Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta lesnická a dřevařská

Katedra ochrany lesa a entomologie

Faktory ovlivňující zdravotní stav vybraných listnatých dřevin se zaměřením na patogeny rodu *Phytophthora*

Disertační práce

Autor: Ing. Markéta Macháčová

Školitel: doc. Ing. Vítězslava Pešková, Ph.D.
Konzultant: doc. Ing. Ivana Tomášková, Ph.D.

Praha

2024

Czech University of Life Sciences Prague

Faculty of Forestry and Wood Sciences

Department of Forest Protection and Entomology

Factors affecting the health status of selected deciduous trees with a focus on *Phytophthora* sp. pathogens

Ph.D. Thesis

Author: Ing. Markéta Macháčová

Supervisor: doc. Ing. Vítězslava Pešková, Ph.D.
Consultant: doc. Ing. Ivana Tomášková, Ph.D.

Prague

2024

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta lesnická a dřevařská

ZADÁNÍ DISERTAČNÍ PRÁCE

Ing. Markéta Macháčová

Lesní inženýrství

Ochrana lesů a myslivost

Název práce

Faktory ovlivňující zdravotní stav vybraných listnatých dřevin se zaměřením na patogeny rodu Phytophthora

Název anglicky

Factors affecting the health status of selected deciduous trees with a focus on Phytophthora sp. pathogens

---

Cíle práce

Cílem práce bude zhodnocení vlivu faktorů prostředí na zdravotní stav olše lepkavé a o. šedé v pobřežních oblastech Beskyd a v oblasti Povodí Vltavy se zaměřením na patogeny rodu Phytophthora. Konkrétní druhy patogenů budou identifikovány na základě molekulární genetiky a následně bude provedeno ověření úrovně patogenity získaných izolátů v rámci infekčních pokusů v kontrolovaných podmínkách simulujících změnu klimatu (zvýšená koncentrace CO2).
Dalším cílem bude zjištění faktorů způsobujících chřadnutí dubových porostů v České republice se zaměřením na výskyt patogenů r. Phytophthora a dalších houbových patogenů. Bude vypracován přehled faktorů působících chřadnutí dubových porostů se zaměřením na abiotické a biotické vlivy a posouzení aktuální situace chřadnutí dubových porostů v České republice.

Metodika

V posledních letech jsou v České republice napadány břehové porosty patogenem Phytophthora alni Brasier et S.A. Kirk. V oblasti západních Karpat a středních Čech (Povodí Vltavy) bude proveden monitoring a vyhodnocení úrovně napadení olší patogenem v souvislosti s faktory prostředí ovlivňujícími rozvoj choroby. Zároveň bude na vybraných plochách provedeno měření fyziologických parametrů (gazometrická měření, fluorescence, vodní potenciál) na symptomatických a asymptomatických jedincích.

V napadených porostech budou odebrány vzorky podkorních pletiv a vzorky půdy k zjištění druhového spektra patogenů r. Phytophthora, které budou ve spolupráci s externími pracovištěm morfologicky a geneticky identifikovány. V růstových komorách s regulovatelnou atmosférou budou provedeny infekční pokusy na sazenicích olše lepkavé, které budou uměle inokulovány izoláty získaných patogenů. V souvislosti s probíhající změnou klimatu budou pokusy probíhat v podmínkách zvýšené koncentrace CO2 v atmosféře. Dále bude testován vliv provenience dřeviny na rozvoj infekce u vybraných izolátů.

Patogeny r. Phytophthora jsou v posledních letech spojovány i s chřadnutím dubových porostů. Vzhledem k probíhající změně klimatu a zejména extrémně suchým periodám lze očekávat zhoršování zdravotního

stavu dubových porostů. Bude vypracován přehled faktorů působících chřadnutí a výsledky budou vyhodnoceny vícerozměrnými statistickými metodami. Dále bude v České republice vytipováno několik porostů s příznaky chřadnutí a bude provedeno vyhodnocení aktuálního zdravotního stavu. Na těchto lokalitách budou odebrány vzorky k izolaci patogenů r. Phytophthora. Dále budou kultivovány kotoučové výřezy k potvrzení výskytu dalších houbových patogenů, které se mohou podílet na tzv. tracheomykózním chřadnutí dubů.

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE
1906

Doporučený rozsah práce

60 NS odborného textu

Klíčová slova

Phytopthora alni, olše lepkavá, chřadnutí dubů, testy patogenity, zdravotní stav, rod Phytophthora

---

Doporučené zdroje informací

AJCHLER, M., ŁOBOCKA, M., OSZAKO, T. 2017. Pathogenic oomycetes of Phytophthora genus – a new threat to forests in Europe. Sylwan. 161 (10): 870-880.

BJELKE, U., BOBERG, J, OLIVA, J., TATTERSDILL, K., MCKIE, B. G. 2016. Dieback of riparian alder caused by the Phytophthora alni complex: Projected consequences for stream ecosystems. Freshw Biol. 61 (5): 565–79.

ČERNÝ, K., STRNADOVÁ, V., GREGOROVÁ, B., MRÁZKOVÁ, M. 2010. Onemocnění olší způsobené druhem Phytophthora alni Brasier & S.A. Kirk – identifikace choroby, odběr vzorků. Certifikovaná metodika č. 4/2011-056. VaV SP-2d1/36/07. Certifikace 1. 2. 2011 MŽP (čj. 6405/ENVV/11, 110565/ENV/10). VÚKOZ, Průhonice, 26 s.

HUSSON, C., AGUAYO, J., REVELLIN, C., FREY, P., IOOS, R., MARÇAIS, B. 2015. Evidence for homoploid speciation in Phytophthora alni supports taxonomic reclassification in this species complex. Fungal Genet Biol alni. 77: 12–21.

JUNG, T., ORLIKOWSKI, L., HENRICOT, B., ABAD-CAMPOS, P., ADAY, A. G., AGUÍN CASAL, O., et al. 2016. Widespread Phytophthora infestations in European nurseries put forest, semi-natural and horticultural ecosystems at high risk of Phytophthora diseases. For Pathol. 46 (2): 134–63.

REDONDO, M., A., BOBERG, J., OLSSON, C., H., B., and OLIVA, J. 2015. Winter conditions correlate with Phytophthora alni subspecies distribution in southern Sweden. Phytopathology 105: 1191-1197.

SANTINI, A., BIANCALANI, F., BARZANTI, G., P., CAPRETTI, P. 2006. Pathogenicity of four Phytophthora species on wild cherry and Italian alder seedlings. Journal of Phytopathology, 154: 163–167.

SCHMITTHENNER, A., F, BHAT, R., G. 1994. Useful methods for studying Phytophthora in the laboratory. Spec Circ – Ohio Agric Res Dev Cent. (143): 10 pp.

STEPNIEWSKA, H. 2005. Phytophthora spp. on beech seedlings in some forest nurseries of south Poland. Conference in Warsaw: Phytophthora spp. in Nurseries and Forest Stands: 47-52.

ZAMORA-BALLESTEROS, C., HAQUE, M., M., U, DIEZ. J., J.„ MARTÍN-GARCÍA, J. 2017. Pathogenicity of Phytophthora alni complex and P. plurivora in Alnus glutinosa seedlings. For. Pathol. 47 (2): 1–8.

Předběžný termín
2023/24 LS – FLD – SDZ

Vedoucí práce
doc. Ing. Vítězslava Pešková, Ph.D.

Garantující pracoviště
Katedra ochrany lesa a entomologie

Konzultant
doc. Ing. Ivana Tomášková, Ph.D.

Elektronicky schváleno dne 27. 05. 2019
prof. Ing. Jaroslav Holuša, Ph.D.
Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 07. 01. 2021
prof. Ing. Marek Turčáni, PhD.
Předseda oborové rady

Elektronicky schváleno dne 31. 08. 2022
prof. Ing. Róbert Marušák, PhD.
Děkan

V Praze dne 06. 09. 2024

"Prohlašuji, že jsem disertační práci na téma Faktory ovlivňující zdravotní stav vybraných listnatých dřevin se zaměřením na patogeny rodu *Phytophthora* vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací a doporučení školitele.

Souhlasím se zveřejněním disertační práce 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

Touto cestou bych ráda poděkovala své školitelce doc. Ing. Vítězslavě Peškové, Ph.D. za vedení mé disertační práce, velkou podporu a trpělivost při plnění všech povinností doktorského studia. Dále bych ráda poděkovala doc. Ing. Ivaně Tomáškové, Ph.D. za velmi inspirativní konzultace a skvělé terénní práce. Velké dík patří Dr. Ivanu Milenkovićovi, od kterého jsem měla možnost se naučit mnoho fytopatologických technik, a který byl pro mě velkou motivací pokračovat ve studiu.

Chtěla bych také vyjádřit poděkování Phytophthora Research Centre v Brně, kde jsem strávila mnoho dní v rámci stáže i následných konzultací nad společnou publikací. Jmenovitě děkuji za příjemně strávený společný čas Dr. Zoltánovi Árpádu Nagymu, Ing. Anetě Bačové, Dr. Tamaře Corcobado, Dr. Thomasu Jungovi, Ing. Josefu Janouškovi, Ph.D. a Dr. Marílii Hortě Jung.

Dále bych ráda poděkovala spoluautorům odborných publikací za společnou práci. Z řad svých kolegů na fakultě bych ráda vyjádřila poděkování za inspirativní a motivující společné diskuse doc. Ing. Otovi Nakládalovi, Ph.D., Ing. Mgr. Danielovi Baťovi a doc. Ing. Petrovi Šrůtkovi, Ph.D.

V neposlední řadě patří moje srdečné poděkování a vděk mým nejbližším za jejich podporu, bez které bych studium nikdy nedokončila.

Abstrakt

Rod *Phytophthora* zahrnuje významné patogeny, které se podílejí na odumírání listnatých dřevin. V souvislosti se změnou klimatu se může jejich význam dále zvětšovat, jelikož stromy oslabené periodami sucha a extrémními teplotními výkyvy se stávají náchylnějšími k napadení biotickými škůdci. Patogen *Phytophthora alni* je v Česku dlouhotrvajícím problémem břehových porostů. Mezi lety 2019 a 2023 bylo zhodnoceno 20 porostů olše lepkavé v povodí Vltavy, které ukázalo přetrvávající výskyt a další šíření fytoftorového onemocnění olší. Z 13 lokalit byl izolován patogen *Phytophthora ×alni*, ze dvou lokalit *P. uniformis*. Incidence příznaků napadení byla relativně nízká, nicméně během doby monitoringu došlo k nárůstu z 16,5 % na 18,5 % z celkového počtu 686 olší lepkavých. Na chřadnutí olší se také mohou podílet další druhy fytoftor, jejichž největší diverzita byla zjištěna v oblasti CHKO Český kras (*P. plurivora*, *P. lacustris*, *P. gallica, P. inundata*). Nejvýznamnějším faktorem pro šíření patogenu byla vzdálenost od vodního toku, dále přítomnost mostu nebo cesty přes vodní tok. Výsledky fyziologických měření v povodí Vltavy ukázaly, že rychlost fotosyntézy u napadených olší může být srovnatelná nebo dokonce vyšší než u zdravých jedinců. Olše také velmi dobře reaguje na příznivé meteorologické podmínky, což bylo zjištěno porovnáním fotosyntetických parametrů měřených v suchém roce 2020 a srážkově bohatším roce 2021. V oblasti povodí Odry nebyla prokázána přítomnost napadení *P. alni*, a žádné druhy r. *Phytophthora* nebyly zjištěny ani z půdy. U olše lepkavé i olše šedé zde byly naměřeny hodnoty fotosyntetických parametrů odpovídající zdravým stromům.

Izoláty fytoftor pocházející ze silně napadených olšových porostů v povodí Vltavy byly použity v experimentu s různými koncentracemi CO_2. V růstových komorách byly uměle infikovány sazenice olše lepkavé metodou tzv. podkorní inokulace. Z výsledků vyplývá, že *P. ×alni* a *P. uniformis* jsou srovnatelně patogenní vůči olši lepkavé, naopak *P. plurivora* nezpůsobila žádnou mortalitu a jen minimální léze. Mezi dvěma populacemi olší, pocházejícími z napadeného a zdravého porostu, nebyl zjištěn rozdíl v mortalitě nebo vývoji lézí. Vliv vyšší koncentrace CO_2 na příznaky napadení nebyl potvrzen, avšak u *P. ×alni* byly pozorovány průměrně menší plochy lézí při zvýšené úrovni CO_2.

Chřadnutí dubových porostů patří k dalším dlouhotrvajícím problémům v lesnictví. Analýza záznamů chřadnutí dubů v Evropě ukázala, že sucho je nejčastější predispoziční faktor. K chřadnutí dochází pravidelně po suchých obdobích trvajících přibližně 5 let v řadě, jak bylo zaznamenáno v 80. letech 20. století ve střední Evropě. Kromě sucha se obvykle zapojují i další faktory, jako jsou defoliátoři, kůrovci a další podkorní hmyz, patogeny nebo jiné abiotické vlivy. To bylo potvrzeno také v rámci studie v letech 2020−2021 na šesti dubových porostech s příznaky chřadnutí, které byly v předcházejících letech výrazně oslabeny suchem. Nejčetnějšími skupinami sekundárních škůdců byli tesaříci, kůrovci a krasci (včetně vzácných druhů). Výskyt ophiostomatálních hub byl statisticky významně korelován s výskytem nejčastějších druhů hmyzu v korunové části stromů. Patogen *Phytophthora plurivora* byl detekován ve vzorcích rhizosféry pouze na jedné vlhčí lokalitě s mírnějšími příznaky chřadnutí. Jelikož zde byla zaznamenána nejnižší intenzita

přítomnosti ophiostomatálních hub i nejnižší počet podkorního hmyzu, *P. plurivora* zde může být hlavní příčinou chřadnutí dubů.

Klíčová slova: *Phytophthora alni,* olše lepkavá, chřadnutí dubů, testy patogenity, fyziologické parametry, *Phytophthora plurivora*

Abstract

The genus *Phytophthora* includes important pathogens involved in the decline of deciduous trees. In the context of climate change, their importance may further increase as trees weakened mainly by periods of drought and extreme temperature fluctuations become more susceptible to attack by pathogens and pests. Infestation by the pathogen *Phytophthora alni* is a long-standing problem in riparian stands in the Czech Republic. Between 2019 and 2023, 20 stands of black alder in the Vltava River basin were evaluated, showing the persistence, and further spread of the *Phytophthora* alder decline. The pathogen *Phytophthora ×alni* was isolated from 13 sites, and *P. uniformis* from two sites. The incidence of symptoms of infestation was relatively low. However, during the monitoring period there was an increase from 16.5% to 18.5% of the total 686 black alders. Other *Phytophthora* species, which were found to be most abundant in the area of the Bohemian Karst Protected Landscape Area (*P. plurivora, P. lacustris, P. gallica, P. inundata*), may also contribute to the decline of alders. The most important factor for the spread of the pathogen is the distance from the watercourse, as well as the presence of a bridge or path over the watercourse. The results of physiological measurements in the Vltava basin have shown that the rate of photosynthesis in infected alders can be comparable to or even higher than in healthy individuals. Alder also responds very well to favourable meteorological conditions, which was found by comparing photosynthetic parameters measured in the dry year 2020 and the more rainfall-rich year 2021. In the Oder River basin, no *P. alni* infestation was detected, and no soil *Phytophthora* species were found. The values of photosynthetic parameters corresponding to healthy trees were measured for both black alder and grey alder.

Phytophthora isolates from heavily infested alder stands in the Vltava River basin were used in an experiment with different CO_2 concentrations. Black alder seedlings were artificially infected in growth chambers using the under-bark inoculation method. The results show that *P. ×alni* and *P. uniformis* are comparably pathogenic to black alder, whereas *P. plurivora* caused no mortality and only minimal lesions. There was no difference in mortality or lesion development between the two populations of alder from infested and healthy stands. The effect of higher CO_2 concentration on infestation symptoms was not confirmed, but on average, smaller lesion areas were observed in *P. ×alni* at the elevated CO_2 level.

Oak decline is another long-standing problem in forestry. Analysis of oak decline records in Europe has shown that drought is the most common predisposing factor. Decline occurs regularly after dry periods of about 5 years in a row, as was recorded in the 1980s in central Europe. In addition to drought, other factors such as defoliators, bark beetles, bark insects, pathogens or other abiotic factors are usually involved. This was also confirmed in a study in 2020−2021 on six oak stands with decline symptoms that had been significantly weakened by drought in previous years. The most common groups of secondary pests were cerambycids, bark beetles and jewel beetles (including rare species). The occurrence of ophiostomatoid fungi was statistically significantly correlated with the occurrence of the most common subcortical species in the canopy. The pathogen *Phytophthora plurivora* was detected in rhizosphere samples at only one wetter site with milder decline symptoms. Since

the lowest intensity of ophiostomatoid fungi and the lowest number of bark insects were recorded here, *P. plurivora* may be the main cause of oak decline.

Keywords: *Phytophthora alni*, *Alnus glutinosa*, oak decline, pathogenicity tests, physiological parameters, *Phytophthora plurivora*

Obsah

1. Úvod 16
2. Cíle práce 19
3. Rozbor problematiky 20
3.1. Patogeny rodu *Phytophthora* a odumírání dřevin 20
3.1.1. Rod *Phytophthora* 20
3.1.2. Historie patogenů rodu *Phytophthora* v Česku 27
3.1.3. Příznaky a hodnocení napadení dřevin patogeny rodu *Phytophthora* 29
3.1.4. Identifikace patogenů rodu *Phytophthora* 30
3.1.5. Umělá inokulace patogeny rodu *Phytophthora* 33
3.2. Odumírání olší 35
3.2.1. Historie odumírání olšových porostů 35
3.2.2. Původce odumírání olší 37
3.2.3. Příznaky napadení olší 39
3.2.4. Identifikace patogenu *Phytophthora alni* 42
3.2.5. Odumírání olší v Česku 43
3.2.6. Význam choroby a možnosti ochrany 46
3.3. Klasifikace zdravotního stavu dřevin 48
3.3.1. Faktory ovlivňující zdravotní stav dřevin 48
3.3.2. Fyziologické parametry dřevin při napadení patogenem rodu *Phytophthora* a jejich stanovení. 50
3.3.3. Vliv patogenů rodu *Phytophthora* na zdravotní stav a fyziologii dřevin 53
3.4. Chřadnutí dubových porostů 56
3.4.1. Historický přehled 56
3.4.2. Faktory působící chřadnutí dubových porostů 59
4. Metodika 66
4.1. Monitoring zdravotního stavu olšových porostů a identifikace patogenů rodu *Phytophthora* 66
4.2. Podkorní inokulace olše lepkavé patogeny rodu *Phytophthora* v různých koncentracích CO_2… 79
4.3. Historický přehled a faktory působící chřadnutí dubových porostů 83
4.4. Aktuální posouzení zdravotního stavu dubových porostů 84
5. Výsledky 87

5.1. Monitoring zdravotního stavu olšových porostů a identifikace patogenů rodu *Phytophthora* 87
5.1.1. Monitoring povodí Vltavy 87
5.1.2. Monitoring povodí Odry 102
5.2. Podkorní inokulace olše lepkavé patogeny rodu *Phytophthora* v různých koncentracích CO_2…. 107
5.3. Historický přehled a faktory působící chřadnutí dubových porostů 113
5.4. Aktuální posouzení zdravotního stavu dubových porostů 115
6. Diskuse 120
6.1. Monitoring zdravotního stavu olšových porostů a identifikace patogenů rodu *Phytophthora* 120
6.1.1. Monitoring povodí Vltavy 120
6.1.2. Monitoring povodí Odry 129
6.2. Podkorní inokulace olše lepkavé patogeny rodu *Phytophthora* v různých koncentracích CO_2…… 132
6.3. Historický přehled a faktory působící chřadnutí dubových porostů 135
6.4. Aktuální posouzení zdravotního stavu dubových porostů 137
7. Závěr 141
8. Seznam literatury a použitých zdrojů 144
9. Seznam obrázků, grafů a tabulek 166
9.1. Seznam obrázků 166
9.2. Seznam grafů 167
9.3. Seznam tabulek 168
10. Přílohy 170

Seznam používaných symbolů a zkratek

CA	mrkvový agar (carrot agar)
cox1	mitochondriální oblast DNA, genový lokus pro cytochrom oxidázu
dH_2O	destilovaná voda
DNA	deoxyribonukleová kyselina (deoxyribonucleic acid)
GenBank	sekvenční databáze s otevřeným přístupem, kterou vytváří a spravuje Národní centrum pro biotechnologické informace (NCBI)
Gs	stomatální vodivost (stomatal conductance)
hod	hodina
ITS	jaderná oblast DNA kódující ribozomální RNA (internal transcribed spacer region)
OJIP	křivka fluorescence chlorofylu
P. alni	komplex druhů *Phytophthora alni*
PAA	*Phytophthora ×alni*
PARPNH	selektivní médium používané k izolaci oomycet
PAU	*Phytophthora uniformis*
PCR	polymerázová řetězová reakce (polymerase chain reaction)
PI_{ABS}	fluorescenční parametr, index odolnosti vůči suchu
PLU	*Phytophthora plurivora*
Pn	rychlost čisté fotosyntézy (net photosynthesis)
PSII	fotosystém dva
RH	relativní vlhkost vzduchu (relative humidity)
Taq	DNA polymeráza z mikroorganismu *Thermus aquaticus*
Tr	transpirace (transpiration)
V8A	agarové médium vyrobené z džusu z 8 druhů zelenin
WUEi	okamžitá efektivita využití vody (instantaneous Water Use Efficiency)
β-tubulin	jaderná oblast DNA kódující jednu ze dvou podjednotek proteinu tubulinu
Φ_{PO}	fluorescenční parametr představující maximální kvantový výtěžek fotosystému II

1. Úvod

V souvislosti s globální změnou klimatu se v posledních letech začíná více projevovat vliv invazních patogenních organismů na domácí dřeviny (JEGER et PAUTASSO 2008; LA PORTA et al. 2008), jelikož v důsledku chybějící koevoluce s introdukovaným patogenem jsou domácí druhy více náchylné k napadení (JUNG et al. 2016). Typickým příkladem invazních organismů jsou patogenní druhy rodu *Phytophthora*[1] (superskupina SAR, říše Straminipila, kmen Oomycota, třída Peronosporomycetes, řád Peronosporales s. lat., čeleď Peronosporaceae s. lat.; BEAKES et al. 2014). Jedná se o primární patogeny kořenových systémů rostlin a některé druhy patří mezi nejdůležitější rostlinné patogeny způsobující celosvětově epidemické chřadnutí mnoha druhů dřevin (LAMOUR 2013; JUNG et al. 2018; BRASIER et al. 2022). V posledních 20 letech jsou tyto patogeny intenzivně studovány také v Česku, jelikož se zde čím dál častěji setkáváme se zavlékáním invazních druhů. V současné době je 28 druhů rodu *Phytophthora* řazeno na Seznam nepůvodních hub a houbových organismů ČR (HAŇÁČKOVÁ et al. 2024).

Klimatické extrémy posledních 10 let se projevují v oslabení dřevin a vyšší náchylností k napadení biotickými faktory. Jako patogeny kořenových systémů využívají fytoftory období dostatečné půdní vláhy k rozvoji infekce, avšak v následujících obdobích sucha jsou schopné efektivně přežívat nepříznivé podmínky ve formě odolných oospor nebo chlamydospor (LAMOUR 2013). Pro vývoj mnoha patogenů je zásadní průběh zimy, proto se stoupající teplotou v zimním období stoupá i riziko napadení, jelikož šance na přežití patogenu je vyšší (BERGOT et al. 2004). Také fytoftory při mírnějších zimách lépe přežívají v napadených pletivech i volně v prostředí a snáze pak napadají stromy oslabené letními obdobími sucha (REDONDO et al. 2015). Lze tedy předpokládat, že suché období v letech 2015 až 2020 (ČHMÚ 2024) mělo významný vliv na zdravotní stav dřevin a také na přežívání patogenů. Tato disertační práce je zaměřená na dvě dřeviny, u kterých je pozorováno dlouhodobě chřadnutí, a které jsou také napadány těmito patogeny.

První studovanou dřevinou byla olše, u které bylo chřadnutí pozorováno na území Česka již v 80. letech 20. století (JANČAŘÍK 1986, 1988). Jako původce choroby byl identifikován komplex invazních druhů *Phytophthora alni*[2] Brasier et S. A. Kirk (BRASIER et al. 2004a), mezidruhový hybrid, později rozlišený na tři druhy *P.* ×*alni*, *P. uniformis* a *P.* ×*multiformis* (HUSSON et al. 2015). Tento agresivní patogen se šíří vodou a v Evropě byl poprvé zachycen v Anglii v r. 1993 (GIBBS et al. 1995). Patogen *P.* ×*alni* byl identifikován jako hlavní původce této choroby ve většině postižených oblastí s mírným klimatem, ale také *P.* ×*multiformis* a *P. uniformis* způsobují korní nekrotické léze a odumírání stromů (BRASIER et al. 1999; NAGY et al., 2003; JUNG et BLASCHKE 2004; THOIRAIN et al., 2007; SOLLA et al.

[1] Český ekvivalent názvu patogenu používaný v rámci této práce je „fytoftora".

[2] V rámci práce je odlišován termín „*Phytophthora alni*", který je používán ve smyslu všech druhů komplexu bez rozlišení do druhu, a „*P.* ×*alni*", který odkazuje na konkrétní druh. Při obecných popisech, např. příznaků napadení, se používá označení *P. alni*.

2010; AGUAYO et al. 2013; JUNG et al. 2013, 2018; ŠTĚPÁNKOVÁ et al. 2013; REDONDO et al. 2015; CORCOBADO et al. 2023). V Česku byl patogen poprvé identifikován v r. 2001 v povodí Ohře (ČERNÝ et al. 2003), a dosud zde byly zaznamenány pouze dva z těchto tří druhů, konkrétně *P. ×alni* a *P. uniformis*, přičemž *P. ×alni* výrazně převládá v chřadnoucích porostech olší (88 % z 59 zkoumaných chřadnoucích porostů olší; ŠTĚPÁNKOVÁ et al. 2013). Poslední průzkumy ukázaly, že dochází k invaznímu šíření patogenu v povodích od západu na východ (ČERNÝ et al. 2010; ROMPORTL et al. 2016). Cílem práce bylo zjistit, jaká je aktuální situace v oblasti, která je již dlouhodobě infikovaná patogenem, a v oblasti, kde patogen zaznamenán doposud nebyl. Výzkum byl dále zaměřený na hodnocení fyziologických parametrů poškozených stromů, jelikož není přesně známé, jak reagují dřeviny na napadení patogenem a zároveň na nedostatek nebo naopak nadbytek srážek.

Změna klimatu se projevuje nejen extrémními výkyvy počasí, ale také zvyšováním obsahu CO_2 v atmosféře (MOORE et al. 2015; BELMECHERI et LAVERGNE 2020). Jaký vliv má vyšší koncentrace CO_2 v atmosféře na rostliny, je předmětem mnoha studií. Zvýšená koncentrace CO_2 může však významně ovlivňovat také interakci hostitele a patogenu (PERCY et al. 2002; MCELRONE et al. 2005). Doposud se většina publikovaných studií zaměřovala na studium interakce rostliny a houbového patogenu, a příznaky sledované na nadzemních částech rostlin (KAZAN 2018). Výsledky těchto studií nepřinesly jednotný závěr a naopak ukázaly, že efekt zvýšené koncentrace CO_2 na odezvu rostliny na napadení může být pozitivní, negativní i neutrální (SMITH et LUNA 2023). Naproti tomu existuje pouze omezené množství studií zaměřených na efekt zvýšené koncentrace CO_2 na interakce hostitel a *Phytophthora*. Z toho důvodu byla testována také patogenita vybraných izolátů fytoftor vůči olši lepkavé v podmínkách zvýšené koncentrace CO_2 v atmosféře.

Druhou studovanou dřevinou byl dub, u kterého bylo pozorováno rozsáhlé chřadnutí napříč Evropou především od 80. let 20. století (MACHÁČOVÁ et al. 2022). Také v Česku byla tato problematika v minulosti intenzivně studována v souvislosti s různými příčinami. Kombinace abiotických a biotických stresových faktorů, jako jsou sezónní suché periody a teploty pod bodem mrazu v zimě spolu s vodním stresem, defoliátory a houbovými patogeny byly považovány za nejdůležitější predispoziční faktory způsobující chřadnutí dubů (MARCU 1987; FÜHRER 1998). Od 90. let 20. století bylo chřadnutí dubů považováno za multifaktoriální proces, v němž hrály významnou roli abiotické predispoziční faktory, nicméně dodnes se názory na hlavní a vedlejší příčiny liší (FÜHRER 1998; SELOCHNIK et al. 2015). Zejména sucho je uváděno jako jeden z nejkritičtějších predispozičních faktorů, které se v souvislosti s měnícími se klimatickými podmínkami vyskytuje čím dál častěji (LINDNER et al. 2010). Dlouhodobé sucho vede k oslabení dřevin, které nejsou schopné efektivně bojovat s napadením patogeny. Zvýšené frekvence extrémních meteorologických jevů mohou vyhovovat patogenům r. *Phytophthora*, které profitují ze střídajících se období sucha a záplav. Tyto patogeny byly dlouhou dobu ve spojitosti s chřadnutím dubů přehlíženy, nebo se jimi vyvolané poškození kořenů přisuzovalo jiným abiotickým činitelům (JUNG et al. 1996, 2000). Výsledky novějších studií naznačují, že choroby kořenů způsobené patogeny

r. *Phytophthora* v kombinaci s klimatickými extrémy způsobují závažné odumírání lesů v celé Evropě (SZABÓ et al. 2013; KEČA et al. 2016).

Tato práce shrnuje poznatky o aktuálním stavu olšových a dubových porostů, u kterých je dlouhodobě pozorováno chřadnutí v důsledku napadení patogeny a působení klimatických extrémů. Zároveň jsou definovány faktory, které k chřadnutí těchto dřevin nejvíce přispívají.

2. Cíle práce

Cílem práce bylo zhodnocení vlivu faktorů prostředí na zdravotní stav olše lepkavé a o. šedé v oblasti povodí Odry a povodí Vltavy se zaměřením na patogeny rodu *Phytophthora*. Konkrétní druhy patogenů byly identifikovány na základě molekulární genetiky a následně bylo provedeno ověření úrovně patogenity získaných izolátů v rámci infekčních pokusů v kontrolovaných podmínkách simulujících změnu klimatu (zvýšená koncentrace CO_2).

Dalším cílem bylo zjištění faktorů způsobujících chřadnutí dubových porostů v České republice se zaměřením na výskyt patogenů rodu *Phytophthora* a dalších houbových patogenů. Byl vypracován přehled faktorů působících chřadnutí dubových porostů se zaměřením na všechny abiotické a biotické vlivy a posouzení aktuální situace chřadnutí dubových porostů v České republice.

3. Rozbor problematiky

3.1. Patogeny rodu *Phytophthora* a odumírání dřevin

3.1.1. Rod *Phytophthora*

Rod *Phytophthora* představuje rozsáhlou skupinu převážně primárních patogenů rostlin, z nichž mnoho druhů způsobuje významné hospodářské škody. Rod pojmenoval v roce 1876 Heinrich Anton de Bary, který vycházel z řeckých slov *phytón* (rostlina) a *phthorá* (zhouba), která naznačují fytopatogenní způsob života (ERWIN et RIBEIRO 1996). Některé druhy patří mezi patogeny se zásadním historickým významem (BRASIER et al. 2022). Způsobují chřadnutí a odumírání dřevin ve školkách, plantážích, v přirozených a umělých ekosystémech (ERWIN et RIBEIRO 1996; JUNG et al. 2016, 2018). V současné době zahrnuje rod *Phytophthora* přes 260 popsaných druhů (BRASIER et al. 2022; CHEN et al. 2022; JUNG et al. 2022, 2024; ABAD et al. 2023a), nicméně dá se očekávat popis nových druhů i do budoucna s předpokládaným počtem až 600 doposud nepopsaných druhů (BRASIER 2009).

Taxonomické zařazení

Přestože je možné u rodu *Phytophthora* najít mnoho podobností s vláknitými houbami, např. typicky tvorba mycelia složeného z hyfových vláken nebo produkce spor, fylogeneticky nejsou příbuzné (ERWIN et RIBEIRO 1996). Taxonomicky je tento rod řazen do superskupiny SAR (Stramenopiles, Alveolata, Rhizaria), říše Straminipila, oddělení Oomycota, třídy Peronosporomycetes, řádu Peronosporales s. lat., a čeledi Peronosporaceae s. lat. (BEAKES et al. 2014). Do čeledi Peronosporaceae jsou dále řazeny rody *Halophytophthora*, *Nothophytophthora*, *Phytopythium* a dalších 19 rodů tzv. pravých plísní (angl. downy mildews), zatímco rod *Pythium* je řazen do sesterské čeledi Pythiaceae (BEAKES et al. 2014; THINES et CHOI 2016; JUNG et al. 2017b, 2018).

Hlavním rozlišovacím znakem oomycet oproti houbám (Fungi) je převládající diploidní fáze v životním cyklu. Haploidní fáze je v životním cyklu patogenu zastoupena pouze při pohlavním rozmnožování zvaném oogametangiogamie (splývání samčího antheridia a samičího oogonia), jehož výsledkem jsou diploidní oospory (SANSOME et BRASIER 1973; ERWIN et RIBEIRO 1996). Další odlišovací znaky zahrnují obsah celulózy namísto chitinu v buněčné stěně a zásobní látku mykolaminaran (ERWIN et RIBEIRO 1996). Charakteristickým znakem rodu *Phytophthora* je tvorba pohyblivých plovoucích zoospor, které mají dva heterokontní bičíky (BRASIER 1992). Výše zmíněné znaky společně s molekulárními daty je řadí do příbuzenstva hnědých řas a dalších organismů (např. různobrvky, zlativky, chaluhy aj.), tedy říše Straminipila (syn. Heterokonta) v rámci skupiny Eukaryota (DERELLE et al. 2016; THINES et CHOI 2016).

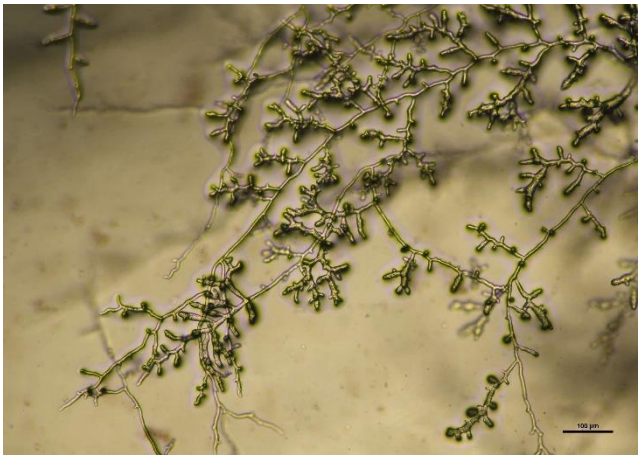
První popis druhu rodu *Phytophthora* byl zaznamenán v roce 1876, kdy de Bary popsal druh *P. infestans*. V následujících desetiletích začaly přibývat popisy dalších druhů izolovaných

z různých odumírajících kulturních plodin i lesních dřevin, a v roce 1960 bylo popsáno už 50 druhů (ERWIN et RIBEIRO 1996). Bylo proto žádoucí zavést jednotný systém terminologie i metodu studia nových druhů. Terminologie používaná k popisu struktur u rodu *Phytophthora* dodnes vychází z původní monografie ELIZABETH BLACKWELL (1949), stejně jako taxonomický klíč navržený G. M. WATERHOUSE (1963) k rozlišování původně šesti morfologicky odlišných skupin, který byl založený na základě spektra hostitelů, morfologie sporangií a oospor, tvorby chlamydospor, optimální teploty pro růst, morfologie kolonie a dalších kritérií.

Morfologické struktury *Phytophthora* spp.

Morfologické struktury *Phytophthora* spp. představují hlavní rozlišovací znaky při identifikaci druhu. Následující přehled byl vypracován na základě literatury: BLACKWELL (1949), ERWIN et RIBEIRO (1996), DRENTH et SENDALL (2001) a JUNG et al. (2011).

Mycelium je coenocytické (nepřehrádkované), hyalinní a volně větvené, s průměrnou šířkou hyf 5−7 µm. V porovnání s druhy r. *Pythium* roste mycelium fytoftor pomalu a vyznačuje se téměř pravoúhlým větvením hyf (Obr. 1). Kultury kultivované na vhodných médiích tvoří nepigmentované vzdušné mycelium bílé barvy. Hyfy mohou být hladké, zduřelé, uzlovité, koraloidní nebo hlízkovité. Můžou se také tvořit tzv. hyfové zduřeniny (hyphal swellings), terminálně, laterálně nebo interkalárně.



Obrázek 1: Mycelium Phytophthora ×alni s typickým krátkým, téměř pravoúhlým větvením postranních hyf, měřítko 100 µm (foto: Markéta Macháčová).

Dle pohlavního rozmnožování lze druhy rozdělit na heterothalické a homothalické. U heterothalického způsobu je nutné splynutí samčího (antheridium) a samičího (oogonium) pohlavního orgánu dvou rozdílných jedinců stejného druhu, zatímco u homothalického způsobu ke splynutí dochází v rámci jednoho jedince. U některých druhů nebyla zjištěna kompatibilita dvou různých izolátů (kmenů), a jsou tedy označovány za sterilní (např. *P. gallica* T. Jung & Nechw.). Tvar oogonií může být globózní až subglobózní, občas pyriformní, elipsoidní až excentrický. Stěna oogonia je hladká nebo ornamentovaná kulatými výstupky, hyalinní nebo zlatavě zbarvená. Antheridia i oogonia jsou od hyfy

oddělené přehrádkou (septum). Dále je rozlišován způsob oplození a následná tvorba diploidní oospory. Při amfigynním splynutí dochází k prorůstání zárodku oogonia skrz zárodek antheridia a při tvorbě oospory je oogonium obklopeno antheridiem. Při paragynním splynutí je antheridium připojenu k oogoniu bokem (laterálně) poblíž oogoniální stopky (Obr. 2).

V rámci nepohlavního rozmnožování se tvoří sporangia (správně zoosporangia), která vznikají terminálně na typicky sympodiálně větveném sporangioforu. V některých případech však může sporangium vyrůstat z báze jiného prázdného sporangia (vnitřní proliferace), nebo z pod báze starého sporangia (vnější proliferace). Sporangia se liší podle velikosti a tvaru mezi druhy, i v rámci jednoho druhu. Typickými tvary jsou ovoidní, obfyriformní, limoniformní aj. Barva je hyalinní až světle žlutá. U některých druhů se na špičce sporangií vytváří nápadná vyčnívající papila (papilátní druhy) (Obr. 2), jiné druhy mají méně nápadnou papilu (semipapilátní), nebo papilu netvoří (nepapilátní).

Obrázek 2: Phytophthora cactorum – limoniformní, papilátní sporangium a oogonium s paragynním antheridiem (foto: Ivan Milenković).

Zoospory jsou uvolňované skrz otvor na špičce sporangia. Počet zoospor ve sporangiu se liší podle druhu. Zoospory jsou jednojaderné, ledvinovitého tvaru a jsou opatřeny dvěma heterokontními bičíky vyrůstajícími z konkávní strany. Bičík směřující dopředu je vodící, zadní bičík pohánějící. Uvolnění zoospor se děje během méně než vteřiny a zoospory jsou ihned po vypuštění schopné plavat. Podle teploty prostředí se mohou zoospory pohybovat po dobu několika hodin nebo až několik dní. Po dosednutí k povrchu hostitele dochází k encystaci, která je provázena řadou strukturálních změn, z nichž nejdůležitější je ztráta bičíků a tvorba buněčné stěny. Cysta poté vytváří tzv. klíční vlákno, které dále tvoří mycelium.

Dalším typem nepohlavního rozmnožování je tvorba chlamydospor, což jsou tlustostěnné nepohlavní buňky tvořené uprostřed (interkalárně) nebo na konci hyfy (terminálně). Od hyfových zduřenin se chlamydospory liší tlustou buněčnou stěnou a oddělením přehrádkou (septem) od mycelia. Chlamydospory můžou v půdě přežívat až 6 let a slouží

stejně jako oospory k přežívání nepříznivých podmínek. Jako rozlišovací znak se určuje pouze tvorba chlamydospor, nikoli morfologie chlamydospor.

Fylogenetická klasifikace rodu *Phytophthora*

Vedle morfologických znaků se k přesnější determinaci patogenu používají metody molekulární genetiky. Nejpoužívanější metodou je sekvenování jaderné ribozomální ITS (internal transcribed spacer region) oblasti DNA a mitochondriální *cox1* oblasti DNA (COOKE et al. 2000; GRÜNWALD et al. 2011). V rámci fylogenetických studií a popisu nových druhů jsou aplikovány multigenetické analýzy s využitím jaderných ITS, LSU, β-tubulin a HSP90 a mitochondriálních *cox1* a *NADH1* oblastí DNA (JUNG et al. 2017b, c). První fylogenetická studie rodu *Phytophthora* na základě sekvencí ITS oblastí rDNA zahrnovala 50 popsaných druhů, které COOKE et al. (2000) rozdělili do osmi fylogenetických kladů (angl. Clades 1–8) a navrhli další dva domněle vzdálenější klady 9 a 10. Toto rozdělení bylo dále podpořeno KROONEM et al. (2004), kteří přidali využití dalších 4 genů (COI, β-tubulin, EF1α a nadh1) pro zhodnocení 48 druhů. V současnosti je v rámci r. *Phytophthora* rozlišováno 15 kladů s relativně úzkými monofyletickými vazbami (klady zahrnují evolučně homogenní skupinu organismů se společným předkem), a některé klady jsou dále rozděleny do tzv. subkladů (subclades) na základě morfologie a fylogenetických analýz (BRASIER et al. 2022; CHEN et al. 2022; ABAD et al. 2023b).

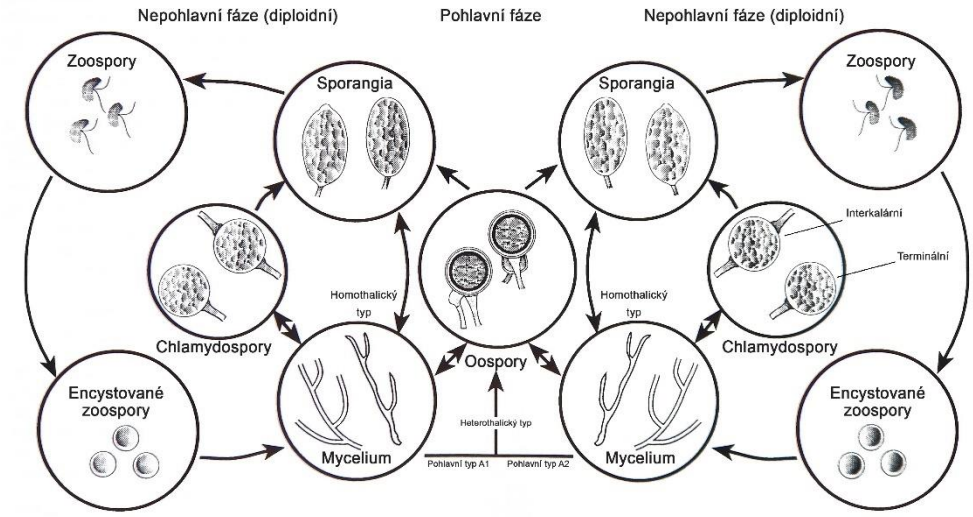
Životní cyklus patogenů r. *Phytophthora*

Jako evolučně příbuzné druhy rozsivek a hnědých řas jsou oomycety spojeny v životním cyklu s vodním prostředím (LAMOUR et KAMOUN 2009). Druhy r. *Phytophthora*, které se šíří půdou nebo vzduchem, jsou nekrotrofní a hemibiotrofní primární patogeny rostlin. Naproti tomu druhy vázané na vodní prostředí jsou většinou saprofyté rozkládající opad listů, a pouze oportunisticky přechází do nekrotrofní fáze (ERWIN et RIBEIRO 1996; JUNG et al. 2011; NECHWATAL et al. 2013). Některé druhy dokonce kombinují všechny životní strategie, např. druhy *P. cactorum* a *P. psedosyringae* jsou schopné napadat hostitele vzdušnými sporami i v půdě, zároveň se vyskytují jako rozkladači listového opadu ve vodních prostředích (JUNG et al. 2018).

