.

MRKVA R., 1999: Kdo je lýkožrout smrkový? Databáze online [cit. 2009-03-16]. Dostupné z <http://www.biomed.cas.cz>

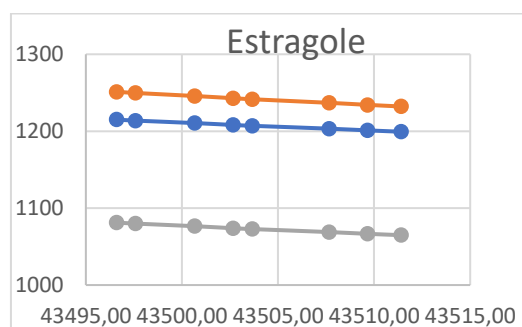
## 18 Přílohy

### Stanovení koeficientu odparu pro design odparníků

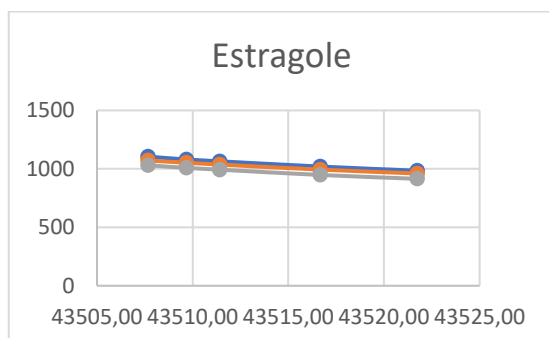
V přílohách jsou přidány grafy, díky kterým jsme nadesignovali poměry odparu dávky pro jednotlivé sloučeniny v mg na den pomocí gravimetrické metody. Typy odparu byly tvořeny pro různé typy odparníků. Odparu byly stanoveny jak pro vnitřní (laboratorní), tak i polní podmínky.



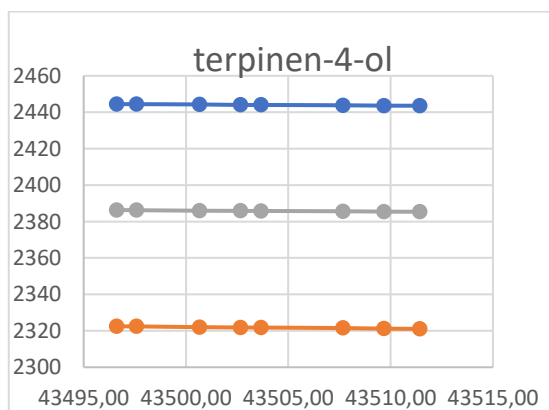
**Graf 6:** Slabý odpar pro směs estragole 0,01 mg/den. (skleněná vialka, díra do septa jehlou)



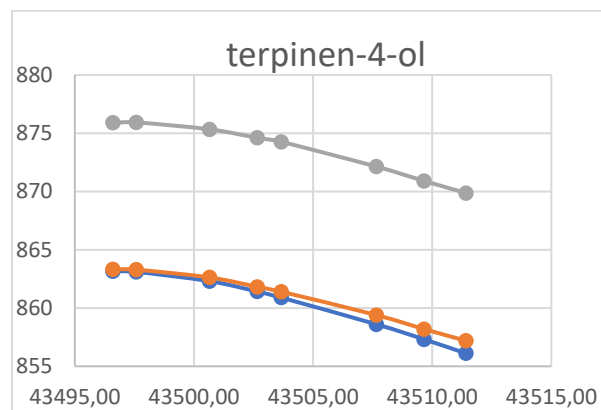
**Graf 7:** Střední odpar pro směs estragole 0,1 mg/den. (pytlík s dírou kapilárou (o 2 mm).



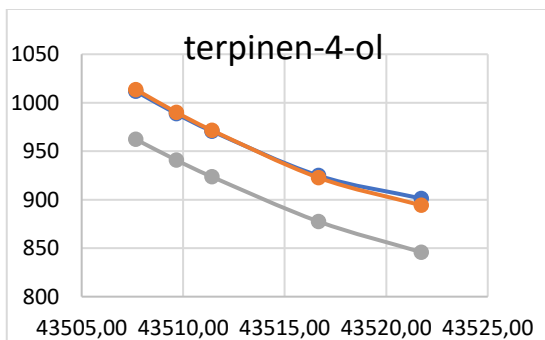
**Graf 8:** Vysoký odpar pro směs estragole 10 mg/den. (pytlík K1).