Jako primární paraziti většina druhů infikuje pouze zdravé pletivo rostlinných hostitelů nebo čerstvá poranění pletiv bez přítomnosti jiných mikroorganismů (ERWIN et RIBEIRO 1996). Poškození způsobené patogeny r. *Phytophthora* je tzv. multicyklické, což znamená, že cyklus napadení hostitele probíhá opakovaně přes sporangia, a inokulum patogenu se může z původně velmi malého, až nedetekovatelného množství velmi rychle namnožit v případě vhodných podmínek prostředí, tedy přítomnosti volné vody. V ní dokážou pohyblivé zoospory uvolněné ze sporangií doplavat k novému zdroji hostitelského substrátu (ERWIN et RIBEIRO 1996; JUNG et al. 2018). Tvorba zoospor je ovlivněna vlhkostí půdy a chladnější teplotou, než je potřeba pro tvorbu sporangií (JUNG et al. 2018). Např. infekce kořenů však musí proběhnout nesčetněkrát, aby došlo k takovému namnožení inokula a úrovně poškození kořenů, aby byly příznaky napadení viditelné v koruně dospělého stromu (TSAO

1990). Oproti tomu druhy napadající nadzemní část rostlin (tzv. „airborne species“) jsou rozšiřované větrem a deštěm, kdy dochází k přenosu sporangií na nové hostitele. Vznikají tak jednotlivé léze na kmenech, odumírání větví a nekrózy na listech (ERWIN et RIBEIRO 1996). Tyto druhy však prozatím nezpůsobují v Evropě tak velké škody, výjimkou je *P. ramorum* v Anglii, kde dochází k masivnímu chřadnutí modřínu japonského *Larix kaempferi* (choroba zvaná „Sudden Larch Death“) (BRASIER et WEBBER 2010).

Životní cyklus druhů r. *Phytophthora* je zobrazen na schématu na Obr. 3. Půdní druhy r. *Phytophthora* jsou schopné až několik let přežívat nepříznivé podmínky prostředí (např. sucho nebo mráz), ve formě odpočívajících spor – oospor nebo chlamydospor – v půdě nebo v infikovaných pletivech (ERWIN et RIBEIRO 1996).



Obrázek 3: Životní cyklus patogenů rodu Phytophthora (převzato a upraveno podle ERWIN et RIBEIRO 1996).

Oospory jsou velmi odolné a dokážou přežít i několik let bez nutnosti stimulace rostlinnými exudáty a následného vyklíčení spory (JUDELSON 2009). Chlamydospory nebo oospory vyklíčí v podmínkách dostatečné vlhkosti a teploty cca nad 10 °C, a vytvářejí sporangia uvolňující plovoucí dvoubičíkaté zoospory. Zoospory plovoucí v půdě jsou chemotakticky přitahovány kořeny rostlin, které vylučují organické látky do prostředí. Po přisednutí vytvoří cystu, která vyklíčí v hyfové vlákno pronikající exodermem (nebo peridermem suberizovaných tenkých kořenů) a prorůstající inter- i intracelulárně do rostlinných pletiv (ERWIN et RIBEIRO 1996; JUNG et al. 1996). U druhů šířících se vzduchem klíčí opadavá sporangia buď nepřímo uvolněním zoospor do vrstvy vody na povrchu pletiva, nebo přímo prostřednictvím klíčící hyfy. Ta proniká do pletiva hostitele skrz pokožku nebo jiné svrchní vrstvy pletiva, a v případě druhů šířících se vzduchem nebo vodou dochází k infekci také přes přirozené otvory jako jsou stomata nebo lenticely (ERWIN et RIBEIRO 1996; JUNG et al. 1996).

Mycelium prorůstá substrátem a tvoří další sporangia, dokud nevyčerpá živiny (ERWIN et RIBEIRO 1996; JUNG et al. 1996). Dochází k postupnému rozkladu napadeného pletiva

(kořenového systému nebo nadzemní části rostliny) a napadení sekundárními patogeny, případně k silné obranné reakci hostitele; v tom případě patogen vytváří pohlavní oospory nebo nepohlavní chlamydospory, které jsou po rozkladu pletiv opět uvolněny do půdy (JUNG et al. 2018).

Rozšíření a druhové spektrum hostitelských rostlin

Stejně jako další druhy patogenů ze skupiny Oomycota se zástupci rodu *Phytophthora* celosvětově vyskytují jak ve sladkých a slaných vodních prostředích, tak v terestrických prostředích (ERWIN et RIBEIRO 1996). Většina druhů jsou půdou přenosné patogeny, které napadají kořenový systém rostlin a působí jeho rozklad, mohou však dlouhou dobu přežívat v půdě i bez přítomnosti hostitele (ERWIN et RIBEIRO 1996). Druhy r. *Phytophthora* napadají široké spektrum hostitelských rostlin v rámci tříd Dicotyledoneae, Monocotyledoneae, Acrogymnospermae a Polypodiopsida (CHEN et al. 2022), nicméně existují i druhy hostitelsky specifické (vázané na jeden rod nebo čeleď rostlin) (ERWIN et RIBEIRO 1996). Do skupiny tzv. generalistů, které napadají stovky až tisíce druhů rostlin, patří např. *P. cinnamomi* Rands a *P. ramorum* Werres, De Cock & Man in 't Veld (GRÜNWALD et al. 2012; HARDHAM et BLACKMAN 2018; JUNG et al. 2021); do skupiny tzv. specialistů je řazena např. *P. quercina* Jung vázaná na rod dub (*Quercus* spp.) (JUNG et al. 1999) nebo druhy z komplexu druhů *P. alni*, které jsou exkluzivně patogenní pouze vůči rodu olše (*Alnus* spp.) (BRASIER et KIRK 2001; JUNG et al. 2018). Historicky nejznámějším druhem je *P. infestans* (Mont.) de Bary, původce plísně bramboru a rajčete, a druh specifický převážně pro čeleď lilkovité (ERWIN et RIBEIRO 1996).

Význam patogenů r. *Phytophthora*

Patogeny r. *Phytophthora* způsobují významné ekonomické ztráty zejména v zemědělství a lesnictví, nicméně mohou mít výrazný dopad i na přírodní ekosystémy, kde ohrožují biodiverzitu po celém světě (BRASIER et al. 2022; CHEN et al. 2022). Rozšíření těchto patogenů po celém světě je historicky svázáno s globálním obchodem a dalšími lidskými aktivitami, které zapříčinily přenos exotických a invazních patogenů do nových lokalit, často na nové kontinenty (BRASIER et al. 2004b; SANTINI et al. 2013). Nejvýznamnějším patogenem je v tomto ohledu *P. infestans*, který způsobil Velký irský hladomor v letech 1845–1852. Tento patogen je dodnes jedním z nejzávažnějších problémů v zemědělství celosvětově (TURNER 2005).

V místě nepůvodního výskytu způsobují obecně invazní druhy masivní poškození domácích druhů rostlin. Zároveň je velmi obtížné zabránit šíření invazních patogenů a jejich eradikaci na novém stanovišti (BRASIER 2008; SANTINI et al. 2013). Z nejvýznamnějších příkladů invazních patogenů s významným hospodářským dopadem je třeba uvést druhy *Ophiostoma ulmi* (Buisman) Melin & Nannf. a *Ophiostoma novo-ulmi* Brasier, které zapříčinily pandemii grafiózy jilmů napříč Střední Asií, Evropou a Severní Amerikou; *Cryphonectria parasitica* (Murrill) M.E. Barr, patogen zavlečený do Spojených států, kde způsobil rozsáhlé odumírání místních porostů kaštanovníku zubatého (*Castanea dentata* (Marsh.) Borkh.);

Hymenoscyphus fraxineus (T. Kowalski) Baral způsobující epidemii nekrózy jasanu na jasanu ztepilém (*Fraxinus excelsior* L.) v Evropě; a *Phytophthora ramorum* Werres, De Cock, & Man In't Veld, patogen zodpovědný za chřadnutí dubových a modřínových porostů v USA a ve Velké Británii (BRASIER et WEBBER 2010; GRÜNWALD et al. 2012; LANDOLT et al. 2016; RIGLING et PROSPERO 2017; BRASIER et al. 2021; SHAKYA et al. 2021).

Nebezpečnost patogenů r. *Phytophthora* spočívá ve schopnosti hybridizace a vzniku nových, agresivnějších druhů, které mají schopnost přežívat v širších ekologických podmínkách, a tedy i na potenciálně nových hostitelích (BRASIER 1995). Tyto druhy mohou mít morfologii podobnou již existujícím druhům, proto je identifikace mezidruhových hybridů často náročná. Také hostitelské spektrum mezidruhových hybridů může být shodné jako s rodičovskými druhy (LAMOUR 2013). Příkladem mohou být *P.* ×*alni*, *P.* ×*cambivora* nebo *P.* ×*serendipita* (MAN IN'T VELD et al. 2012; JUNG et al. 2017c). K hybridizaci dochází, když druhy sobě morfologicky i geneticky podobné, které nemají vyvinuté způsoby inkompatibility a jsou pouze odděleny prostorově, se díky globalizovanému mezinárodnímu obchodu s rostlinným materiálem dostanou do kontaktu a pohlavním rozmnožováním vytvářejí takzvané hybridní druhy (JUNG et al. 2018).

Odhaduje se, že celosvětově více než 66 % všech poškození kořenového systému a více než 90 % všech krčkových hnilob dřevin způsobují patogeny r. *Phytophthora* (TSAO 1990; KROON et al. 2012). Rod *Phytophthora* patří mezi ekonomicky nejvýznamnější rody v rostlinné patologii historicky i v současnosti (BRASIER et al. 2022). Dvacet jedna % invazních rostlinných patogenů v Evropě patří do rodu *Phytophthora* (SANTINI et al. 2013).

K zavlékání nových druhů r. *Phytophthora* s invazním potenciálem dochází nejčastěji s dovozem rostlinného materiálu do školkařských provozů a zahradnických center (PARKE et al. 2019). Riziko spočívá v převozu infikovaných rostlin, které ovšem nemusí díky dobré péči a fungicidní ochraně vykazovat žádné příznaky napadení. Ty se projeví až při silnější infekci nebo stresu rostlin (JUNG et al. 2016). Kontaminovaná půda obecně funguje jako rychlý a spolehlivý způsob šíření infekce na nová území a nové hostitele, což byl nejpravděpodobnější způsob rozšíření půdou přenosných patogenů již v minulosti, například s rostlinami rododendronů při převozu z Asie do Evropy (BRASIER et al. 2004b). Tuto hypotézu potvrzuje i mnoho současných výzkumů monitorujících situaci ve školkách, v městské zeleni, na hraničních kontrolách dováženého rostlinného materiálu (JUNG et al. 2016) nebo v lesních ekosystémech (JUNG et al. 2018). Průzkumy provedené v posledních dvou desetiletích po celém světě vedly k prohloubení znalostí o rodu *Phytophthora* a také k popisu mnoha nových druhů (JUNG et al. 2011; JUNG et al. 2017a, b; BURGESS et al. 2018; DANG et al. 2021). Tyto průzkumy neslouží pouze k popisu nových druhů, ale především k odhadnutí rizika, které by mohlo přinést zavlečení těchto patogenů na geograficky nové území, a zároveň k hlubšímu pochopení biologie a evoluce již známých druhů. To může významně pomoct i v ochraně rostlin (JUNG et al. 2021; MULLETT et al. 2023; SHAKYA et al. 2021).

Nejnovější analýza BARWELLA et al. (2021) zaměřená na rozšíření patogenů r. *Phytophthora* ukázala, že některé nedávno popsané druhy sdílejí podobné znaky a fylogenetickou příbuznost jako druhy, které již byly zavlečeny do mnoha zemí (*P.* ×*heterohybrida*, *P. lactucae* a *P. pisi*), vyskytují se v široké škále zeměpisných šířek (např. *P. glovera*, *P.* ×*heterohybrida*, *P.* ×*incrassata*, *P. constricta* aj.) nebo mají polyfágní charakter (např. *P. aquimorbida*, *P. amnicola*, *P.* ×*heterohybrida*, *P. fluvialis*). Z analýzy vyplývá, že nejdůležitější charakteristiky u sledovaných druhů by měly být teplotní tolerance, index stěny oospor (větší tloušťka znamená lepší přežívání) a rychlost růstu v optimálních teplotních podmínkách. U invazních druhů jsou tyto parametry důležitým předpokladem k celosvětovému šíření, a s oteplováním se předpokládá další šíření na nová území, jako např. u teplomilného druhu *P. cinnamomi* ve střední Evropě (BURGESS et al. 2017).

3.1.2. Historie patogenů rodu *Phytophthora* v Česku

První záznam o výskytu fytoftor na území Československa byla identifikace patogenu *P. cactorum* jako původce chřadnutí okrasných rostlin (NICKLOVÁ-NAVRÁTILOVÁ 1949; CEJP 1961). Ze záznamů vyplývá, že většina patogenních druhů fytoftor byla do Československa introdukovaná spolu s dovezeným rostlinným materiálem a postupně zde zdomácněla. V r. 1961 byly popsány dva nové druhy fytoftor – *P. fragarie* jako druh parazitující na divokém i pěstovaném jahodníku, a *P. syringae*, parazit na květenství a pupenech různých okrasných dřevin. Autor uvádí, že druhy byly v té době hojně rozšířené, avšak veřejnosti málo známé (CEJP 1961). O rok později byly v Československu poprvé identifikovány druhy *P. citricola* a *P. citrophthora* z dovezených pomerančů (CEJP et JECHOVÁ 1962). Právě profesor Karel Cejp byl posledním, kdo se problematice fytoftor v 60. letech na našem území věnoval. Následující text shrnuje nejzásadnější studie týkající se patogenů r. *Phytophthora* na území Česka za posledních zhruba 20 let.

Problematika odumírání lesních i okrasných dřevin ve spojitosti s patogeny rodu *Phytophthora* byla od té doby v ČR dlouhodobě přehlížena. Nejčastěji byly v souvislosti s napadením fytoftorou reportovány případy z lesních školek, kde docházelo k padání bukových semenáčků (PROCHÁZKOVÁ et JANČAŘÍK 1991). Od doby prof. Cejpa po více než 40 let nebyl výskyt těchto patogenů v ČR dostatečně doložen ani na lesních dřevinách ani na okrasných rostlinách (MRÁZKOVÁ et al. 2012). S výzkumem této skupiny patogenních organismů se začalo pracovat až kolem roku 2000 (ČERNÝ et al. 2011).

V r. 2001 byl v západních Čechách izolován patogen označený jako „alder-Phytophthora“ z chřadnoucích olší (ČERNÝ et al. 2003), později identifikován jako *P. alni* (ČERNÝ et al. 2011). Mnoho nových a invazních druhů bylo však zjištěno především na okrasných rostlinách nejčastěji dovezených ze zahraničí do zahradnických center nebo pěstovaných ve školkách, stejně jako při monitoringu v jiných evropských zemích (JUNG et al. 2016). V r. 2003 byl poprvé zjištěn výskyt *P. ramorum* na rostlině kaliny *Viburnum* × *bodnantense*

z Itálie (BĚHALOVÁ 2006). V dalších letech se jednalo o jednotlivé záchyty tohoto patogenu většinou na rostlinách pěnišníku (*Rhododendron* spp.) dovezených do školek ze zahraničí, a jejich úspěšnou eradikaci (ČERNÝ et al. 2011). První nález druhu *P. citricola* byl zjištěn v roce 2006 na rostlinách pěnišníku ve školkách a ve veřejných zahradách (MRÁZKOVÁ et al. 2007). Nejnovější záchyty stále častěji ukazují na šíření nových patogenů s okrasnými rostlinami ze zahradních center nebo školkařských provozů až do soukromých zahrad. Příkladem může být *P. nicotianae* na rostlinách rozmarýny lékařské, mateřídoušky obecné nebo pěnišníku (MRAZKOVA et al. 2022), *P. occultans* na zimostrázu vždyzeleném (HRABETOVA et al. 2023) nebo *P. dahliae* způsobující kořenovou hnilobu okrasných rostlin ve skleníkovém provozu (ČERNÝ et al. 2024).

Mnoho druhů fytoftor s širokým hostitelským spektrem se v Česku zřejmě postupně rozšířilo na další hostitele. Patogen *P. cactorum* byl poprvé izolován v r. 2007 hned ze tří hostitelských dřevin (buk lesní, jírovec maďal a topol bílý) s příznaky krvácivé nekrózy (CERNY et al. 2009). Další polyfágní druh, *P. plurivora*, byl poprvé izolovaný v roce 2006, nicméně je velmi pravděpodobné, že byl introdukovaný již mnohem dříve a nyní je považovaný za zdomácnělý na mnoha typech stanovišť a představuje vysoké riziko pro další druhy lesních dřevin (MRÁZKOVÁ et al 2010). Podobně druh *P. multivora*, který byl jako *P. plurivora* izolován z různých typů stanovišť (školky, parky, lesní a břehové porosty), ale v nižších nadmořských výškách, je považovaný za potenciálně nebezpečný druh zejména v teplejších regionech země (MRÁZKOVÁ et al. 2013). Během rozsáhlého výzkumu provedeného v letech 2006–2010 u okrasných a lesních dřevin byl zjištěn výskyt celkem 16 druhů r. *Phytophthora* u 20 taxonů dřevin, zahrnujících *P. plurivora, P. gallica, P. gonapodyides* a další. Na přirozených stanovištích byl obecně u všech dřevin nejčastěji detekovaný druh *P. plurivora*, zatímco v městský oblastech a okrasných výsadbách to byly druhy *P. plurivora* a *P. cactorum* (ČERNÝ et al. 2011).

Rozsáhlý monitoring 25 školkařských provozů přinesl zjištění, že všechny zkoumané školkařské provozy v Česku byly do větší či menší míry kontaminovány patogenními oomycety. Bylo identifikováno 44 druhů oomycet, z toho 22 druhů r. *Phytophthora,* a nejčastěji byly zachycovány nepůvodní invazní druhy *P. plurivora*, *P. gonapodyides*, *P. cambivora* a jiné, byly ale zjištěny i velmi nebezpečné druhy jako např. *P. citrophthora* nebo *P. cinnamomi;* největší diverzita (30 taxonů oomycet) bylo zjištěno na buku lesním (ČERNÝ et al. 2020a). Podobné výsledky prezentovali ve své studii i BAČOVÁ et al. (2024), kteří v osmi školkách (okrasných i lesních) zjistili přítomnost 50 druhů r. *Phytophthora* a dalších 11 taxonů dalších oomycet ve vzorcích rhizosféry, kompostu, závlahové vody a listů z hladiny rybníka.

Průzkumy v Česku ukazují, že invazní patogeny se šíří i v dospělých porostech. Průzkum v dubových mlazinách odhalil výskyt *P. quercina, P. cactorum, P. citricola, P. pseudosyringae* a *P. syringae* na stromech s typickými příznaky tmavých exudátů u báze kmene (KYSELÁKOVÁ et BENEDÍKOVÁ 2010). V r. 2020 byl proveden monitoring

v chráněných územích s výskytem květnatých a kyselých bučin v porostech buků starých 80 a více let. Z nekróz kůry a vodivých pletiv, které byly doprovázeny tmavě zbarvenými exudáty vylučovanými na povrchu borky, byly izolovány druhy *P.* ×*cambivora* (cca 86 % kmenů), *P. plurivora, P. gonapodyides* a *P. cactorum*. Napadené stromy se nacházely zpravidla v okolí komunikací, což naznačuje antropogenní šíření infekce (ČERNÝ et al. 2020a).

Poslední záznamy udávají, že největší podíl příležitostně zavlečených druhů je mezi recentně zavlékanými oomycety (r. *Phytophthora*), z nichž je 28 taxonů řazeno na Seznam nepůvodních hub a houbových organismů ČR (HAŇÁČKOVÁ et al. 2023), toto číslo však nemusí být konečné.

3.1.3. Příznaky a hodnocení napadení dřevin patogeny rodu *Phytophthora*

První příznaky napadení půdními patogeny r. *Phytophthora* jsou často nespecifické a připomínají příznaky poškození suchem nebo nedostatečnou výživou. Obecně infekce kořenů vede k rychlému ovlivnění příjmu vody a živin, což má za následek projevy nespecifických příznaků v koruně, např. zvýšení defoliace, chlorotizace listů, vadnutí, zmenšení listové plochy (ERWIN et RIBEIRO 1996; JUNG et al. 1996, 2000, 2013, 2018; JUNG 2009). Proto je detekce patogenu v časných stadiích infekce často problematická, napadení zůstává skryté v půdě, a navíc příznaky napadení se mohou významně lišit v závislosti na druhu patogenu a hostitele, stejně tak podle podmínek prostředí (ERWIN et RIBEIRO 1996). Při napadení jemných kořenů může trvat roky, než poškození začne být viditelné v koruně (ERWIN et RIBEIRO 1996; JUNG et al. 2000, 2018). Pokud infekce pokračuje do kambia a xylému hostitele, dochází k tvorbě krvácivých lézí na kmeni, které signalizují výskyt infikovaného a postupně také nekrotizovaného pletiva pod kůrou (DAVISON et al. 1994; GIESBRECHT et al. 2011). Exudáty indikují výskyt nekrotického pletiva pod borkou, ale nemusí se vyskytnout vždy, jelikož zvláště u dřevin s hrubou borkou nemusí být patrné (ERWIN et RIBEIRO 1996; JUNG et al. 1996, 2000). Pod borkou se vyskytují oranžové až červené jazykovité nekrózy vodivých pletiv (JUNG et al. 2018).

Stromy napadené fytoftorami (např. *Phytophthora alni*) mají malé a chlorotické listy, celkově jsou prořídlé, a mohou také shazovat listy dříve, než je běžné. Žloutnutí listů je vyvoláno nedostatkem dusíku pro syntézu chlorofylu, což indikuje odumření částí kořenového systému nebo přerušení transportu vody a živin v důsledku nekrotizace krčku (WEBBER et al. 2004; ČERNÝ et al. 2010a). Dalším příznakem napadení v koruně je nadměrná plodnost, vyholování kosterních větví nebo naopak tvorba kmenových výmladků až sekundární koruny se shlukovitým olistěním (ČERNÝ et al. 2010a).

Mnoho faktorů má vliv na průběh infekce a odumírání dřevin. Nejdůležitějším faktorem pro vznik infekce je dostupnost vody v půdě, proto je zaplavení jedním z predispozičních

a kontribučních faktorů infekce. Extrémní sucha nebo poškození hmyzem může přispět k oslabení stromu a k urychlení rozvoje choroby (JUNG 2009; JUNG et al. 2000, 2018).

3.1.4. Identifikace patogenů rodu *Phytophthora*

Patogeny r. *Phytophthora* se vyskytují v různých typech substrátu a je zapotřebí určitá zkušenost a technická expertíza k úspěšné detekci a izolaci. Prvním krokem je výběr správného typu vzorku k izolaci cílového patogenu (PERÉZ-SIERRA et al. 2022). Jako primární patogeny infikují druhy r. *Phytophthora* živá nebo čerstvě poraněná pletiva svého hostitele (ERWIN et RIBEIRO 1996). Při odběru čerstvě infikovaných pletiv je izolace patogenu relativně jednoduchá. Oproti tomu izolace patogenu z půdy je obtížnější, jelikož je důležité odebírat vzorky ze správného místa opakovaně, optimálně skladovat a správně zpracovat (DRENTH et SENDALL 2001).

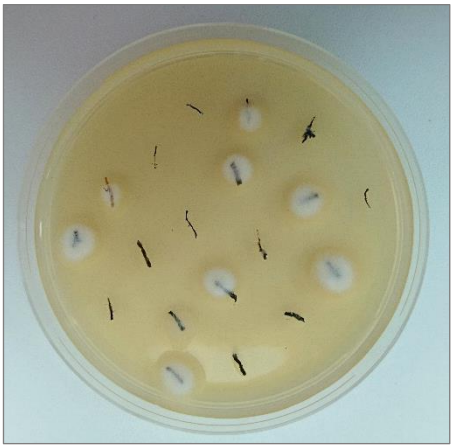
Půdou přenosné patogeny r. *Phytophthora* mohou po napadení kořenového systému způsobit také nekrotizaci v oblasti krčku nebo báze kmene, která se může projevit výtokem na borce. U dřevin s tenkou nebo méně zvrásněno borkou (např. buk, olše, javor) je možné pozorovat typické exudáty a po odstranění svrchní vrstvy najít horní okraj aktivní léze. U dřevin s tlustější hluboce rozbrázděnou borkou nemusí být exudáty vůbec patrné (dub, olše), případně může infekce zůstat pouze v oblasti kořenů. Proto je nutné vždy kombinovat odběr jak z napadených pletiv (pokud se taková vyskytují), a zároveň odběr rhizosféry v okolí symptomatického stromu (ERWIN et RIBEIRO 1996; JUNG et al. 1996; JUNG et al. 2000; ČERNÝ et al. 2010a).

Izolace z podkorních pletiv a kořenů

Patogen je možné detekovat pouze z okraje aktivně rostoucí léze, pokud jsou viditelné čerstvé exudáty a pod nimi aktivní nekrózy, které obsahují mycelium živého patogenu. Vzorek musí obsahovat hranici mezi zdravými a napadenými vodivými pletivy (ČERNÝ et al. 2010a). Postup zpracování vzorku se mezi autory mírně liší. ČERNÝ et al. (2010a) doporučuje odstranit borku, pomocí dláta odloupnout vzorek vodivých pletiv (alespoň 100 cm^2) a přímo v terénu uložit do igelitového sáčku a přepravit do laboratoře k dalšímu zpracování. Dle JUNGA et al. (1996, 2004) je vhodné vzorky ukládat do nádoby s destilovanou vodou, která by měla být během následujících 24 hod několikrát vyměněna z důvodu uvolnění fenolických látek ze dřeva, které by mohly inhibovat růst mycelia. Následující postup zahrnuje důkladné vysušení vzorku, nakrájení na kousky (0.5 × 0.3 × 0.3 cm), které by vždy měly obsahovat různé úrovně nekrotických vodivých pletiv. Po umístění na selektivní PARPNH agarové médium jsou vzorky inkubovány při teplotě 20 °C ve tmě, až do nárůstu mycelia. MRÁZKOVÁ et al. (2013) a DRENTH et SENDALL (2001) doporučují před inkubací na agarovém médiu navíc povrchovou sterilizaci vzorků v 95% ethanolu, a po následném promytí v destilované vodě a vysušení jsou zpracovány stejným způsobem. Podobným způsobem je možné izolovat patogen ze vzorků kořenů (Obr. 4), které jsou

očištěny v destilované vodě, vysušeny a umístěny na selektivní médium (PERÉZ-SIERRA et al. 2022).

Selektivní PARPNH agarové médium se připravuje dle JUNGA et al. (2002) z V8 zeleninového agaru (V8A): 16 g agar, 2 g $CaCO_3$, 100 ml V8 džus a 900 ml destilované vody. Směs následujících antibiotik se přidává do agaru až při teplotě nižší než 45 °C: 10 µg/ml pimaricin, 200 µg/mL ampicillin, 10 µg/mL rifampicin, 25 µg/ml pentachloronitrobenzen (PCNB), 50 µg/ml nystatin, 50 µg/mL hymexazol. První mycelium, které se běžně objeví po 3−4 dnech, je přeočkováno na čistý V8A nebo CA (= mrkvový agar) bez antibiotik pro získání čisté kultury (PERÉZ-SIERRA et al. 2022).



Obrázek 4: Kolonie Phytophthora plurivora vyrůstající z jemných kořenů dubu na selektivním PARPNH médiu (foto: Markéta Macháčová).

Návnadové metody

Přímá izolace druhů r. *Phytophthora* může být obtížně dosažitelná z důvodu dormance klidových struktur a přítomnosti rychleji rostoucích antagonistů. Proto je nutné použít nepřímé návnadové metody (angl. „baiting methods“), které často dosahují vyšší frekvence izolace (PERÉZ-SIERRA et al. 2022). Většinu půdních druhů patogenů je možné izolovat z rhizosféry symptomatických stromů, jelikož zde je největší pravděpodobnost výskytu napadených kořenů s aktivním inokulem nebo přežívajících struktur patogenu přímo v půdě. Návnadové metody jsou využívány pro izolaci fytoftor z půdy, resp. rhizosféry už dlouhou dobu (CORCOBADO et al. 2020; JUNG 2009; PÉREZ-SIERRA et al. 2022), nicméně úspěch metody je ovlivněn mnoha faktory. Důležité je správné načasování a klimatické podmínky, aby byl patogen aktivní a tedy izolovatelný (VANNINI et al. 2013). Velký problém představují půdní mikroorganismy, které mohou růst rychleji než fytoftory a působit kontaminaci, např. *Pythium* nebo *Phytopythium*, bakterie a jiné houby (ERWIN et RIBEIRO 1996; JUNG et al. 1996; PÉREZ-SIERRA et al. 2022).

Klasická návnadová metoda využívá principu simulace přirozených podmínek, kdy oospory přítomné ve vzorku půdy reagují na zvlhčení substrátu vyklíčením a tvorbou sporangií. Při následném zaplavení dojde k uvolnění zoospor, které jsou schopné doplavat několik centimetrů k hladině vody a infikovat plovoucí listy. Touto metodou je možné zachytit široké spektrum druhů skupiny oomycet, z nichž mnoho z nich může v půdě přežívat běžně a jsou tzv. domestikované, některé však mohou působit jako patogenní organismy (ERWIN et RIBEIRO 1996).

Jako návnadu lze použít také např. semena, plody, semenáčky, květy atd. Při izolaci se využívají následující techniky (DRENTH et SENDALL 2001; PÉREZ-SIERRA et al. 2022):

− vložení vzorku půdy (příp. infikovaného pletiva) do otvoru v plodu ovoce, nejčastěji zeleného jablka (odrůda Golden Delicious - Obr. 5)

− plovoucí návnady (mladé listy) k izolace patogenu z nekrotických kořenů zaplavených vodou

− využití tzv. raftu s plovoucí návnadou (listy, plody) přímo ve vodním toku

Obrázek 5: Izolace Phytophthora plurivora ze vzorku půdy s využitím jablka Golden Delicious a umístění infikovaného pletiva na selektivní PARPNH médium (foto: Markéta Macháčová).

Při izolaci fytoftor z půdy je odebrán vzorek rhizosféry ve vzdálenosti 50−150 cm od báze kmene symptomatického stromu pod vrstvou hrabanky v hloubce 5−15 cm. Je vhodné odebírat více vzorků okolo jednoho stromu a vytvořit směsný vzorek. Promíchaný vzorek o objemu cca 200 ml je umístěn do plastové nádoby a zalit destilovanou vodou do úrovně cca 3−4 cm nad půdu. Na čistou hladinu jsou umístěny 2−5 dnů staré listy různých dřevin, nejvíce se osvědčily listy Fagaceae – buk lesní (*Fagus sylvatica*), dub zimní (*Quercus petraea*), dub letní (*Quercus robur*) aj. (JUNG et al. 2000; VETTRAINO et al. 2002; SEDDAIU et al. 2020; CORCOBADO et al. 2020). Kompatibilita patogenu a listu hostitele také může hrát důležitou roli při úspěšnosti izolace (SARKER et al. 2023). Základní princip se tedy shoduje u většiny autorů, nicméně odlišnosti se vyskytují v použité návnadě. Nejčastěji jsou používány kromě Fagaceae také *Prunus avium, Rhododendron* spp., *Aesculus hippocastanum, Prunus laurocerasus, Hedera helix* aj. (JUNG et al. 1996; ČERNÝ et STRNADOVÁ 2010; PÁNEK et al. 2022; PERÉZ-SIERRA et al. 2022), případně větvičky *Chamaecyparis lawsoniana* (HANSEN et DELATOUR 1999). Vzorky se nechají inkubovat při teplotě 18−20 °C po dobu 2−7 dní. Následně jsou nekrotické skvrny z listů vysušeny, nakrájeny na malé kousky a přemístěny na selektivní agar. První hyfy morfologicky odpovídající r. *Phytophthora* jsou poté přemístěny na V8 nebo CA agarové médium pro další identifikaci (JUNG et al. 1996, 2000).

Čisté kultury jsou udržovány především na V8A, MEA nebo CA agarovém médiu bez antibiotik při 15−25 °C ve tmě (REDONDO et al. 2015; MRÁZKOVÁ et al. 2013; JUNG et al. 2002; DRENTH et SENDALL 2001). Kultury by se měly přeočkovat na nové médium každé 2−4 týdny, aby se zachovala jejich vitalita (DRENTH et SENDALL 2001), ovšem z praktických

důvodů se kultury uchovávají na šikmém agaru (V8A, CA, OA = ovesný agar nebo RA = žitný agar) v lednici při teplotě 5−7 °C (PÉREZ-SIERRA et al. 2022), na OA pod vrstvou minerálního oleje při teplotě 12 °C (ERWIN et RIBEIRO 1996), nebo v malých zkumavkách se sterilní destilovanou vodou ve formě kousků agaru s myceliem (SCHMITTHENNER et BHAT 1994).

3.1.5. Umělá inokulace patogeny rodu *Phytophthora*

Testy patogenity jsou ve fytopatologii široce využívány k zjištění interakce hostitele a patogenu. Interakce má simulovat přirozenou infekci, avšak eliminuje ostatní faktory ovlivňující průběh napadení. U invazních druhů jako je např. *Phytophthora* je velmi důležité zjistit, jaké je potenciální hostitelské spektrum a jaká jsou možná rizika při invazi patogenu na nové stanoviště nebo při změně podmínek prostředí. Provádíme také predikci interakce hostitele a patogenu, kteří se ještě nepotkali (JUNG et al. 2021; MULLETT et al. 2023; SHAKYA et al. 2021). Při izolaci patogenů zjištěných poprvé na daném území je nutné provést test patogenity k dodržení Kochova postulátu (PÉREZ-SIERRA et al. 2022).

U druhů r. *Phytophthora* se využívají metody infikující nadzemní část (stonek, kmínek, listy) nebo podzemní část (inokulace půdy a kořenového systému). U všech těchto metod je nutné na konci provést reizolaci z infikovaných pletiv pro potvrzení Kochova postulátu (PÉREZ-SIERRA et al. 2022). Jednou z nejrozšířenějších metod je tzv. podkorní inokulace (angl. under-bark inoculation, Obr. 6), kterou je možné provádět na sazenicích nebo na samotných větvích dřevin (JUNG et al. 1996). Tímto způsobem je možné testovat patogenitu izolátů a zároveň potenciální rezistenci hostitelů, např. při hledání rezistentních genotypů olše k patogenům komplexu *P. alni* (SANTINI et al. 2003; GIBBS et al. 2003; HAQUE et DIEZ 2012; NAVARRO et al. 2015; CHANDELIER et al. 2016; ŠTOCHLOVÁ et al. 2016; ZAMORA-BALLESTEROS et al. 2017; CORCOBADO et al. 2018; MARQUES et al. 2019 aj.). Vzhledem k fytosanitárním rizikům jsou tyto testy prováděny v kontrolovaných podmínkách, např. ve fytotronu nebo v laboratoři (inokulace větví), nebo ve skleníku (inokulace sazenic). Podkorní inokulace větších stromů je technicky poměrně náročná, ale možná (např. ĎURKOVIČ et al. 2021). Využít lze také živé výřezy z kmenů dospělých stromů (BRASIER et KIRK 2001). Mnoho patogenů r. *Phytophthora* infikuje přirozeně také plovoucí opad listů, což lze využít jako další možnost testování patogenity (TRZEWIK et al. 2021; CHRISTOVA 2024 aj.). Větve lze také inokulovat ponořením do suspenze zoospor (agarové výřezy s myceliem zalité dH_2O) (JUNG et al. 2006).

Při inokulaci kořenového systému lze využít metodu namočení kořenů semenáčků do suspenze zoospor nebo zavést inokulum přímo do substrátu k pěstovaným rostlinám. U obou metod je důležité dbát na sterilitu pěstebního substrátu, aby nedošlo ke kontaminaci jinými mikroorganismy (PÉREZ-SIERRA et al. 2022). Suspenzí zoospor lze dobře inokulovat např. několik měsíců staré semenáčky (CORCOBADO et al. 2022), u větších rostlin je

využívána půdní inokulace (JUNG et al. 1996; JÖNSSON et al. 2003a; MILENKOVIĆ et al. 2016, 2018). K půdní inokulaci se využívají min. 3 měsíce staré rostliny pěstované ze semen ve sterilním substrátu, ke kterým je zapraveno 4−5 týdnů staré inokulum patogenu (např. směs vermikulit-jáhly-V8 džus-dH_2O). Rostliny jsou poté na 72 hod zaplaveny dH_2O, čímž je podpořena sporulace patogenu a rozvoj infekce. Zaplavení je každé 3 týdny opakováno, až do ukončení experimentu (3−6 měsíců), kdy jsou vyhodnoceny parametry poškození kořenového systému a rozvoj nekrotických lézí, případně mortalita (PÉREZ-SIERRA et al. 2022).

Obrázek 6: Podkorní inokulace agarovými výřezy z čerstvé kultury na V8A médiu (foto: Markéta Macháčová).

3.2. Odumírání olší

3.2.1. Historie odumírání olšových porostů

Rozsáhlé odumírání olšových porostů napříč Evropou, anglicky označované jako „alder dieback“, bylo poprvé zaznamenáno v jižní Británii v polovině 90. let na olši lepkavé, a podle typických symptomů bylo onemocnění nazváno jako krvácivá rakovina olší (angl. bleeding canker) (BRASIER et al. 1995; GIBBS et al. 1995). V roce 2003 bylo onemocnění zaznamenáno již v 11 zemích Evropy kromě olše lepkavé také na o. šedé a o. srdčité (GIBBS et al. 2003). Další země přibývaly s rozšiřujícím se povědomím o chorobě a pokročilým izolačním technikám (JUNG et BLASCHKE 2006; ÉRSEK et NAGY 2008). Šíření fytoftorového onemocnění olší pravděpodobně zapříčinila nedostatečná kontrola školkařského materiálu, z kterého byly infikované sazenice distribuovány po celé Evropě (EVANS et OSZAKO 2007). Předpokládá se, že mezi lety 1990 a 2010 bylo infikovanými sazenicemi osázeno až 22 miliónů hektarů (BJELKE et al. 2016; JUNG et al. 2018). K zamoření oblasti může dojít z jednoho jedince, ze kterého se infekce dále šíří pomocí zoospor vodními toky (BJELKE et al. 2016). Olše rostoucí v kontaktu s vodou jsou tak snadno vystaveny infekci zoospor, které napadají hostitele skrz velké lenticely na kmeni, nebo přes nesuberinizované adventivní kořeny (JUNG et al. 2018).

Přehled aktuálního rozšíření choroby a výskytu patogenu z komplexu *P. alni* je zobrazen v Tabulce 1. V současnosti se napadení šíří podél vodních toků a v olšových plantážích ve většině evropských zemí (JUNG et al. 2016, 2018). K odumírání olší dochází především v důsledku infekce kořenů a krčků olší, kterou způsobuje komplex druhů *Phytophthora alni* (BRASIER et al. 2004a; JUNG et BLASCHKE 2004; ČERNÝ et STRNADOVÁ 2010; JUNG et al. 2013, 2018; BJELKE et al. 2016). Patogen napadá všechny evropské druhy olší (*Alnus glutinosa, A. incana, A. viridis, A. cordata*) v rámci lesních i břehových porostů (GIBBS et al. 1999; STREITO et al. 2002; JUNG et BLASCHKE 2004; JUNG et al. 2013, 2018; HUSSON et al. 2015; KANOUN-BOULÉ et al. 2016; CORCOBADO et al. 2023). Mladé stromy odumírají během několika měsíců, zatímco dospělé olše odumírají i několik let (GIBBS et al. 1999; STREITO et al. 2002; JUNG et BLASCHKE 2004).

Podrobnější průzkumy zaměřené na distribuci a způsob šíření patogenu byly prováděny na území některých států, kde došlo k plošnému rozšíření patogenu (např. Anglie, Francie, Bavorsko aj.). Monitoring byl zaměřený na olše, u kterých byly hodnocené symptomy onemocnění způsobené *P. alni*. Např. v oblasti jižní Anglie a západního Walesu bylo zjištěno značné rozšíření patogenu, jak uvádí GIBBS et al. (1999). V roce 1994 bylo napadení zaznamenáno téměř na polovině všech lokalit s výskytem olše, v průběhu výzkumu mezi lety 1994 a 1996 pak došlo k navýšení počtu stromů se symptomy choroby o 45 %, a mrtvých stromů přibylo téměř 100 %. Přestože se jedná o vysoký nárůst, stále to však bylo cca 8 % z celkového počtu olší (GIBBS et al. 1999). V severozápadní Francii THOIRAIN et al. (2007) potvrdili přítomnost příznaků napadení olší na více než 75 % studovaných úsecích řek, z nichž však pouze 16 % stromů vykazovalo typické příznaky napadení. Průměrné

napadení na lokalitě se pohybovalo mezi 5 a 25 % podle typu vodního toku, což byly podobné výsledky jako publikoval STREITO et al. (2001) na řece Mosela v severovýchodní Francii, a později GIBBS et al. (2003) v jižní Británii.

Tabulka 1: Reportovaný výskyt patogenů komplexu P. alni v jednotlivých zemích (převzato z BJELKE et al. (2016) a upraveno).

Region	Rozšíření	Reference
Belgie	Zaznamenaný výskyt	CLAESSENS (2005), DE MERLIER et al. (2005)
Česko	Široce rozšířený na západě Česka	ČERNÝ et al. (2003, 2008)
Dánsko	Pouze *P. uniformis*	REDONDO et al. (2017)
France	Široce rozšířený na severu Francie	STREITO et al. (2002), THOIRAIN et al. (2007)
Holandsko	Zaznamenaný výskyt	BRASIER et al. (2004a)
Irsko	Zaznamenaný výskyt	BRASIER et al. (2004a)
Itálie	Severní Itálie	SANTINI et al. (2001)
Litva	Zaznamenaný výskyt	BRASIER et al. (2004a)
Lotyšsko	Zaznamenaný výskyt	KĻAVIŅA et al. (2023)
Maďarsko	Zaznamenaný výskyt	SZABÓ et al. (2000), NAGY et al. (2003)
Německo	Široce rozšířený v jižním Německu	HARTMANN (1995), JUNG et BLASCHKE (2004)
Norsko	Jižní Norsko	STRØMENG (2012)
Polsko	Zaznamenaný výskyt	OSZAKO (2005)
Portugalsko	Severní Portugalsko	KANOUN-BOULÉ et al. (2016)
Rakousko	Zaznamenaný výskyt	CECH (1997), CORCOBADO (2020)
Slovensko	Zaznamenaný výskyt	ZÚBRIK et al. (2008)
Slovinsko	Zaznamenaný výskyt (2002)	TRAJBER et al. (2020)
Španělsko	Severozápadní Španělsko	PINTOS VARELA et al. (2010), REDONDO et al. (2015)
Švédsko	Jižní a střední Švédsko	OLSSON (1999), REDONDO et al. (2015)
Švýcarsko	Zaznamenaný výskyt	DUBACH et al. (2023)
USA	Aljaška, Oregon	ADAMS et al. (2008), AGUAYO et al. (2013)
Velká Británie	Široce rozšířený v jižní Anglii, výskyt ve Skotsku	BRASIER et al. (1995), GIBBS et al. (1999)

Rozsáhlý průzkum v Bavorsku odhalil příznaky choroby podél více než 50 % studovaných říčních systémů, přičemž na některých řekách přesáhla incidence 50 %. Šíření choroby bylo pozorováno převážně v mladých porostech (méně než 21 let starých), které byly v kontaktu s vodou z infikovaných mladých porostů. Největší výskyt příznaků byl zaznamenán v olšových porostech trvale v kontaktu s říční vodou a v oblastech, které zadržují povodňovou vodu po dlouhou dobu. Monitoringem a izolací bylo zjištěno, že hlavním zdrojem inokula byly infikované mladé stromy olší z plantáží, které byly vysazeny podél břehů řek nebo na stanovištích, které odváděly vodu do řek (JUNG et BLASCHKE 2004). Naopak odlišný scénář byl zaznamenán v oblastech např. horního Rakouska, kde byla pozorována regenerace porostů po napadení patogenem, nebo v Holandsku, kde byl patogen potvrzen, ale příznaky nebyly pozorovány (GIBBS et al. 2003).

Mimo Evropu byl patogen nalezen také v Severní Americe. První záznam pochází z Aljašky, kde se jednalo o druh *P. uniformis,* jeden z druhů komplexu *P. alni*, který byl dříve popsán z aljašských lužních půd v okolí olše tenkolisté (*Alnus incana* (L.) Moench ssp. *tenuifolia* (Nutt.) Breitung), ale nebyl spojován s příznaky choroby (ADAMS et al. 2008). Genetické srovnání evropských a severoamerických populací naznačuje, že tento druh je v Severní Americe původní, a mohl být odtud pravděpodobně zavlečen do Evropy (AGUAYO et al. 2013). Rozsáhlý průzkum porostů olše oregonské (*A. rubra*) v západním Oregonu potvrdil přítomnost 20 druhů r. *Phytophthora*. Nekrotické léze korelovaly s příznaky prosychání v koruně, nicméně nebyla zjištěna vysoká mortalita. Izolované druhy tedy nejsou pravděpodobně velmi agresivní, přesto však některé druhy (např. *P. siskiyouensis*) vytvořily velké léze v rámci testů patogenity. Jedná se zřejmě o neagresivní kořenové patogeny, které však mohou oslabovat napadené stromy a činit je náchylnější k dalším stresovým faktorům (NAVARRO et al. 2015).

3.2.2. Původce odumírání olší

Patogen způsobující epidemické chřadnutí olší v západní Evropě byl poprvé popsán pod jménem „alder-*Phytophthora*“ (BRASIER et al. 1995). Na základě podrobnějších taxonomických studií mu byl přiznán status druhu a jméno *Phytophthora alni* (BRASIER et al. 2004a). Tato studie prokázala, že se jedná o patogen hybridního původu, který je velmi polymorfní, a zahrnuje tři podruhy: *P. alni* subsp. *alni*, *P. alni* subsp. *multiformis* a *P. alni* subsp. *uniformis*. Ty byly později popsány jako tři samostatné druhy (HUSSON et al. 2015):

hybridní druhy

P.* ×*alni (Brasier & S.A. Kirk) Husson, Ioos & Marcais, nothosp. nov.

P.* ×*multiformis (Brasier & S.A. Kirk) Husson, Ioos & P. Frey, nothosp. nov.

a nehybridní druh

P. uniformis (Brasier & S.A. Kirk) Husson, Ioos & Aguayo, comb. nov.

Další studie ukázaly, že *P.* ×*alni* vznikl v důsledku hybridizace mezi druhy *P. uniformis* a *P.* ×*multiformis* (IOOS et al. 2006; HUSSON et al. 2015). Druh *P. uniformis* byl do Evropy pravděpodobně zavlečen ze Severní Ameriky (AGUAYO et al. 2013), zatímco původ druhu *P.* ×*multiformis* je neznámý.

Druhy komplexu *P. alni* jsou oligofágní a z přírody jsou známé pouze na olších. Nejvíce izolací pochází z olše lepkavé (*A. glutinosa*; CECH et al. 1997; STREITO et al. 2002; NAGY et al. 2003; IOOS et al. 2006; ČERNÝ et STRNADOVÁ 2010; HUSSON et al. 2015; JUNG et al. 2016; JUNG et al. 2018 aj.), olše šedé (*A. incana*; DE MERLIER et al. 2005; ČERNÝ et al. 2011; CORCOBADO et al. 2020), dále olše srdčité (*Alnus cordata*; GIBBS et al. 1995; SANTINI et al. 2001), olšičky zelené (*Duschekia alnobetula;* GIBBS et al. 1995; JUNG et BLASCHKE 2006;

BREGANT et al. 2020) a severoamerické olše oregonské (*A. rubra*; NAVARRO et al. 2015). V Česku je výskyt znám pouze na o. lepkavé a o. šedé (HAŇÁČKOVÁ et al. 2023).

Druh *P.* ×*alni* je považovaný za hlavního původce odumírání olší v rámci temperátních klimatických podmínek, nicméně i druhy *P. uniformis* a *P.* ×*multiformis* způsobují korové nekrózy a mortalitu (BRASIER et al. 1999; NAGY et al. 2003; JUNG et BLASCHKE 2004; THOIRAIN et al. 2007; SOLLA et al. 2010; AGUAYO et al. 2013; JUNG et al. 2013, 2018; ŠTĚPÁNKOVÁ et al. 2013; REDONDO et al. 2015; CORCOBADO et al. 2023). Druh *P.* ×*alni* byl také nejčastěji izolovaným druhem v rámci studií provedených v několika evropských zemích, zatímco druhy *P. uniformis* a *P.* ×*multiformis* byly izolované velmi vzácně (JUNG et BLASCHKE 2004; NAGY et al. 2003; AGUAYO et al. 2013).

Mezi jednotlivými druhy komplexu *P. alni* existují významné rozdíly v úrovni patogenity. Jak ukazují testy patogenity provedené na olši lepkavé, *P.* ×*alni* je více agresivní než *P. uniformis* (BRASIER et KIRK 2001; SANTINI et al. 2003). Avšak *P. uniformis* hraje větší roli v odumírání olšových porostů ve Skandinávii ve vyšších zeměpisných šířkách (REDONDO et al. 2015), stejně tak ve vyšších nadmořských výškách v Alpách, kde v obou případech je tento fakt přisuzovaný vyšší toleranci k mrazu u tohoto druhu v porovnání s *P.* ×*alni* (SCHUMACHER et al. 2006; ČERNÝ et STRNADOVÁ 2010; CORCOBADO et al. 2023).

Jak uvádí ČERNÝ et al. (2013) na základě pozorování v Česku, hlavní období aktivity patogenu *P.* ×*alni* je od konce léta, jelikož patogen má růstové optimum při 23−25 °C. Sporangia se vytvářejí při teplotě vody cca 15 °C, a při nižších teplotách se patogen rozmnožuje a šíří pravděpodobně jen minimálně. Větší význam oospor v životním cyklu patogenu je nepravděpodobný, jelikož patogen v prostředí přežívá a šíří se ve formě aktivního mycelia a plovoucích či encystovaných zoospor. Chlamydospory patogen nevytváří (BRASIER et al. 2004a).

Mnoho studií prokázalo, že podobné příznaky může vyvolat více než jen jeden druh patogenu (JUNG et BLASCHKE 2004; TRZEWIK et al. 2015; KANOUN-BOULÉ et al. 2016; BREGANT et al. 2020; MATSIAKH et al. 2021; BREGANT et al. 2023; TKACZYK et al. 2023a). Kromě komplexu *P. alni* jsou s chřadnutím olší spojovány následující druhy r. *Phytophthora*: *P. plurivora, P. gonapodyides, P. lacustris, P. cactorum, P. syringae, P. pseudosyringae, P. polonica, P. hydropathica, P. bilorbang, P. acerina, P. siskiyouensis, P. pseudocryptogea, P.* ×*serendipita* a *P. alpina*. Většina těchto studií je však zaměřená na olši lepkavou (HAQUE et al. 2015; TRZEWIK et al. 2015; KANOUN-BOULÉ et al. 2016; ZAMORA-BALLESTEROS et al. 2017; ADAY KAYA et al. 2018; BREGANT et al. 2023; VIEITES-BLANCO et al. 2023; CHRISTOVA 2024) a jen zřídka na o. šedou (JUNG et BLASCHKE 2004; ČERNÝ et STRNADOVÁ 2010; PÉREZ-SIERRA et al. 2015; BREGANT et al. 2020). ČERNÝ et al. (2020b) uvádějí dokonce 30 druhů r. *Phytophthora*, které mohou parazitovat na olši, nicméně 2/3 z nich se prozatím nevyskytují v Česku.

Jedním z nejvýznamnějších druhů je ***P. plurivora*** Jung & Burgess, který byl izolován z olše lepkavé i o. zelené (JUNG et BLASCHKE 2004; MÁJEK et al. 2019; CORCOBADO et al.

2023). Tento druh může také přispívat k odumírání olší, jak dokazují i provedené testy patogenity na o. lepkavé (JUNG et NECHWATAL 2008; RYTKÖNEN et al. 2012; MRÁZKOVÁ et al. 2013; HAQUE et al. 2015). *P. plurivora* patří mezi druhy se širokým spektrem hostitelských rostlin, mezi které patří i o. lepkavá, o. šedá a o. zelená (JUNG et BLASCHKE 2004; JUNG et BURGESS 2009; JUNG et al. 2013; JUNG et al. 2016, MRÁZKOVÁ et al. 2013; HAQUE et al. 2014; JUNG et al. 2018; CORCOBADO et al. 2023; TKACZYK et al. 2023a, b). Typické příznaky infekce způsobené *P. plurivora* jsou velmi obdobné jako u jiných půdních fytoftor (JUNG et BURGESS 2009). Šíření tohoto patogenu probíhá v rámci Evropy i celého světa s infikovaným rostlinným materiálem, a to zejména v okrasném školkařství (SCHOEBEL et al. 2014). Stejně jako u druhů komplexu *P. alni* se i *P. plurivora* snadno šíří pomocí vodních toků na pobřežní vegetaci, kde napadá i další druhy listnatých dřevin (JUNG et BURGESS 2009). Druh *P. plurivora* byl popsán až v roce 2009 díky rozsáhlé evropské studii zaměřené na rozšíření půdních fytoftor (JUNG et BURGESS 2009), nicméně za původní areál rozšíření je považována východní Asie. V Evropě i na západě USA je to jedna z nejčastějších fytoftor ve školkách (JUNG et al. 2016; KNAUS et al. 2015; PARKE et al. 2014).

3.2.3. Příznaky napadení olší

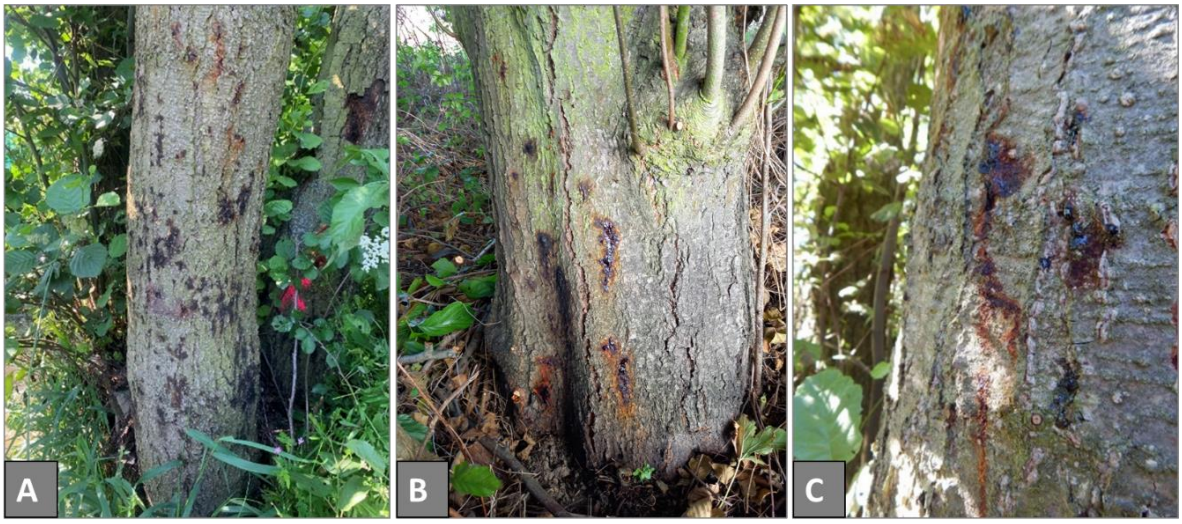
U odumírání olší v důsledku napadení *P. alni* může v první fázi rozvoje choroby dojít k záměně příčiny chřadnutí olší, kdy je jako příčina uváděna změna vodních poměrů nebo zaplavení a hypoxie, tak jak tomu bývalo po povodních v Česku v r. 2002 (ČERNÝ et al. 2013). Pokud dojde k vytvoření typických symptomů (jazykovité nekrózy, exudáty) doprovázených ohniskovitým chřadnutím porostu (Obr. 7), je záměna příčiny poškození málo pravděpodobná, přesto je pro stoprocentní determinaci patogenu nutná izolace a morfologická, případně genetická analýza.

Obrázek 7: Porost olše lepkavé s typickým ohniskem napadení Phytophthora ×alni, Libomyšl, řeka Litavka, květen 2021 (foto: Markéta Macháčová).

Výskyt krvácivých lézí (angl. bleeding cankers), u olší projevujících se rezavými exudáty, je sice velmi typický a viditelný příznak napadení, avšak nespecifický příznak choroby (OSSWALD et al. 2014).

Olše podél řek jsou infikovány především prostřednictvím lenticel a adventivních kořenů během dočasných záplav, zatímco kořeny jsou primárním místem infekce olší vysazených ve školkách na nezaplavených stanovištích (LONSDALE 2003; JUNG et BLASCHKE 2004). Napadení porostu může v první fázi probíhat skrytě na kořenech olší, tedy bez typických doprovodných symptomů na nadzemních částech rostlin. Jakmile dojde k rozsáhlejšímu poškození kořenů a krčků, začínají se objevovat změny v olistění napadených stromů a případně i symptomy na krčcích a bázích kmenů (ČERNÝ et al. 2010a).

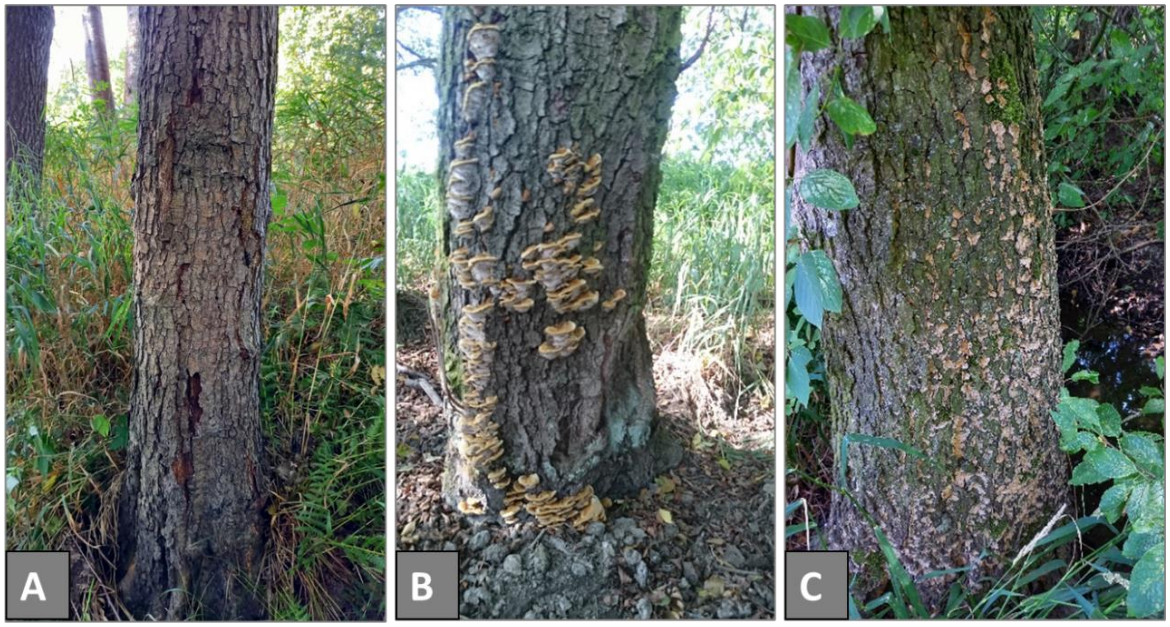
Napadené stromy vykazují v koruně obecně příznaky napadení fytoftorami (viz kapitola 3.1.3.). Typické příznaky napadení na kmenech jsou rezavohnědé až černé exudáty prostupující na povrch borky, které jsou nejlépe viditelné od srpna do září (Obr. 8). Exudáty indikují výskyt nekrotického pletiva pod borkou, a mohou se vyskytovat ve výšce 2 až 3 m a v důsledku rozrůstající se léze mohou každý rok až o několik desítek cm postoupit. Pod borkou se vyskytují oranžové až červené jazykovité nekrózy vodivých pletiv (Obr. 9), které mohou přirůstat až o 3−7 mm denně v období nejvyšší aktivity patogenu (ČERNÝ et STRNADOVÁ 2010; REDONDO et al. 2015).



Obrázek 8: Exudáty způsobené patogenem Phytophthora ×alni na borce olše lepkavé (A), o. šedé (B), a detail (C). Rezavé exudáty jsou důkazem letošního růstu aktivní léze, v dolní části kmenů jsou černé exudáty starší, pravděpodobně z minulého roku (A) (foto: Markéta Macháčová).

Na napadeném stromě může parazit zcela odumřít – pak je celá rána nebo její část zavalována kalusovým pletivem a vzniká typická vpadlá nekróza s popraskanou borkou (Obr. 10A) (ČERNÝ et al. 2010a). Takto poškozená borka může být vstupním místem pro infekci dřevokaznými houbami, typicky např. rezavcem lesknavým (*Inonotus radiatus* (Fr.) P.Karst.) (Obr. 10B), které mohou významně urychlit odumírání stromů (JUNG et BLASCHKE 2004; SCHUMACHER et al. 2006; ČERNÝ et al. 2010a).

Obrázek 9: Příklady aktivních nekrotických lézí s typickým tvarem způsobených patogenem Phytophthora ×alni (září, říjen 2023). (foto: Markéta Macháčová).



Obrázek 10: Následky napadení Phytophthora ×alni na olši lepkavé. Vpadlá nekrotická léze s popraskanou borkou (A), napadení sekundárními patogeny na odumírajících kmenech (B) rezavcem lesknavým (Inonotus radiatus) a (C) pevníkem (Stereum sp.). (foto: Markéta Macháčová).

Při napadení kořenů ve vodě dochází k jejich postupné nekrotizaci a ztrátě typické červenavé barvy. Odumřelé kořínky se ulamují a z břehu mohou trčet jen zčernalé odumřelé zbytky, což vede ke ztrátě stabilizační funkce břehu a riziku eroze. Na hnilobách kořenů v půdě se *P. alni* podílí jen malou částí, jelikož nesnáší konkurenci dalších, obvykle saprofytických mikroorganismů (ČERNÝ et al. 2010a).

Silně napadené stromy *P. alni* mohou odumřít během jedné vegetační sezóny (zejména mladé rostliny), dospělé stromy odumírají během několika let nebo dochází k nevratnému poškození (ČERNÝ et STRNADOVÁ 2010), mohou však přežívat s chorobou až 10 let.

Při výskytu dostatečně chladných zimních období může dojít k odumření patogenu v pletivech hostitele a napadený strom může zregenerovat (JUNG et BLASCHKE 2004; JUNG et al. 2007). ČERNÝ et al. (2010a) uvádějí, že četnost výskytu patogenu na stanovišti nakonec klesá současně s redukcí počtu olší, tedy poklesem množství živého substrátu, který může patogenem kolonizovat. Při výrazném poškození olší v porostu (50–90 %) pravděpodobně dochází k ustanovení rovnováhy mezi hostitelem a patogenem, nicméně i tito zbývající přeživší jedinci mohou být do určitě míry napadeni patogenem.

3.2.4. Identifikace patogenu *Phytophthora alni*

Přestože jsou symptomy fytoftorového onemocnění olší poměrně typické, spolehlivým způsobem prokázání patogenu je jeho izolace z poškozených pletiv a přímá identifikace. Nejvhodnější období pro odběr vzorků podkorních pletiv k izolaci patogenu *P. alni* je podzim (STREITO et al. 2002), ČERNÝ et al. (2010a) uvádějí červenec až listopad, kdy je patogen nejvíce aktivní. Většina studií využívá k izolaci patogenu *P. alni* metodu přímé izolace z podkorních pletiv, nicméně některé studie uvádějí možnost izolovat patogen z půdy a z plovoucích listů. Např. TRZEWIK et al. (2021) porovnávali izoláty *P.* ×*alni* získané z podkorních pletiv, rhizosféry a návnadových listů v řece. Výsledky ukázaly rozdíly ve velikosti sporangií v závislosti na původu izolátu, kdy největší sporangia byla zjištěna u izolátů z půdy. Další metodou je izolace patogenu *P. alni* s použitím větviček olše jako návnady, ale úspěšnost není příliš vysoká (STREITO et al. 2002).

Po získání čisté kultury z aktivní léze na napadené olši je vhodné ověřit růstové optimum druhu, což se provádí kultivací mycelia při teplotách 5−35 °C na různých typech médií (PÉREZ-SIERRA et al. 2022). Morfologie pohlavních orgánů u druhů komplexu *P. alni* je snadno pozorovatelná v kultuře na V8 agarovém médiu, jelikož se jedná o homothalické druhy (BRASIER et al. 2004a). Pro tvorbu sporangií jsou 15×15 mm výřezy z okraje čerstvého mycelia ponořeny do destilované vody při teplotě 18−22 °C, po 6 a 12 hod je voda vyměněna za filtrovanou půdní suspenzi (100 g půdy na 1000 ml dH_2O). Přítomnost bakterií stimuluje tvorbu sporangií, teplotní šok (cca 4 hod v lednici) stimuluje uvolňování zoospor (ERWIN et RIBEIRO 1996; JUNG et al. 1996).

Kolonie *P.* ×*alni* vytváří na CA většinou uniformní, přisedlé, ne příliš vzdušné mycelium (Obr. 11), s růstem 4,1−7,5 mm za den. Optimální růstová teplota je 23−25 °C (BRASIER et al. 2004a). Antheridia jsou dvoubuněčná, amfigynní (22–31×12–20 µm), oogonia kulovitá s mírně až silně ornamentovanou stěnou (28–55 µm v průměru). Často dochází ke zhroucení, resp. nedozrání oospor z důvodu meiotických nepravidelností (až 20−60 %) (ČERNÝ et STRNADOVÁ 2010). Chlamydospory patogen netvoří. Sporangiofory jsou jednoduché nebo sympodiálně větvené, u terminálně tvořených sporangií dochází k interní proliferaci. Sporangia mají ovoidní nebo elipsoidní tvar (38–65 × 25–41 µm), jsou většinou nepapilátní (BRASIER et al. 2004a; ČERNÝ et STRNADOVÁ 2010).

Obrázek 11: Phytophthora ×alni – kultura na V8A médiu po 7 dnech ve tmě, ornamentované oogonium s amfigynickým antheridiem, nepapilátní sporangium (foto: Markéta Macháčová).

Reprezentativní izoláty jsou dále využity pro molekulární identifikaci nejčastěji sekvenováním ITS oblasti DNA (COOKE et al. 2000; PÉREZ-SIERRA et al. 2022). Získané sekvence jsou porovnány s databází NCBI BLAST (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) k identifikaci nejbližších příbuzných sekvencí. Izoláty jsou přiřazeny k druhu, pokud je sekvenční identita vyšší než 99 % vzhledem k izolátům ex-typu nebo klíčovým izolátům dobře identifikovaných druhů (JUNG et al. 2020).

3.2.5. Odumírání olší v Česku

V české literatuře je možné se setkat s více označeními pro patogen nebo chorobu. Nejčastěji se uvádí „plíseň olšová“ jako název patogenu, dále „fytoftorová hniloba kořenů a krčků olší“, „fytoftorové onemocnění olší“ nebo „krvácivá rakovina olší“ jako název choroby (ČERNÝ et al. 2013).

Odumírání olší bylo v minulém století na území Československa pozorováno opakovaně, nicméně za příčinu byly považovány různé abiotické i biotické faktory. Například již v 60. letech pozoroval UROŠEVIČ (1963) hromadné odumírání olší ve výsadbách i mlazinách, kde se jako hlavní příčina uváděl mráz s následným napadením řadou hub a žíry brouků. Později byly takovéto případy většinou ojedinělé, a jako příčina byly uváděny houbové patogeny nebo bakterie (JANČAŘÍK 1986, 1988). Ve druhé polovině 80. letech se začaly objevovat první zprávy o hromadném odumírání břehových porostů olší, zejména v jižních Čechách (JANČAŘÍK 1993; STRUKOVÁ et al. 1996). V té době se často diskutoval problém chřadnutí různých druhů dřevin v souvislosti se zhoršenými ekologickými poměry a oslabením lesních dřevin vlivem znečištěného prostředí. Jak detailně uvádí JANČAŘÍK (1993), příznaky odumírání olší byly velmi různorodé a zahrnovaly postupnou ztrátu listoví od konců výhonů, zmenšování listové plochy a celkové prořeďování koruny. Zejména zmenšování listové plochy bylo připisováno nedostatku živin z důvodu poruchy funkcí vodního režimu a vedení živin v chřadnoucích stromech. Zajímavým pozorováním však byl postupný úbytek až vymizení hustých provazců typických červených kořenů olší z potoků, a po vytržení olší bylo zjištěno, že převážná část kořenového systému byla odumřelá, často

chyběly kořenové hlízky. Kultivace kotoučových výřezů a větví ukázala výskyt hub z r. *Ophiostoma*, nicméně jejich přítomnost na vzorcích byla sporadická, takže je nebylo možné považovat za prvotní patogenní činitele v souvislosti s odumíráním olšových porostů (JANČAŘÍK 1993).

Příznaky pozorované Jančaříkem velmi dobře odpovídaly napadení fytoftorami, které bylo dalšími výzkumy potvrzeno (ČERNÝ et al. 2010b; ČERNÝ et al. 2015). V Česku byl patogen *P. alni* poprvé identifikován v r. 2001 v povodí Ohře, kdy byl označen za tzv. „alder-Phytophthora" druh (ČERNÝ et al. 2003). Šest let po první identifikaci v ČR byl patogen zjištěn již v 60 porostech převážně v západních Čechách v povodí řek Vltavy a Ohře (CERNY et al. 2008). Pozdější výzkumy potvrdily izolaci patogenu na více než 150 lokalitách a příznaky chřadnutí na více než 300 stanovištích (ČERNÝ et STRNADOVÁ 2010), do konce roku 2010 to bylo 400 lokalit s potvrzeným výskytem patogenu (ČERNÝ et al. 2010b). Výskyt hromadného fytoftorového chřadnutí olší byl potvrzen např. v povodí Lužnice, Vltavy, Berounky, Ohře, Ploučnice, Jizery, Labe, Orlice, Sázavy, Jihlavy, Moravské Dyje a Moravy. Značné škody na stovkách km vodních toků až kalamitní chřadnutí olší bylo zjištěno v tisících km břehových porostů (ČERNÝ et al. 2010b). Jak uvádějí ČERNÝ et STRNADOVÁ (2010), dochází k invaznímu šíření patogenu v povodích od západu na východ. Nejsilnější napadení však bylo zjištěno na řece Lužnici, kde desítky tisíc olší byly pravděpodobně napadeny patogenem *P. alni* a v důsledky napadení také odumřely. Na těchto lokalitách bylo reportováno chřadnutí olšových porostů již v 80. a 90. letech (JANČAŘÍK 1993; STRUKOVÁ et al. 1996), je tedy pravděpodobné, že napadení bylo způsobené *P. alni*, jelikož na přeživších jedincích byly zjištěny léze staré zřejmě 10 až 15 let. Tyto přeživší stromy, stejně jako asi 15 let vysazené olše, měly také příznaky napadení. Předpokládá se, že původce choroby se do Česka mohl dostat pravděpodobně z okolních zemí, kde byl patogen zjištěn na tocích protínajících české hranice, např. západní Bavorsko (JUNG et BLASCHKE 2004) nebo severní Rakousko (CECH et BRANDSTETTER 1999). Před první izolací mohl patogen způsobovat škody pouze lokálně, a unikat tak pozornosti, případně byly škody připisovány jiným příčinám, např. povodním v roce 1997 (ČERNÝ et al. 2006). Povodně v r. 2002 pravděpodobně velkou měrou přispěly k rozšíření patogenu v rámci celých povodí. Dopad povodní se projevil v následujících 2–3 letech, kdy docházelo k rychlému odumírání olší v břehových porostech (STRNADOVÁ et al. 2006; VYHLÍDKOVÁ et al. 2005). Je však možné, že většina porostů byla více či méně stresována hlavně v důsledku anoxie, jak uvádí např. KOZLOWSKI (1997).

V roce 2013 byl v Česku proveden rozsáhlý průzkum, který byl zaměřen na výskyt fytoftorového onemocnění na více než 800 lesních porostech po celé ČR. Onemocnění bylo zjištěno ve více než 50 % zkoumaných porostů, s průměrným poškozením asi 10 % jedinců olší. Studie zjistila, že výskyt onemocnění je značně vyšší na stanovištích výrazně obohacených vodou, v nižších nadmořských výškách a v blízkosti širších vodních toků, což podporuje šíření patogenu převážně přirozenou cestou přes vodní toky. Nebyla prokázána souvislost mezi výskytem onemocnění a věkem porostu (ČERNÝ et al. 2015).

Z dosavadních průzkumů a vytvořených modelů vyplývá, že nejvíce ohrožené jsou především větší souvislé porosty olší, které se nacházejí v pánevních oblastech v nižších polohách s hustou sítí vodních toků (např. Třeboňsko), nebo naopak v pahorkatinách, či vrchovinách s méně členitým reliéfem a s vysokým úhrnem srážek (ČERNÝ et al. 2016a; ČERNÝ et al. 2017). Nejmenší škody jsou způsobovány v oblastech suchých a teplých a rovněž v oblastech horských s členitým reliéfem (ROMPORTL et al. 2016). Jak uvádějí ČERNÝ et al. (2010a), napadeny bývají břehové porosty velkých řek i středních a malých toků do šířky 1 m i břehové porosty vodních nádrží a rybníků. Patogen se však může vyskytovat i v občasně zaplavovaných nivách až několik set metrů od vodního toku, v periodicky zaplavovaných územích, výtopách, bažinách a slatinách, nicméně cca 95% zjištění se týká břehových porostů anebo porostů, které bývají zaplavovány. V břehových porostech toků povodí Vltavy patogen způsobuje významné ekonomické škody, které se s velkou pravděpodobností pohybují v řádu miliard Kč (ČERNÝ et al. 2016b).

Výše zmíněné studie (ČERNÝ et STRNADOVÁ 2010; ČERNÝ et al. 2015) uváděly jako zdroj infekce šíření patogenu vodními toky, nicméně již tehdy autoři upozorňovali na možný rychlý způsob šíření i cestou infikované výsadby. V roce 2011 MRÁZKOVÁ et al. (2011) detekovali druh *P. gonapodyides* v závlahové vodě v okrasné školce. O několik let později ČERNÝ et al. (2020b) v rámci výzkumu zjistili, že všechny zkoumané školkařské plochy v ČR byly do větší či menší míry kontaminovány oomycety. Celkem bylo identifikováno 22 druhů r. *Phytophthora*, mezi nimi i druhy *P. plurivora* a *P. gonapodyides* (ČERNÝ et al. 2020b), které se také mohou podílet na odumírání olší, jak ukazují nejnovější studie (např. BREGANT et al. 2023). V dalším průzkumu BAČOVÁ et al. (2024) zjistili v osmi školkách přítomnost velkého spektra patogenů r. *Phytophthora*, mimo jiné také *P. uniformis* a *P.* ×*multiformis* metodou DNA metabarcodingu v jedné okrasné školce. Tato metoda detekce potvrzuje pouze přítomnost DNA, nikoli přítomnost samotného patogenu, nicméně i tak se jedná o první identifikaci patogenu *P.* ×*multiformis* v Česku.

V Česku byly doposud identifikovány pouze dva ze tří druhů komplexu *P. alni*, a to *P.* ×*alni* a *P. uniformis.* ŠTĚPÁNKOVÁ et al. (2013) ve své práci studovali zastoupení těchto druhů v rámci 59 olšových porostů, a zjistili významnou převahu druhu *P.* ×*alni* (88 %). Druhy se také lišily v rozšíření, druh *P.* ×*alni* byl zaznamenán v břehových porostech podél širších řek v nížinách, *P. uniformis* byl izolován zejména z břehových porostů malých vodních toků ve vyšších nadmořských výškách. Tyto dva druhy byly zjištěny také ve školkách, nicméně oba s poměrně malou frekvencí záchytu (2−3 %) (ČERNÝ et al. 2020b). Kromě *P.* ×*alni* a *P. uniformis* jsou identická poškození způsobována i dalšími patogeny, např. (*P.* ×*cambivora*, *P. plurivora* aj.), ovšem v mnohem nižších frekvencích než první dva zmíněné taxony. Porosty olší ve středních a nižších polohách jsou prakticky vždy napadeny některým ze zmíněných druhů (ČERNÝ et al. 2020b).

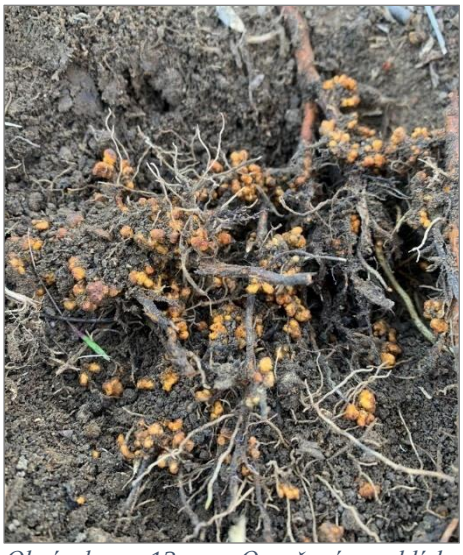
Z nejnovějších poznatků vyplývá, že patogen *P. alni* je rozšiřován zejména s infikovanými sazenicemi olší a pravděpodobně s kontaminovanou vodou. Pravděpodobnost výskytu

a výše škod v lesích pozitivně závisí na přítomnosti a šířce vodních toků, výskytu rybníků a mokřadů a na zastoupení a propojenosti porostů s olšemi v okolí, naopak negativní vliv má vyšší členitost krajiny (CHUMANOVÁ et al. 2021).

3.2.6. Význam choroby a možnosti ochrany

Olšové porosty jsou ekologicky velmi významné, jelikož olše jsou klíčovými břehovými dřevinami vázajícími dusík díky symbióze s aktinomycetou *Frankia alni* (Obr. 12), která jim umožňuje kolonizovat extrémní stanoviště a dále obohacovat půdu sloučeninami dusíku (CLAESSENS 2003). V Evropě se vyskytují čtyři druhy olší.: o. lepkavá, o. šedá, o. zelená a o. srdčitá. Obecně patří zástupci rodu *Alnus* mezi pionýrské druhy, které jsou schopné rychle osídlit otevřená a vlhká stanoviště (WEBBER et al. 2004). Olše proto pomáhají stabilizovat říční břehy, protože fungují jako břehové nárazníky a větrolamy, a jsou důležité v rámci protierozní ochrany (BJELKE et al. 2016). Přestože olše vykazují rychlý růst a silnou vegetační obnovu, mohou trpět mnoha patogeny a škůdci s potenciálně devastujícími účinky pro lužní lesy (WEBBER et al. 2004; BJELKE et al. 2016).

V českém lesním hospodářstvím představuje patogen potenciální hrozbu hlavně tam, kde dominuje olše, tj. zejména v lužní a glejové řadě (ČERNÝ et al. 2013). Roste na živinově bohatých půdách, snáší silně znečištěné ovzduší, toleruje široké rozpětí teplot a je relativně mrazuvzdorná (MCVEAN 1953). Těžištěm výskytu jsou nížiny a střední polohy, patogen se však vyskytuje i ve vyšších nadmořských výškách podél vodotečí. Olše lepkavá je rovněž významnou dřevinou břehových porostů vodních toků a nádrží, kde se uplatňuje její funkce zpevňovací, filtrační a další, mimoto jsou její kořenové systémy útočištěm celé plejády vodních organismů (NOVOTNÁ et al. 2017).



Obrázek 12: Oranžové hlízky symbiotických aktinomycet na kořenech olše lepkavé (foto: Markéta Macháčová).

Přestože olše snáší vysokou půdní vlhkost a vysokou hladinu spodní vody, je citlivá vůči záplavám (MCVEAN 1956). Déletrvající zaplavení inhibuje růst kořenů, redukuje jejich větvení a tvorbu hlízek. Dále dochází k inhibici fotosyntézy, zpomalení nebo zastavení transportu asimilátů, a v důsledku redukce biomasy kořenů dochází k poklesu absorpce živin (KOZLOWSKI 1997). Právě výskyt olše na těchto stanovištích je rizikovým faktorem pro napadení patogenem *P. alni* (JUNG et BLASCHKE 2004). Primární infekce dosud nenapadených porostů může pocházet z více zdrojů, z nichž nejběžnější je přenos infikovaným materiálem ze školek (ČERNÝ et al. 2020b; BAČOVÁ et al. 2014) i po celé Evropě (JUNG et al. 2016).

U napadených porostů dochází ke změnám fyzikálních charakteristik stanovišť (stabilita břehů, změna struktury kořenových systémů, osvětlení), ke zvýšení přísunu živin a polutantů splachy z okolí a ke změnám v biologickém fungování potravních sítí (koloběh dusíku) a změnám v celém ekosystému vodního toku (NOVOTNÁ et al. 2017). Důsledkem redukce olistění je výrazné snížení přísunu opadu bohatého živinami a omezení kvality a množství potravních zdrojů pro dekompozitory a detritovory, což ovlivňuje aktivitu a složení jejich společenstev (BJELKE et al. 2016). Významně je ovlivněn tok energie ve vodním toku a v krajině. Redukce olistění vede rovněž ke zvýšení sluneční radiace. Urychluje se rozvoj řas, zvyšuje se teplota prostředí a produktivita systému, zvyšuje se dostupnost uhlíku a dusíku, snižuje dostupnost kyslíku a zvyšuje riziko eutrofizace. V důsledku pak může dojít ke změnám složení společenstev závislých mikro- a makroorganismů, může se i zvýšit mortalita v rybím společenstvu. Klesající zastínění koryt vyvolané rozpadem olšových porostů ještě zvyšuje přímý vliv sluneční radiace na ohřev vody. Zvýšená teplota navíc zpětně podpoří rozvoj choroby a další rozvoj poškození olší (BJELKE et al. 2016; NOVOTNÁ et al. 2017).

Opatření k omezení šíření a vlivu patogenu jsou problematická a nepříliš účinná. Pokud se inokulum patogenu již na daném toku vyskytuje, je jeho další šíření v rámci toku velmi pravděpodobné. V napadených břehových porostech je vhodné kácet jen v nejchladnějších měsících roku, kdy je patogen nejméně aktivní (ČERNÝ et al. 2013). Samotná těžba, přeprava a skládkování infikovaného materiálu může také přispět k šíření patogenu obzvláště v teplých obdobích roku, proto by personál měl být vždy dobře zaškolený (ČERNÝ et STRNADOVÁ 2011). Kácení je však nutné po 2−3 letech od jedné probírky zopakovat, lze se zaměřit na výmladkové hospodaření, které přineslo dobré výsledky ve snížení zdrojů inokula (JUNG et BLASCHKE 2006). Při obnově je nutná výsadba zdravého rostlinného materiálu, nicméně do zamořených lokalit je zbytečné vysazovat nové olše a doporučuje se spíše se zaměřit na jiné dřeviny (ČERNÝ et al. 2013). V lesních školkách patří k možným opatřením použití fungicidů např. na bázi metalaxylu, fosetylu-Al, dimetomorfu, kontrola zdravotního stavu materiálu, dezinfekce závlahové vody či změna jejího zdroje, změna sortimentu vysazovaných sazenic na plochách s výskytem *P. alni* minimálně po tři roky (JUNG et BLASCHKE 2004).

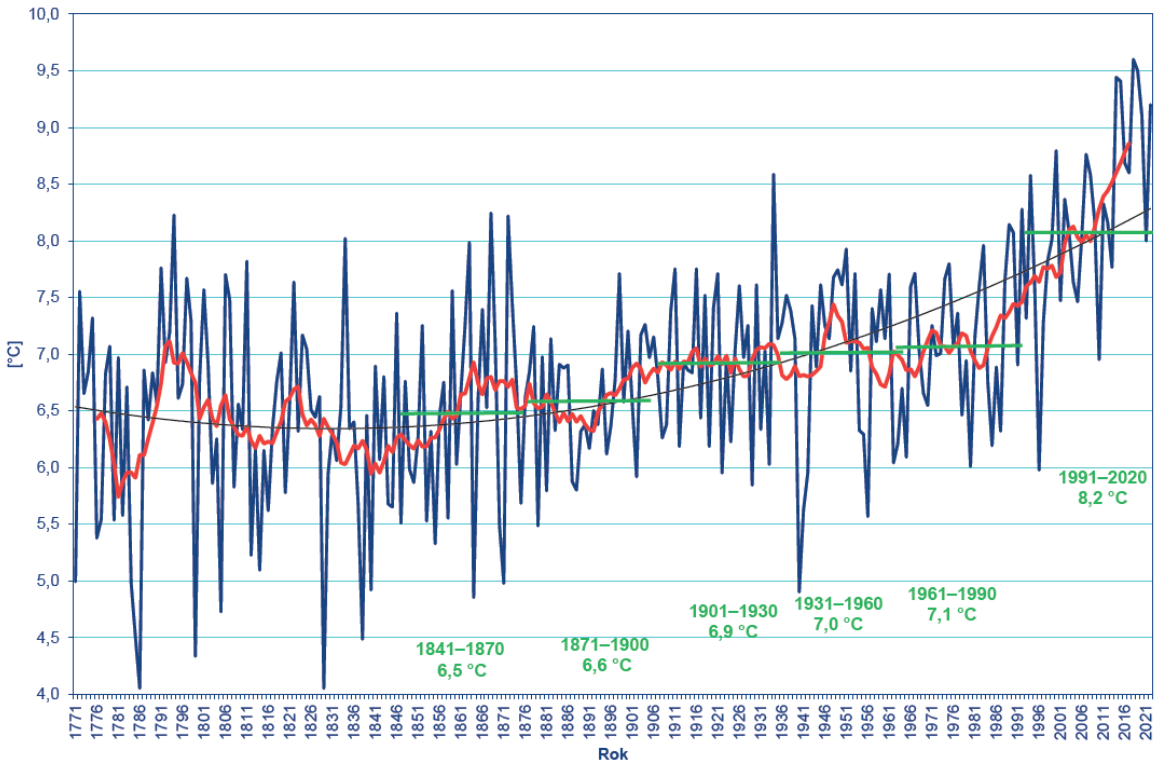
3.3. Klasifikace zdravotního stavu dřevin

3.3.1. Faktory ovlivňující zdravotní stav dřevin

Zdravotní stav dřevin je nejčastěji hodnocen jako míra defoliace (odlistění) a zabarvení koruny jednotlivých stromů. Hodnocení vitality porostů pomocí stanovení defoliace se v Česku stejně jako v dalších zemí Evropy provádí již od roku 1986 v rámci programu ICP Forests (EICHHORN et al. 2016; VEJPUSTKOVÁ et al. 2019). Jak uvádí UHLÍŘOVÁ (1996): „Defoliace stromu představuje ztrátu asimilačního aparátu v porovnání s pomyslnou představou relativně zdravého jedince, rostoucího ve stejných stanovištních podmínkách“. Dále dodává, že defoliace je však nespecifický symptom poškození, které může být způsobeno více faktory nebo jejich vzájemnou interakcí.