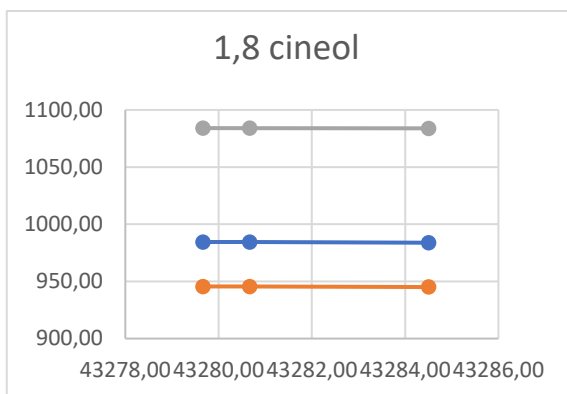
**Graf 9:** Slabý odpar pro směs terpinen-4-ol 0,1 mg/den (skleněná vialka, díra do septa jehlou).



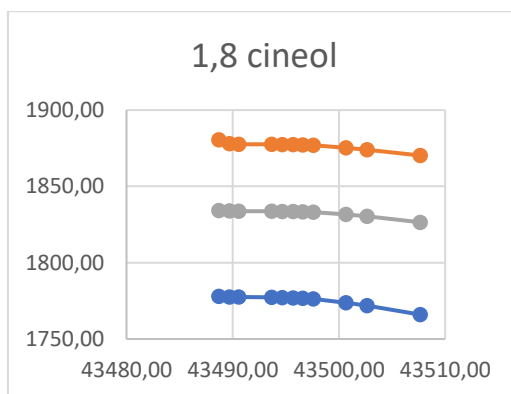
**Graf 7:** Střední odpar pro směs terpinen-4-ol 1 mg/den. (kartelka 730, uzavřená).



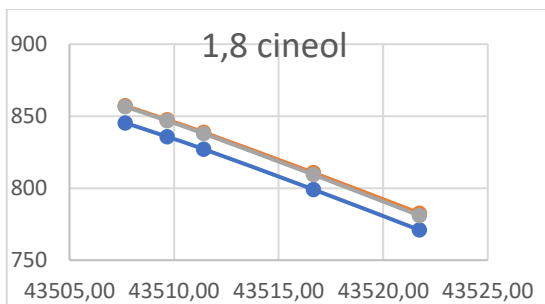
**Graf 8:** Vysoký odpar směsi terpinen-4-ol 10 mg/den. (pytlík K3).



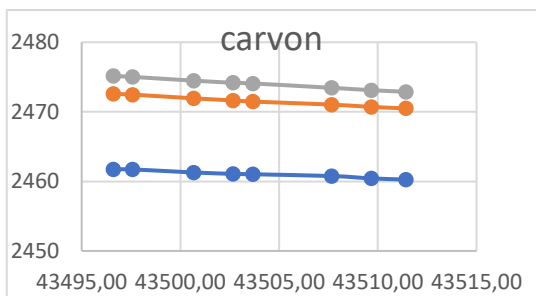
**Graf 9:** Slabý odpar směsi 1,8 cineol 0,1mg/den. (kartelka 730 uzavřená s parafinovým olejem.).



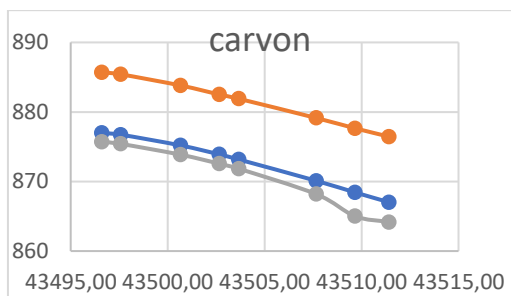
**Graf 13:** Střední odpar směsi 1,8 cineol 1 mg/den (kartelka 731, uzavřená s paraf. olejem).