Mezi hlavní abiotické faktory ovlivňující zdravotní stav dřevin patří klimatické podmínky. Především klimatické změny, jako je globální oteplování, extrémní teplotní výkyvy, změny srážkových vzorců a zvyšující se frekvence a intenzita suchých období, mají v posledních letech čím dál větší dopad na růst a vitalitu stromů. Zvýšené teploty mohou urychlit metabolické procesy dřevin, což vede k vyšší spotřebě vody a živin, a tím k většímu stresu v obdobích sucha (ALLEN et al. 2010). Extrémní teplotní výkyvy, jako jsou pozdní jarní mrazy nebo horké letní dny, mohou způsobit fyziologický šok, poškození pletiv a snížit schopnost stromů odolávat patogenům (FISCHER et al. 2013). Dalším klíčovým abiotickým faktorem je změna rozložení srážek. Nepravidelné a extrémní srážky mohou vést k problémům s dostupností vody, což má přímý vliv na fotosyntézu a růst stromů. Nadměrné srážky mohou způsobit hnilobu kořenů v důsledku přesycení půdy vodou a nízké dostupnosti kyslíku v půdě, zatímco nedostatek srážek vede ke snížení fotosyntézy a růstu, omezení transportu živin a oslabení stromů (BREDA et al. 2006). Zvyšující se koncentrace CO_2 v atmosféře může stimulovat růst některých druhů dřevin, ale zároveň může zvýšit jejich citlivost na další stresové faktory, jako jsou sucho a vysoké teploty (NORBY et al. 2010).

V Česku dochází v posledních desetiletích k nárůstu teploty a ke změnám v charakteru a rozložení srážek. Z Grafu 1 je patrné, že většina z nejteplejších let byla zaznamenána v období posledních 20 let (ČHMÚ 2024). Charakteristickým rysem této změny je nárůst počtu a intenzity vln horka v letních měsících. Celkový roční úhrn srážek zůstává relativně stabilní, avšak dochází k výraznějším výkyvům v rozložení během roku. Srážky jsou koncentrovány do krátkodobějších a intenzivnějších srážkových událostí. Intenzivní přívalové deště vedou k lokálním povodním, zatímco geograficky blízké oblasti mohou být nadále postiženy suchem (ČHMÚ 2024). Celkově lze říci, že zvýšená frekvence extrémních meteorologických jevů, jako jsou vlny horka a sucho, oslabující dřeviny, zvyšuje jejich náchylnost k napadení škůdci a patogeny (LINDNER et al. 2010).



Graf 1: Průměrná roční teplota vzduchu v Česku v období 1771–2022 proložená 11letým klouzavým průměrem (červeně) a polynomem druhého stupně. Vložené úsečky (zeleně) ukazují 30leté průměry za jednotlivá normálová období od roku 1841. Historická data podle práce ŠTĚPÁNKA (2005), od roku 1961 ČHMÚ (převzato bez úprav z ČHMÚ 2023).

Poškození dřevin biotickými činiteli zpravidla přímo souvisí s předchozím vývojem např. povětrnostních podmínek, zdravotního stavu dřevin, způsobem hospodaření (UHLÍŘOVÁ 1996). Výskyt a šíření poškození vyvolaným biotickými činiteli má zpravidla ohniskovitý charakter (např. lýkožrout smrkový, václavka smrková) (KUBIAK et al. 2017; BENTZ et al. 2019). Často dochází k interakci mezi různými biotickými faktory, což vede ke vzniku komplexních syndromů chorob, které mohou mít synergický negativní efekt na nejen na jednotlivé stromy, ale také na zdraví celých lesních ekosystémů. Z toho důvodu může být determinace faktorů a následná opatření poměrně problematická. Příkladem může být napadení smrkových porostů lýkožroutem smrkovým, který současně přenáší spory různých druhů hub, jako je původce modré hniloby (*Ophiostoma* spp.), jejichž synergický efekt způsobuje rychlejší odumírání stromů (CHRISTIANSEN et al. 1987; VIIRI et al. 2004; JANKOWIAK 2005). Jasany jsou v posledních dvou desetiletí významně napadány patogenem *Hymenoscyphus fraxineus*, který způsobuje rozsáhlé prosychání a celkové oslabení stromů, které jsou následně náchylnější k sekundárním infekcím např. václavkami (*Armillaria* spp.) nebo napadení hmyzem (*Hylesinus varius, H. crenatus*), což urychluje jejich odumírání (KOWALSKI 2006; CHANDELIER et al. 2016; LENZ et al 2016; MADSEN et al. 2021). Naopak chřadnutí dubů je příkladem komplexu příčin, kde působí jako predispoziční faktor především dlouhé období sucha (MACHÁČOVÁ et al. 2022). Stresované stromy jsou pak dále oslabovány např. padlím dubovým (*Erysiphe alphitoides*) nebo defoliátory (např. Geometridae, Tortricidae), přičemž jako hlavní faktory způsobující odumírání jsou uváděny

zejména kořenové patogeny, např. agresivní druhy *Phytophthora cinnamomi, P. plurivora, P. quercina* aj., václavky (např. *Armillaria mellea, A. gallica*) nebo další dřevokazné houby (*Ganoderma* spp., *Inonotus dryadeus*, *Phellinus robustus* aj.). Podkorní hmyz, především bělokaz dubový (*Scolytus intricatus*) a další druhy přenášející ophiostomatální houby pak přispívají k degradaci vodivých pletiv, stejně jako polník dvojtečný (*Agrilus biguttatus*) přenášející bakterie (Enterobacteriaceae) (THOMAS et al. 2002; DENMAN et al. 2014).

Dá se předpokládat, že klimatické změny budou mít významný dopad na interakci mezi dřevinou a patogenem, především s ohledem na šíření invazních druhů, kterým změna klimatických podmínek umožňuje přežít na nových stanovištích (JEGER et PAUTASSO 2008; LA PORTA et al. 2008). Následkem zvyšujících se teplot během zimy například invazní druhy rodu *Phytophthora* (včetně *P. alni*) v Evropě úspěšně přežívají zimní období (BERGOT et al. 2004; REDONDO et al. 2015). V některých případech mohou klimatické změny vést i k opačnému efektu, jak ukazují některé modely (AGUAYO et al. 2014), neboť příliš vysoké teploty během léta mohou být naopak limitující s ohledem na výskyt patogenu.

3.3.2. Fyziologické parametry dřevin při napadení patogenem rodu *Phytophthora* a jejich stanovení

Jedním z měřitelných fyziologických parametrů je fotosyntéza. Základním projevem fotosyntézy je výměna plynů mezi listem a okolím, což je možné měřit na příjmu CO_2 rostlinou. V rámci fyziologických změn u olše napadené *P. alni* je možné hodnotit rychlost asimilace, která odpovídá množství molů CO_2 přijatých rostlinou z jednotky plochy za časový interval (TAIZ et ZEIGER 2010). K tomu se využívají gazometrické metody, které umožňují měření rychlosti výměny plynů mezi listem a okolní atmosférou. Pro měření se využívá např. přenosný přístroj LI-6400/XT (Licor, NE, USA), u kterého se vkládá část listové čepele do osvětlené komůrky vybavené tzv. IRGA systémem (Obr. 13), což je infračervený analyzátor plynů (infrarred gas analyser). Příjem, resp. výdej CO_2 se projeví změnou koncentrace CO_2 v atmosféře obklopující měřený objekt. Výstupem je tzv. „rychlost čisté fotosyntézy“ (*Pn*), která je vyjadřována jako hustota toku CO_2 na jednotku plochy listu za čas (μmol (CO_2) m^{-2} (listu) s^{-1}) (EVANS et SANTIAGO 2014).

Měření rychlosti fotosyntézy je klíčové pro pochopení produktivity stromů a jejich reakce na změny v prostředí, jako jsou např. světelné podmínky, dostupnost CO_2 nebo poškození patogenem (TAIZ et ZEIGER 2010). Stomatální vodivost odhaduje rychlost výměny plynů (tj. příjem CO_2) a transpirace (tj. ztráta vody) skrz průduchy listu. Výměna plynů a transpirace závisí na stupni otevření průduchů, tedy fyzickým odporem k pohybu plynů mezi vzduchem a vnitřkem listu. Stomatální vodivost je funkcí hustoty, velikosti a stupně otevření průduchů; více otevřené průduchy umožňují větší vodivost, což naznačuje, že fotosyntéza a transpirační rychlosti jsou potenciálně vyšší (TAIZ et ZEIGER 2010).

Transpirace se hodnotí pomocí rychlosti transpirace a vodního potenciálu listů a kořenů. Vodní režim zahrnuje obsah vody v pletivech a hydraulickou vodivost xylému (TAIZ et ZEIGER 2010). Při omezení možnosti kořenů přijímat vodu dochází ke snížení listové plochy, suché listové hmotnosti a růstu. Celkové narušení poměru kořene ku prýtu vede ke snížení vodního potenciálu listu až vodnímu deficitu, snížení vodivosti průduchů a poklesu transpiračního toku (TSCHAPLINSKI et BLAKE 1985). Podobné projevy byly pozorovány i na inokulovaných olších patogenem *P.* ×*alni* v experimentální práci CLEMENZE et al. (2008). Hodnocené olše měly menší přírůstky, nižší příjem CO_2 a méně negativní vodní potenciál listoví, ale vyšší obsah škrobu v listech a silně oscilující hodnoty transpiračního toku.

Obrázek 13: Měření plynové výměny přístrojem LI-6400/XT (Licor, NE, USA) na listech olše v terénu, vpravo detail listu vkládaného do gazometrické komory (foto: Ivana Tomášková).

Obsah chlorofylů nepřímo určuje fotosyntetický potenciál vegetace a jedná se tedy o důležitý ukazatel produktivity jedince. Obsah chlorofylu se často používá jako indikátor zdraví a vitality stromů, protože je přímo spojen s jejich fotosyntetickou kapacitou (TAIZ et ZEIGER 2010). Měření fluorescence chlorofylu je klíčovým nástrojem v oblasti fyziologie rostlin, který je neinvazivní, přesto však umožňuje hodnocení účinnosti fotosyntetického aparátu (LICHTENTHALER et RINDERLE 1988). K měření je možné využít např. přístroj Fluorpen. Fluorescence představuje poměrně malou část zachycené světelné energie, která není využita ve fotochemii a je vyzářena zpět jako foton. Čím je momentální schopnost rostliny využít energii ve fotosyntéze vyšší, tím je intenzita fluorescence nižší a naopak. Výsledkem záznamu rychlých změn fluorescence je tzv. OJIP křivka, pomocí které můžeme většinou s předstihem před viditelnými příznaky odhalit napadení listů patogeny nebo škůdci (STIRBET et GOVINDJEE 2012). Jedním z nejdůležitějších parametrů odvozených z OJIP

křivky je parametr Φ_{PO}, jenž představuje maximální kvantový výtěžek fotosystému II (PSII) v temnotně adaptovaných listech, a určuje zdravotní stav rostliny. Tento parametr je vypočítán jako poměr mezi variabilní (Fv) a maximální (Fm) fluorescencí. Hodnota Φ_{PO} 0,8 je průměrná hodnota u zdravých rostlin, zatímco nižší hodnoty mohou naznačovat stresové podmínky nebo poškození PSII (MAXWELL et JOHNSON 2000). Vitalitu rostlin lze charakterizovat také pomocí indexu odolnosti vůči suchu_(PI_{ABS}). Tento index odráží funkčnost fotosystémů I a II a poskytuje kvantitativní informace o aktuálním stavu výkonnosti rostliny ve stresových podmínkách (STRASSER et al. 2004). Tento index také koreluje s obsahem vody a čím je jeho relativní hodnota nižší, tím je rostlina z nedostatku vody více stresována (STRASSER et al. 2004).

Efektivita využití vody (angl. Water Use Efficiency = WUE) může být definována jako poměr mezi množstvím biomasy vyprodukované rostlinami a množstvím vody spotřebované během transpirace a evaporace (CONDON et al. 2004). WUE může být také vyjádřena jako poměr mezi čistou fotosyntetickou rychlostí (A) a transpirací (E), což poskytuje důležitý pohled na efektivitu, s jakou rostliny využívají vodu během fotosyntézy. Tato hodnota se označuje jako tzv. okamžitá efektivita využití vody (WUEi = instantaneous WUE). Vyšší hodnota WUE znamená, že rostlina produkuje více fotosyntetických produktů na jednotku spotřebované vody, což je výhodné zejména v podmínkách omezené dostupnosti vody (TAIZ et ZEIGER 2010).

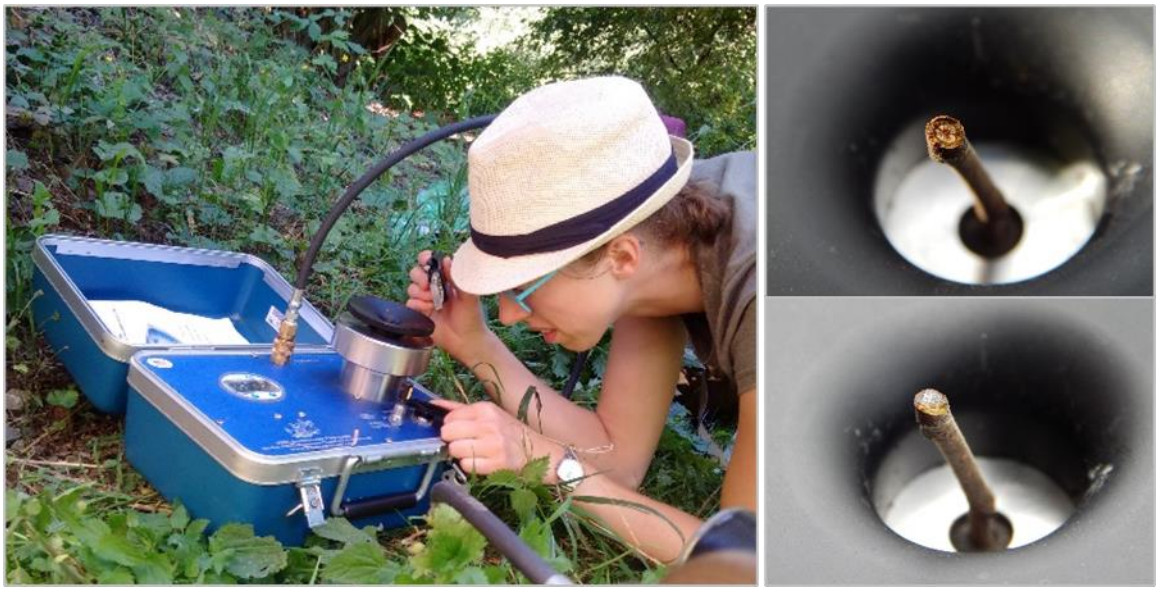
rovnice pro výpočet: $WUE = \frac{A}{E}$

A je čistá fotosyntetická rychlost [µmol CO_2 m^{-2} sec^{-1}]

E je transpirace [mmol H_2O m^{-2} sec^{-1}]

Vysoké hodnoty WUE podle tohoto vzorce naznačují, že rostlina je schopna produkovat více fotosyntetických produktů na jednotku spotřebované vody, což je klíčové např. pro zlepšení výnosů plodin v podmínkách omezených vodních zdrojů a zvyšujících se teplot (ZHU et al. 2010).

Vodní potenciál, označovaný též jako ψ (psi), je klíčovým parametrem označujícím stav vody v rostlině. Je definován jako potenciální energie vody, která je ovlivněná faktory jako je tlak, koncentrace solí a gravitace. Vyjadřuje se v jednotkách tlaku (MPa) (TAIZ et ZEIGER 2010). V rostlinách hraje zásadní roli v procesech jako je osmóza a transpirace, což ovlivňuje příjem živin a regulaci turgoru buněk (KRAMER et BOYER 1995). Negativní vodní potenciál v listových buňkách způsobuje tok vody z kořenů směrem vzhůru, což umožňuje transpiraci a výměnu plynů nezbytnou pro fotosyntézu (TAIZ et ZEIGER 2010). Měření vodního potenciálu se často provádí pomocí psychrometrie nebo tlakových komor (Obr. 14). Tlakové komory (Scholanderův tlakový komorový přístroj) měří tlak potřebný k vytlačení vody z listu nebo stonku, což poskytuje přímé stanovení vodního potenciálu (SCHOLANDER et al. 1965).



Obrázek 14: Měření vodního potenciálu pomocí tlakové komory (1505D, PMS Instrument Company, Albany, USA). Vpravo detaily řapíku olše, který je vkládán do komory listy dolů. Tlak uvnitř komory je zvyšován prostřednictvím tlakové nádoby s dusíkem. V okamžiku, kdy se na řezu řapíku objeví kapka vody vytlačená z xylému, je hodnota potenciálu odečtena na displeji (foto: Ivana Tomášková, Markéta Macháčová).

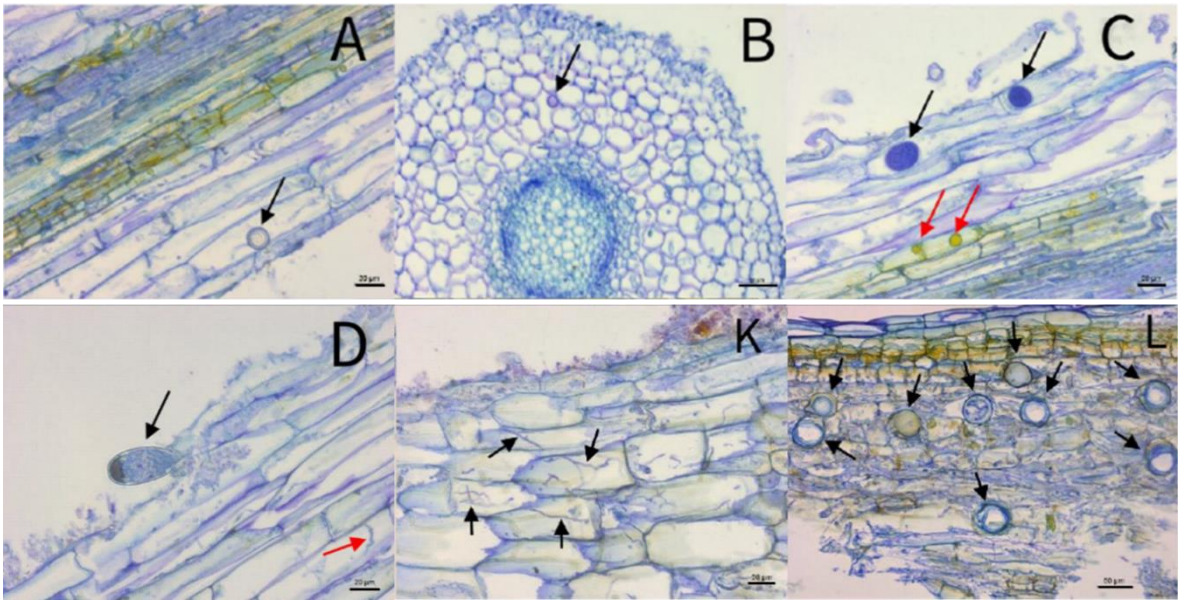
3.3.3. Vliv patogenů rodu *Phytophthora* na zdravotní stav a fyziologii dřevin

Pozoruhodnou vlastností rodu *Phytophthora* je schopnost mnoha druhů infikovat dřeviny jako patogeny kořenů, kůry nebo listoví (HANSEN et al. 2012), ovšem jako primární patogeny infikují fytoftory pouze zdravá nebo čerstvě poraněná pletiva (ERWIN et RIBEIRO 1996). K překonávání obranných mechanismů různých druhů hostitelů jsou fytoftory evolučně vybavené sofistikovanými mechanismy, jak manipulovat s buňkami hostitele a působit infekci (OSSWALD et al. 2014). Další text je zaměřený na fytoftory napadající kořeny a podkorní pletiva.

Primární infekce kořenů vyvolává fyziologické, biochemické a molekulární změny, které ovlivňují strom v místě infekce i v nadzemních částech (OSSWALD et al. 2014). Napadení kořenů rostlin fytoftorou začíná infekcí jemných kořenů zoosporami, kde se přichytí a proniknou do rhizodermis. Hyfy dále rostou intercelulárně a intracelulárně, způsobují degradaci buněčných stěn a poškození xylému a floému. Infikované buňky často podléhají plazmolýze a silné ztrátě turgoru, což vede k tloustnutí buněčných stěn a destrukci endodermis. V poškozeném pletivu se vytvářejí oospory nebo chlamydospory, v podmínkách dostatečné půdní vlhkosti patogen produkuje sekundární sporangia na povrchu kořenů (OSSWALD et al. 2014; NAVE et al. 2021 – Obr. 15).

Růst mycelia může vést k plazmolýze i v neinfikovaných buňkách, což způsobuje závažné nerovnováhy v osmoregulaci kořenů (OSSWALD et al. 2014). Destrukce jemného kořenového systému postupně narušuje příjem živin a vody (ERWIN et RIBEIRO 1996; JUNG et BLASCHKE

1996).Hormonální změny a efektorová nerovnováha metabolismu hostitele mohou působit na dálku a ovlivňovat nadzemní části, například snížením fotosyntézy nebo přesměrováním živin (MAUREL et al. 2001; BERGER et al. 2007). Celkové oslabení dřevin pak může utvářet příznivé prostředí pro méně virulentní nebo hostiteli méně přizpůsobené patogeny. Při silném poškození jemných kořenů dochází k narušení příjmu vody a živin, což se může projevit jako snížení vodního potenciálu listů, které má za následek uzavření průduchů a tím i snížení fotosyntézy (OSSWALD et al. 2014).

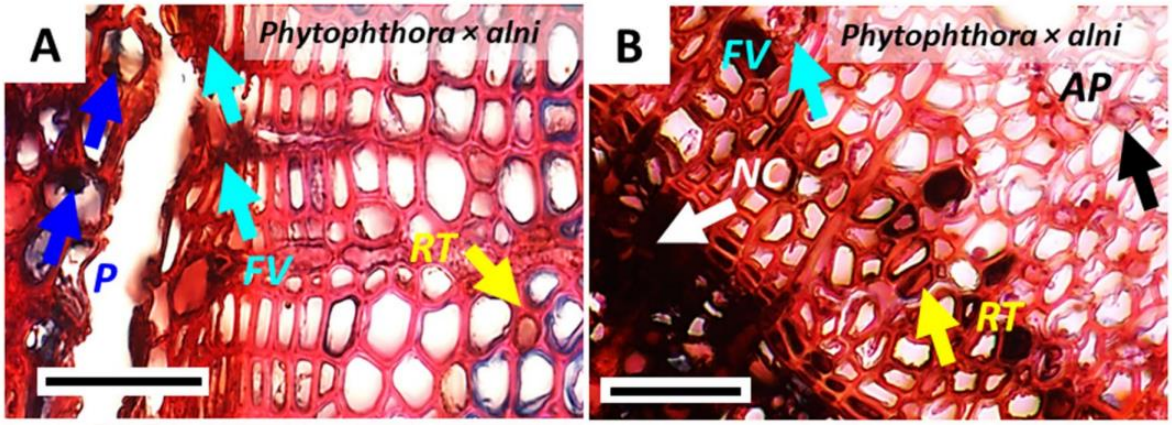


Obrázek 15: Mikroskopické řezy kořeny olše lepkavé (Alnus glutinosa) tři týdny po inokulaci patogeny Phytophthora ×alni (A, B, C, D) a P. uniformis (K, L). Snímky A-C pochází z asymptomatických jedinců, snímek D pochází ze slabě napadené rostliny, snímky K a L z mrtvé rostliny. (A) podélný řez, intracelulární oogonium s oosporou v primární kůře (černá šipka). (B) příčný řez, intercelulární oogonium (černá šipka). (C) podélný řez, intracelulární oogonia (černé šipky), myceliální zduřeniny (červené šipky). (D) podélný řez, sporangium poblíž poškozené primární kůry (černá šipka), intracelulární mycelium (červená šipka). (K) podélný řez, intracelulární mycelium v primární kůře (černé šipky). (L) podélný řez, několik inter- a intracelulárních oogonií, některé z nich s oosporami v silně poškozené primární kůře (černé šipky). Měřítko 20 µm (A, C, D, K), 50 µm (B, L) (převzato a upraveno podle publikace NAVE et al. 2021).

Infekce podkorních pletiv fytoftorou může probíhat přes lenticely, adventivní kořeny nebo poranění. Hyfy pronikají kůrou a floémem, následně mohou infikovat dřeň a xylém, což vede k dysfunkci xylému a syndromu tzv. náhlému odumření stromu (angl. sudden death). Symptomy zahrnují tmavé zbarvení a nekrózu pletiv, tvorbu nového peridermu a tmavě zbarvený výtok z poškozené kůry. Tmavé zbarvení je způsobeno oxidací fenolických látek, u kterých bylo prokázáno, že mají obrannou funkci a omezují infekci fytoftorou i dalšími patogeny (AFEK et SZTEJNBERG 1988; CAHILL et MCCOMB 1992; CAHILL et al. 1993). Předpokládá se však, že alokace uhlíku na produkci fenolů odvádí zdroje od růstu rostlin, a velké investice do obrany proti napadení fytoftorami tak mohou vést ke zpomalení růstu (JÖNSSON 2006). K napadení olší patogeny *P. alni* u stromů rostoucích podél řek dochází přes lenticely nebo adventivní či jemné kořeny (JUNG et BLASCHKE 2004). Po infekci může *P. alni* napadat periderm, floém a případně dřeň, což způsobuje vážné fyziologické a biochemické změny v hostitelské rostlině, včetně snížení fotosyntetické aktivity a vodního

potenciálu listů (OSSWALD et al. 2014). Toto ve své studii potvrdili VIEITES-BLANCO et al. (2023), když pozorovali na mikroskopických řezech přítomnost hyf v prostoru buněk floému i xylému, nekrózy kortexu a poškození parenchymu (Obr. 16).

Jakmile patogen pronikne do vodivých pletiv, napadená rostlina reaguje produkcí tylózy – tedy prorůstáním parenchymatických buněk do cév xylému, což může vést ke snížení hydraulické vodivosti (OSSWALD et al. 2014; VIEITES-BLANCO et al. 2023). Snížení hydraulické vodivosti vlivem tylózy testovali ve svém experimentu také CLEMENZ et al. (2008), kteří došli k závěru, že *P. ×alni* neomezuje hydraulickou vodivost vodivých pletiv, jelikož účinnost využití vody listem se nezměnila a nesnížil se ani vodní potenciál listů. Nicméně průduchy měřených olší byly v této situaci zavřené, což autoři vysvětlují poškozením floému patogenem, v důsledku čehož byl narušen transport asimilátů z listů do kořenů. Akumulace škrobu v listech pak zapříčinila uzavření průduchů, snížení rychlosti fotosyntézy, a tedy i růstu. V podobné studii FLEISCHMANN et al. (2004) zjistili u sazenic buků inokulovaných různými druhy r. *Phytophthora* výrazný pokles obsahu dusíku v listech, a zároveň jeho výrazné zvýšení v kořenech, nicméně obsah vápníku a hořčíku v listech zůstaly nezměněny. Poškození floému obecně vede ke snížení dodávky sacharidů pro kořeny a jejich symbionty, což dále zhoršuje růst jemných kořenů a příjem vody a živin. Nakonec dochází k chloróze listů, vadnutí a řídnutí koruny, což jsou viditelné symptomy změněného vodního a hormonálního stavu hostitelské rostliny způsobeného infekcí fytoftorou (OSSWALD et al. 2014).



Obrázek 16: Mikroskopické řezy kmínku olše lepkavé inokulované Phytophthora ×alni, barveno safraninem a modří astra. Šipky označují hyfy ve floému (P=floém, tmavě modrá), změněné buňky vláken a cév (FV=fibres/vessels, světle modrá), červené tylózy v xylému (RT=red tyloses, žlutá), nekrózy v kambiu (NC, bílá) a změněný axiální parenchym (AP, černá); měřítko 50 µm (převzato a upraveno podle publikace VIEITES-BLANCO et al. 2023).

3.4. Chřadnutí dubových porostů

Dalším epidemických chřadnutím porostů, které se v Česku objevovalo již od 80. let, bylo chřadnutí dubových porostů. Přestože toto téma bylo v minulosti intenzivně studováno z pohledu různých příčin, aktuální situace zohledňující invazní patogeny, např. rod *Phytophthora*, v literatuře chybělo. Cílem této části disertační práce bylo pochopit souvislosti mezi reportovanými epizodami chřadnutí v Evropě a zohlednit je při zhodnocení aktuální situace chřadnoucích dubových porostů v Česku.

3.4.1. Historický přehled

Chřadnutí dubových porostů (anglicky nejčastěji označované jako „oak decline“) se od počátku 20. století objevovalo napříč Evropou v periodách nastávajících často po klimatických výkyvech. Chřadnutím bývaly nejčastěji postiženy dub letní (*Quercus robur* L.), méně často pak dub zimní (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.), ale i další druhy dubů (DELATOUR 1983; SCHÜTT 1993, RAGAZZI et al. 1995; BRASIER 1996; OSZAKO 2004; THOMAS 2008). Nejstarší dochované záznamy o odumírání dubů existují již z 18. století, kdy se jednalo o chřadnutí dubů v severovýchodním Německu v letech 1739 až 1748, kterému předcházela extrémně mrazivá zima 1739/1740 (THOMAS et al. 2002). V r. 1837 pak Audoin popisuje odumírání mladších dubin v Bois de Vincennes ve Francii, kdy muselo být vykáceno přes 35 000 dubů ve stáří 25−30 let, ovšem jako příčina byl určen bělokaz dubový *Scolytus intricatus* (Ratzeburg, 1837) (ZUMR 1995).

Od počátku 20. století bylo v Evropě zaznamenáno odumírání solitérních stromů, malých skupin nebo i celých dubových porostů (Brasier 1996). Epizody odumírání se většinou objevovaly pouze sporadicky, a proto byly duby považovány za druh dřeviny relativně odolný k původcům chorob. Významnější období odumírání dubů (*Q. petraea* a *Q. robur*) v severní a střední Evropě bylo zaznamenáno již ve 20. letech v oblasti od Francie až po Kavkaz (THOMAS et al. 2002). Další periody se objevily ve 40.−50. letech, kdy bylo zaznamenáno chřadnutí dubů s tzv. tracheomykózními příznaky na více místech v Evropě a ve větším rozsahu. Na začátku 80. let však přišlo několik extrémně suchých ročníků za sebou, které měly za následek vlnu chřadnutí dubových porostů ve většině evropských zemí zaznamenaných u celé řady druhů (DELATOUR 1983; HARTMANN et BLANK 1993; SIWECKI et LIESE 1991; LUISI a kol. 1993). Příznaky na nadzemní části stromů zahrnovaly odumírání větví a částí koruny, tvorbu kmenových výmladků, vysokou defoliaci koruny, žloutnutí a vadnutí listů, a výskyt tmavých, „dehtovitých“ exudátů na kůře (SIWECKI et LIESE 1991; LUISI et al. 1993), tedy všechny příznaky indikující stres suchem. Z poznatků výzkumu však vyplynulo, že symptomy ani příčiny nemusely být stejné u všech případů, což vzbudilo větší pozornost a byly zahájeny rozsáhlé výzkumy (DELATOUR 1983; OLEKSYN et PRZYBYL 1987; SIWECKI et LIESE 1991; LUISI et al. 1993; FÜHRER 1998; THOMAS et al. 2002). Široké spektrum faktorů bylo studováno a diskutováno v souvislosti s tzv. fenoménem chřadnutí dubových porostů. Jednalo se o abiotické faktory, např. mráz, znečištění ovzduší, pokles

spodní vody, nesprávný lesnický management; z biotických faktorů především hmyzí defoliátoři, podkorní hmyz, houbové patogeny (zejména ophiostomatální houby), bakterie, mykoplazmy a viry. U všech těchto faktorů se mezi odbornou veřejností diskutovalo o tzv. spouštěcích nebo iniciačních faktorech (MANION 1981; DELATOUR 1983; ČAPEK et al. 1987; NIENHAUS 1987; OLEKSYN et PRZYBYL 1987; OOSTERBAAN 1990; SIWECKI et LIESE 1991; AHRENS et SEEMÜLLER 1994; RAGAZZI et al. 1995; THOMAS et al. 2002).

Mezi vědci neustále probíhala diskuse o tom, který faktor je nejdůležitější a zda existuje jeden univerzální spouštěč pro všechny epizody chřadnutí. V 80. letech 20. století byla v souvislosti s chřadnutím dubů intenzivně diskutována problematika tzv. tracheomykózního odumírání, které je způsobeno houbami r. *Ceratocystis* spp. a především *Ophiostoma* spp.; v Československu tento výzkum pokračoval i v 90. letech (MARCU 1966; ŠVECOVÁ et SKALICKÝ 1992; JANČAŘÍK 1995). Důvodem pro tuto teorii byla častá izolace ophiostomatálních hub z pletiv chřadnoucích dubů ve střední Evropě (OLEKSYN et PRZYBYL 1987; KOWALSKI et BUTIN 1989; SIWECKI et LIESE 1991). Nicméně první studie na toto téma pochází z Rumunska a Ruska z let 1940−1960, kde byla jako příčina chřadnutí dubů označena tzv. vaskulární mykóza způsobená jedním nebo více druhy hub r. *Ceratocystis* a *Ophiostoma* (OLEKSYN et PRZYBIL 1987). Dalším důvodem byly obavy z rozvinutí podobného scénáře chřadnutí dubů jako byl u grafiózy jilmů, tedy u choroby vyvolané patogenem *Ophiostoma novo-ulmi* (BRASIER 2001; BRASIER et al. 2021).

Na jedné straně panoval názor, že ophiostomatální houby jsou bezvýznamní saprofyté, druhá strana tvrdila, že jde o závažné primární patogeny. Časem se ukázalo, že pravda je někde uprostřed a jedná se o druhy, které nacházejí vhodné prostředí pro svůj rozvoj v oslabených dřevinách a spolupůsobí při jejich chřadnutí a vyvolávání tracheomykózních příznaků (JANČAŘÍK 1993). Pozornost byla tedy opět upřena na vliv prostředí a další abiotické faktory, jako například období sucha, záplavy, rychlé kolísání úrovně podzemní vody a chladné zimy (FÜHRER 1998; SIWECKI et UFNALSKI 1998). Všechny tyto stresové faktory mohou mít vliv na oslabení stromů, které je následně často doprovázeno napadením sekundárními škůdci (podkorní a listožravý hmyz) a houbami (*Fusarium solani*, *Armillaria* spp. aj.), což dohromady vede až k odumírání porostů (MARCU 1987; BRASIER 1996; FÜHRER 1998; SIWECKI et UFNALSKI 1998). Jiné teorie vysvětlovaly příčinu chřadnutí evropských temperátních lesů v opakované defoliaci housenkami hmyzu, která dohromady s působením padlí vyvolávala silné oslabení a poškození dubů (THOMAS et HARTMANN 2002).

Od 90. let 20. století bylo chřadnutí dubů považováno za tzv. multifaktoriální proces, kde zásadní roli hrají predispoziční faktory způsobující oslabení a náchylnost dřevin (RAGAZZI et al. 1993; FÜHRER 1998; SIWECKI et UFNALSKI 1998; SELOCHNIK et al. 2015). Zejména sucho je uváděno jako jeden z nejkritičtějších predispozičních faktorů, které se v souvislosti s měnícími se klimatickými podmínkami vyskytuje čím dál častěji (LINDNER et al. 2010). Novější studie považují extrémní klimatické jevy, zejména stres vysokou teplotou a letní sucha, za hlavní faktor vyvolávající chřadnutí dubů na mnoha místech Evropy (Obr. 17)

(DOLEŽAL et al. 2010; SOHAR et al. 2014; HAAVIK et al. 2015). Zvýšené frekvence extrémních meteorologických jevů mohou vyhovovat půdou přenosným patogenům r. *Phytophthora*, které profitují ze střídajících se období sucha a záplav. Tyto patogeny byly dlouhou dobu ve spojitosti s chřadnutím dubů přehlíženy, nebo se jimi vyvolané poškození kořenů přisuzovalo jiným abiotickým činitelům (JUNG et al. 1996, 2000). Tyto patogeny začaly být intenzivněji studovány nejprve v jižní Evropě, kde chřadnutí dubů připomínalo průběh odumírání eukalyptů v západní Austrálii způsobené *P. cinnamomi* (BRASIER 2001). V ostatních částech Evropy byly tyto patogeny detekovány v souvislosti s chřadnutím dubů např. v Německu (JUNG et al. 2000), v Rakousku (BALCI et HALMSCHLAGER 2003), v jižním Švédsku (JÖNSSON et al. 2003b) a v dalších zemích. Výsledky novějších studií naznačují, že choroby kořenů způsobené patogeny r. *Phytophthora* v kombinaci s klimatickými extrémy způsobují závažné odumírání lesů v celé Evropě (SZABÓ et al. 2013).

Obrázek 17: Odumírající porost dubů na lokalitě LS Nižbor, která byla intenzivně zasažená suchem v období 2015−2020 (foto: Markéta Macháčová, 17.9.2020).

Dalším činitelem, který se se prokazatelně často podílí na odumírání dubů, je xylofágní hmyz (LIŠKA 1995; FÜHRER, 1998; SALLÉ et al. 2014). Dub je jednou z nejbohatších hostitelských rostlin v druhovém spektru hmyzu a poskytuje útočiště mnoha zástupcům nejen xylofágního hmyzu (SOUTHWOOD 1961). Ze skupiny kůrovců poskytuje dub útočiště široké škále zástupců, z nichž někteří mohou způsobit vážné poškození vedoucí až k chřadnutí celých stromů (KNÍŽEK 2011). Různé druhy podkorního hmyzu, např. podčeleď Scolytinae (JANKOVSKÝ et al. 2001; KUBÁTOVÁ et al. 2002) nebo pilořitky r. *Xiphydria* (ŠRŮTKA et al. 2007) působí jako přenašeči ophiostomatálních a dalších druhů hub, nicméně mohou v dubových porostech způsobovat významné škody i svým přímým působením. SOUKUP (1995) ve své studii (1991−1995) zjistil, že ani opakované silné defoliace hmyzem

nezpůsobily výrazné zhoršení stavu na experimentálních plochách, ale monitoring prokázal lokálně vysokou početnost druhů *Scolytus intricatus, Agrilus sulcicollis*, pilořitek r. *Xiphydria*, tesaříků r. *Clytus* a *Xylotrechus* a některých dalších druhů. Další významný xylofágní škůdce, polník dvojtečný (*Agrilus biguttatus*), se vyskytuje na chřadnoucích dubech jako jeden z prvních škůdců, který má významný vliv na vitalitu stromů (MORAAL et HILSZCZÁNSKI 2000; SALLÉ et al. 2014).

Ačkoli je v současnosti za skutečnou příčinu odumírání dubů s příznaky tracheomykózy považován synergický komplex abiotických, biotických a antropogenních faktorů (SELOCHNIK et al. 2015), význam jednotlivých biotických faktorů není dosud zcela objasněn.

3.4.2. Faktory působící chřadnutí dubových porostů

Mezi hlavní abiotické faktory ovlivňující zdravotní stav dubových porostů patří sucho, resp. dlouhotrvající nedostatek srážek, a dlouhé období silných mrazů. Tyto faktory jsou považovány za významné predispoziční faktory vyvolávající chřadnutí dubových porostů, jelikož způsobují oslabení stromů, které jsou pak snadno napadány podkorním hmyzem a kořenovými patogeny (MARCU 1987; FÜHRER 1998; SIWECKI et UFNALSKI 1998). Sucho působí mimo jiné na snížení schopnosti produkovat kalusové pletivo, což je jedna z obranných strategií proti podkornímu hmyzu (MCINTYRE et al. 1996; HAAVIK et STEPHEN 2011). Také novější studie považují extrémní klimatické jevy, zejména stres způsobený vysokou teplotou a letní sucha, za hlavní faktor vyvolávající chřadnutí dubů na mnoha místech Evropy (DOLEŽAL et al. 2010; SOHAR et al. 2014; HAAVIK et al. 2015). Zejména střídání extrémů počasí v letech jdoucích po sobě působí jako významný stresor pro dřeviny. V severním Německu byla zaznamenána sucha v letech 1976−1983, které zapůsobily jako predispoziční stresový faktor pro duby, které byly v následujících zimách v letech 1984−1987 silně poškozené mrazem (HARTMANN et BLANK 1993). Podobně v bývalém Československu nastal první velmi suchý rok v roce 1976 a od té doby se srážkový deficit v následujících letech postupně zvyšoval. V důsledku toho se postupně na celém území republiky objevilo silné chřadnutí dubů (PŘÍHODA 1990; LEONTOVYČ 1992). Později, koncem 80. let, se tento scénář opakoval, stejně jako v jiných evropských zemích (OSZAKO 2004).

Mezi hlavní biotické faktory působící chřadnutí dubů patří podkorní hmyz, listožravý hmyz, houbové patogeny a oomycety (THOMAS et al. 2002).

Hmyzí škůdci

Dub patří mezi dřeviny s extrémně bohatým výskytem hmyzu, mezi které patří také škodlivé druhy. Mnoho z nich jsou obecně spojované s chřadnoucími duby (např. *Agrilus biguttatus*, *A. sulcicolis* nebo *Scolytus intricatus*) (SALLÉ et al. 2014), jiné druhy se však mohou vyskytovat pouze lokálně a epizodicky (např. *Xylotrechus antilope* Obr. 18F*, Clytus tropicus*

Obr. 18G, *Pyrhidium sanquineum* Obr. 18J aj.) (MACHÁČOVÁ et al. 2022). Některé druhy se mohou dokonce jevit jako vzácné, ale při vhodných podmínkách se snadno přemnoží a také se podílejí na odumírání dubů (např. *Gasterocercus depressirostris*, *Bostrichus capucinus* Obr. 18I aj.) (MACHÁČOVÁ et al. 2022).

Jedním z prvních druhů podkorního hmyzu, který se objevuje na chřadnoucích dubech, je polník dvojtečný (*Agrilus biguttatus,* Coleoptera: Buprestidae; Obr. 18B) (SALLÉ et al. 2014). Brouci kladou vajíčka ve skupinách do záhybů kůry, odkud se pak larvy zavrtávají pod kůru, kde dále vyžírají úzké chodbičky (Obr. 18C). Na konci chodbičky larva přezimuje, na jaře se zakuklí a rojí se koncem května a v červnu (ZÚBRIK et al. 2023). Tento druh napadá zejména starší, chřadnoucí duby na osluněných lokalitách v teplejších polohách (MORAAL et HILSZCZAŃSKI 2000; ZÚBRIK et al. 2023), avšak v Polsku trpěly silným napadením i mnohem mladší stromy (asi 30−40 let), které byly současně oslabené suchem (HILSZCZAŃSKI et SIERPINSKI 2007). Společně s *A. biguttatus* se může vyskytovat i krasec *A. sulcicolis* (Obr. 18A), který hojně nalétává na listy dubu v květnu až červnu. Tento druh nalétává také skládky dřeva. Larvy se vyvíjí v silnějších větvích chřadnoucích dubů, také na teplejších lokalitách. Koruny stromů napadené *A. sulcicolis* řídnou a objevují se kmenové výmladky, tzv. vlky (ZÚBRIK et al. 2023).

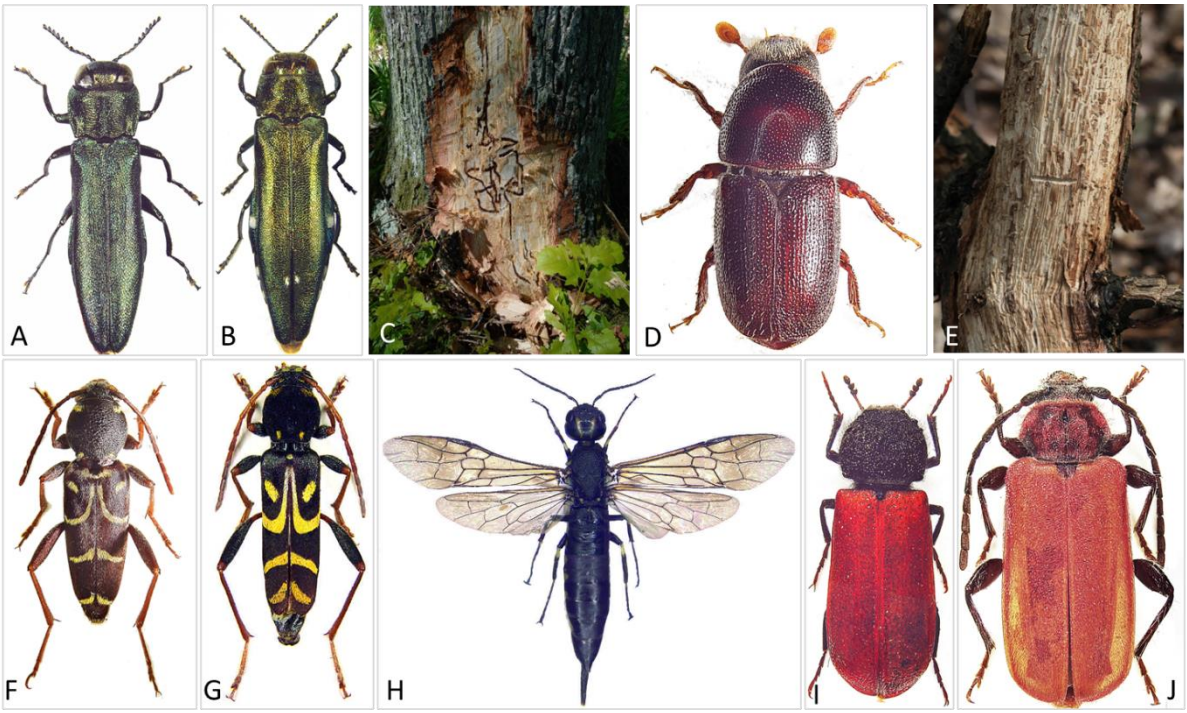
Dalším významným škůdcem dubů je bělokaz dubový (*Scolytus intricatus*, Coleoptera: Scolytinae). Samička tohoto druhu vyhryzává příčnou chodbu pod kůrou silnějších větví dubu (Obr. 18E), ze které potom směrem dolů i nahoru ve směru osy kmene vybíhají larvové chodby. Rojení probíhá v první dekádě května. Dospělci vykonávají na větvičkách dubu úživný žír (ZÚBRIK et al. 2023). Přestože byl kdysi považován za lesnicky málo významný druh (KNÍŽEK 2002), dnes je považován za jeden z klíčových druhů podílejících se na chřadnutí dubů (SALLÉ et al. 2014). Tento druh je také významným přenašečem ophiostomatálních hub (GOGOLA et CHOVANEC 1987; KUBÁTOVÁ et al. 2002; ZÚBRIK et al. 2023).

Mezi běžné druhy na dubu dále patří drtníci (Curculionidae: Scolytinae: Xyleborini), kteří zahrnují také nebezpečné invazní ambroziové druhy. Nejčastějšími druhy jsou drtník ovocný (*Anisandrus dispar*), *Xylosandrus germanus, Xyleborinus saxesenii*, *Xyleborinus attenuatus*, *Xyleborus monographus* aj. (GALKO et al. 2014, 2019; FIALA et HOLUŠA 2020). Drtník písařský (*Xyleborus monographus*) vyžírá chodby v běli a ve dřevě a běžně má 2 generace do roka, hojnější je spíše v teplejších polohách. Brouci nalétávají na čerstvé pařezy a na kmeny poškozených nebo chřadnoucích stromů. Místy může působit jako vážný technický škůdce (ZÚBRIK et al. 2023).

Pilořitka dubová (*Xiphydria longicolis,* Hymenoptera: Xiphydriidae; Obr. 18H) patří mezi méně známé škůdce na dubu, nicméně stále častěji se vyskytující. Napadá primárně oslabené listnaté dřeviny. Samička tohoto druhu klade vajíčka přes prasklin v kůře do lýka, larva následně vyžírá chodby v běli, které jsou ucpané drtinkami (ZÚBRIK et al. 2023). Žije v symbióze s dřevokaznými houbami (PŘÍHODA 1990; ŠRŮTKA et al. 2007), proto napadené

dřevo je vhodné už jen jako palivo (ZÚBRIK et al. 2023). Existují však záznamy masivního odumírání dubů v důsledku napadení pilořitkou dubovou z Ukrajiny (DOMINIK et STARCZYK 1988).

Staré chřadnoucí duby vytváří speciální biotop také pro široké spektrum vzácných druhů (BUSE et al. 2008; NAKLÁDAL et al. 2022). Například tesařík obrovský (*Cerambyx cerdo;* Coleoptera: Cerambycidae), který patří mezi naše největší brouky, výjimečně napadá zdravé stromy, ale technicky poškozuje dřevo odumírajících stromů (SALLÉ et al. 2014; ZÚBRIK et al. 2023). Příbuzný menší druh *C. scopolii* žije oproti tomu hojně v listnatých lesích včetně dubových porostů (ZÚBRIK et al. 2023). Podobně druh *Clytus tropicus* (Coleoptera: Cerambycidae; Obr. 18G), který je v Česku zařazen do kategorie „téměř ohrožený druh" (HEJDA et al. 2017), byl v minulosti zaznamenán ve velkých počtech na sledovaných lokalitách s chřadnoucími duby (SOUKUP 1995).



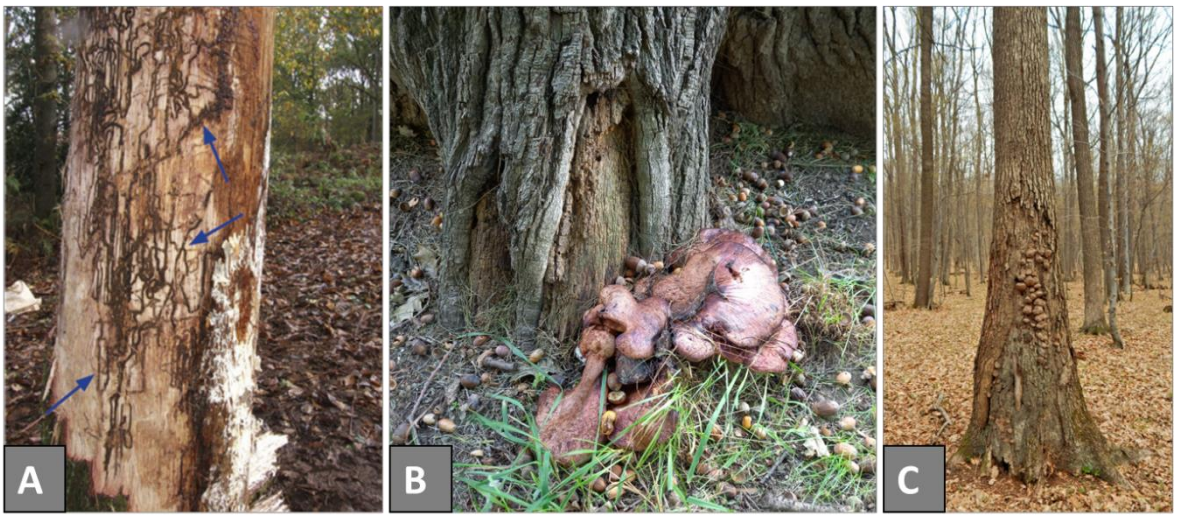
Obrázek 18: Přehled nejčastějších škůdců na chřadnoucích dubech: (A) Agrilus sulcicolis, (B) A. biguttatus, (C) požerek A. biguttatus, (D) Scolytus intricatus, (E) požerek S. intricatus, (F) Xylotrechus antilope, (G) Clytus tropicus, (H) Xiphydria longicolis, (I) Bostrichus capucinus, (J) Pyrhidium sanquineum. Autoři fotografií: Oto Nakládal (A, B, D, F, G, H, I, J), Markéta Macháčová (C), Milan Zúbrik (E).

Další skupinou škůdců na dubech jsou tzv. defoliátoři. Jedná se zejména o housenky motýlů (Lepidoptera) čeledí Geometridae (např. tmavoskvrnáč zhoubný *Erannis defoliaria*), Totricidae (např. obaleč dubový *Tortrix viridana*) nebo Erebidae (bekyně velkohlavá *Lymantria dispar*) (ZÚBRIK et al. 2023). Zejména opakované žíry mohou vést k silné defoliaci, která byla dohromady s napadením padlím dubovým považována v minulosti za příčinu chřadnutí dubů (THOMAS et HARTMANN 2002).

Houbové patogeny

Nejčastějším houbovým patogenem listů dubu je padlí dubové (*Erysiphe alphitoides* (Griffon & Maubl.) U. Braun & S. Takam). Tento patogen byl do Evropy zavlečen okolo roku 1907 pravděpodobně z USA. Napadení se projevuje typickými bílými moučnatými povlaky na listech. Silně poškozené listy se kroutí a odumírají, stejně tak mladé výhony mohou být deformované. Nejvíce náchylné k napadení jsou mladé listy staré nejvíce 3 týdny, zejména na tzv. jánských výhonech. Koncem léta se na listech vytváří pohlavní plodničky, chasmothecia. Rozvoj choroby podporuje nízká vzdušná vlhkost a silné přímé sluneční záření (ZÚBRIK et al. 2023).

Mezi další houbové patogeny (Obr. 19), které byly v souvislosti s odumíráním dubových porostů často spojovány, patří např. *Diplodia mutila* (Fr.) Mont., *Fusarium* spp., *Fusicoccum quercus* Oudem., *Phomopsis quercella* (Sacc. & Roum.) Died. a *Biscogniauxia mediterranea* (De Not.) Kuntze (THOMAS 2008; RAGAZZI et al. 1995), nicméně často byly studovány i dřevokazné houby, nejčastěji václavky (*Armillaria* spp.) (RAGAZZI et al. 1995; NOVOTNÝ 1995; SOMOGYI 2000; YAKOVLEV et YAKOVLEV 2000; ŻÓŁCIAK 2000; KUNCA et LEONTOVYČ 2006; SZEWCZYK et al. 2016). Infekce václavkou byla zjištěna zejména na stromech napadených škůdci rodu *Agrilus* (HARTMANN et BLANK 1992). Ohňovec statný (*Phellinus robustus* P. Karst.), pstřeň dubový (*Fistulina hepatica* Schaeff.) nebo pevníky (*Stereum* sp.) patří mezi další dřevokazné houby, které se mohou podílet na odumírání dubů, zejména po předchozím poškození stromů mrazem (MRKVA 2003). Také penízovka vřetenonohá (*Collybia fusipes* Bull.) může napadat oslabené stromy a přispívat k odumírání (RAGAZZI et al. 1995).



Obrázek 19: Poškození dubů houbovými patogeny: (A) Napadení václavkou (Armillaria sp.) a zároveň silný výskyt požerků (modré šipky) způsobených brouky r. Agrilus (převzato z DENMAN et al. 2014), (B) staré plodnice Fistulina hepatica na bázi kmene, (C) hojný výskyt plodnic Phellinus robustus (foto B, C: Markéta Macháčová).

Ophiostomatální houby

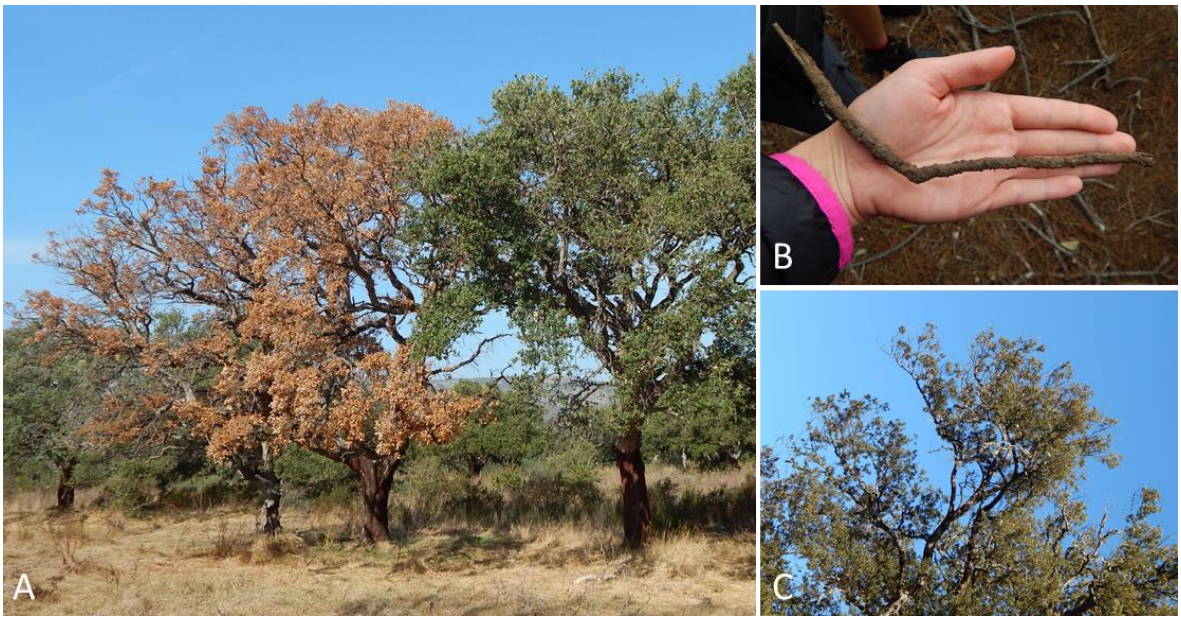
V roce 1926 byla v Jugoslávii vydaná první vědecká publikace popisující tzv. vaskulární mykózu dubu, kde byly jako příčina chřadnutí dubů uvedeny ophiostomatální houby

(GEORGEVITCH 1926, GEORGEVITCH 1927). Výzkum v Rusku a Rumunsku v období od 40. do 60. let 20. století přinesl teorii, že původcem vaskulární mykózy jsou houby rodu *Ophiostoma* and *Ceratocystis*, jejichž působení bylo později známé jako tzv. tracheomykóza, tedy choroba vyvolaná houbovými patogeny "ucpávajícími" vodivá pletiva (MARCU 1966). Teorie působení tracheomykózních hub byla dlouhou dobu podporována častými izolacemi těchto druhů hub z odumírajících dubů, včetně Československa (JANČAŘÍK 1995). Jako původce tracheomykóz byly nejčastěji uváděny houby z čeledi Ophiostomatales, které vylučují toxické metabolity do živých vodivých pletiv rostlin, čímž působí jejich nekrózu (ŠVECOVÁ et SKALICKÝ 1992). Nejasnosti v působení těchto patogenů však přinášely odlišné závěry izolací. Například KUBÁTOVÁ a PRÁŠIL (1995) nacházeli tyto houby na oslabených i zdravých stromech, zatímco KOWALSKI et BARTNIK (1990) potvrdili přítomnost ophiostomatálních hub pouze na některých symptomatických stromech. Jiné názory vysvětlovaly životní strategii těchto patogenů jako nepatogenní až slabě patogenní, které se ovšem mohou stát silně patogenními u stromů, které jsou oslabené vodním deficitem (OLEKSYN et PRZYBYL 1987; KOWALSKI et BUTIN 1989; KOWALSKI et DOMANSKI 1991). Mnoho studií navíc prokázalo, že při umělé inokulaci nejsou ophiostomatální houby schopné napadnout zdravé stromy (ROHDE 1936; PETRESCU 1974; LEONTOVYČ et GONTKOVÁ 1987; BERANOVÁ 1989; OSZAKO 1997; NOVOTNÝ 1999; SOMOGYI 2000; SELOCHNIK et al. 2015). Tyto výsledky naznačují, že přítomnost hub r. *Ophiostoma* je podmíněná odumírajícími nebo mrtvými pletivy (NOVOTNÝ 1995). Ophiostomatální houby se přirozeně vyskytují jako sekundární paraziti v chodbách podkorního hmyzu nebo v odumřelých částech dřeva a kůry různých druhů dřevin, pouze výjimečně působí jako primární paraziti (NOVOTNÝ 2003). Proto mohou být považovány za spíše endofytické druhy, které jsou schopné měnit způsob života z endofytického na parazitický při vhodných podmínkách, kdy je hostitelský strom oslabený (PRZYBYL 1991; NOVOTNÝ 1995; OSZAKO 1997).

Interakce podkorního hmyzu (zejména kůrovců, čeleď Scolytinae) a ophiostomatálních hub (řád Ophiostomatales) začala být více studovaná ve chvíli, kdy byl prokázán přenos původce grafiózy jilmů, patogenu *Ophiostoma ulmi*, hmyzími škůdci. Již v 50. letech probíhaly studie na toto téma i v Československu (FASSATIOVÁ 1954). Přenos ophiostomatálních hub byl zjištěn u mnoha druhů xylofágního hmyzu (HEŠKO 1985; PŘÍHODA et JANČAŘÍK 1988). Jak je známo z mnoha dalších studií ve střední Evropě, určité druhy ophiostomatálních hub žijí s kůrovci v symbióze (KOTÝNKOVÁ-SYCHROVÁ 1966; JANKOVSKÝ et MRKVA 1997; KIRISITS 2001; KIRSCHNER 2001; JANKOWIAK 2005). Rod *Ophiostoma* zahrnuje mnoho druhů s různou úrovní patogenity vázaných na rostliny. Většina z nich je považována spíše za nepatogenní, především v místě jejich endemickém rozšíření, kde se díky koevoluci hostitele a patogenu vyvinul specifický vztah. Ten se projevuje většinou tzv. modráním dřeva („blue-stain“) u čerstvě odříznutého nebo jinak poškozeného dřeva (WINGFIELD et al. 2017). Mnoho druhů r. *Ophiostoma* totiž produkuje lepkavé kapičky, které se snadno zachytí na exoskeletonu hmyzích přenašečů (MALLOCH et BLACKWELL 1993).

Patogeny rodu *Phytophtora*

Dalším biotickým faktorem, který začal být v 90. letech 20. století studován ve spojitosti s chřadnutím dubů, byly patogeny rodu *Phytophthora* (BRASIER 1996; JUNG et al. 1996; HANSEN et DELATOUR 1999; JUNG et al. 2000; VETTRAINO et al. 2002; BALCI et HALMSCHLAGER 2003). Výzkumy ukázaly, že lesní porosty v temperátní i středozemní oblasti s výskytem převážně dubu letního (*Quercus robur*) a dubu cesmínolistého (*Q. ilex*) jsou vysoce náchylné na napadení kořenových systémů těmito patogeny (JUNG et al. 2018). Od 90. let se objevilo několik epizod chřadnutí dubů, kde byly jako hlavní patogeny identifikovány druhy r. *Phytophthora*. Jednalo se často o širokém spektrum půdních druhů, zahrnujících zavlečené invazní druhy *P. cambivora*, *P. cinnamomi*, *P. cryptogea* Pethybr. & Laff., *P. drechsleri* Tucker, *P. multivora*, *P. plurivora* a *P. ramorum*, nicméně mnoho dalších druhů patří mezi původní nebo tzv. kryptické druhy (JUNG et al. 2016). Jedním z významných druhů, které se projevují především během suchých period, je *P. quercina* (JUNG et al. 1996). Oproti tomu *P. cinnamomi* jako velmi agresivní patogen může způsobit odumírání i bez předchozího oslabení stromů (Obr. 20) nebo s přispěním jiných biotických faktorů (BRASIER 1996; CORCOBADO et al. 2013).



Obrázek 20: Příznaky odumírání dubů v oblasti Mediteránu v důsledku napadení patogeny Phytophthora cinnamomi a dalšími druhy rodu Phytophthora: (A) náhlé odumření dubu korkového, (B) chybějící postranní kořeny dubu cesmínolistého v důsledku napadení Phytophthora quercina, (C) chronické odumírání dubu korkového s postupným prosycháním koruny (foto: Sardínie, říjen 2019, Markéta Macháčová).

Z mnoha experimentů vyplývá, že nejnáchylnější k napadení jsou jemné kořeny (JUNG et al. 1996, 1999, 2002). Pokud dochází ke střídání extrémních období záplav a poté sucha, napadené stromy nemají možnost zregenerovat odumřelé kořeny a dochází tak daleko rychleji k odumírání (JUNG et BLASCHKE 2004). Nejnovější studie ukazují, že patogeny r. *Phytophthora* napadající kořenový systém způsobují v kombinaci s klimatickými extrémy vážné odumírání dubových porostů napříč Evropou (SZABÓ et al. 2013; KEČA et al. 2016; JUNG et al. 2018).

Bakterie (Enterobacteriaceae)

V r. 2009 bylo ve Velké Británii popsáno tzv. akutní odumírání dubů (angl. Acute Oak Decline, AOD). Typickými projevy jsou tmavé exudáty a nekrotické léze v prasklinách postižených stromů, které ovšem během vegetační sezóny často vysychají a mění se tak časem v souvislé černé pruhy táhnoucí se od praskliny někdy až po bázi kmene. Postižené stromy do 3−5 let odumírají (DENMAN et WEBBER 2009). Na postižených stromech se zpravidla nacházejí požerky polníka dvojtečného, který pravděpodobně působí jako přenašeč bakterií. Prvním autorem zmiňujícím souvislost mezi tímto krascem a výtokem černých exudátů byl FALCK (1918). DENMAN et al. (2014) pozorovali symptomy výtoků na borce společně s výskytem požerků polníka dvojtečného ve více než 90 % hodnocených stromů různých velikostí. Nicméně jejich výzkum naznačil, že samotné napadení polníkem nemusí vést k produkci exudátů, a tedy nemusí být spouštěčem AOD. Další výzkum potvrdil, že exudáty a nekrotické léze způsobují bakterie z čeledi Enterobacteriaceae, nejčastěji nově popsané druhy *Brenneria goodwinii*, *Gibbsiella quercinecans* a *Rahnella victoriana* (Obr. 21; BRADY et al. 2017). Tyto bakterie mohou působit synergicky a urychlit tak odumírání dřevin. Tyto druhy bakterií byly doposud identifikovány kromě Velké Británie také v Polsku, Lotyšsku, Portugalsku, Španělsku a Švýcarsku (GONZÁLEZ et CIORDIA 2020; RUFFNER et al. 2020; TKACZYK et al. 2021; ZALKALNS et CELMA 2021; FERNANDES et al. 2022). V roce 2023 TKACZYK et al. (2024) potvrdili přítomnost bakterií *Brenneria goodwinii* a *Gibbsiella quercinecans* také v chřadnoucích dubových porostech na středním a západním Slovensku.

Obrázek 21: Příznaky akutního odumírání dubů (Acute Oak Decline) ve Velké Británii: a) exudáty na borce, b) prasklá borka v důsledku nekrotického podkorního pletiva, c) léze na vnitřní kůře, d) požerky A. biguttatus v blízkosti nekrotických lézí (převzato z BRADY et al. 2017).

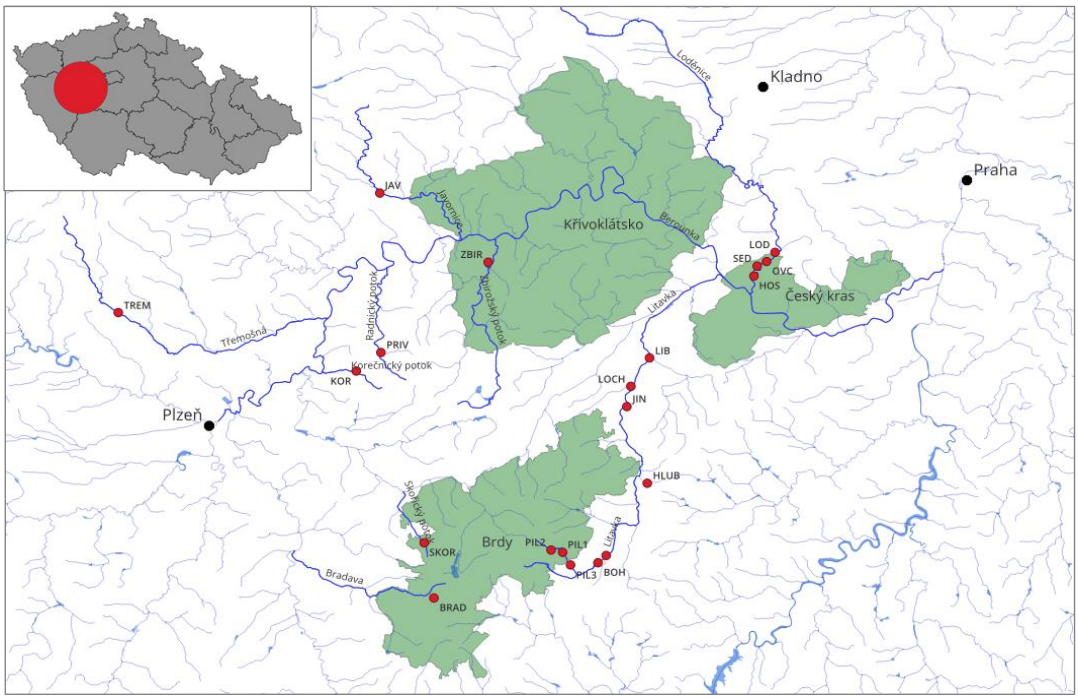
4. Metodika

4.1. Monitoring zdravotního stavu olšových porostů a identifikace patogenů rodu *Phytophthora*

Hodnocení na výzkumných plochách probíhalo v letech 2019–2021 od poloviny srpna do konce září, v období největší aktivity patogenu u napadené dřeviny, v oblasti povodí Vltavy na území Středních Čech a severního Plzeňska; dále v oblasti povodí Odry na území CHKO Beskydy. V roce 2023 bylo provedeno další hodnocení ploch v oblasti povodí Vltavy.

Pro hodnocení byla použita modifikovaná metodika dle ČERNÉHO et al. (2016). Během průzkumu byly vytipovány porosty s většinovým zastoupením olše lepkavé a olše šedé, které se vyskytovaly v rámci břehových porostů. V oblasti povodí Vltavy bylo založeno 20 pokusných ploch (Obr. 22), a všechny plochy se nacházely na přítocích řeky Berounky (Tab. 2). V oblasti povodí Odry bylo založeno 12 pokusných ploch (Obr. 23) v rámci přírodní lesní oblasti (PLO) 39 – Podbeskydská pahorkatina a PLO 40 – Moravskoslezské Beskydy (Tab. 3).

V rámci výzkumu byly vybrány hlavní i vedlejší vodní toky jednoho povodí. Každá plocha představovala úsek pobřežní vegetace o délce 100 m a šířce max. 6 m od vodního toku, s minimálním podílem 50 % olše. V závislosti na šířce vodního toku byly hodnoceny jeden nebo oba břehy sledovaného úseku. Na každé ploše byli hodnoceni všichni jedinci olše s průměrem kmene ve výčetní výšce nad 10 cm; zaznamenány byly také pařezy olší. Každá pokusná plocha zahrnovala 14–50 jedinců olše dle hustoty porostu. Jednotlivé plochy byly vzdálené od sebe minimálně 2 km v rámci jednoho toku.



Obrázek 22: Výzkumné plochy v rámci povodí Vltavy (červené body), oblasti CHKO (zeleně).

*Tabulka 2: Přehled základních charakteristik výzkumných ploch v rámci povodí Vltavy (*OL = olše lepkavá)*

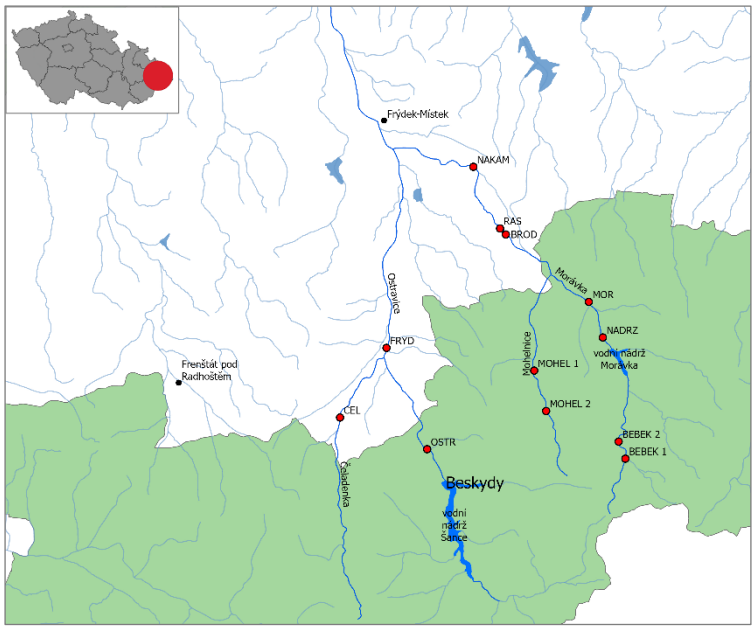
	Označení plochy	Název vodního toku	Přítok řeky	Nadmořská výška [m n. m.]	Souřadnice	Počet hodnocených jedinců OL*
Český kras, Loděnice	**LOD** (Loděnice, Jánská)	Loděnice	Berounka	255	N 49.990645 E 14.15513	30
	OVC (Ovčín)	Loděnice	Berounka	239	N 49.980765 E 14.14473	26
	SED (Sedlec)	Loděnice	Berounka	237	N 49.97518 E 14.13216	24
	HOS (Hostím)	Loděnice	Berounka	228	N 49.96518 E 14.12961	33
Litavka a její přítoky	**BOH** (Bohutín)	Litavka	Berounka	524	N 49.67005 E 13.965525	62
	PRIB (Příbram, u stadionu)	Litavka	Berounka	507	N 49.678095 E 13.9758	65
	HLUB (Hlubošský potok)	Hlubošský potok	Litavka Berounka	445	N 49.752715 E 14.01959	72
	JIN (Jince)	Litavka	Berounka	339	N 49.823345 E 13.97397	23
	LOCH (Lochovice)	Podlužský potok	Litavka Berounka	316	N 49.843285 E 13.975435	22
	LIB (Libomyšl)	Litavka	Berounka	258	N 49.87294 E 13.99623	31
CHKO Brdy	**PIL 1** (pod Pilskou nádrží)	Pilský potok	Litavka Berounka	644	N 49.67528 E 13.91266	24
	PIL 2 (nad Pilskou nádrží)	Pilský potok	Litavka Berounka	683	N 49.67588 E 13.89558	20
	PIL 3 (u Bohutína)	Pilský potok	Litavka Berounka	595	N 49.66423 E 13.92668	14
	SKOR (Skořický potok)	Skořický potok	Klabava Berounka	534	N 49.66560 E 13.71197	33
	BRAD (Bradava)	Bradava	Úslava Berounka	630	N 49.614085 E 13.73789	45
Křivoklátsko, severní Plzeňsko	**ZBIR** (U Podmokelského mlýna)	Zbirožský potok	Berounka	291	N 49.942755 E 13.7431	29
	JAV (Javornice)	Javornice	Berounka	375	N 49.99393 E 13.571545	31
	KOR (Korečnický potok)	Korečnický potok	Berounka	395	N 49.820445 E 13.57685	45
	PRIV (Přívětice)	Radnický potok	Berounka	414	N 49.84162 E 13.60822	30
	TREM (Třemošná)	Třemošná	Berounka	424	N 49.8428 E 13.221495	41

*Tabulka 3: Přehled základních charakteristik výzkumných ploch v rámci povodí Odry (*OL = olše lepkavá, OLŠ = olše šedá)*

	Označení plochy	Název vodního toku	Přítok řeky	Nadmořská výška [m n. m.]	Souřadnice	Počet hodnocených jedinců olše (OL/OLŠ)*
řeka Morávka	**NAKAM** (Na Kamenci)	Morávka	Ostravice Odra	346	N 49.66626 E 18.41863	22 (0/22)
	RAS (Raškovice, Klimánek)	Morávka	Ostravice Odra	378	N 49.63724 E 18.44260	31 (27/4)
	BROD (Raškovice, Brod)	Morávka	Ostravice Odra	362	N 49.63457 E 18.44730	27 (7/20)
	MOR (Morávka, vesnice)	Morávka	Ostravice Odra	442	N 49.60492 E 18.51399	60 (60/0)
	NADRZ (Vodní nádrž Morávka)	Morávka	Ostravice Odra	478	N 49.58805 E 18.52673	14 (14/0)
	BEBEK 2 (Morávka, Bebek)	Morávka	Ostravice Odra	599	N 49.53771 E 18.54517	37 (28/9)
	BEBEK 1 (aut. zastávka Bebek)	Morávka	Ostravice Odra	653	N 49.52959 E 18.55129	19 (19/0)
řeka Mohelnice	**MOHEL 1** (Mohelnice)	Mohelnice	Morávka Ostravice Odra	524	N 49.56903 E 18.47728	24 (9/15)
	MOHEL 2 (Mohelnice)	Mohelnice	Morávka Ostravice Odra	569	N 49.54974 E 18.48867	27 (2/25)
řeka Ostravice a přítoky	**OSTR** (Ostravice)	Ostravice	Odra	408	N 49.52617 E 18.40179	46 (0/46)
	FRYD (Frýdlant n. Ostravicí)	Ostravice	Odra	361	N 49.57410 E 18.36477	42 (20/22)
	CEL (Čeladná)	Čeladénka	Ostravice Odra	448	N 49.53810 E 18.33433	28 (7/19)

V prvním roce terénního výzkumu (2019) byly vybrány porosty olše (povodí Vltavy – o. lepkavá, povodí Odry – o. lepkavá a o. šedá), u kterých byla stanovena nadmořská výška, šířka vodního toku, zastoupení olše v porostu, pokryvnost olše v porostu. Vzhledem k předpokládanému antropogennímu šíření patogenu (přenos kontaminované půdy na pneumatikách vozidel, bicyklů nebo podrážkách bot) byla jako významný faktor u každé plochy posuzována přítomnost mostu nebo cesty u každé plochy: [0] = bez přítomnosti, [1] = cesta paralelně s porostem, [2] = cesta nebo most přetínající porost (dle THOIRAIN et al. 2007). U každého stromu byly hodnoceny následující parametry: výčetní tloušťka (DBH), výška, vzdálenost od vodního toku (Tab. 4), a přítomnost dalších patogenů (především plodnice rezavce lesknavého *Inonotus radiatus* (Sowerby) P. Karst.). Kmeny v rámci mnohokmenů byly hodnoceny jednotlivě.

Pro každý strom byla stanovena úroveň defoliace a stupeň napadení. Nejvýznamnějším hodnoceným parametrem bylo posouzení fytoftorového odumírání olší, které v našich podmínkách způsobuje zejména druh *Phytophthora ×alni*. Symptomy byly hodnoceny na stupnici [0–4] podle intenzity napadení (Tab. 5, Obr. 24). Defoliace byla hodnocena jako jeden z hlavních ukazatelů fyziologické vitality (Příloha 1) na základě metodiky ICP Forests (EICHHORN et al. 2016).



Obrázek 23: Výzkumné plochy v rámci povodí Odry (červené body), zeleně oblasti CHKO Beskydy.

Tabulka 5: Kategorie vzdálenosti kmene olše lepkavé od vodního toku.

Vzdálenost od vodního toku	
Kategorie	**Vzdálenost**
1	ve vodě až 0,5 m
2	1–2 m
3	3–4 m
4	5–6 m

Tabulka 4: Hodnocení symptomů napadení patogenem Phytophthora alni na stupnici [0–4].

Stupeň napadení	**Charakteristika**
0	zdravý strom, bez příznaků napadení
1	ojediněle výskyt exudátů a nekrotických lézí
2	střední výskyt exudátů, rozsáhlejší postupující léze
3	silné napadení, příznaky výskytu *Phytophthora alni*, propadlé rozsáhlé léze, silný výtok exudátů na větší ploše
4	odumírající nebo mrtvý strom v důsledku napadení *Phytophthora alni*, potvrzeno dle symptomů a izolací patogenu

Obrázek 24: Příklady hodnocení stupně napadení na olši lepkavé (foto: Markéta Macháčová).

Izolace, kultivace a identifikace patogenů r. *Phytophthora*

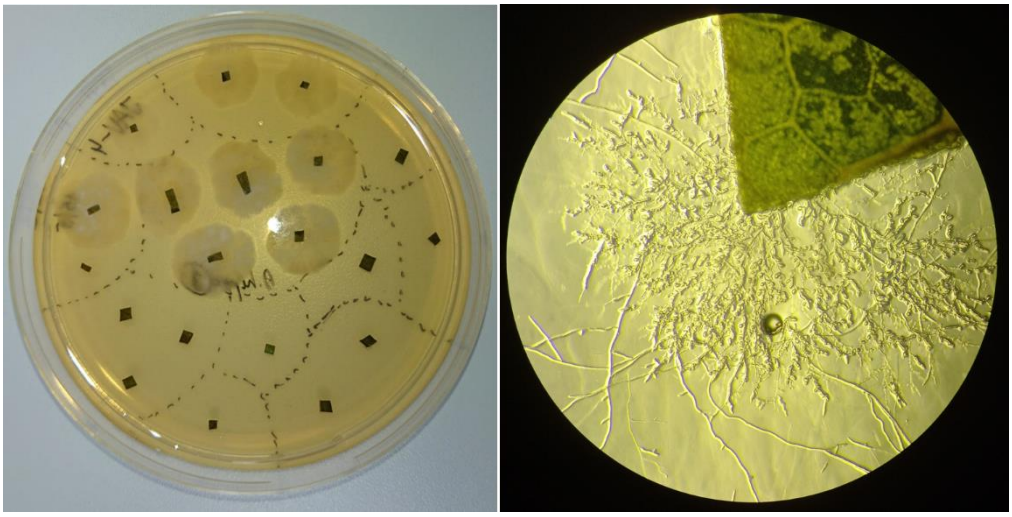
Z každého stromu vykazujícího symptomy fytoftorového odumírání byl odebrán vzorek na potvrzení přítomnosti patogenu. Jednalo se o stromy s aktivní lézí a výtokem exudátů na borce kmene. Zároveň byl na všech výzkumných plochách odebrán vzorek půdy pro identifikaci patogenů r. *Phytophthora*. Zjištění druhového spektra r. *Phytophthora* bylo prováděno pomocí dvou metod, které byly jednotně použity na všech plochách: izolace ze vzorků půdy pomocí tzv. „leaf-baiting“ metody, a přímá izolace z podkorních pletiv olše.

První metoda zahrnovala odběr směsného rhizosféry z bezprostředního okolí cca 3 symptomatických (ne odumřelých) a 3 asymptomatických jedinců olše na základě upravené metodiky podle JUNGA et al. (1996, 2000). Vzorky půdy byly odebírány ve vzdálenosti 50–150 cm od báze kmene, v hloubce 10–15 cm pod hrabankou. Vzorky půdy byly odebírány na jaře (duben až květen) a na podzim (září až říjen) z důvodu rozdílné aktivity patogenu v průběhu roku. Vzorky byly umístěny do plastových sáčků. Vzorek půdy o objemu cca 200 ml byl promíchán (zvlášť symptomatické a asymptomatické) a v případě, že půda byla příliš suchá, byl vzorek navlhčen destilovanou vodou na min. 24 h, aby došlo k vyklíčení spor. Následující den byla doplněna destilovaná voda tak, aby vzdálenost mezi hladinou vody a povrchem půdy byla cca 3–4 cm. Po důkladném vyčištění hladiny byly na hladinu umístěny mladé listy sloužící jako návnady na zachycení plovoucích zoospor (např. dub letní, dub korkový, buk lesní, jírovec maďal aj.) (Obr. 25).

Obrázek 25: Ukázka „leaf-baiting“ metody 2 dny po založení a 5 dní po založení (foto: Markéta Macháčová).

Inkubace probíhala při teplotě 20 °C po dobu max. 7 dnů. Po několika dnech se na listech začaly objevovat drobné nekrotické skvrny, které byly skalpelem vyříznuty a rozděleny na segmenty o velikostech cca 2 × 2 mm. Ty byly následně vysušeny, umístěny na selektivní PARPNH agar a inkubovány při 20 °C ve tmě. Vzorky byly denně kontrolovány

pod binokulární lupou a morfologicky odpovídající mycelium bylo z okrajové části přeočkováno na V8A médium (Obr. 26).



Obrázek 26: Mycelium Phytophthora plurivora vyrůstající z nekrotických segmentů listů na PARPNH selektivním médiu (vlevo); detail hyfových vláken vyrůstajících z listového segmentu (foto: Markéta Macháčová).

Příprava selektivního PARPNH média probíhala dle upravené metodiky JUNGA et al. (1996) ze zeleninového džusu (enerBIO zeleninová šťáva Rossmann nebo BIO zeleninová šťáva DM), viz kapitola 3.1.4. Zcentrifugovaný džus byl použit pro přípravu tzv. projasněného agarového média vhodného k identifikaci izolátů a studiu morfologických struktur. Pro dlouhodobé uchování bylo tzv. neprojasněné médium (unclarified medium) bez centrifugace.

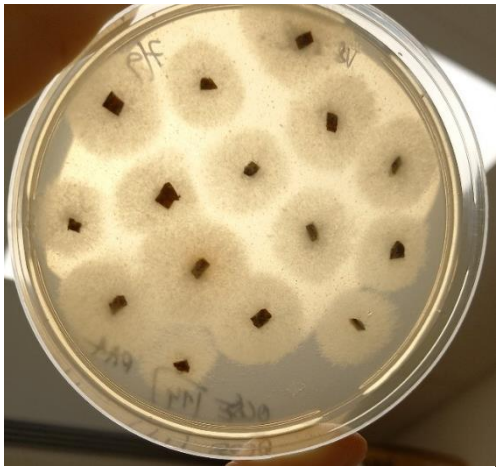
Druhou metodou přímé izolace z pletiva olše bylo možné získat druhy komplexu *P. alni*, pro které jsou typické podkorní nekrózy. K izolaci byla využita modifikovaná metodika dle ČERNÉHO et al. (2010). Vzorky byly odebírány v období od srpna do prosince. Pletivo bylo odebráno na růstovém okraji čerstvé léze, kterou lze snadno identifikovat podle rezavých až černajících výtoků na borce. Svrchní vrstva borky byla pomocí dláta odstraněna a podkorní pletivo (periderm) bylo odebráno v dlouhých pruzích buď do připravené láhve s destilovanou vodou nebo do plastových jednorázových sáčků (obě metody se ukázaly jako stejně efektivní).

V laboratoři byl proveden následující postup zpracování vzorků podkorních pletiv dle metodiky JUNG et al. (1996) a JUNG et BLASCHKE (2004): Během 24 hod po odběru byla několikrát vyměněna destilovaná voda z důvodu uvolnění fenolických látek, které působí inhibičně na růst patogenu. Poté byly vzorky vyndány a vysušeny na čistých ubrouscích. V případě odběru vzorků přímo do plastových sáčků byly vzorky opláchnuty v destilované vodě a následující postup byl stejný. Pomocí skalpelu byly odkrojovány kousky pletiva (0.5 × 0.3 × 0.3 cm) z různých vrstev vzorku (Obr. 27), cílem bylo zvýšit pravděpodobnost zachycení patogenu, který se může vyskytovat v různých úrovních vodivých pletiv, především floému (OSSWALD et al. 2014). Tyto kousky byly poté opět důkladně vysušeny

a umístěny na selektivní PARPNH médium, kde byly inkubovány při teplotě 20 °C ve tmě, až do nárůstu mycelia (Obr. 28). První morfologicky odpovídající hyfy byly následně přeočkovány na V8A médium.

Identifikované izoláty byly skladovány na V8A nebo CA agarovém médiu na Petriho miskách v laboratorní teplotě, dále na šikmém agaru v lednici. Pro dlouhodobé uchování byla použita modifikovaná metodika dle SCHMITTHENNER et BHAT (1994), kdy byly výřezy z okraje čerstvě narostlého mycelia na V8A médiu umístěny do 2ml zkumavky se sterilní destilovanou vodou, a uloženy do lednice při teplotě 5 °C. Takto uchované izoláty bylo možné skladovat 2 roky, v některých případech i 3 roky a více.

Obrázek 27: Odběr podkorního pletiva na horním okraji nekrózy pomocí dláta, vzorek pletiva, příprava segmentů pletiva z různých vrstev vzorku k izolaci Phytophthora alni (foto: Markéta Macháčová).