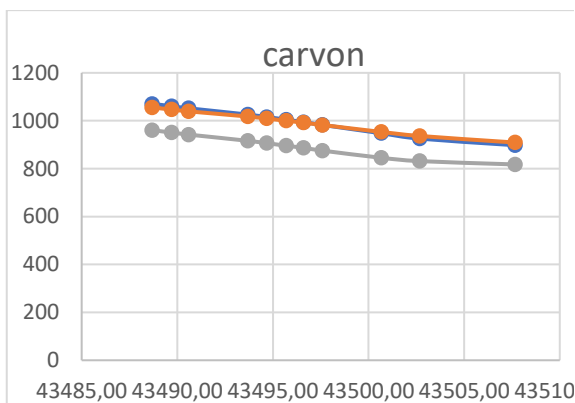
**Graf 14:** Vysoký odpar směsi 1,8 cineol 10 mg/den (kartelka 730, díra kapilárou).



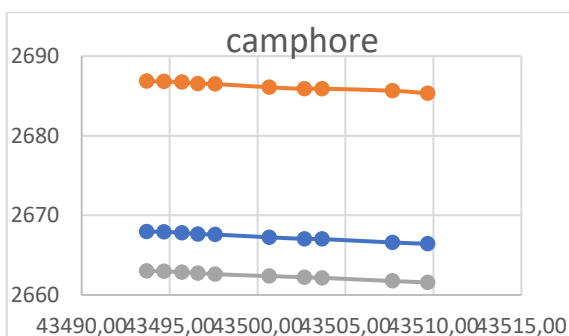
**Graf 15:** Slabý poměr odparu směsi carvon 0,1mg/den (skleněná vialka, díra do septa drátem).



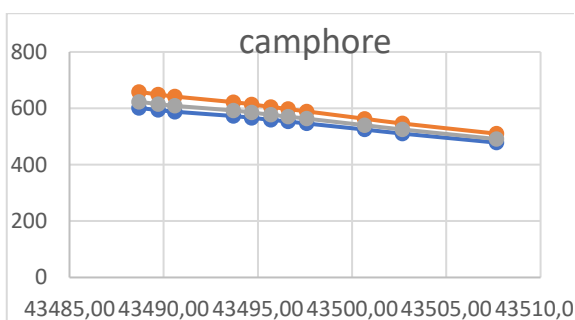
**Graf 10:** střední poměr odparu směsi carvon 1 mg/den (kartelka 730, uzavřená).



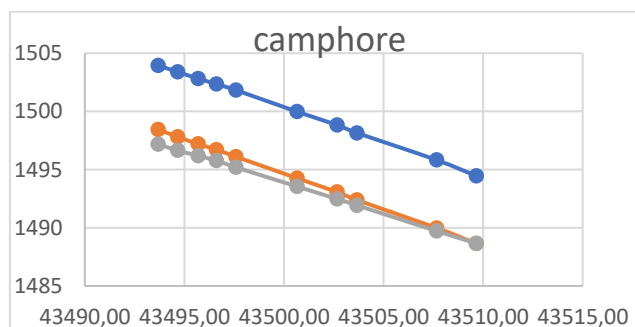
**Graf 11:** Vysoký poměr odparu směsi carvon 10 mg/den (pytlík (normál) s dírou K3).



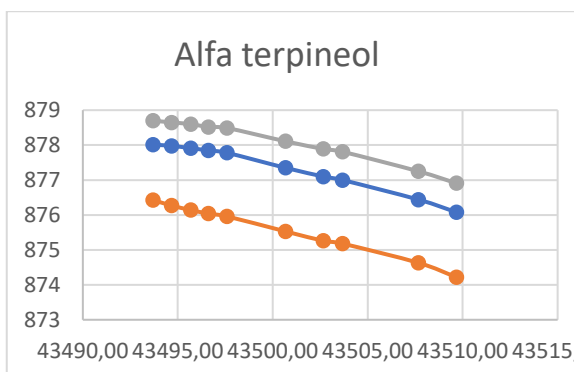
**Graf 12:** Slabý poměr odparu směsi camphore 0,1 mg/den (skleněná vilka, díra jehlou do septa).



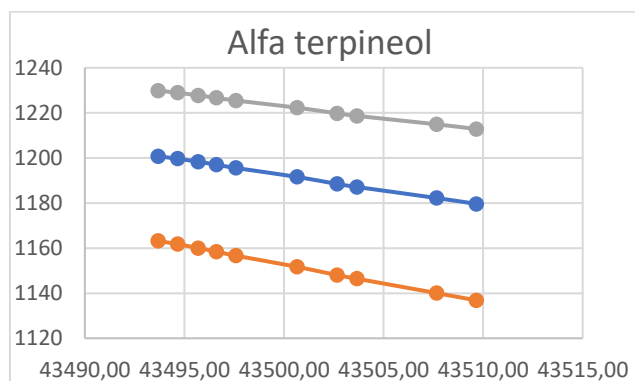
**Graf 13:** Vysoký poměr odparusměsi camphore 10 mg/den (pytlík - jen plast, větší o 1/4 bez díry).



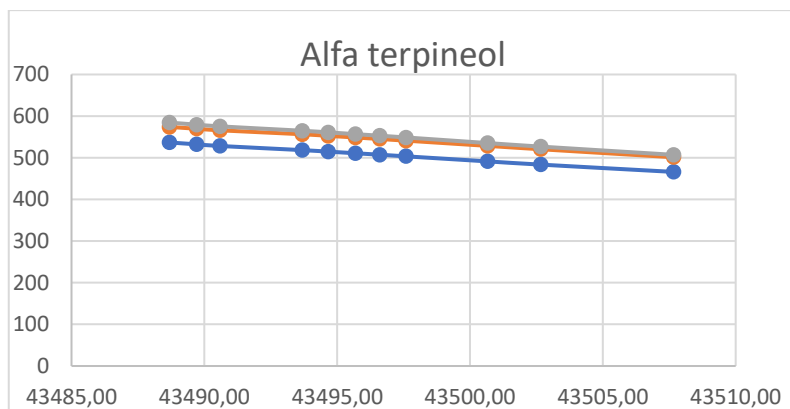
**Graf 20:** Střední poměr odparu směsi camphore 1 mg/den (kartelka 731, díra ve víčku).



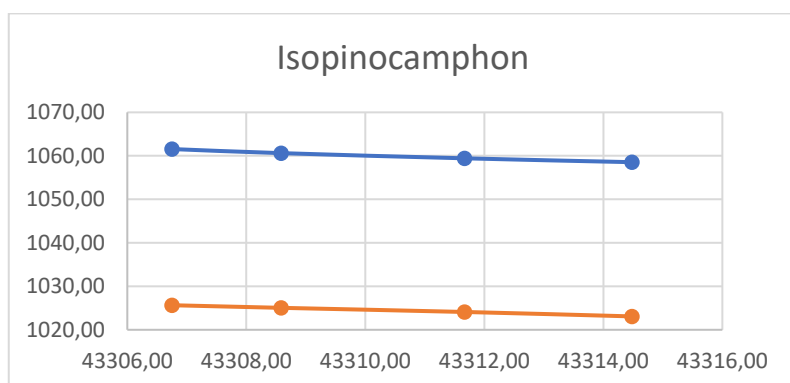
**Graf 21:** Slabý poměr odparu směsi alfa terpineol 0,1 mg/den (kartelka 730, uzavřená).



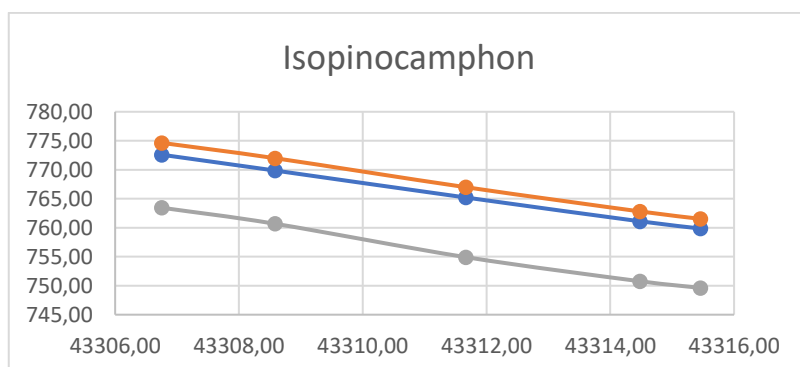
**Graf 14:** Střední poměr odparu směsi alfa terpineol 1 mg/den (pytlík, díra K1).