Obrázek 28: Mycelium Phytophthora ×alni vyrůstající ze vzorků podkorního pletiva na PARPNH selektivním médiu po 5 dnech kultivace (foto: Markéta Macháčová).

Genetické analýzy

K extrakci DNA byly použity čisté kultury izolátů kultivované 5 až 7 dní na V8A médiu ve tmě. Mycelium z celého povrchu Petriho misky bylo odebráno sterilní pipetovou špičkou do 2ml zkumavky obsahující keramickou kuličku a skleněnou drť, a dále bylo

zhomogenizováno na oscilačním mlýnu. K extrakci DNA byl použit Monarch® Genomic DNA Purification Kit (New England Biolabs) dle protokolu uvedeného výrobcem (část: Genomic DNA Purification from Insects).

Dále byla provedena PCR reakce s použitím OneTaq® Hot Start Quick-Load® 2X Master Mix (New England Biolabs). Postup při přípravě PCR reakce byl upravený dle protokolu uvedeného výrobcem reakční směsi. Jako primery byly použity univerzální primery ITS1 a ITS4, nebo ITS4 a ITS6 (WHITE et al. 1990). Při neúspěšné amplifikaci DNA některých izolátů s použitím primerů ITS regionu byly použity další primery, např. OomCox1-levlo/OomCox1-levup specifické pro skupinu Oomycota (ROBIDEAU et al. 2011) nebo TUBUF2/TUBUR1 (KROON et al. 2004). Celkový objem reakční směsi byl 25 µl (viz Tab. 6) a průběh amplifikace probíhal podle následujícího teplotního schématu:

Program PCR reakce s použitím ITS primerů:

1) počáteční denaturace 94 °C, 30 sec
2) denaturace 94 °C, 30 sec
3) přisednutí primeru 56 °C, 30 sec } 30 x cyklus
4) polymerace DNA 68 °C, 1 min
5) konečná elongace 68 °C, 5 min

Tabulka 6: Výpočet reakční PCR směsi (upraveno dle návodu).

Reagent	Koncentrace
Master Mix	12,5 µl
Forward Primer	0,5 µl
Reverse Primer	0,5 µl
Deionizovaná sterilizovaná voda	10 µl
Templátová DNA	1,5 µl
Celkový objem	25 µl

Analýza produktů PCR byla provedena pomocí elektroforézy v agarózovém gelu obarveném barvivem GelRed. Úspěšně amplifikované PCR produkty byly dále odeslány k sekvenování u firmy Eurofins Genomics. Získané sekvence byly vyhodnoceny ve spolupráci s Phytophthora Research Centre v Brně. Finální determinace byla provedena porovnáním sekvence nukleotidů s veřejnou databází NCBI a také s databází Phytophthora Research Centre.

Hodnocení fyziologických parametrů

V raných fázích napadení jsou vodivá pletiva a kořenové systémy dřevin poškozeny jen mírně, a příznaky choroby tedy nemusí být patrné v koruně stromu. S pokračující infekcí mohou být napadeny periderm, floém a případně dřeň, což se může projevit fyziologickými a biochemickými změnami, např. snížením fotosyntetické aktivity a vodního potenciálu listů (OSSWALD et al. 2014). Měření fyziologických parametrů tedy umožňuje odhalit míru

poškození dřeviny patogenem. Dynamika změn těchto parametrů umožňuje objektivně hodnotit zdravotní stav dřeviny po napadení *P. alni*.

Pro stanovení fyziologických parametrů byl na vybraných plochách hodnocen vždy minimálně jeden napadený a jeden nenapadený strom. Napadené stromy vykazovaly jasné příznaky choroby (rezavé až černé výtoky na bázi kmene, přítomnost nekrotických lézí, prosychání v koruně, chlorotické olistění). Měření zahrnovalo stanovení fotosyntetických parametrů prostřednictvím gazometrického přístroje LI6400/XT (Licor, NE, USA) (Obr. 29) a stanovení fluorescence chlorofylu pomocí přístroje FluorPen (PAR-FluorPen FP 110/D, PSI) (Příloha 2). Na několika vybraných porostech byl hodnocen také vodní potenciál (tlaková komora, model 1505D, PMS Instrument Company, Albany, USA).

Obrázek 29: Měření fyziologických parametrů v terénu na listech olše lepkavé. Fotosyntetické parametry byly měřeny pomocí gazometrického přístroje LI6400/XT (Licor, NE, USA) (světle modrá šipka) vložením listů do LED komory (tmavě modrá šipka). Ke stanovení fluorescence chlorofylu byl použit přístroj FluorPen (PAR-FluorPen FP 110, PSI, Drásov, ČR) se zatemňovacími klipy (oranžová šipka) (foto: Markéta Macháčová).

Měření v povodí Odry v Beskydech bylo provedeno v letech 2019 a 2020 a zahrnovalo stanovení fotosyntetických parametrů a fluorescence chlorofylu. Měření v povodí Vltavy bylo provedeno v letech 2020 a 2021 a kromě uvedených měření byl stanovován i vodní potenciál.

Z důvodu obtížně dostupné koruny většiny zkoumaných olší byla z vybraného stromu pomocí teleskopické pily odříznuta větev, která byla neprodleně zakrácena na délku zhruba 1,5 m. Větev byla následně v připraveném plastovém boxu s vodou ponořena a pod vodou zakrácena nejméně o 75 cm (což odpovídá předpokládané délce vodivých elementů dle JASOBSEN et al. 2012) tak, aby se odstranil vzduch, který byl v důsledku tenze vtažený do vodivých pletiv. Tímto způsobem bylo možné po dobu následujících cca 30−40 minut měřit na odříznuté větvi s nepřerušeným procesem fotosyntézy. Během této doby byly na listech měřeny fotosyntetické parametry a fluorescence. Hodnoceny byly větve, které

vyrůstaly z kosterních větví se stejnou expozicí v rámci kmene, kmenové výmladky nebyly používány.

Fotosyntetické parametry

Fotosyntetické parametry byly měřeny umístěním listu do 2x3 LED komory. Po kalibraci přístroje bylo nastaveno automatické měření světelné křivky. Jako referenční hodnota CO_2 byla zvolena hodnota 415 ppm. Zdrojem CO_2 byla CO_2 kartuše, jejíž obsah dostačoval na jednodenní měření. Světelná křivka byla měřena při hodnotách 1500, 1000, 500, 250, 100, 50, 25, 10 a 0 μmol m^{-2} s^{-1}. V rámci naší práce byly hodnoceny parametry, které nejlépe reprezentují zdravotní stav dané rostliny, tedy rychlost fotosyntézy (Pn), transpirace (Tr), stomatální vodivost (Gs) a efektivita využití vody (WUE).

Rychlá fáze fluorescenční indukce

K měření rychlé fáze fluorescenční indukce se zaměřením na tzv. OJIP parametry byly použity zatemňovací klipy a přístroj FluorPen (Příloha 2). Na 6−8 listů hodnocené větve byly připevněny klipy se zataženým plíškem, který umožnil po dobu 20 minut navodit adaptaci fotosyntetického aparátu na temnostní podmínky, tedy utlumení fotochemických procesů. Poté byl přiložen přístroj, listový terčík byl odtemněný a byl spuštěn záblesk aktinického světla o vlnové délce 470 nm a intenzitě 3 000 μmol m^{-2} s^{-1}. Emise přebytečné energie v podobě fluorescenčního záření o vlnové délce 665−750 nm byla zachycena detektorem přístroje a na základě jeho intenzity vypočítána maximální fluorescence chlorofylu měřeného vzorku. Z velkého množství získaných fluorescenčních parametrů byly pro další analýzy vybrány pouze takové, které nejlépe odrážejí fyziologický stav rostlin. Z OJIP křivky byly odečteny indexy Φ_{PO} a $PI_{ABS.}$ Parametr Φ_{PO}, vypočítaný jako poměr mezi Fv a Fm, udává maximální kvantový výtěžek fotochemických reakcí ve fotosystému II (PS II) v temnotně adaptovaném stavu, resp. je mírou maximální kapacity PSII. Hodnota 0,8 je průměrná hodnota u zdravých rostlin, u stresovaných rostlin hodnota klesá (MAXWELL et JOHNSON 2000). Index odolnosti vůči suchu, PI_{ABS} (absorpční index fotosyntetického pigmentu), se u zdravých rostlin pohybuje v hodnotách v rozmezí 2 až 4, u stresovaných rostlin hodnota klesá (KALAJI et al. 2014).

Vodní potenciál

Vodní potenciál je definovaný jako stav vody v rostlině udávaný v MPa. Pokud je rostlina dostatečně zásobena vodou, vodní potenciál je nula. Čím jsou hodnoty potenciálu zápornější, tím více je rostlina stresovaná nedostatkem vody. Za hranici mezi středním a silným stresem je považována hodnota −1,5 MPa (TEIZ et ZEIGER 2010). V průběhu dne je vhodné měřit tzv. predawn water potential, tedy potenciál těsně po rozednění, který reprezentuje rovnováhu mezi vodním potenciálem půdy a rostliny. Z praktických důvodů bylo měření prováděno v průběhu celého dne. Postup spočíval v okamžitém vložení listu do tlakové komory (1505D, PMS Instrument Company, Albany, USA) po odřezání větve s řapíkem, a to řapíkem vzhůru. Tlak uvnitř komory byl zvyšován prostřednictvím tlakové nádoby

s dusíkem. V okamžiku, kdy se na řezu řapíku objevila kapka vody vytlačená z xylému, byla hodnota potenciálu odečtena na displeji.

Statistické zpracování dat

Data zahrnující faktory ovlivňující stupeň napadení byla zpracována v programu R, balík "dplyr" (WICKHAM et al. 2023). Pro tvorbu grafů byl použit balík "ggplot2" (WICKHAM 2016). Korelace mezi defoliací a stupněm napadení byla hodnocena pomocí Pearsonova korelačního koeficientu. Rozdíl ve stupni napadení a defoliací mezi jednotlivými roky byl zjišťován pomocí párového t-testu.

Pro analýzu vztahu mezi ordinální závislou proměnnou *y* (stupeň napadení v roce 2023) a nezávislými proměnnými (nadmořská výška, šířka vodního toku, vzdálenost kmene od vodního toku, podíl olší, pokryvnost olší, průměr kmene, výška kmene, přítomnost mostu) byla použita binomiální regrese. Závislá proměnná byla překvalifikována do binárních kategorií [0 = bez napadení] a [1 = napadené] z důvodu příliš nízkého počtu pozorování v jednotlivých kategoriích stupně napadení. Výsledky však ukázaly, že vzhledem k nenormálnímu rozdělení dat závisle proměnné (zdravé: n=557, napadené: n=129) a nerovnosti rozptylů mezi skupinami nejsou data vhodná pro zpracování pomocí tradičních parametrických metod.

Dalším krokem tedy bylo převedení některých nezávisle proměnných z kontinuálního do kategorického uspořádání. To se týkalo následujících proměnných:

- nadmořská výška
  - [1] = 200−300 m n. m.
  - [2] = 301−400 m n. m.
  - [3] = 401−500 m n. m.
  - [4] = 501−600 m n. m.
  - [5] = 601−700 m n. m.
- podíl olší
  - [nízký] = 50−65 %
  - [střední] = 70−80 %
  - [vysoký] = 85−100 %
- pokryvnost olší
  - [nízká] = 20−45 %
  - [střední] = 50−70 %
  - [vysoká] = 75−100 %
- šířka toku
  - [malá] = 0,5−1,5 m
  - [střední] = 3−4 m
  - [velká] = 6−9 m

Následně byl proveden chí-kvadrát test nezávislosti, který zkoumal vztah mezi závisle proměnnou (napadení v roce 2023) a kategoriálními proměnnými. K analýze kontinuálních proměnných byl použit Spearmanův korelační koeficient a Mann-Whitneyho U test.

Data z fyziologických měření byla zpracována v programu R a v programu Statistica 13.0. Rozdíly ve fotosyntetických parametrech (Pn, Gs, WUE, vodní potenciál) mezi skupinami byly testovány pomocí neparametrických metod, jelikož data nesplňovala podmínky normálního rozdělení. Fluorescenční data byla zpracována pomocí balíčku "asreml" k aplikaci lineárního smíšeného modelu na zpracovaný dataset. Tento model měl za cíl analyzovat vliv fixních a náhodných faktorů na fluorescenční proměnnou Φ_{PO} a PI_{ABS}, které byly průměrovány pro zkoumané rostliny. Fixním efektem zahrnutým do modelu byl u povodí Vltavy faktor "napadení", zatímco faktor "lokalita" byl považován za náhodný efekt; v povodí Odry to byl faktor „druh olše“.

4.2. Podkorní inokulace olše lepkavé patogeny rodu *Phytophthora* v různých koncentracích CO_2

Vliv teploty na aktivitu jednotlivých druhů komplexu *P. alni* byl diskutován v rámci dříve provedených studií (SCHUMACHER et al. 2006; ČERNÝ et STRNADOVÁ 2010; REDONDO et al. 2015), které naznačují možné další šíření těchto patogenů v důsledku klimatických změn. Studie interakce *Phytophthora*-olše při zvýšené koncentraci CO_2 však stále chybí. Cílem tohoto experimentu bylo porovnat reakce rostlin o. lepkavé na umělou infekci *P.* ×*alni* (PAA), *P. uniformis* (PAU) a *P. plurivora* (PLU) při běžné a zvýšené koncentraci CO_2.

Design a založení experimentu

Šištice olše lepkavé byly sesbírány na podzim roku 2020 ze dvou lokalit v Česku (Tab. 7). V prosinci 2020 byla semena povrchově sterilizována (5% SAVO, 1 min), opláchnuta v destilované vodě, a naklíčena na vlhkém filtračním papíru v Petriho miskách v růstových komorách při teplotě 20 °C a fotoperiodě 14/10h. Po cca 10 dnech byly rostliny přesazeny do 2l květináčů do pěstební směsi světlé a tmavé rašeliny a perlitu (Propařovaný substrát pro výsev a množení, PROFÍK, Forestina). Rostliny byly zalévány jednou týdně podle potřeby tak, aby substrát byl udržován stále vlhký. Dva měsíce před inokulací byly rostliny přihnojeny granulovaným hnojivem s postupným uvolňováním živin (Osmocote, ICL Specialty Fertilizers). Během experimentu nebyly aplikovány žádné fungicidy. Rostliny byly pěstovány v růstových komorách (Step-In Chamber, PSI Ltd, Drásov, ČR) v následujících podmínkách: 14/10 hod fotoperioda, 20/15 °C teplota den/noc, 65 % relativní vzdušná vlhkost, intenzita ozářenosti 250 µmol m^{-2} s^{-1} (red 8 %, blue 10 %, far-red 2 %) (Obr. 30). V rámci experimentu byly testovány dvě úrovně CO_2 v atmosféře: 415 ppm (průměrná globální koncentrace CO_2 v atmosféře v roce 2020 podle https://gml.noaa.gov/webdata/ccgg/trends/co2/co2_annmean_mlo.txt) a 830 ppm, tedy dvojnásobná koncentrace. Pro každou úroveň byla použita jedna růstová komora.

Tabulka 7: Původ osiva olše lepkavé použitého v experimentu s podkorní inokulací.

Populace	Lokalita	Řeka	GPS souřadnice	Nadmořská výška	Přibližný věk stromů	Zdravotní stav
1	Povodí Vltavy	Litavka	49.8235244N 13.9740708E 49.8729619N 13.9963381E	260–340 m n. m.	70 let	Silně napadený porost Potvrzen výskyt *P.* ×*alni*
2	Beskydy	Morávka	49.6372400N 18.4426000E 49.6020831N 18.5187214E	380–440 m n. m.	30 let	Zdravý, bezpříznakový porost

Obrázek 30: Rostliny olše lepkavé použité v rámci experimentu s podkorní inokulací. (A) klíčení osiva, (B) dva měsíce staré rostliny, (C) umístění v růstové komoře, (D) pět měsíců stará rostlina (foto: Markéta Macháčová).

Podkorní inokulace

V červnu 2021 byla provedena podkorní inokulace šest měsíců starých rostlin. Celkem bylo inokulováno 96 rostlin, 12 rostlin na každou kombinaci *Phytophthora*/CO_2 úroveň (6 rostlin z každé populace olše 1 a 2, viz Tab. 7), plus 12 rostlin jako kontrola. Pro inokulaci byly vybrány izoláty třech druhů r. *Phytophthora* způsobujících odumírání olší (Tab. 8) (Bjelke et al. 2016). Tyto izoláty byly identifikovány v rámci monitoringu povodí Vltavy na základě analýzy sekvencí jaderné ribozomální ITS oblasti (ITS1-5.8S-ITS2) podle Junga et al. (2019); u izolátu *P. uniformis* byl sekvenován také β-tubulin gen s použitím primerů TUBUF2 a TUBUR1 (Kroon et al. 2004).

Tabulka 8: Původ izolátů r. Phytophthora použitých v rámci podkorní inokulace a GenBank přístupové kódy jejich (a) ITS a (b) β-tubulin sekvencí.

***Phytophthora* druhy**	**Kód**	**Rok izolace**	**Hostitelská dřevina**	**Lokalita**	**GenBank přístupový kód**
P.* ×*alni	MM123	2020	*Alnus glutinosa* – podkorní pletivo	Příbram, řeka Litavka	OQ703915[a]
P. uniformis	MM078	2020	*A. glutinosa* – podkorní pletivo	Příbram, řeka Litavka	OQ703916[a] PP210887[b]
P. plurivora	MM033	2020	*A. glutinosa* – rhizosféra	Kožlany, řeka Javornice	OQ703917[a]

Podkorní inokulace byla provedena podle metodiky Milenkovićе et al. (2018). Povrch borky v úrovni 10−15 cm nad krčkem rostliny byl očištěn 70% ethanolem. Zde byl pak

pomocí sterilního ostrého korkovrtu vyříznut kruhový výřez o průměru 7 mm až na úroveň dřeva. K inokulaci byly použity 5−7 dní staré kultury narostlé na V8A médiu (JUNG et al. 1996), z nichž byly totožným sterilním korkovrtem z okrajové části mycelia vyříznuty výřezy o stejném průměry. Tyto kousky agaru byly následně vloženy do otvoru v kůře myceliem ke dřevu, překryty odříznutou kůrou a kouskem buničité vaty namočené do sterilní dH_2O, a zavázány parafilmem a alobalem. Inokulace byla provedena ve spolupráci s Dr. Ivanem Milenkovićem a Dr. Tamarou Corcobado z Phytophthora Research Centre v Brně. Kontrolní rostliny byly inokulovány výřezem čistého agaru se stejným postupem. Po inokulaci byly rostliny umístěny zpět do komor, kde byly v pravidelných 14denních intervalech kontrolovány a byl zaznamenáván výskyt symptomů: mortalita, vertikální délka lézí a rozsah horizontální nekrózy (tzv. girdling), který byl hodnocen na základě pěti-bodové stupnice podle ZAMORA-BALLESTEROS et al. (2017) (Tab. 9).

Tabulka 9: Hodnocení rozsahu nekrotizace kmínku rostliny (podle ZAMORA-BALLESTEROS et al. 2017).

Úroveň	Hodnocení
0	bez nekrózy
1	1/4 obvodu kmene nekrotizovaná
2	2/4 obvodu kmene nekrotizované
3	3/4 obvodu kmene nekrotizované
4	4/4 obvodu kmene nekrotizované

Vyhodnocení experimentu

Experiment byl ukončen 13 týdnů po inokulaci, kdy v jedné variantě (*Phytophthora*/CO_2) odumřelo 50 % rostlin a na dalších rostlinách již příznaky nepostupovaly. U každé rostliny byla změřena délka léze pomocí svinovacího metru, šířka nekrózy byla změřena pomocí krejčovského metru. Pro potvrzení Kochova postulátu byla provedena reizolace z každé rostliny, včetně kontrol. Z horního a spodního okraje nekrotické léze byly vyříznuty malé kousky pletiva a umístěny na selektivní PARPNH agar (JUNG et al. 1996). Kde se nevyskytovala léze, tam byly odebrány kousky pletiva v blízkosti místa inokulace. Identifikace patogenu byla potvrzena porovnáním morfologie kolonií na V8A médiu s originálními izoláty.

Pro stanovení biomasy byla každá rostlina opatrně vyjmuta z květináče a namočena ve vodě pro lepší odstranění zbytků substrátu. Rostliny byly dále vysušeny v horkovzdušné sušárně při teplotě 65 °C po dobu 48 hod (zvlášť kořenový systém, listy a prýty), a bezprostředně po vysušení byly vzorky zváženy. Biomasa byla následně spočítána a vyjádřena jako poměr nadzemní a podzemní biomasy. Výška rostlin a tloušťka krčku byly změřeny těsně před inokulací a při ukončení experimentu.

Statistické zpracování dat

Posouzení normality v rámci každé varianty bylo provedeno pomocí Shapiro-Wilkova testu. Vzhledem ke zjištěné odchylce od předpokladů normálního rozdělení dat byly následně

analyzovány rozdíly v různých parametrech (délka a šířka léze, plocha léze, poměr nadzemní a podzemní biomasy, procento délky léze z výšky rostliny, finální výška rostliny a tloušťka krčku) pomocí Wilcoxonova testu pro párové vzorky implementovaného v balíčku "pairwise.wilcox.test" statistického softwaru R (R DEVELOPMENT CORE TEAM 2021), kde byla hodnota p nastavena jako BH - tj. „false discovery rate adjustment“ (BENJAMINI et HOCHBERG 1995). Rozdíly mezi skupinami byly hodnoceny na hladině významnosti $\alpha = 0{,}05$. Velikosti účinku Hedge's g efektu byly vypočteny pomocí funkce "cohens.d" z balíčku "effsize" s parametrem "hedges.correction" nastaveným na TRUE.

Pro hodnocení rozsahu nekrózy (Tab. 9) byl použit výpočet tzv. AUDPC (Area Under Disease Progress Curve), který se používá pro vyjádření průběhu choroby v čase. AUDPC byl měřen metodou lichoběžníkové integrace podle MADDEN et al. (2007) s použitím rovnice:

$$AUDPC = \sum_{i=1}^{n-1} \left(\frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right) (t_{i+1} - t_i)$$

kde: y_i = počáteční úroveň rozsahu nekrózy t_{i+1} = finální čas hodnocení
y_{i+1} = finální úroveň rozsahu nekrózy t_i = počáteční čas hodnocení

Hodnoty AUDPC byly dále zpracovány pomocí statistické analýzy ANOVA a Fisherova LSD testu v softwaru STATISTICA 13.0.

Křivky přežívání („survival curves“) popisující vztah mezi mírou mortality a časem po inokulaci byly vytvořeny pomocí metody Kaplan-Meierových odhadů (Kaplan-Meier Estimates) v softwaru Statistica 13.0. Statistická významnost rozdílů v přežití mezi skupinami byla posuzována pomocí chí-kvadrát testu. Párová srovnání byla provedena pomocí Log Rank testu na prahu významnosti na $\alpha = 0{,}05$. Mortalita byla hodnocena pomocí chí-kvadrát testu. Korelace mezi mortalitou a vybranými parametry (plocha léze, procento délky léze z výšky rostliny, konečná výška rostliny a poměr nadzemní a podzemní biomasy) byly analyzovány pomocí Spearmanova korelačního koeficientu. Vztahy mezi obvodem kmínku a rozsahem nekrózy/mortalitou byly analyzovány buď pomocí lineárních regresních modelů nebo Welshova testu s využitím softwaru R.

4.3. Historický přehled a faktory působící chřadnutí dubových porostů

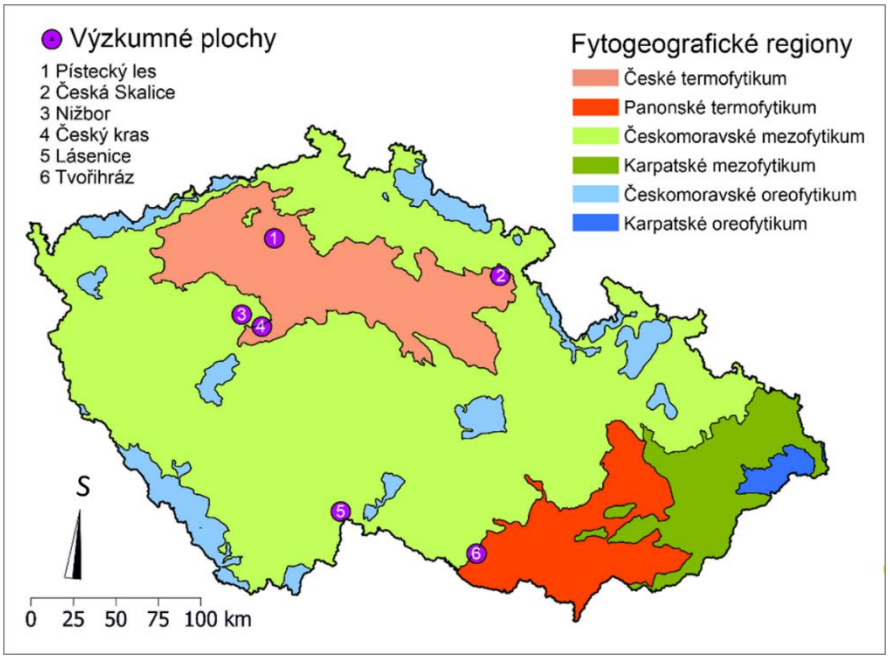
Cílem studia výskytu chřadnutí dubových porostů v Evropě bylo zpracování historického přehledu, zmapování jednotlivých epizod a určení příčin chřadnutí metodou kanonické korespondenční analýzy (CCA). Pro vyhledávání publikací byla využita databáze Web of Science, kde byly jako klíčová slova použity následující výrazy, případně jejich kombinace: "oak decline", "oak dieback", "oak wilt", "acute oak decline", "sudden oak death", "tracheomycosis", "Ophiostoma". Dalším zdrojem informací byly sborníky z konferencí z 90. let 20. století a z počátku 21. století, případně další relevantní zdroje. Publikace týkající se škod způsobených býložravými obratlovci nebo nevhodnými způsoby hospodaření nebyly v přehledu využity, jelikož se jednalo o minimální počet záznamů. Naopak sucho bylo uváděno jako hlavní příčina chřadnutí dubů ve většině případů, proto byly záznamy chřadnutí dubů porovnány s údaji o srážkách. Cílem bylo odhalit, zda existuje vztah mezi výskytem sucha a chřadnutím dubů. K tomuto účelu byla zpracována meteorologická data dostupná v evropských databázích od roku 1901 do roku 2020. Zdrojem údajů o srážkách byl dataset publikovaný HARRISEM et al. (2021). Soubor dat se skládal z mřížkovaných měsíčních změn klimatu v období 1901−2020 s prostorovým rozlišením 0,5° × 0,5°. Měsíční údaje o srážkách byly sumarizovány za hydrologický rok (od 1. listopadu do 31. října), byl vypočten průměrný roční úhrn srážek za celé sledované období a byly rovněž vypočteny odchylky vzhledem k průměru let 1902−2020.

Na základě údajů získaných z literatury byla vytvořena databáze se záznamy nejčastějších faktorů způsobujících chřadnutí dubů. Za využití softwaru CANOCO 5 byla vypracována kanonická korespondenční analýza (CCA), jejíž výsledky ukázaly, které faktory se v průběhu času vyskytují společně. Výpočty byly provedeny v programu CANOCO 5 pro vícerozměrnou statistickou analýzu pomocí ordinačních metod (ŠMILAUER et LEPŠ 2014).

4.4. Aktuální posouzení zdravotního stavu dubových porostů

Výběr a založení pokusných ploch

V roce 2020 bylo založeno 6 výzkumných ploch s příznaky chřadnutí dubových porostů (dub zimní a dub letní) v rámci celého Česka (Obr. 31). Příznaky chřadnutí zahrnovaly defoliaci v koruně, tvorbu kmenových výmladků a dehtovité exudáty na borce. Plochy se nacházely v nadmořských výškách v rozmezí 198−530 m n. m., a na každé ploše bylo hodnoceno 31 až 34 stromů (Tab. 10). Ve všech případech se jednalo o čistě dubové hospodářské porosty založené z umělé obnovy.



Obrázek 31: Založené výzkumné plochy s chřadnoucími dubovými porosty.

Tabulka 10: Přehled základních charakteristik výzkumných ploch.

Označení plochy	Lesní správa	Nadmořská výška [m n. m.]	Věk porostu	Výška porostu [m]	DBH x ± SD [cm]	Souřadnice
Pístecký les	LS Litoměřice	198	60	26,8	31,4 ± 9,4	N 50.42613 E 14.14252
Česká Skalice	Lesy města Náchoda, spol. s r.o.	318	40	19,3	19,0 ± 4,7	N 50.38201 E 16.04089
Nižbor	LS Nižbor	351	48	12,3	14,4 ± 3,4	N 50.00275 E 13.96401
Český kras	CHKO Český kras	363	42	18,5	18,3 ± 4,1	N 49.95123 E 14.14244
Lásenice	LS Jindřichův Hradec	530	110	29,2	35,6 ± 7,7	N 49.03728 E 14.9817
Tvořihráz	LS Znojmo, Klášterní správa	310	38	19,6	30,6 ± 4,6	N 48.90764 E 16.10878

Zdravotní stav byl hodnocen v roce 2020 a 2021 pomocí defoliace na základě metodiky ICP Forests (EICHHORN et al. 2016). Byly posouzeny hlavní příznaky chřadnutí, např. výskyt exudátů na borce kmene, výskyt závrtových nebo výletových otvorů podkorního hmyzu nebo výskyt poloparazitických rostlin (jmelí bílé, ochmet evropský). Na lokalitách byly rovněž instalovány pasivní nárazové pasti a odebrány vzorníky k zjištění druhového spektra podkorního hmyzu. Pro posouzení patogenů, které se mohou podílet na odumírání dubů, byly odebrány vzorky půdy k zjištění přítomnosti půdních oomycet; dále byly inkubovány kotoučové výřezy z prosychajících stromů k zjištění přítomnosti ophiostomatálních hub.

Zjištění spektra hmyzích škůdců

Na výzkumných lokalitách bylo zkoumáno spektrum hmyzích škůdců dubových porostů pomocí dvou metod. První metodou byl chov hmyzích škůdců ze vzorníků odebraných na jednotlivých lokalitách; druhou metodou byla instalace pasivních nárazových pastí umístěných na stromech s viditelnými příznaky chřadnutí. Všechny druhy hmyzu prezentovány v této práci determinoval doc. Ing. Oto Nakládal, Ph.D.

Vzorníky byly odebírány v pozdně zimním období 5.−12. 3. 2021 ze všech lokalit. Na každé lokalitě byl odebrán vzorník, který vykazoval největší známky napadení podkorním hmyzem. Přítomnost vývojových stadií hmyzích škůdců vybraných vzorníkových stromů byla přímo v terénu vyšetřována pomocí lokálního sloupnutí kůry a ověření, zda je odumírající strom právě napaden dřevokazným hmyzem. Z takového stromu byly odebrány 2 m z bazální části kmene, 2 m ze střední části kmene a 2 m z korunové části. Tyto vzorky byly umístěny do chovných klecí separátně podle lokalit a pozice vzorníků na kmeni. Chovné klece byly pravidelně vybírány a vlhčeny, aby proběhlo líhnutí přítomných škůdců v maximální možné míře. V průběhu září 2021 se ze vzorníků již nelíhl žádný hmyz a laboratorní chov škůdců byl ukončen. Z vylíhnutých exemplářů byli do druhu určeni brouci (Coleoptera) a dřevokazní blanokřídlí (Hymenoptera). Vylíhlé počty exemplářů byly v rámci jednotlivých lokalit přepočítány na 1 m sortimentu.

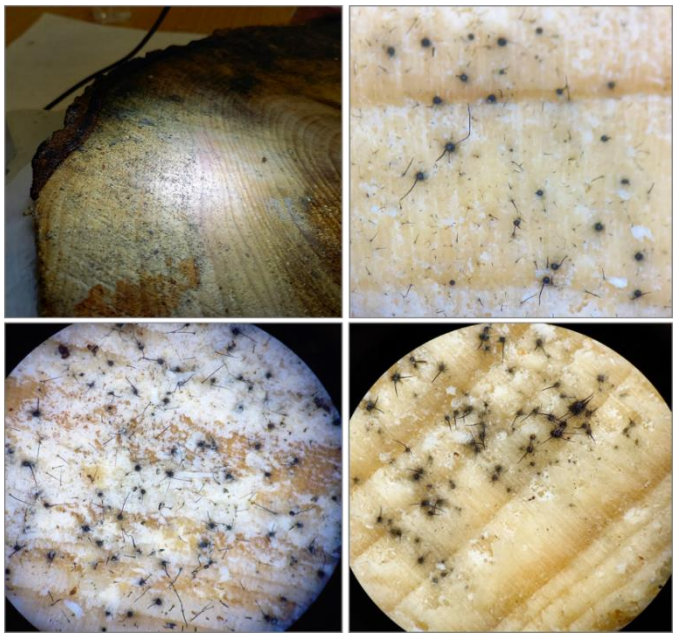
Na každé lokalitě, ve stejných porostech, kde byly odebrány vzorníkové stromy, byly vybrány 3 stromy vykazující známky chřadnutí. Na každý z vybraných stromů byly v období 5.−12. 3. 2021 nainstalovány dvě pasivní nárazové pasti (ve výšce 2 m a 7 m). Každá past se skládala ze tří průhledných plexisklových plátů (jeden díl 400 mm široký a 500 mm vysoký, a dva díly 200 mm široké a 500 mm vysoké), plastové kruhové stříšky (průměr 450 mm) a spodního trychtýře (horní průměr 400 mm, spodní 80 mm) z hladké tkaniny s přichycenou sběrnou nádobkou. Ve sběrných nádobkách byl jako fixační tekutina použit nasycený roztok chloridu sodného, s kapkou jaru pro odstranění povrchového napětí kapaliny. V pravidelných měsíčních intervalech bylo prováděno 5 výběrů. Poslední výběr byl proveden v období 13.−15. 9. 2021. Všichni brouci (Coleoptera) (kromě čeledi Staphylinidae) a dřevokazní blanokřídlí (Hymenoptera) byli určeni do druhu. V rámci brouků pak byly vybrány pouze primární dřevokazné druhy s přímou vazbou na dub, které

jsou prezentovány ve výsledkové části. Sekundární saproxylické druhy a škůdci jiných dřevin v přehledu výsledků prezentovány nejsou.

Determinace patogenů r. *Ophiostoma* a *Phytophthora*

K zjištění přítomnosti ophiostomatálních hub byly odebrány kotoučové výřezy z prosychajících dubů z bazální, střední a korunové části stromu na každé lokalitě podle metodiky GREGUS et al. (1986). Kotouče o tloušťce 1–3 cm z čerstvě pokáceného dubu byly uloženy do vlhké komory k inkubaci po dobu 6−8 týdnů při teplotě cca 23 °C. Přítomnost hub se projevila výskytem černých plodniček teleomorfního stadia (perithecií), které svým tvarem a zbarvením připomínají lidské vousy (Obr. 32). Přítomnost perithecií byla hodnocena pod binokulární lupou dle metodiky KUBÁTOVÉ et PRÁŠILA (1995) a intenzita výskytu byla stanovena na stupnici [0−3] (0 = bez výskytu, 1 = slabý výskyt, 2 = střední výskyt, 3 = silný výskyt).

Pro zjištění druhového spektra rodu *Phytophthora* byla použita tzv. „leaf-baiting“ metoda (JUNG et al. 1996). Na každé ploše byly odebrány 4 směsné vzorky rhizosféry, dva vzorky okolo 2−3 silně prosychajících stromů, a dva vzorky okolo 2−3 slabě prosychajících stromů. Další zpracování vzorků bylo totožné jako v kapitole 4.1. (část Izolace, kultivace a identifikace patogenů r. *Phytophthora*).



Obrázek 32: Ukázky perithecií ophiostomatálních hub narostlých na dubových kotoučích (vlevo nahoře silný nárůst) (foto: Markéta Macháčová).

Statistické zpracování dat

Korelace mezi počtem hmyzích škůdců a přítomností/intenzitou ophiostomatálních hub byla provedena v programu Statistica 13.0. Porovnání defoliace mezi jednotlivými lokalitami a vztah defoliace k ostatním sledovaným parametrům (kmenová výmladnost, přítomnost exudátů, průměr kmene) byl analyzován pomocí neparametrických metod vzhledem k nenormálnímu rozložení dat v programu Statistica 13.0.

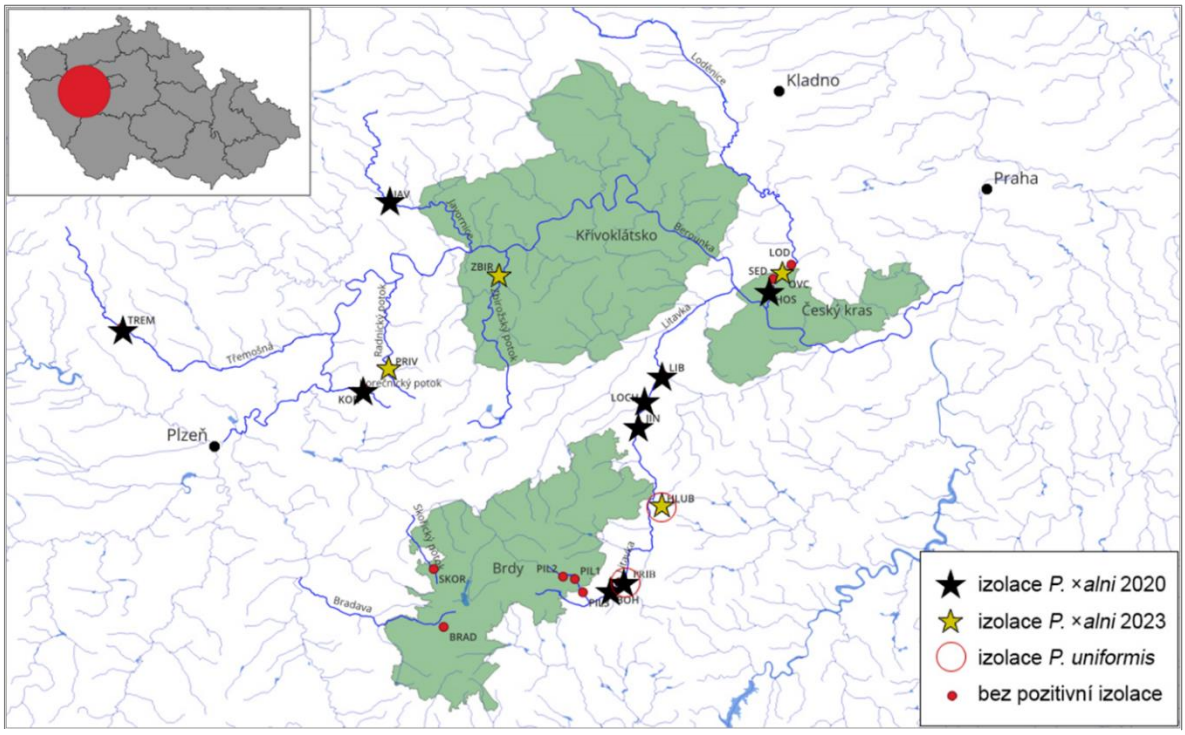
5. Výsledky

5.1. Monitoring zdravotního stavu olšových porostů a identifikace patogenů rodu *Phytophthora*

5.1.1. Monitoring povodí Vltavy

Na 20 plochách povodí Vltavy bylo sledováno celkem 686 jedinců olše lepkavé a jejich zdravotní stav byl hodnocen v letech 2019, 2020, 2021 a 2023. V průběhu let byly pozorovány změny v defoliaci a na většině lokalit docházelo k postupnému rozvoji choroby.

V roce 2019 a 2020 byly zaznamenány symptomy napadení na 14 z 20 výzkumných ploch u 113 z 686 jedinců (16,5 %). V roce 2021 došlo k nárůstu stupně napadení a celkový průměrný stupeň napadení se oproti roku 2020 statisticky průkazně zvýšil ($t = 2{,}437$, $p = 0{,}015$; Tab. 12). V roce 2020 byly u všech symptomatických jedinců olše odebrány vzorky podkorních pletiv a výsledky ukázaly pozitivní izolaci *P. ×alni* na celkem 9 lokalitách (Obr. 33). Na jedné lokalitě (Příbram) byl izolován také patogen *P. uniformis* ze stejného stromu jako *P. ×alni*. Na zbývajících lokalitách nebyl patogen zjištěn ani při opakovaných odběrech. Přehled vybraných determinujících úseků sekvencí DNA izolovaných druhů r. *Phytophthora* s použitím ITS primerů je uveden v Přílohách 3 až 6. Morfologické charakteristiky vybraných izolátů jsou prezentovány v Přílohách 7 a 8.



Obrázek 33: Výsledky pozitivní izolace patogenů Phytophthora ×alni a P. uniformis v povodí Vltavy.

V roce 2023 bylo napadení pozorováno na 16 z 20 lokalit na celkem 127 stromech (18,5 %). Na dvou nově symptomatických lokalitách byl na podzim roku 2023 úspěšně izolován patogen *P. ×alni*, na jedné z nich byl zároveň izolován druh *P. uniformis* ze stejného stromu jako *P. ×alni*.

Na několika lokalitách byla také opětovně provedena pozitivní reizolace *P.* ×*alni*. Jednalo se o stejné stromy jako v roce 2020, ale i o nově napadené jedince na dané lokalitě. Izolace patogenu nebyla úspěšná na všech lokalitách, přestože se zde vyskytovaly čerstvé léze s exudáty a odběr podkorních pletiv byl proveden opakovaně v různých období roku (Loděnice, Sedlec). Dalším příkladem je lokalita Bradava s výskytem symptomatických jedinců a typickým ohniskem napadení, avšak neúspěšnou izolací (Obr. 34).

Obrázek 34: Příznakový strom na lokalitě Bradava a porovnání defoliace v roce 2021 (defoliace 55 %) a v roce 2023 (defoliace 75 %) (foto: Markéta Macháčová).

Výsledky izolací z půdních vzorků pomocí „leaf-baiting" metody ukázaly přítomnost druhů *P. plurivora* na 4 lokalitách, z čehož 3 se nachází na řece Loděnici a jedna lokalita na severním Plzeňsku (Tab. 11). Dále byly izolovány druhy *P. lacustris* a *P. gallica*, *P. inundata* a *P. cactorum* (Tab. 11). Izolace z půdy odebrané na ostatních plochách nepotvrdila žádné druhy r. *Phytophthora*, nicméně na některých lokalitách byly hojně izolováni ostatní zástupci skupiny Oomycota, zejména rod *Pythium* a *Phytopythium*. Tyto izoláty byly určeny ve většině případů do úrovně rodu podle morfologie nebo sekvenací DNA, ale vzhledem k zaměření práce s nimi nebylo dále pracováno. Některé vzorky nepřinesly pozitivní izolaci oomycet (např. Třemošná a plochy v CHKO Brdy). Důvodem byla jednak vysoká kontaminace bakteriemi, dále docházelo k rychlému osídlení návnadových listů zástupci skupiny Zygomycota, např. rod *Mortierella*, které je také možné izolovat pomocí selektivního PARPNH média (ERWIN et RIBEIRO 1996).

Tabulka 11: Výsledky izolací půdních vzorků pomocí „leaf-baiting“ metody.

	Plocha	***Phytophthora* sp.**	**Ostatní oomycety**
řeka Loděnice	LOD	*P. inundata*	*Pythium* sp.
	OVC	*P. plurivora, P. lacustris, P. gallica*	*Pythium* sp., *Phytopythium* sp.
	SED	*P. plurivora, P. lacustris, P. gallica*	*Pythium* sp., *Phytopythium litorale*
	HOS	*P. plurivora*	*Pythium* sp., *Phytopythium litorale*
Křivoklátsko a sev. Plzeňsko	ZBIR	-	-
	JAV	*P. plurivora*	*Pythium* sp., *Phytopythium* sp.
	KOR	-	*Pythium* sp.
	PRIV	-	*Pythium* sp.
	TREM	-	-
Litavka a přítoky	LIB	-	*Pythium* sp., *Phytopythium* sp.
	LOCH	-	*Pythium* sp.
	JIN	-	*Pythium* sp.
	HLUB	*P. cactorum*	*Pythium* sp., *Phytopythium* sp.
	PRIB	-	*Pythium* sp.
	BOH	-	*Phytopythium* sp.
CHKO Brdy	SKOR	-	-
	PIL 1	-	-
	PIL 2	-	-
	PIL 3	-	-
	BRAD	-	*Pythium* sp.