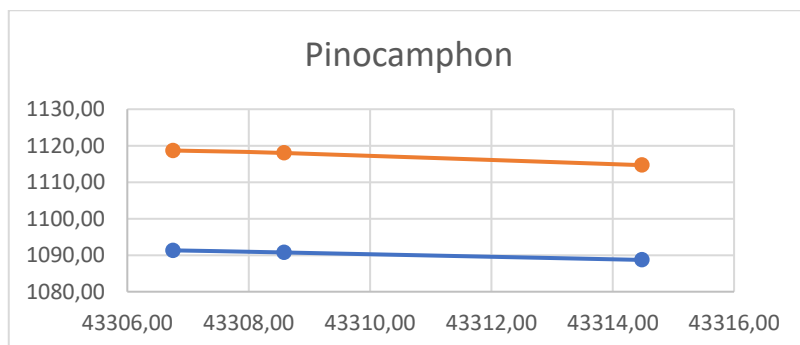
**Graf 15:** Vysoký poměr odparu směsi alfa terpineol 10 mg/den (pytlík v tvrdším plastu, bez fólie, bez díry).



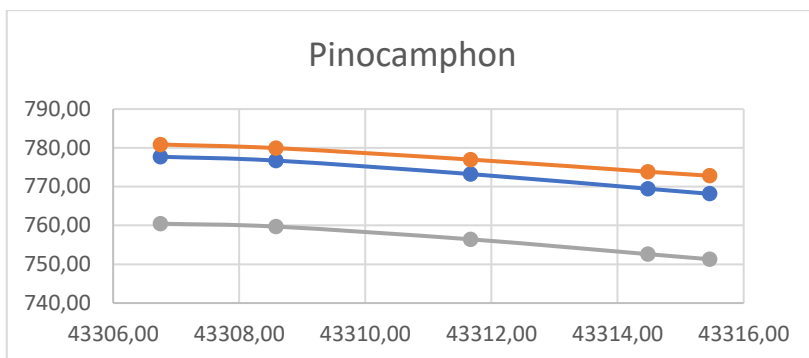
**Graf 16:** Slabý poměr odparu směsi isopinocamphon 0,1 mg/den (sáček, otvor stříkačkou).



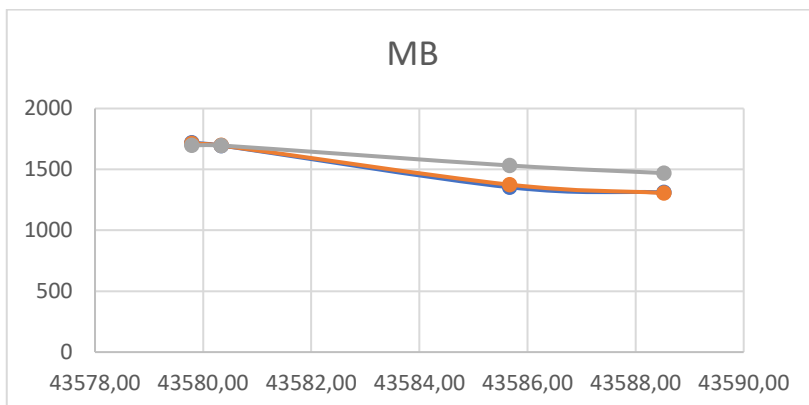
**Graf 17:** Střední poměr odparu směsi isopinocamphon 1 mg/den (kartelka 730 uzavřená).



**Graf 18:** Slabý poměr odparu směsi pinocamphon 0,1 mg/den (sáček, otvor stříkačkou).



**Graf 19: Slabý poměr odparu směsi pinocamphon 0,1 mg/den (kartelka 730 uzavřená).**



**Graf 20: Poměr odparu Mb 50 mg/den.**



Negativně binomické modely, pro každý koeficient odparu testovaných látek.

Tabulka 5: Negativně binomický model: Výstupy monoterpenů. Testování varianti H.

Tab. 5	Estimate	Std, Error	z value	Pr(> z )	
feromon	1,61336	0,11005	14,661	< 2e-16	***
1,8 cineole	-1,64973	0,25739	-6,409	1,46E-10	***
trans-4-thujanol	-1,35375	0,23825	-5,682	1,33E-08	***
alfa terpineol	-0,51475	0,20278	-2,538	0,01113	*
camphore	-0,53155	0,20328	-2,615	0,00892	**
carvon	-0,30117	0,19706	-1,528	0,12642	
estragole	-0,83962	0,21375	-3,928	8,56E-05	***
isopinocampore	-0,00535	0,19071	-0,028	0,97762	
pinocampore	-0,25697	0,196	-1,311	0,18982	
terpinen-4-ol	-0,42378	0,20021	-2,117	0,03429	*

Tabulka 6: Negativně binomický model: Výstupy monoterpenů. Testování varianty H.