K porovnání rozdílu stupně napadení mezi jednotlivými roky byl použit párový t-test (Tab. 12). Průměrný stupeň napadení se od roku 2019 postupně zvyšoval. Největší statisticky významný rozdíl byl zjištěn mezi roky 2023 a 2020 ($t = 4{,}071$, $p < 0{,}001$).

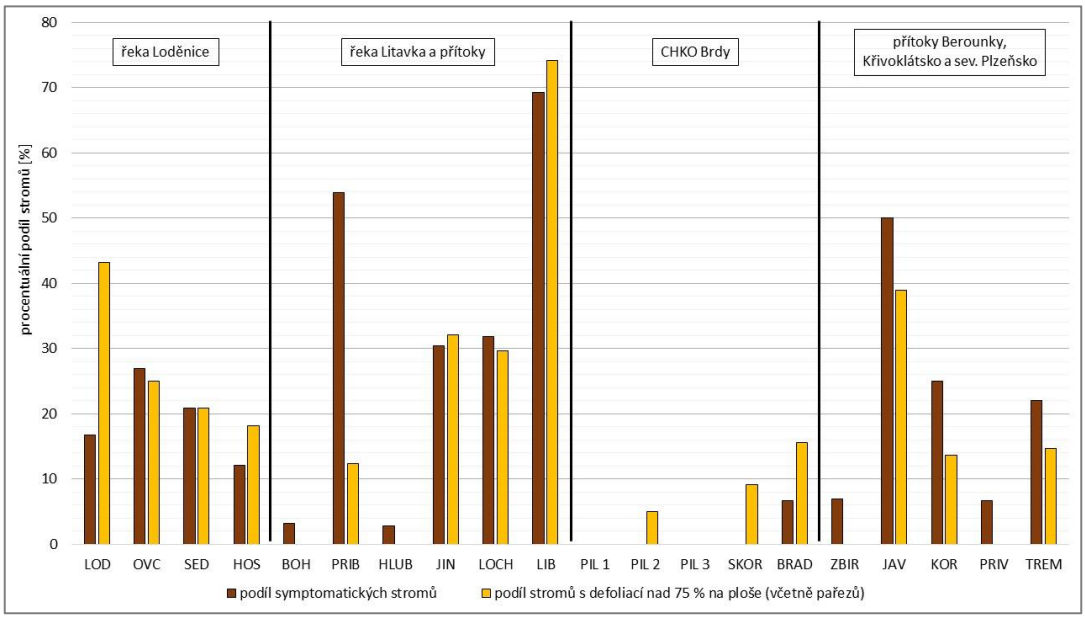
Tabulka 12: Porovnání průměrného stupně napadení mezi jednotlivými roky (párový t-test).

	t-hodnota	stupně volnosti (df)	p-hodnota	95% interval spolehlivosti	průměrný rozdíl (mean difference)
2020 a 2019	1,718	666	0,086	-0,004–0,058	0,027
2021 a 2020	2,437	685	0,015	0,005−0,045	0,025
2021 a 2019	2,718	666	0,006	0,014−0,088	0,051
2023 a 2019	3,318	666	<0,001	0,037–0,146	0,091
2023 a 2020	4,071	685	<0,001	0,051–0,145	0,098
2023 a 2021	3,039	685	0,002	0,026–0,120	0,073

Poznámka: V roce 2019 bylo hodnoceno 19 ploch (667 stromů), v roce 2020, 2021 a 2023 bylo hodnoceno již 20 ploch (686 stromů) – tomu odpovídají i stupně volnosti v použité analýze (df) při porovnání jednotlivých let mezi sebou.

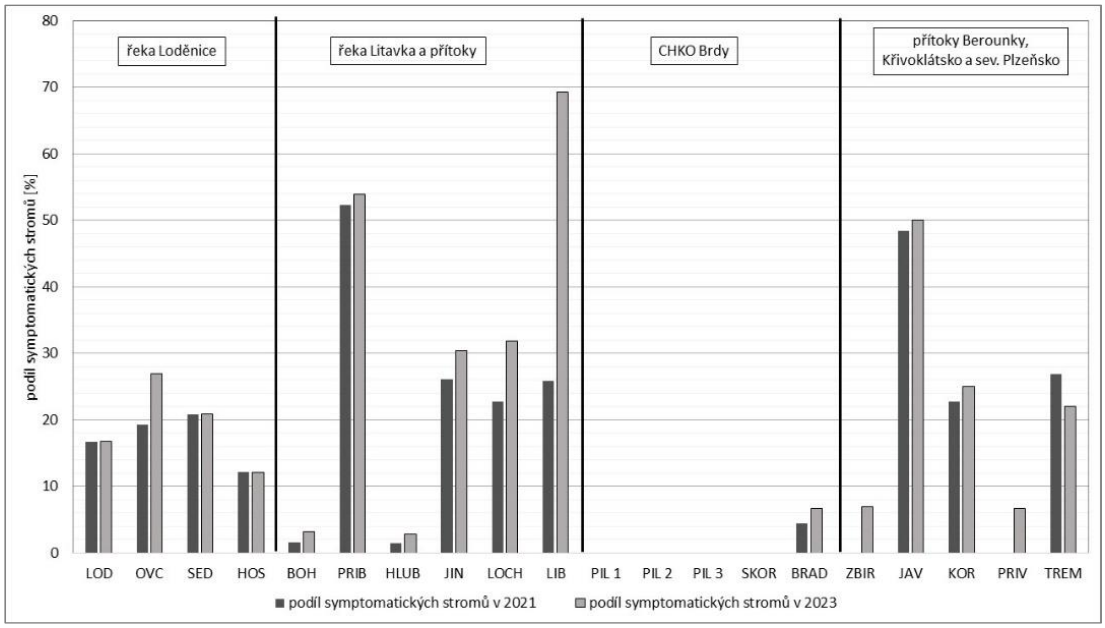
Graf 2 ukazuje porovnání let 2021 a 2023 z hlediska hodnocení symptomatických stromů, tzn. všech jedinců se stupněm napadení [1] až [4]. Mezi tyto jedince byly zahrnuté i pařezy,

které vznikly v průběhu 5 let hodnocení, a bylo možné s velkou pravděpodobností předpokládat, že strom měl příznaky napadení *P. alni*.



Graf 2: Podíl symptomatických stromů [stupeň napadení 1-4] na výzkumných lokalitách povodí Vltavy v roce 2023 v porovnání s podílem stromů s defoliací nad 75 % (včetně pařezů).

Porovnání podílu symptomatických jedinců na lokalitě (%) a podílu stromů s vysokou defoliací (nad 75 %, včetně pařezů) je znázorněno v Grafu 3.



Graf 3: Podíl symptomatických stromů na výzkumných lokalitách povodí Vltavy v roce 2021 a 2023 (na lokalitě LIB=Libomyšl došlo v roce 2023 k rozsáhlému kácení, celkový počet stromů na ploše se tak snížil).

Na většině sledovaných lokalit podíl napadených jedinců odpovídal podílů stromů s vysokou defoliací, nicméně některé lokality tomuto trendu neodpovídaly. Lokalita Příbram je zřejmě napadená relativně krátce (méně než 10 let), a proto zde výrazně převažoval počet

symptomatických jedinců nad počtem stromů s vysokou defoliací (žádný pařez nebyl zaznamenán na této lokalitě). Druhým příkladem je lokalita Loděnice, kde se patogen dle počtu zaznamenaných pařezů a postupného kácení vyskytuje již dlouho, a proto zde převažuje podíl stromů s vysokou defoliací.

Silně zamořenou lokalitou byla Libomyšl, kde probíhalo hodnocení od roku 2020. Zde byly pozorovány silné příznaky napadení s typickým ohniskem, kde se vyskytovaly odumřelé i postupně odumírající stromy. Zde byla provedena izolace *P.* ×*alni*, a byl zde pozorován intenzivní růst léze až o 20 cm za rok (Obr. 35). V letech 2022 a 2023 došlo k vykácení více než poloviny všech stromů (s příznaky prosychání i zdravých, celkem 18) z celkového počtu 31 jedinců hodnocených v roce 2021. Postupující infekce a přítomnost exudátů byla zaznamenána i na jiných lokalitách (Obr. 36).

Obrázek 35: Příklad silně napadeného kmene olše lepkavé na lokalitě Libomyšl s místem odběru podkorního pletiva v roce 2020 (vlevo), detail exudátů nad místem odběru indikující rostoucí lézi způsobenou patogenem Phytophthora ×alni (vpravo, černá šipka označuje délku 20 cm) (foto: Markéta Macháčová).

Obrázek 36: Postupující infekce patogenem Phytophthora ×alni kmenem olše lepkavé a porovnání v roce 2021 a 2023 (exudáty dosahují výšky přes 2 m), kmen nalevo má mírné příznaky napadení bez postupující léze (foto: Markéta Macháčová).

Defoliace

Významné rozdíly mezi roky byly zjištěny i u průměrné defoliace stromů. Statisticky významný rozdíl byl zjištěn mezi všemi porovnávanými roky (Tab. 13). V prvních dvou letech hodnocení defoliace (2019 a 2020) byl u většiny výzkumných ploch pozorován zhoršující se trend, většina hodnocených stromů však vykazovala nízký stupeň defoliace. V roce 2019 byly zjištěny nízké hodnoty defoliace (0−25 %) u 85 % hodnocených jedinců, v roce 2020 u 78 %. Středně vysoké až vysoké hodnoty defoliace (50–100 %) byly v roce 2019 zjištěny u 7,5 % hodnocených jedinců, v roce 2020 u 9,5 %. Mezi roky 2019 a 2020 byl zaznamenán statisticky významný rozdíl ($t = 9{,}303$, $p < 0{,}001$; Tab. 13), kdy došlo v roce 2020 k významnému zvýšení. Zhoršení bylo pozorováno pravděpodobně díky vlivu suchých období přetrvávajících od roku 2015 až do 2020 (Příloha 9; ČHMÚ 2024), které se projevilo ve zvýšené defoliaci i u zdravých stromů.

Srážkově příznivější rok 2021 se projevil pozitivně na zdravotním stavu všech hodnocených porostů, nicméně napadené stromy vykazovaly výraznější prosychání v korunách. Celková defoliace na všech hodnocených porostech byla v porovnání s rokem 2020 vyšší, což bylo potvrzeno statisticky významným rozdílem mezi lety 2020 a 2021 ($t = 3{,}548$, $p < 0{,}001$; Tab. 13). Středně vysoké až vysoké hodnoty defoliace (50–100 %) byly v tomto roce zjištěny u 8,7 % jedinců.

V roce 2023 došlo u většiny lokalit k mírnému nárůstu úrovně defoliace. Na lokalitách s rozsáhlejším napadením bylo pozorováno pokročilé prosychání korun, dále byli zaznamenáni nově odumřelí jedinci. Na některých lokalitách také došlo ke kácení napadených stromů, které se významně promítlo do celkové defoliace, která byla průměrně opět vyšší v porovnání s rokem 2021 ($t = 7{,}567$, $p < 0{,}001$; Tab. 13). Nízké hodnoty defoliace

(0–25 %) se vyskytovaly stále u podobného počtu jedinců jako v roce 2021 (541 z 686 jedinců, tj. 79 %), naopak středně vysoké až vysoké hodnoty defoliace (50−100 %) byly zjištěny u 99 z 686 jedinců (14,4 %). Stromy s vysokou úrovní defoliace se vyskytovaly na řece Loděnice, Litavka, Javornice, Korečnický potok a Bradava (Příloha 10).

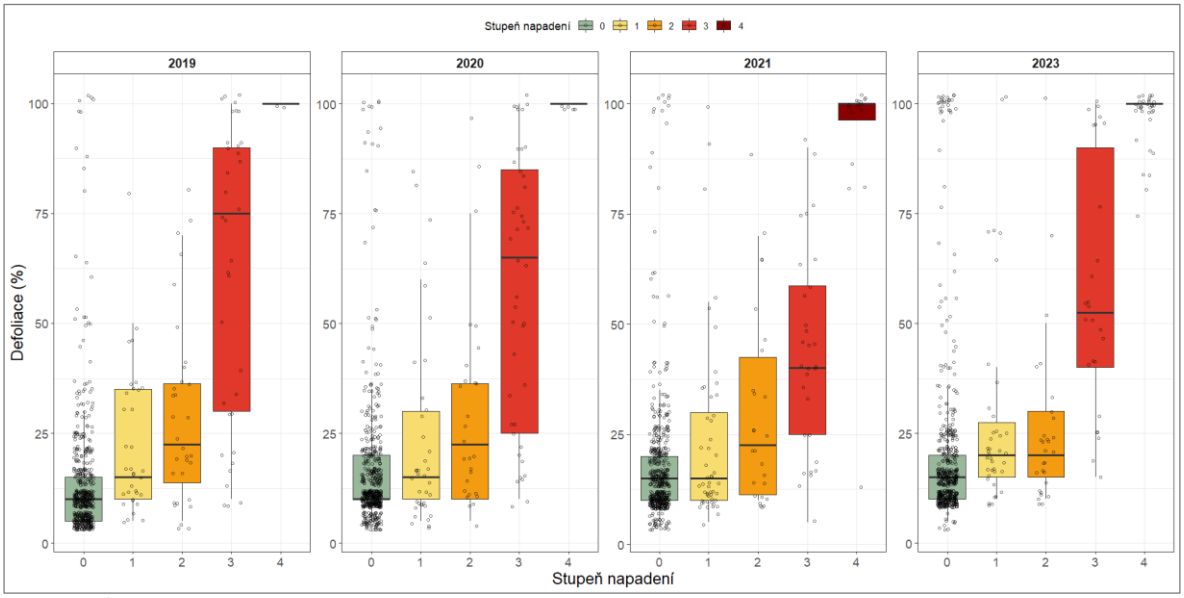
Tabulka 13: Porovnání průměrné defoliace mezi jednotlivými roky (párový t-test).

	t-hodnota	stupně volnosti (df)	p-hodnota	95% interval spolehlivosti	průměrný rozdíl (mean difference)
2020 a 2019	9,303	666	<0,001	1,922−2,951	2,436
2021 a 2020	3,548	685	<0,001	0,537–1,868	1,203
2021 a 2019	8,550	666	<0,001	2,835−4,526	3,681
2023 a 2019	11,271	666	<0,001	6,395–9,093	7,744
2023 a 2020	9,163	685	<0,001	4,748–7,337	6,042
2023 a 2021	7,567	685	<0,001	3,584–6,095	4,839

**Poznámka: V roce 2019 bylo hodnoceno 19 ploch (667 stromů), v roce 2020, 2021 a 2023 bylo hodnoceno již 20 ploch (686 stromů) – tomu odpovídají i stupně volnosti v použité analýze (df) při porovnání jednotlivých let mezi sebou.*

Graf 4 znázorňuje úroveň defoliace v jednotlivých kategoriích stupně napadení [0-4]. Ve všech hodnocených letech byly zaznamenány stromy s úrovní defoliací 0 až 100 % u zdravých jedinců (stupeň napadení 0), kde byla variabilita v defoliaci největší. V roce 2023 byl stupeň napadení [0] zaznamenán celkem u 81 % jedinců s defoliací 5 až 100 %. Během let 2019 až 2021 docházelo k nárůstu počtu jedinců v kategoriích napadení [3] a [4], kde byla také zaznamenaná vyšší hodnota defoliace. V roce 2023 došlo k navýšení počtu jedinců se 100% defoliací v kategorii [4] vlivem výskytu zlomů, vývratů, nebo kácení.

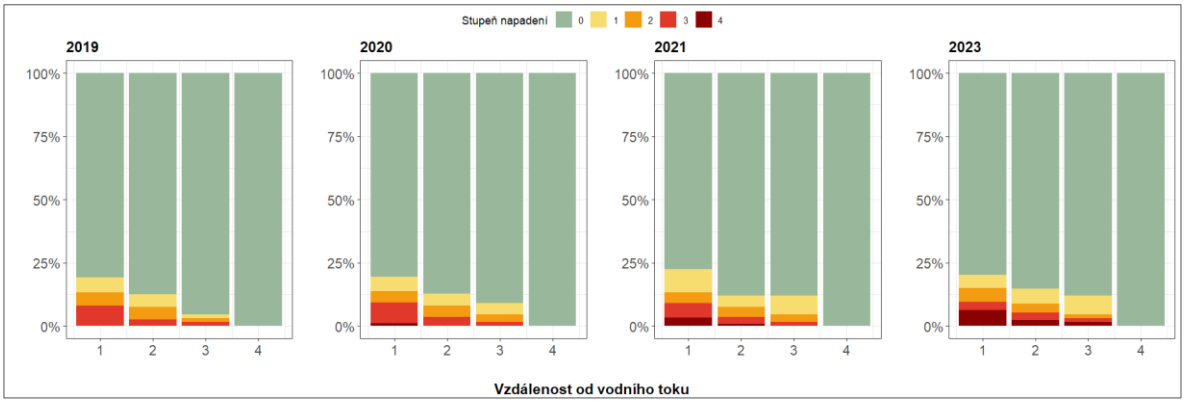
Vztah mezi defoliací a stupněm napadení byl hodnocen pomocí Pearsonovy korelace. Korelace byla ve všech 4 letech hodnocení statisticky významná a potvrdila, že stromy s vyšším stupněm napadení mají zároveň i vyšší míru defoliace. V prvních třech letech hodnocení byl potvrzen středně silný pozitivní vztah mezi oběma proměnnými (2019: $r = 0{,}538$, $p < 0{,}001$; 2020: $r = 0{,}553$, $p < 0{,}001$; 2021: $r = 0{,}540$, $p < 0{,}001$). Nejsilnější úroveň korelace byla zaznamenána v roce 2023 ($r = 0{,}604$, $p < 0{,}001$). Na silně napadených a odumírajících jedincích se také často vyskytovaly plodnice rezavce lesknavého a dalších druhů dřevokazných hub, nicméně vzhledem k nízkému počtu pozorování nebyla přítomnost plodnic dřevokazných hub analyzována v dalším statistickém zpracování dat.



Graf 4: Úroveň defoliace u jedinců olše lepkavé v povodí Vltavy vyjádřeno v jednotlivých kategoriích stupně napadení v letech 2019, 2020, 2021 a 2023. Krabicové grafy ukazují medián a 25−75% kvartily, čáry označují minimální a maximální hodnoty. Body představují jednotlivé hodnocené stromy. Body mimo maximální hodnoty představují odlehlé hodnoty.

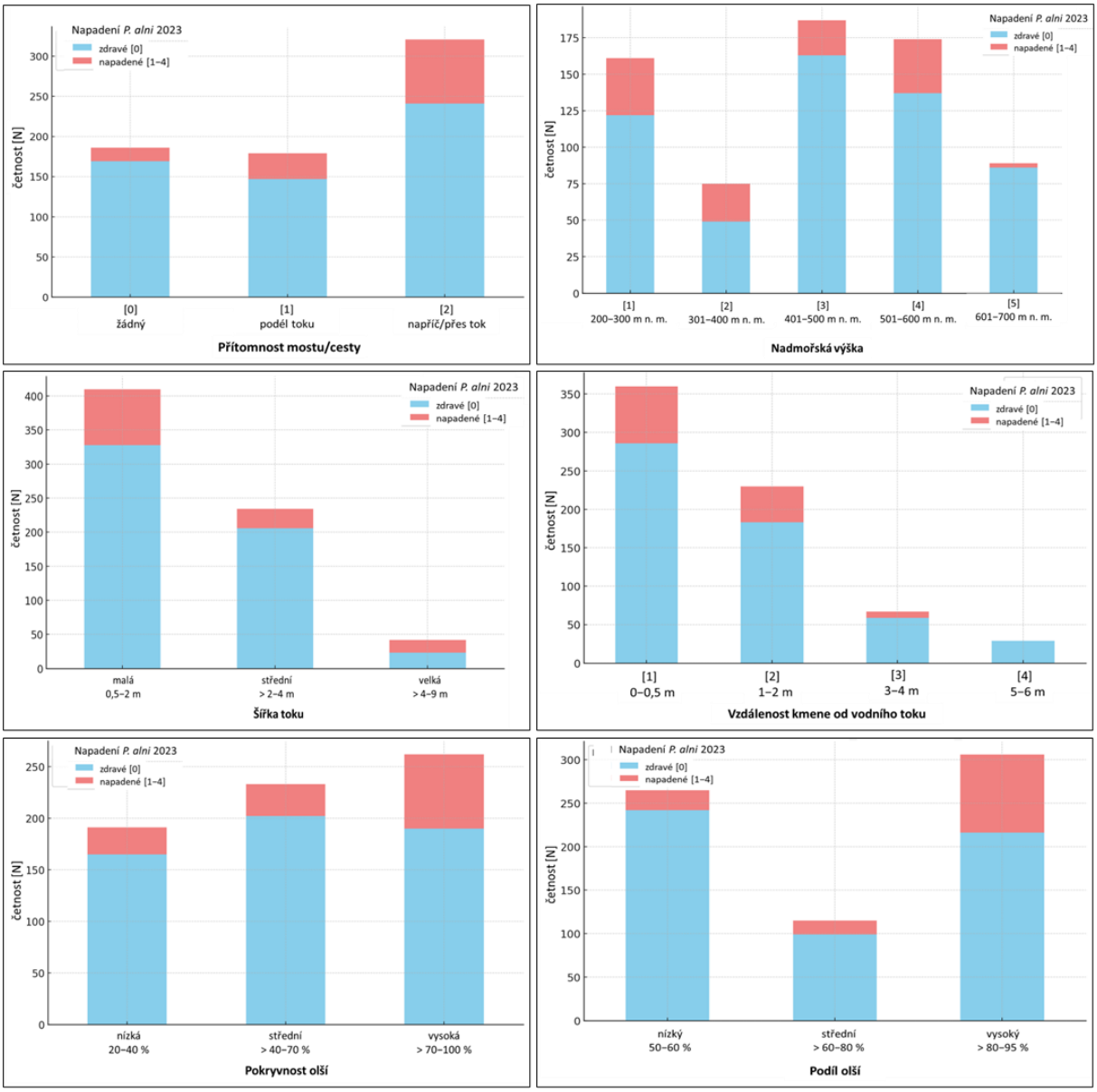
Faktory ovlivňující zdravotní stav dřevin v povodí Vltavy

K posouzení vztahu mezi kategorickými nezávislými proměnnými a binární závislou proměnnou „napadení v roce 2023“ byl použit Chí-kvadrát test, který potvrdil statisticky významné vztahy napříč všemi proměnnými. U faktoru „vzdálenost kmene od vodního toku“ byla prokázána statisticky významná asociace s pravděpodobností napadení ($\chi^2 = 9{,}91$, df = 3, p = 0,019). U tohoto faktoru byl rovněž zaznamenán nejvýraznější stoupající trend během všech hodnocených let. Z Grafu 5 vyplývá, že během 5 let narostl počet symptomatických jedinců se stupněm napadení [1−4] ve vzdálenosti do 0,5 m od vodního toku (kategorie 1), zatímco stromy rostoucí v největší vzdálenosti (kategorie 4 = 5−6 m) nevykazovaly žádné napadení.



Graf 5: Podíl jedinců s jednotlivými stupni napadení [0−4] podle kategorie vzdálenosti od vodního toku a porovnání v letech 2019, 2020, 2021 a 2023 (kategorie vzdálenosti – viz kap. 4.1, Tab. 5).

Četnosti výskytu zdravých a napadených olší podle kategorií jednotlivých faktorů jsou znázorněné v souboru grafů 6. U těchto faktorů byl také prokázán významný vztah s pravděpodobností napadení patogenem. S rostoucí nadmořskou výškou klesá pravděpodobnost napadení ($\chi^2 = 34{,}40$, df = 4, $p < 0{,}001$), jedná se však hlavně o nejvyšší kategorii (600−700 m n. m.), která se nachází převážně v oblasti CHKO Brdy, kde patogen pravděpodobně ještě nebyl zavlečen. Dalším významným faktorem pro šíření patogenu byla šířka vodního toku ($\chi^2 = 26{,}77$, df = 2, $p < 0{,}001$), kdy největší počet napadených jedinců byl zaznamenán podél malých šířek vodního toku (0,5−1,5 m). Nicméně zde je potřeba brát v potaz četnost pozorování, jelikož největší počet lokalit se nacházel právě podél malých toků. Podobně také pokryvnost olší ($\chi^2 = 20{,}91$, df = 2, $p < 0{,}001$) a podíl olší ($\chi^2 = 42{,}14$, df = 2, $p < 0{,}001$) měly pozitivní vliv na pravděpodobnost napadení. Přítomnost cesty nebo mostu v rámci olšového porostu měla pozitivní vliv na výskyt napadení ($\chi^2 = 19{,}35$, df = 2, $p < 0{,}001$). Zejména v kategorii [2], tedy přítomnost cesty nebo mostu přetínajícího porost, bylo zaznamenáno nejvíce napadených jedinců. Z kontinuálních proměnných byl významný vztah potvrzen u průměru kmene (Spearmanův $r = 0{,}216$, $p < 0{,}001$). Spearmanův korelační koeficient ukázal slabou, ale statisticky významnou pozitivní korelaci mezi průměrem kmene a pravděpodobností napadení, což znamená, že s větším průměrem roste pravděpodobnost výskytu napadení. Naopak u výšky stromů nebyl pozorován žádný významný rozdíl.

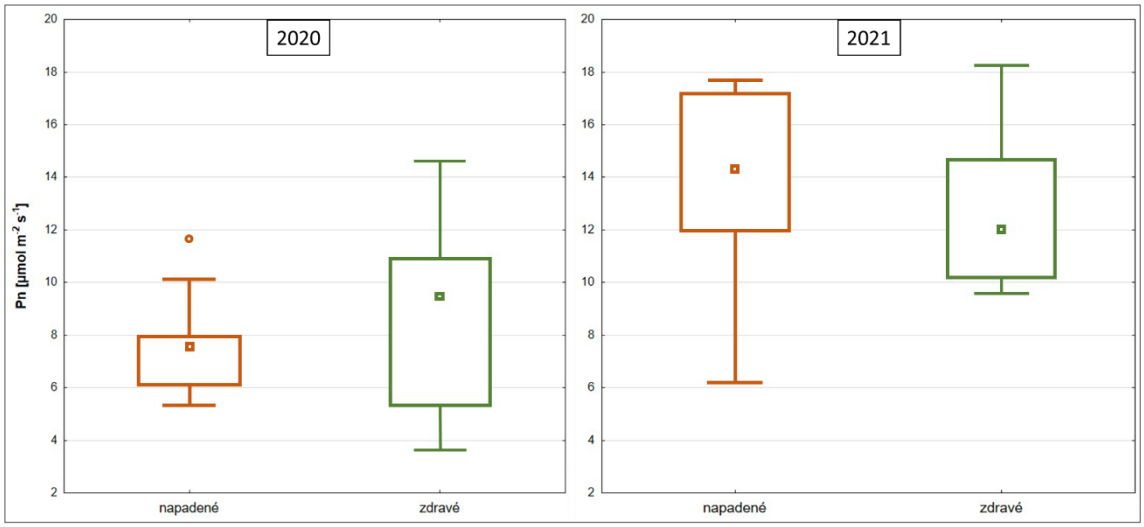


Graf 6: Četnosti výskytu zdravých a napadených olší podle kategorií jednotlivých faktorů.

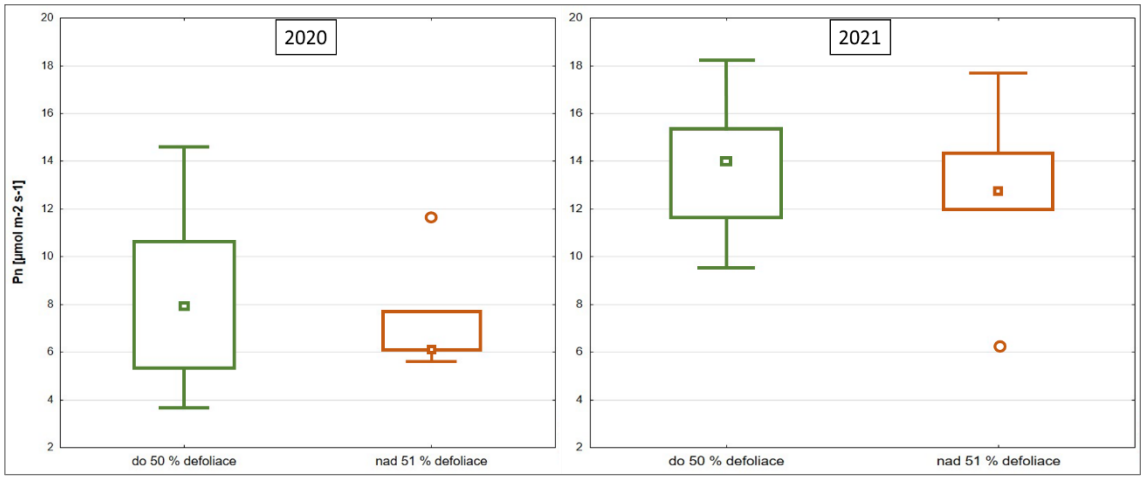
Hodnocení fyziologických parametrů v rámci povodí Vltavy

Hodnocení fyziologických parametrů bylo prováděno v roce 2020 a 2021 na vybraných plochách s potvrzeným výskytem patogenu *Phytophthora ×alni*. Bylo vybráno celkem šest lokalit (Loděnice, Ovčín, Příbram, Jince, Lochovice, Libomyšl), kde bylo technicky možné provést měření. První rok bylo měřeno více napadených jedinců než zdravých, druhý rok byl počet hodnocených stromů z kapacitních důvodů snížen na 7 napadených a 7 zdravých stromů.

Výsledky fotosyntetických měření ukázaly, že **rychlost čisté fotosyntézy (Pn)** se mezi zdravými a napadenými olšemi lepkavými průkazně nelišila ani v jednom roce hodnocení (Graf 7, Kruskal-Wallis ANOVA, $p > 0,05$) . U zdravých olší byla v roce 2020 zjištěna vyšší průměrná hodnota (8,8 ± 3,7 µmol m^{-2} s^{-1}) oproti napadeným (7,9 ± 2,3 µmol m^{-2} s^{-1}), hodnoty však měly velký rozptyl. V roce 2021 se průměrná hodnota Pn zvýšila u obou skupin, a u napadených jedinců (13,6 ± 3,9 µmol m^{-2} s^{-1}) byla zjištěna vyšší hodnota než u zdravých (12,9 ± 2,9 µmol m^{-2} s^{-1}). Přestože napadené stromy vykazovaly příznaky rozsáhlé podkorní léze a lze předpokládat také poškození kořenového systému, po odříznutí větve a ponoření pod vodu dochází pravděpodobně ke kompenzační reakci zbylých listů, které reagují zvýšením úrovně fotosyntézy. V roce 2021 bylo zaznamenáno zvýšení Pn také u jedinců s vysokou úrovní defoliace (Graf 8), což odpovídá zejména jedincům s vysokou úrovní napadení. Srážkově bohatší rok 2021 se projevil lepší a stabilnější dostupností vody z půdního profilu, což má vliv na otevření průduchů a tím i na výkon fotosyntézy.

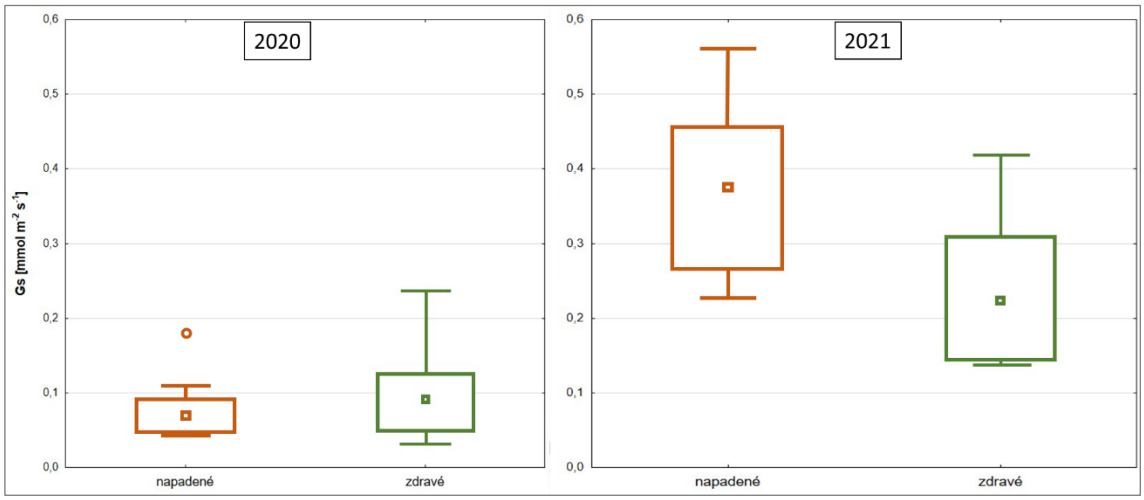


Graf 7: Rychlost čisté fotosyntézy (Pn) u napadených a zdravých olší lepkavých v povodí Vltavy v roce 2020 a 2021. Krabicové grafy představují medián (malý čtverec) a 25−75% kvartily (krabice), chybové úsečky označují minimální a maximální hodnoty, kroužek značí odlehlé hodnoty.



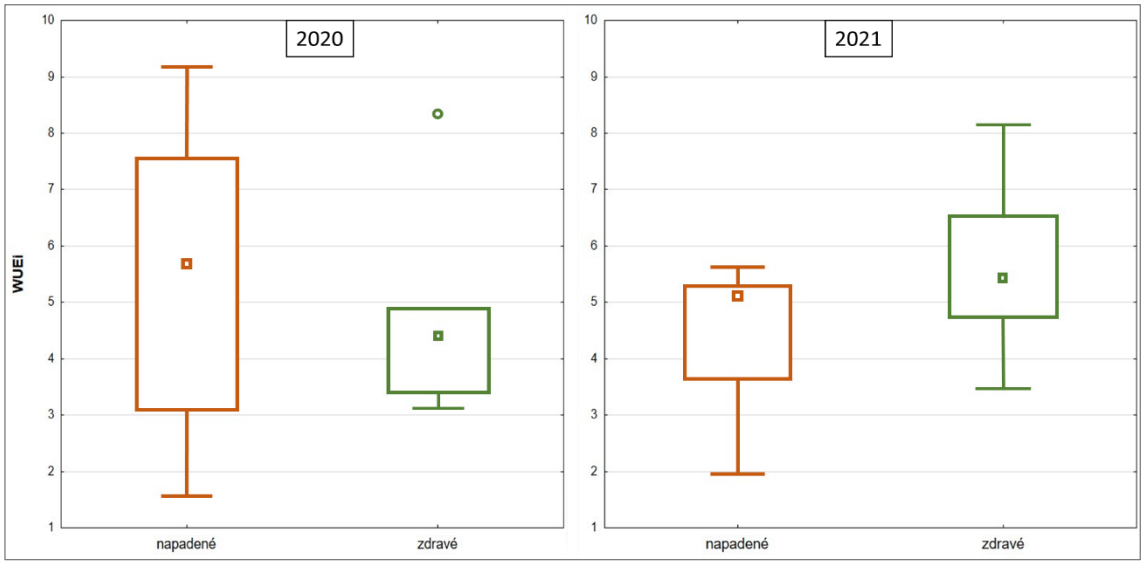
Graf 8: Rychlost čisté fotosyntézy (Pn) u olší lepkavých podle úrovně defoliace (do 50 % a nad 50 %) v povodí Vltavy v roce 2020 a 2021. Krabicové grafy představují medián (malý čtverec) a 25−75% kvartily (krabice), chybové úsečky označují minimální a maximální hodnoty, kroužek značí odlehlé hodnoty.

Zatímco **stomatální vodivost (Gs)** se v roce 2020 mezi zdravými a napadenými jedinci olše lepkavé nelišila (Graf 9), v roce 2021 byl však zjištěn statisticky významný rozdíl (Kruskal-Wallis ANOVA, p = 0,042). V tomto roce měly napadené stromy průměrně vyšší Gs (0,4 ± 0,1 mmol m^{-2} s^{-1}) než stromy zdravé (0,2 ± 0,1 mmol m^{-2} s^{-1}). Z výsledků vyplývá, že napadené stromy významněji a rychleji reagují na zlepšení dostupnosti vody. Tento rozdíl však nebyl zaznamenán při porovnání stromů s vyšší (nad 51 %) a nižší (pod 50 %) defoliací. V roce 2021 je u zdravých i napadených olší vidět znatelné zvýšení Gs oproti roku 2020 (Graf 9).



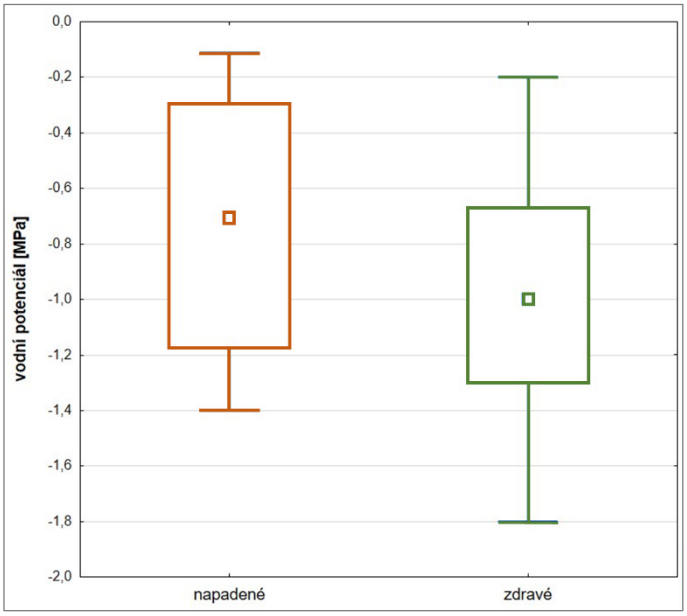
Graf 9: Stomatální vodivost (Gs) u napadených a zdravých olší lepkavých v povodí Vltavy v roce 2020 a 2021. Krabicové grafy představují medián (malý čtverec) a 25−75% kvartily (krabice), chybové úsečky označují minimální a maximální hodnoty, kroužek značí odlehlé hodnoty.

Efektivita využití vody (WUE) byla vypočítána jako poměr mezi čistou fotosyntetickou rychlostí (Pn) a transpirací (E), jedná se tedy o tzv. okamžitou efektivitu využití vody (instantaneous WUE = WUEi). U listnatých dřevin se hodnoty WUEi běžně pohybují mezi 2 až 5 µmol CO_2 na mmol H_2O (TEIZ et ZEIGER 2010). Graf 10 prezentuje hodnoty WUEi u napadených a zdravých olší lepkavých v roce 2020 a 2021. Průměrné hodnoty WUEi byly v roce 2020 vyšší u napadených (5,8 ± 2,7 µmol CO_2/mmol H_2O) než u zdravých olší (4,7 ± 1,8 µmol CO_2/mmol H_2O). V roce 2021 byl pozorovaný opačný trend, kdy vyšší průměrné hodnoty byly naměřené u zdravých (5,6 ± 1,5 µmol CO_2/mmol H_2O) oproti napadeným olším (4,3 ± 1,3 µmol CO_2/mmol H_2O). Z výsledků vyplývá, že u napadených stromů, které mají často vysokou defoliaci, zbylé listy dokážou vyprodukovat více fotosyntetických produktů na jednotku spotřebované vody, což bylo patrné zejména v suchém roce 2020.



Graf 10: Efektivita využití vody (WUEi) [µmol CO_2/mmol H_2O] u napadených a zdravých olší lepkavých v povodí Vltavy v roce 2020 a 2021. Krabicové grafy představují medián (malý čtverec) a 25−75% kvartily (krabice), chybové úsečky označují minimální a maximální hodnoty, kroužek značí odlehlé hodnoty.

Jednorázové měření **vodního potenciálu (ψ)** v září 2021 neukázalo významné rozdíly mezi zdravými a napadenými olšemi (Graf 11). Přestože medián vodního potenciálu byl u napadených stromů mírně vyšší než u zdravých, a variabilita hodnot byla u napadených rostlin vyšší, statistické testy (Kruskal-Wallisův test) neprokázaly statisticky významný rozdíl mezi těmito skupinami ($p > 0,05$). Vyšší hodnoty vodního potenciálu u napadených olší (-0,83 ± 0,50 MPa) oproti zdravým olším (-0,74 ± 0,40 MPa) naznačují překvapivě lepší zásobení pletiv vodou.



Graf 11: Vodní potenciál u zdravých a napadených olší lepkavých v povodí Vltavy v září 2021. Krabicové grafy představují medián (malý čtverec) a 25−75% kvartily (krabice), chybové úsečky označují minimální a maximální hodnoty.

Tabulka 14 porovnává výsledky rychlosti čisté fotosyntézy (Pn), stomatální vodivosti (Gs), transpirace (Tr) a okamžité efektivity využití vody (WUEi) u jednotlivých stromů, které byly měřeny dva roky po sobě (2020 a 2021). Z těchto výsledků vyplývá, že srážkově bohatší rok 2021 se projevil u všech zdravých i napadených olší lepkavých zvýšením Gs ve většině případů o více než 50 % oproti roku 2020. U napadených jedinců došlo také ke zvýšení Pn, a to i u jedinců s vysokou úrovní defoliace, která se projevovala zmenšením a chlorotizací listoví. Naopak hodnoty WUEi se u napadených jedinců snížily, což svědčí o vyšší spotřebě vody na tvorbu uhlíkatých látek. U zdravých stromů nebyly rozdíly mezi dvěma lety tolik výrazné, nicméně u dvou ze tří měřených stromů byl zaznamenán pokles Tr.

Tabulka 14: Porovnání fotosyntetických parametrů u jednotlivých stromů v povodí Vltavy v letech 2020 a 2021. Šipky znázorňují zvýšení nebo snížení hodnoty parametru v roce 2021 v porovnání s předchozím rokem (dvě šipky = zvýšení o více než 50 %). Defoliace vyjadřuje hodnotu stromu v roce 2021.

	napadené stromy							zdravé stromy		
lokalita	Ovčín	Loděnice	Jince	Lochovice	Příbram	Libomyšl		Lochovice	Příbram	Libomyšl
defoliace	75 %	35 %	75 %	35 %	80 %	90 %		10 %	5 %	20 %
Pn	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑		↑	↑	↓
Gs	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑		↑↑	↑	↑
Tr	↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑		↓	↓	↑
WUEi	↑↑	↓	↑↑	↓	↓	↓		↑	↑	↓

Pn = rychlost čisté fotosyntézy; Gs = stomatální vodivost; Tr = transpirace; WUEi = okamžitá efektivita využití vody

Z výsledků fluorescenčních měření vyplynulo, že přítomnost symptomů napadení patogenem se ve fluorescenčních parametrech neprojevila. Výsledky **parametru Φ_{Po}** ukázaly, že hodnoty u zdravých i napadených jedinců se pohybovaly okolo hodnoty 0,8, což

naznačuje efektivní fotosyntetický aparát (Příloha 11). Pouze na lokalitě Jince byla celkově zaznamenána horší defoliace (44,0 ± 25,4 % v roce 2020), což se odrazilo i ve vitalitě listoví. Naopak u ostatních lokalit nebyl zaznamenán rozdíl mezi napadenými a zdravými jedinci. Přestože zdravé stromy vykazovaly vyšší průměrnou hodnotu Φ_{PO}, tento rozdíl nebyl statisticky významný ani v jednom hodnoceném roce ($p > 0,05$; Tab. 15). Výsledky však naznačují pozitivní vliv srážkově příznivého roku 2021 na celkovou vitalitu rostlin.