Tab. 6	Estimate	Std, Error	z value	Pr(> z )	
1,8 cineole	-0,03637	0,23268	-0,156	0,8758	
trans-4-thujanol	0,29598	0,31432	0,942	0,34637	
alfa terpineol	1,13498	0,28836	3,936	8,29E-05	***
camphore	1,11817	0,28871	3,873	0,00011	***
carvon	1,34855	0,28436	4,742	2,11E-06	***
estragole	0,81011	0,29618	2,735	0,00623	**
isopinocampore	1,64438	0,28	5,873	4,29E-09	***
pinocampore	1,39275	0,28363	4,91	9,09E-07	***
terpinen-4-ol	1,22595	0,28656	4,278	1,88E-05	***
feromon	1,64973	0,2574	6,409	1,46E-10	***

Tabulka 7: Negativně binomický model: Výstupy monoterpenů. Testování varianty M.

Tab. 7	Estimate	Std, Error	z value	Pr(> z )	
feromon	1,61336	0,10335	15,611	< 2e-16	***
F1,8 cineole	-0,65922	0,19668	-3,352	0,000803	***
Ftrans-4-thujanol	-1,02557	0,21159	-4,847	1,25E-06	***
Falfa terpineol	0,01378	0,17873	0,077	0,938551	
Fcamphore	-0,41835	0,18905	-2,213	0,0269	*
Fcarvon	0,13584	0,17646	0,77	0,441417	
Festragole	-0,54006	0,19271	-2,802	0,005072	**
Fisopinocampore	-0,23333	0,18415	-1,267	0,205133	
Fpinocampore	-0,84457	0,20368	-4,147	3,37E-05	***
Fterpinen-4-ol	-0,21818	0,18379	-1,187	0,235182	

Tabulka 8: Negativně binomický model: Výstupy monoterpenů. Testování varianty M.

Tab. 8	Estimate	Std, Error	z value	Pr(> z )	
F1,8 cineole	0,9541	0,1673	5,702	1,19E-08	***
trans-4-thujanol	-0,3664	0,2492	-1,47	0,1415	
alfa terpineol	0,673	0,222	3,032	0,002429	**
camphore	0,2409	0,2303	1,046	0,295713	
carvon	0,7951	0,2201	3,612	0,000304	***
estragole	0,1192	0,2334	0,511	0,609626	
isopinocampore	0,4259	0,2263	1,882	0,059896	.
pinocampore	-0,1854	0,2425	-0,764	0,444661	
terpinen-4-ol	0,441	0,226	1,951	0,051045	.
feromon	0,6592	0,1967	3,352	0,000803	***

Tabulka 9: Negativně binomický model: Výstupy monoterpenů. Testování varianty L.

Tab. 9	Estimate	Std, Error	z value	Pr(> z )	
feromon	1,61336	0,11027	14,631	< 2e-16	***
1,8 cineole	-1,24673	0,23263	-5,359	8,36E-08	***
trans-4-thujanol	-0,49122	0,20247	-2,426	0,01526	*
alfa terpineol	-0,6388	0,20698	-3,086	0,00203	**
camphore	-0,34943	0,19863	-1,759	0,07855	.
carvon	0,08879	0,18941	0,469	0,63924	
estragole	-1,08694	0,22464	-4,839	1,31E-06	***
isopinocampore	-0,22975	0,19575	-1,174	0,24052	
pinocampore	0,39438	0,18483	2,134	0,03286	*
terpinen-4-ol	-0,60566	0,20592	-2,941	0,00327	**

Tabulka 10: Negativně binomický model: Výstupy monoterpenů. Testování varianty L.

Tab. 10	Estimate	Std, Error	z value	Pr(> z )	
1,8 cineole	0,3666	0,2048	1,79	0,07348	.
trans-4-thujanol	0,7555	0,2661	2,84	0,00452	**
alfa terpineol	0,6079	0,2695	2,256	0,02409	*
camphore	0,8973	0,2632	3,41	0,00065	***
carvon	1,3355	0,2563	5,211	1,87E-07	***
estragole	0,1598	0,2833	0,564	0,57273	
isopinocampore	1,017	0,261	3,897	9,75E-05	***
pinocampore	1,6411	0,2529	6,489	8,63E-11	***
terpinen-4-ol	0,6411	0,2687	2,386	0,01704	*
feromon	1,2467	0,2326	5,359	8,36E-08	***

Poznámka: Signifikantní Kódy: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1