Tabulka 15: Výsledky lineárního smíšeného modelu porovnávajícího průměrné hodnoty Φ_{PO} u zdravých a napadených jedinců olše lepkavé v povodí Vltavy v roce 2020 a 2021.

		Predikovaná hodnota	**Standardní chyba**	**Konfidenční interval**	**rozdíl**	**p-hodnota**
2020	Zdravé	0,827	0,014	0,858−0,796	0,019	0,070
	Napadené	0,808	0,013	0,836−0,779		
2021	Zdravé	0,815	0,006	0,828−0,802	0,003	0,731
	Napadené	0,812	0,006	0,825−0,799		

Index odolnosti vůči suchu (PI_{ABS}) nepotvrdil rozdíl mezi zdravými a napadenými olšemi ani v jednom hodnoceném roce (Příloha 12). Ačkoli zdravé olše vykazovaly vyšší hodnoty PI_{ABS} v obou letech, rozdíly mezi zdravými a napadenými jedinci nebyly statisticky významné ($p > 0,05$; Tab. 16) vzhledem k velkému rozptylu měřených hodnot u jednotlivých stromů.

Tabulka 16: Výsledky lineárního smíšeného modelu porovnávajícího průměrné hodnoty PI_{ABS} u zdravých a napadených jedinců olše lepkavé v Povodí Vltavy v roce 2020 a 2021.

		Predikovaná hodnota	**Standardní chyba**	**Konfidenční interval**	**rozdíl**	**p-hodnota**
2020	Zdravé	5,647	0,733	7,230−4,063	0,269	0,706
	Napadené	5,377	0,623	6,722−4,031		
2021	Zdravé	5,397	0,475	6,432−4,362	0,457	0,504
	Napadené	4,971	0,475	5,975−3,905		

5.1.2. Monitoring povodí Odry

Zdravotní stav výzkumných olšových porostů v rámci povodí Odry byl hodnocen v letech 2019 a 2020 vždy v období od konce srpna až do poloviny září. Hodnoceno bylo celkem 361 stromů na 12 lokalitách (50,4 % o. lepkavá; 49,6 % o. šedá). Výsledky ukázaly přítomnost symptomů fytoftorového onemocnění u 43 jedinců olše v roce 2019 (12 %), z toho více příznakových stromů zahrnovala olše šedá (7,5 %) oproti olši lepkavé (4,5 %). V roce 2020 byly příznaky napadení zaznamenány pouze u 27 jedinců olše (7,5 %), porovnání průměrného napadení mezi roky 2019 a 2020 však neukázalo statisticky významný rozdíl (Wilcoxonův dvouvýběrový test; $p > 0,05$). Výskyt exudátů na borce a podkorní nekrózy se vyskytovaly v malém rozsahu, často se jednalo o staré nebo neaktivní léze (Obr. 35C). U mnoha stromů také došlo ke smytí exudátů vlivem povodní. Ve druhém roce hodnocení probíhal také odběr vzorků kůry a půdy. Z podkorních pletiv nebyl zjištěn žádný patogen komplexu *Phytophthora alni*, a ani izolace z půdních vzorků nepřinesla žádnou pozitivní izolaci patogenu rodu *Phytophthora*. Z půdy byly zjištěny druhy z r. *Pythium* a *Phytopythium*, nicméně tyto izoláty nebyly vzhledem k rozsahu a zaměření této práce dále zpracovány.

Obrázek 37: (A) Podemleté kořeny následkem prudkých záplav na řece Morávka v roce 2020, (B) skeletovitý žír způsobený bázlivcem olšovým, (C) odhalená stará léze na kmeni olše šedé (foto: Markéta Macháčová).

Defoliace

Vývoj defoliace na hodnocených plochách v letech 2019 a 2020 je graficky znázorněn v Příloze 13. Přestože došlo k mírnému nárůstu defoliace ve druhém roce hodnocení, nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi dvěma roky (Wilcoxonův dvouvýběrový test; $p > 0,05$). V prvním roce hodnocení byla zaznamenána nízká hodnota defoliace u většiny hodnocených olší. Střední až vysoká hodnota defoliace (50−100 %) byla zaznamenána pouze u 5 % jedinců, kteří se většinou vyskytovaly na lokalitách s výskytem prudkých záplav. Na těchto lokalitách bylo zaznamenáno také silné mechanické poškození na bázích kmenů nebo vlivem podemletí kořenů (Obr. 35A). Průměrná hodnota defoliace se druhý rok mírně zvýšila, ale střední až vysoká hodnota defoliace (50−100 %) byla zaznamenána u nižšího počtu jedinců než v předchozím roce (4,7 %). Vysoká defoliace se projevila

především na řece Mohelnici, kde byl zjištěn vysoký výskyt jedinců s poškozenými kořeny, dále vysoký počet vývratů a zlomů. Na silně poškozených jedincích byly zjištěny také plodnice rezavce lesknavého a přítomnost podkorního hmyzu. Na dalších lokalitách se projevilo silné napadení bázlivcem olšovým (Obr. 35B) a listové skvrnitosti.

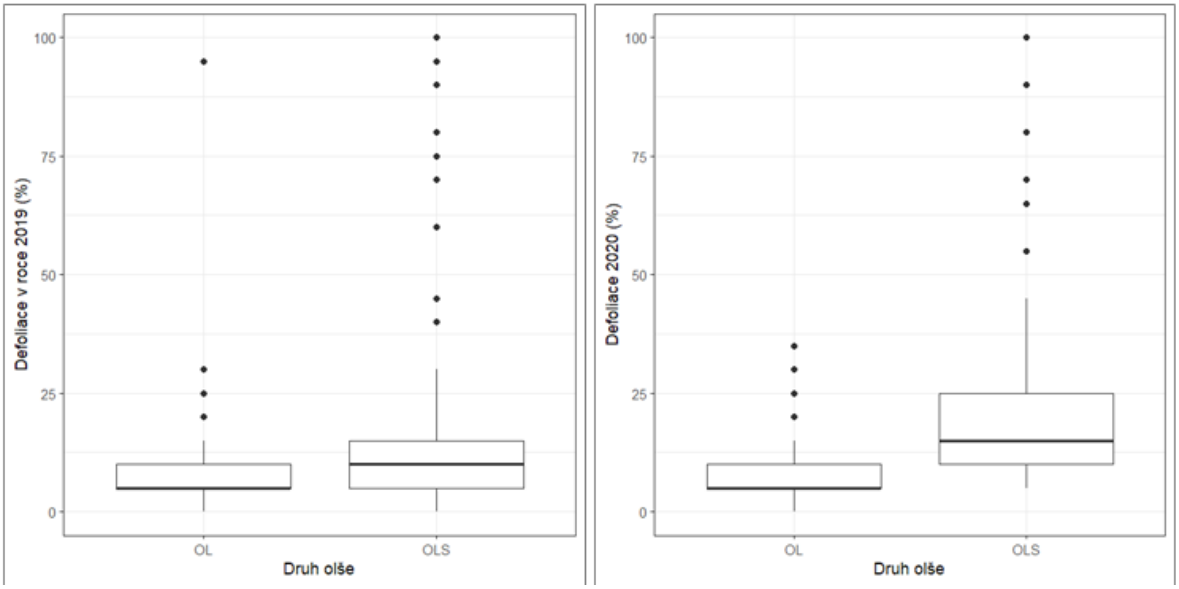
Faktory ovlivňující zdravotní stav dřevin v povodí Odry

Pomocí regresní analýzy byl porovnán vliv jednotlivých faktorů na úroveň napadení a na defoliaci. Výsledky ukázaly, že faktory výška a výčetní tloušťka mají příliš velkou variabilitu a nemají statisticky průkazný vliv na úroveň napadení. Stejně tak šířka vodního toku a vzdálenost vodného toku neměly vliv na napadení olší. Více napadených jedinců se vyskytovalo v nižších nadmořských výškách než ve vyšších polohách, nicméně rozdíly v průměrném stupni napadení nebyly mezi jednotlivými výzkumnými plochami statisticky průkazné (Kruskal-Wallis test).

Na úroveň defoliace měl vliv druh olše, jak ukazuje Graf 12. V obou letech hodnocení byl pomocí Kruskal-Wallis testu zjištěn statisticky významný rozdíl v defoliaci mezi olší lepkavou a o. šedou (2019: $\chi^2 = 39{,}497$, $p < 0{,}001$; 2020: $\chi^2 = 68{,}097$, $p < 0{,}001$). Vyšší průměrná hodnota defoliace byla zjištěna v obou letech u o. šedé, zároveň se zde vyskytovala větší variabilita dat.

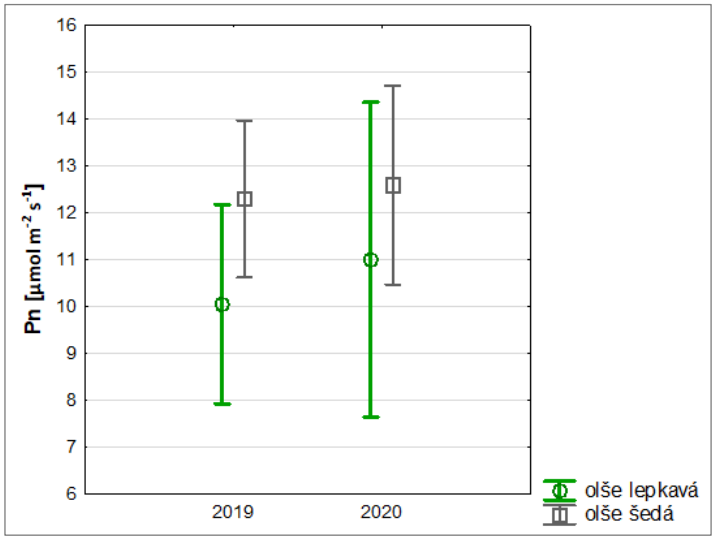
Hodnocení fyziologických parametrů v rámci povodí Odry

Vzhledem k nízkému výskytu příznakových stromů byly v povodí Odry vybrány pro fyziologická měření jedinci olše šedé a o. lepkavé, jejichž hodnoty byly vzájemně porovnány. Pro fyziologická měření bylo vybráno šest lokalit (Bebek 2, Morávka Brod, Frýdlant n. Ostravicí, Mohelnice 1, Ostravice a Raškovice Morávka). Na lokalitách Morávka Brod a Ostravice bylo měřené provedeno pouze na olši šedé, jelikož olše lepkavá se na lokalitě nevyskytovala vůbec nebo nebyla fyzicky dostupná. Stejně jako v povodí Vltavy, i zde byl v prvním roce měření 2019 hodnocen větší počet stromů než v roce 2020, kdy byl celkový počet hodnocených jedinců snížen na 10 olší šedých a 5 olší lepkavých.



Graf 12: Porovnání defoliace mezi olší lepkavou (OL) a olší šedou (OLS) v povodí Odry v letech 2019 a 2020. Krabicové grafy představují medián (silná čára) a 25−75% kvartily (krabice), chybové úsečky označují minimální a maximální hodnoty, body značí odlehlé hodnoty.

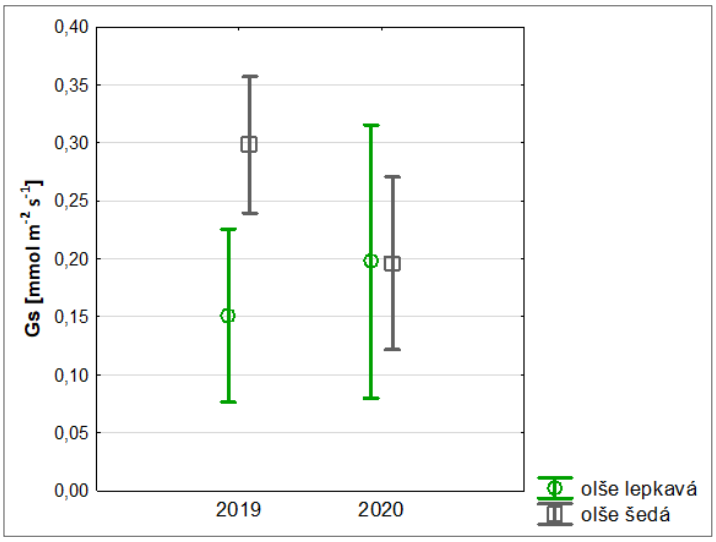
Rychlost čisté fotosyntézy (Pn) se mezi dvěma druhy olše významně nelišila ani v jednom hodnoceném roce (Graf 13, $p > 0,05$). U olše šedé byla však zaznamenána průměrně vyšší hodnota Pn (2019: 12,4 ± 4,1 µmol m^{-2} s^{-1}; 2020: 11,9 ± 3,2 µmol m^{-2} s^{-1}) oproti o. lepkavé (2019: 10,1 ± 2,7 µmol m^{-2} s^{-1}; 2020: 11,0 ± 2,3 µmol m^{-2} s^{-1}) v obou letech.



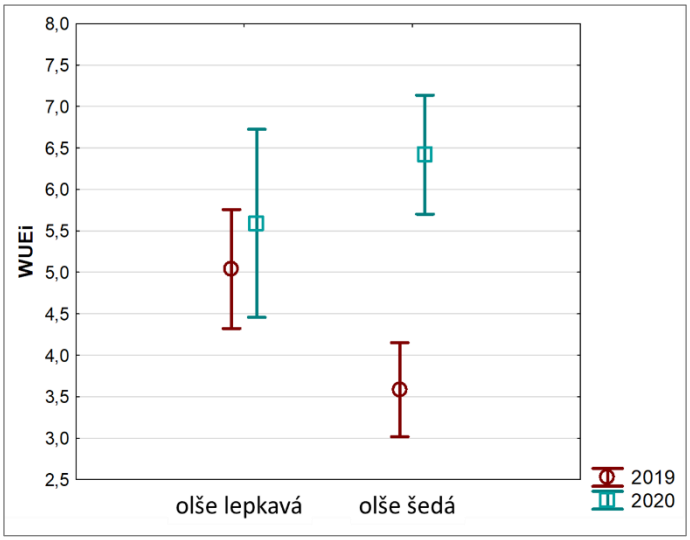
Graf 13: Rychlost čisté fotosyntézy (Pn) u olše lepkavé a o. šedé v povodí Odry v roce 2019 a 2020. Úsečky vyjadřují průměr (malý čtverec/kolečko) a směrodatnou odchylku.

V oblasti Beskyd byl rok 2020 srážkově velmi bohatý (1580 mm, stanice Raškovice, ČHMÚ 2024), což vedlo až k povodňovému stavu v červnu a v říjnu daného roku. Na některých lokalitách, kde probíhalo měření, byly znatelné známky poškození kmenů prudkým tokem, což mohlo ovlivnit reakce stromů. Celkově však vysoké hodnoty Pn i fluorescenčních parametrů u obou druhů olše vypovídají o dobré vitalitě dřevin.

U **stomatální vodivosti (Gs)** také nebyl zjištěn rozdíl mezi dvěma druhy olše v roce 2019, avšak o. šedá měla vyšší průměrně hodnoty (0,36 ± 0,30 mmol m^{-2} s^{-1}) oproti o. lepkavé (0,15 ± 0,05 mmol m^{-2} s^{-1}). V roce 2020 nebyl téměř zaznamenán rozdíl (Graf 14). U olše lepkavé byla naměřena **efektivita využití vody (WUEi)** podobně v obou letech, 5,04 ± 0,60 µmol CO_2/mmol H_2O v roce 2019, a 5,6 ± 1,3 µmol CO_2/mmol H_2O v roce 2020 (Graf 15). U olše šedé byl zjištěn opačný trend, v roce 2019 byly hodnoty nižší než u o. lepkavé. V roce 2020 byly naopak vyšší, a tento rozdíl byl statisticky průkazný (ANOVA, $p < 0,001$).



Graf 14: Stomatální vodivost (Gs) u olše lepkavé a o. šedé v povodí Odry v letech 2019 a 2020. Úsečky vyjadřují průměr (malý čtverec/kolečko) a směrodatnou odchylku.



Graf 15: Efektivita využití vody (WUEi) [µmol CO_2/mmol H_2O] u olše lepkavé a o. šedé v povodí Odry v letech 2019 a 2020. Úsečky vyjadřují průměr (malý čtverec/kolečko) a směrodatnou odchylku.

Z výsledků fluorescenčních měření vyplynulo, že mezi dvěma druhy olší nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl v parametrech Φ_{PO} a PI_{ABS} (Přílohy 14 a 15). Z výsledků v Tabulce 17 vyplývá, že v roce 2019 měla o. lepkavá vyšší predikovanou hodnotu Φ_{PO} (0,811) ve srovnání s o. šedou (0,782), a tento rozdíl se v roce 2020 ještě zmenšil. Ani

v jednom roce však nebyl rozdíl statisticky významný ($p > 0,05$). Obecně se však hodnota Φ_{PO} pohybuje u všech hodnocených olší mezi 0,75 a 0,85, což naznačuje optimální stav fotosyntetického aparátu. Podobné výsledky byly zjištěny u indexu PI_{ABS} (Tab. 18). Hodnoty pozorované v této studii naznačují, že obě zkoumané dřeviny byly v roce 2020 vystaveny stresovým podmínkám, což se projevilo snížením PI_{ABS}. Z hlediska fotosyntetické účinnosti mezi oběma druhy však nebyl zaznamenán významný rozdíl.

Tabulka 17: Výsledky lineárního smíšeného modelu porovnávajícího průměrné hodnoty Φ_{PO} u jedinců olše lepkavé a o. šedé v Povodí Odry v roce 2019 a 2020.

	Druh olše	**Predikovaná hodnota**	**Standardní chyba**	**Konfidenční interval**	**rozdíl**	**p-hodnota**
2019	o. lepkavá	0,811	0,017	0,845−0,776	0,028	0,091
	o. šedá	0,782	0,015	0,812−0,752		
2020	o. lepkavá	0,813	0,011	0,837−0,789	0,016	0,252
	o. šedá	0,797	0,008	0,814−0,780		

Tabulka 18: Výsledky lineárního smíšeného modelu porovnávajícího průměrné hodnoty PI_{ABS} u jedinců olše lepkavé a o. šedé v Povodí Odry v roce 2019 a 2020.

	Druh olše	**Predikovaná hodnota**	**Standardní chyba**	**Konfidenční interval**	**rozdíl**	**p-hodnota**
2019	o. lepkavá	4,670	0,562	5,828−3,512	0,592	0,388
	o. šedá	4,078	0,444	4,993−3,164		
2020	o. lepkavá	3,804	0,455	4,787−2,822	0,063	0,907
	o. šedá	3,742	0,344	4,485−2,998		

5.2. Podkorní inokulace olše lepkavé patogeny rodu *Phytophthora* v různých koncentracích CO_2

Hodnocení rozvoje lézí a mortality rostlin

První nekrotické léze se začaly objevovat během dvou týdnů po inokulaci (p.i.). U většiny rostlin dosáhly léze své maximální délky do čtyř týdnů po inokulaci. Mezi dvěma populacemi olše nebyly zjištěny rozdíly v žádném ze sledovaných parametrů (rozvoj lézí, mortalita, pravděpodobnost přežívání), z toho důvodu nejsou tyto výsledky dále prezentovány. Průměrná délka lézí se pohybovala v rozmezí 7,8−8,7 cm u *P.* ×*alni* (PAA), 7,7−11,4 cm u *P. uniformis* (PAU) a 1,8−1,9 cm u *P. plurivora* (PLU) (Tab. 19, Příloha 16). U PAU byl zaznamenán statisticky nevýznamný trend vyšší průměrné délky lézí při běžné úrovni CO_2 ve srovnání se zvýšenou úrovní CO_2 (11,43 ± 7,33 cm vs 7,66 ± 6,87 cm, $p = 0,249$). Podobný trend byl pozorován i u PAA (8,68 ± 7,11 cm vs 7,76 ± 5,91 cm, $p = 0,951$). Naproti tomu rostliny inokulované PLU měly pouze velmi malé léze (Obr. 38). Reizolace potvrdily přítomnost patogenu ve všech inokulovaných rostlinách.

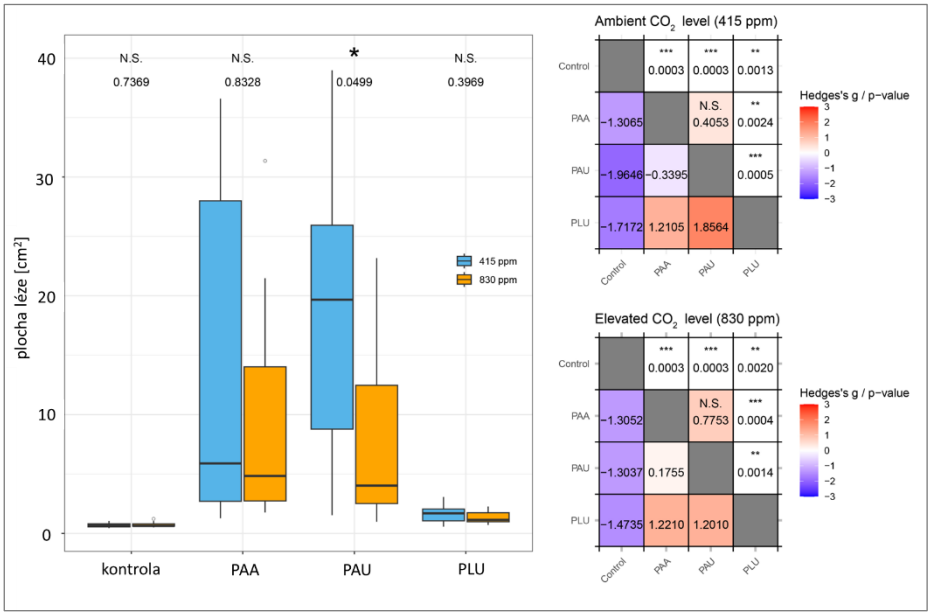
Mezi druhy r. *Phytophthora* a úrovněmi CO_2 byly zjištěny rozdíly v ploše lézí (vypočítaná jako plocha elipsy: $A=\pi ab$) (Tab. 19, Graf 16). Při obou úrovních CO_2 způsobily PAA a PAU léze s významně odlišnou plochou ve srovnání s kontrolními rostlinami a rostlinami inokulovanými PLU ($p \leq 0,05$). Na rozdíl od rostlin inokulovaných PAA byl u rostlin inokulovaných PAU vliv CO_2 statisticky významný ($p = 0,049$), přičemž větší léze byly zaznamenány při běžné úrovni CO_2 ve srovnání se zvýšenou úrovní (18,23 ± 12,19 cm oproti 8,13 ± 7,92 cm). PLU se významně lišil od kontroly při obou úrovních CO_2, avšak variabilita byla mnohem nižší a mezi různými úrovněmi CO_2 nebyl zaznamenán žádný významný rozdíl (Graf 16).

Tabulka 19: Patogenita tří druhů r. Phytophthora 13 týdnů po inokulaci olše lepkavé. V každé variantě bylo inokulováno 12 rostlin (CO_2/Phytophthora) (převzato z publikace Macháčová et al. 2024).

CO_2 konc. [ppm]	druh r. *Phytophthora*	Počet rostlin s lézemi	Délka léze $\bar{x} \pm SD$ [cm][a]	Šířka léze $\bar{x} \pm SD$ [cm][a]	Plocha léze $\bar{x} \pm SD$ [cm^2][a]	Počet rostlin s příznaky odumírání/ mortalitou	Frekvence reizolace [%]
415	control	0	0.92 ± 0.15a	0.95 ± 0.12a	0.69 ± 0.19a	0 / 0	0
	P. ×*alni*	12	8.68 ± 7.11b	1.70 ± 0.58b	13.69 ± 13.59b	5 / 3	100
	P. uniformis	12	11.43 ± 7.33b	1.94 ± 0.52b	18.23 ± 12.19b	8 / 6	100
	P. plurivora	12	1.84 ± 0.50c	1.10 ± 0.31a	1.63 ± 0.72c	0 / 0	100
830	control	0	0.98 ± 0.14a	0.94 ± 0.16a	0.73 ± 0.21a	0 / 0	0
	P. ×*alni*	12	7.76 ± 5.91b	1.38 ± 0.45b	9.74 ± 9.64b	6 / 5	100
	P. uniformis	12	7.66 ± 6.87b	1.22 ± 0.35b	8.13 ± 7.92b	7 / 5	100
	P. plurivora	12	1.95 ± 0.39c	0.85 ± 0.24a	1.30 ± 0.48c	0 / 0	100

[a] Rozdílná písmena označují významné rozdíly mezi hodnotami v rámci jednotlivých úrovní CO_2. Pro významnost rozdílů mezi úrovněmi CO_2 viz Příloha 16 a 17.

Obrázek 38: Symptomy olše lepkavé 13 týdnů po podkorní inokulaci třemi druhy r. Phytophthora v ambientní (415 ppm) a zvýšené (830 ppm) úrovni CO_2. (a) kontrolní rostliny, 415 ppm CO_2. (b) rostliny inokulované P. uniformis, 830 ppm CO_2. (c) rostliny inokulované P. plurivora, 415 ppm CO_2. (d) kontrola, 830 ppm CO_2. (e) P. ×alni, 415 ppm CO_2. (f) P. uniformis, 830 ppm CO_2. (g) detail inokulace kontrolní rostliny. (h, i) léze po inokulaci P. ×alni ve 415 ppm CO_2 a 830 ppm CO_2. (j–l) léze po inokulaci P. uniformis ve 415 ppm CO_2 (j,l) 830 ppm CO_2 (k). (m, n) malé, zavalené léze po inokulaci P. plurivora ve 415 ppm CO_2 a 830 ppm CO_2 (převzato z publikace MACHÁČOVÁ et al. 2024).



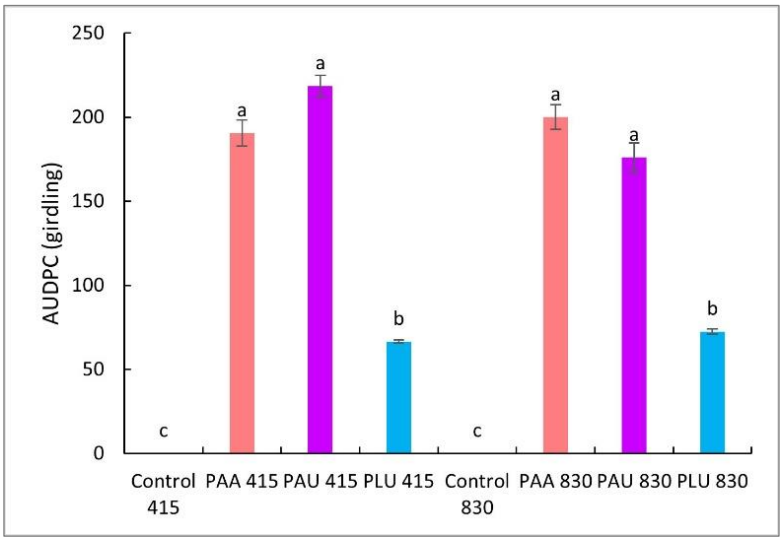
Graf 16: Porovnání plochy lézí na stoncích olší lepkavých způsobených třemi druhy r. Phytophthora ve dvou koncentracích CO_2 (ambientní 415 ppm, zvýšená 830 ppm). PAA = P. ×alni, PAU = P. uniformis, PLU = P. plurivora. Statistická významnost porovnání dvojic úrovní CO_2 je označena jako N.S. (nevýznamné) nebo hvězdičkou ($p \leq 0,05$). Tabulky vpravo obsahují všechny párové porovnání; horní trojúhelník představuje p-hodnotu párových porovnání, dolní trojúhelník představuje velikost efektu podle Hedgesova g (převzato z publikace MACHÁČOVÁ et al. 2024).

PAA a PAU měly významně odlišnou šířku lézí ve srovnání s kontrolou a PLU, zatímco PLU se od kontroly nelišila ani při jedné úrovni CO_2 (Příloha 17). Vliv CO_2 byl však významný pouze u PAU ($p = 0,007$), přičemž větší šířka lézí byla zaznamenána při běžné ve srovnání se zvýšenou úrovní CO_2 (1,94 ± 0,52 cm oproti 1,22 ± 0,35 cm) (Tabulka 19). U rostlin inokulovaných PAA i PAU byla dále zjištěna statisticky významná pozitivní korelace mezi plochou lézí a mortalitou. Větší plocha lézí byla spojena s vyšší mírou úmrtnosti (PAA $r = 0,72$; PAU $r = 0,78$).

Rozsah nekrotizace krčku (tzv. girdling) způsobeném PAA a PAU byl statisticky významně větší ve srovnání s kontrolou, a to bez ohledu na úroveň CO_2 (Graf 17). U prvních odumírajících rostlin se léze vyvinuly velmi rychle a k úplné nekrotizaci krčku došlo během prvních týdnů po inokulaci. Naopak, u PLU byla zjištěna nekrotizace krčku menší než 25 % obvodu kmene u všech rostlin. Úplná nekrotizace krčku byla významně korelována s menším obvodem krčku u rostlin inokulovaných PAA ($R2 = 0,272$, $p = 0,005$) a PAU ($R2 = 0,368$, $p = 0,001$). Úplná nekrotizace krčku také vyvolala zduření spících pupenů nad nekrotickými lézemi a silnou reakci u několika rostlin (Obr. 38I, 38J).

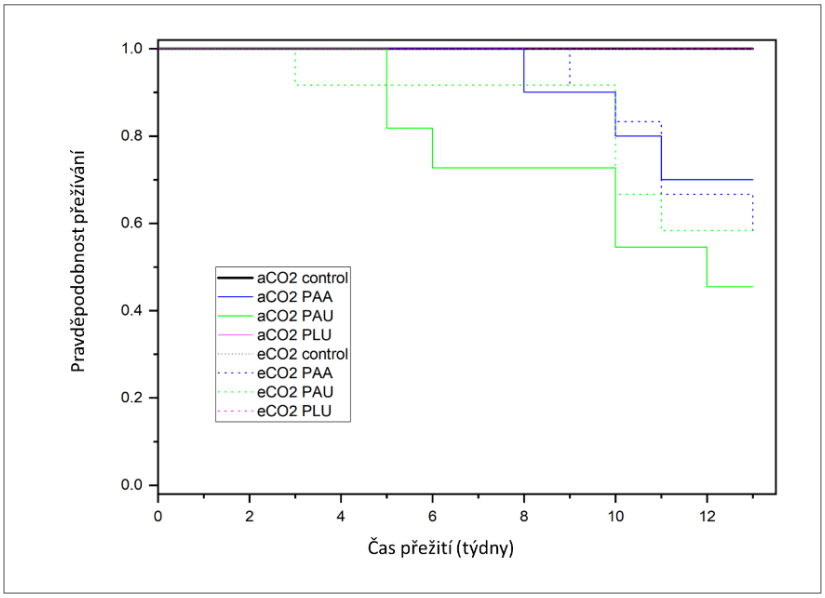
První příznaky pokročilého odumírání a mortalita se objevily u rostlin inokulovaných PAU dva týdny po inokulaci, následované rostlinami inokulovanými PAA šest týdnů po inokulaci. Všechny kontrolní rostliny a rostliny inokulované PLU přežily až do konce experimentu. Celkově PAA způsobila úmrtnost u 33,3 % (8/24 rostlin) a PAU u 45,8 % (11/24) inokulovaných rostlin (Tab. 19). PAA i PAU se významně lišily v úrovni mortality od kontrolních rostlin ($\chi2$ test: $p = 0,034$ a $p = 0,003$) a od PLU ($\chi2$ test: $p = 0,034$

a p = 0,003). Úroveň CO_2 však neměla významný vliv na míru úmrtnosti u PAA ani PAU (p > 0,05).



Graf 17: Porovnání hodnoty AUDPC na stonku olší lepkavých inokulovaných Phytophthora ×alni (PAA), P. uniformis (PAU) a P. plurivora (PLU) ve dvou úrovních CO_2 (415 ppm a 830 ppm). Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku. Rozdílná písmena značí signifikantní rozdíly mezi skupinami (Fisherův LSD Test, p < 0,05) (převzato z publikace MACHÁČOVÁ et al. 2024).

Analýza pravděpodobnosti přežívání odhalila významné rozdíly v pravděpodobnosti přežití mezi experimentálními skupinami (log-rank test rovnosti: $\chi 2 = 29{,}38$, p < 0,001). Při běžné úrovni CO_2 byla pravděpodobnost přežití u rostlin inokulovaných PAA a PAU 70 % a 45 %. Při zvýšené úrovni CO_2 měly oba druhy míru přežití nižší než 60 % (Graf 18).

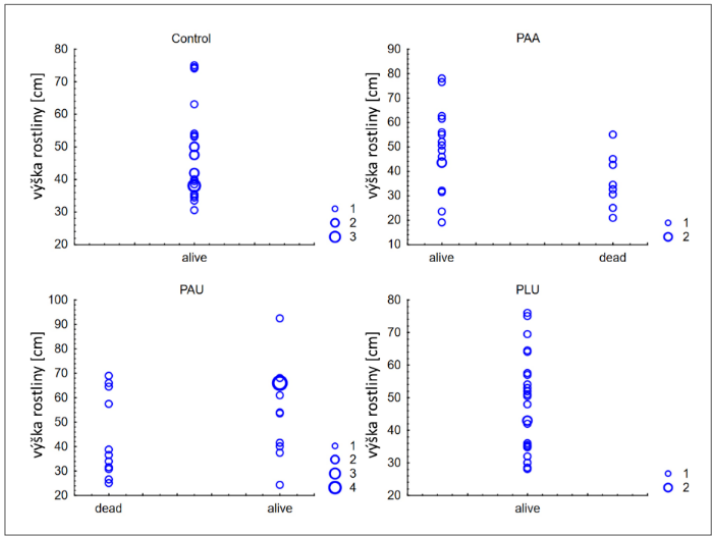


Graf 18: Pravděpodobnost přežívání olše lepkavé 13 týdnů po inokulaci v ambientní (aCO_2) a zvýšené (eCO_2) úrovni CO_2. PAA = Phytophthora ×alni, PAU = P. uniformis, PLU = P. plurivora. Kaplan-Meier test (převzato z publikace MACHÁČOVÁ et al. 2024).

První mortalita spojená s PAU byla zaznamenána 3 týdny po inokulaci při zvýšené úrovni CO_2 a 5 týdnů po inokulaci při běžné úrovni CO_2. Rostliny inokulované PAA začaly odumírat 8 týdnů po inokulaci při zvýšené úrovni CO_2 a 9 týdnů při běžné úrovni CO_2. Nebyly zaznamenány žádné rozdíly v pravděpodobnosti přežití mezi izoláty PAA a PAU při obou úrovních CO_2 (Graf 18).

Na začátku experimentu byla u výšky rostlin a průměru krčku naměřena značná variabilita, přičemž průměrná výška byla 47,6 ± 15,6 cm a průměr krčku 0,8 ± 0,2 cm (Tab. 20). Wilcoxonův test neodhalil žádné významné rozdíly ve výšce rostlin nebo průměru krčku mezi druhy r. *Phytophthora* při obou úrovních CO_2 ($p > 0,05$). Většina rostlin dosáhla své konečné výšky do doby inokulace, s minimálním nárůstem pozorovaným až do konce experimentu. Naopak přežívající rostliny vykazovaly výrazný přírůst průměru krčku (16−70 % po 13 týdnech). Naopak u rostlin, které odumřely jako první, byl pozorován pokles průměru krčku, protože pletivo zde zmenšilo svůj objem v důsledku ztráty vody. Byla zjištěna také statisticky významná negativní korelace mezi mortalitou a obvodem krčku pro PAA i PAU (Welshův t-test, $p < 0,05$), tzn. vyšší mortalita byla spojena s rostlinami s menším obvodem krčku.

Procento délky lézí z celkové výšky rostliny se u odumřelých rostlin pohybovalo přibližně mezi 30 až 80 %. U přežívajících rostlin se léze rozšířily přibližně na 1 až 31 % celkové výšky rostliny. Toto procento bylo významně korelováno s mortalitou u PAA i PAU ($r = 0,804$ a $r = 0,851$). Navíc výška rostlin vykazovala významnou negativní korelaci s mortalitou pro PAA ($r = -0,389$), PAU ($r = -0,357$) a v kombinaci PAA/PAU ($r = -0,27$) (Graf 19), tj. vyšší rostliny odumíraly později nebo přežily až do konce experimentu. Prvními rostlinami, které odumřely, byly ty s nejmenší výškou a délkou lézí přesahující 60 % celkové výšky rostliny.



Graf 19: Korelace mezi výškou rostlin olší lepkavých a mortalitou. PAA = Phytophthora ×alni, PAU = P. uniformis, PLU = P. plurivora. Spearmanův korelační koeficient pořadí (PAA: r = -0.389, PAU: r = -0.357, PAA & PAU: r = -0.27) (převzato z publikace MACHÁČOVÁ et al. 2024).

Hodnocení biomasy

Biomasa nadzemní hmoty byla na konci experimentu ovlivněna různými reakcemi rostlin na infekci patogenem. Příznaky, jako je vadnutí, zasychání listů, chloróza, náhlé opadávání listů a následná regenerace v podobě rašení nových listů, způsobily rozdíly v biomase rostlin napříč všemi variantami (Obr. 38). Nebyly pozorovány žádné významné rozdíly v biomase mezi nadzemními částmi rostlin a kořeny. Průměrné hodnoty pro nadzemní a podzemní biomasu všech rostlin byly 8,89 ± 6,50 g a 6,96 ± 5,06 g (Tab. 20).

Vliv patogenů na sušinu biomasy neprokázal statisticky významné rozdíly. Nicméně při porovnání poměru mezi sušinou nadzemní a podzemní biomasy byl zaznamenán statisticky významný negativní efekt zvýšené úrovně CO_2 u kontrolních rostlin ($p = 0,001$) a rostlin inokulovaných PLU ($p = 0,001$) (Tab. 20). V obou případech byly vyšší poměry zjištěny při běžné úrovni CO_2 ve srovnání se zvýšenou úrovní (kontrola: 1,60 ± 0,24 vs 1,14 ± 0,24, PLU: 1,64 ± 0,28 vs 1,17 ± 0,24). U rostlin inokulovaných PAA nebo PAU nebyl poměr mezi nadzemní a podzemní biomasou významně ovlivněn úrovní CO_2 ($p > 0,05$) ani nebyla zjištěna statisticky významná korelace s mortalitou ($p > 0,05$).

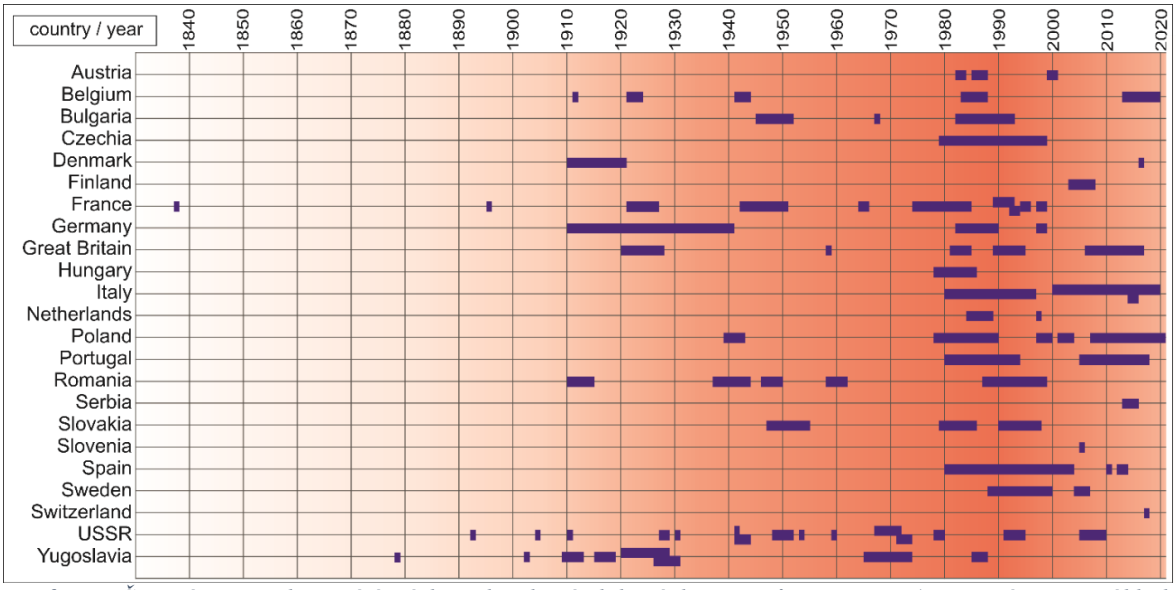
Tabulka 20: Výsledky podkorní inokulace olše lepkavé po 13 týdnech – charakteristika rostlin (převzato z publikace MACHÁČOVÁ et al. 2024).

CO_2 konc. (ppm)	druh r. *Phytophthora*	Počet inokulovaných rostlin	Průměr krčku (cm)[a]	Výška rostliny (cm)[a]	Sušina nadzemní biomasy (g)[a]	Sušina podzemní biomasy (g)[a]	Poměr sušiny nadzemní/ podzemní biomasy
415	control	12	0.83 ± 0.22	49.79 ± 14.16	9.86 ± 7.22	6.05 ± 3.96	1.60 ± 0.24*
	P. ×alni	12	0.81 ± 0.22	46.30 ± 19.71	7.63 ± 6.33	5.75 ± 3.95	1.36 ± 0.86
	P. uniformis	12	0.82 ± 0.29	51.95 ± 21.03	9.80 ± 8.83	8.29 ± 6.62	1.40 ± 0.65
	P. plurivora	12	0.80 ± 0.30	49.33 ± 16.41	9.59 ± 7.10	6.10 ± 4.67	1.64 ± 0.28**
830	control	12	0.83 ± 0.22	44.13 ± 12.17	8.25 ± 5.45	7.68 ± 5.30	1.14 ± 0.24*
	P. ×alni	12	0.81 ± 0.25	42.50 ± 12.26	8.97 ± 7.01	7.80 ± 6.16	1.20 ± 0.45
	P. uniformis	12	0.78 ± 0.31	49.39 ± 15.73	8.99 ± 7.14	7.25 ± 5.63	1.23 ± 0.25
	P. plurivora	12	0.86 ± 0.21	47.33 ± 13.02	8.75 ± 5.02	7.88 ± 5.01	1.17 ± 0.24**

[a] Mezi skupinami nebyly zjištěny žádné statisticky významné rozdíly.
[b] *Kontrolní ($p = 0,001$) a rostliny inokulované PLU ($p = 0,001$) se významně lišily mezi úrovněmi CO_2.

5.3. Historický přehled a faktory působící chřadnutí dubových porostů

Na základě údajů získaných z literatury byla vytvořena databáze se záznamy nejčastějších faktorů způsobujících chřadnutí dubů. Na časové ose v Grafu 20 jsou znázorněny epizody chřadnutí dubových porostů, které byly zaznamenány v Evropě (včetně bývalého SSSR) od doby prvního záznamu v roce 1739 až do roku 2020. Většinou se jednalo o krátkodobé sporadické epizody chřadnutí, nicméně první větší a dlouhodobější epizody byly zaznamenány v severní a střední Evropě již ve 20. letech v oblasti od Francie až po Kavkaz (THOMAS et al. 2002). Například ve Francii (1921–1926, 1942–1950) a na jihu Velké Británie (1920–1924, 1958) bylo chřadnutí patrně vyvoláno kombinací defoliace hmyzem (zejména *Tortrix viridana*), poškození padlím (*Microsphera alphitoides*), mrazem a suchem (GIBBS et GREIG 1997). Další periody se objevily ve 40.−50. letech, kdy bylo zaznamenáno chřadnutí dubů s tzv. tracheomykózními příznaky na více místech v Evropě a ve větším rozsahu (Rumunsko, Bulharsko, Slovensko aj.). Od 80. let byla zaznamenána vlna chřadnutí dubových porostů ve většině evropských zemích (DELATOUR 1983; HARTMANN et al. 1989; SIWECKI et LIESE 1991; LUISI a kol. 1993). Jak je dále patrné z Grafu 21, v některých zemích přetrvává chřadnutí dubových porostů dodnes.

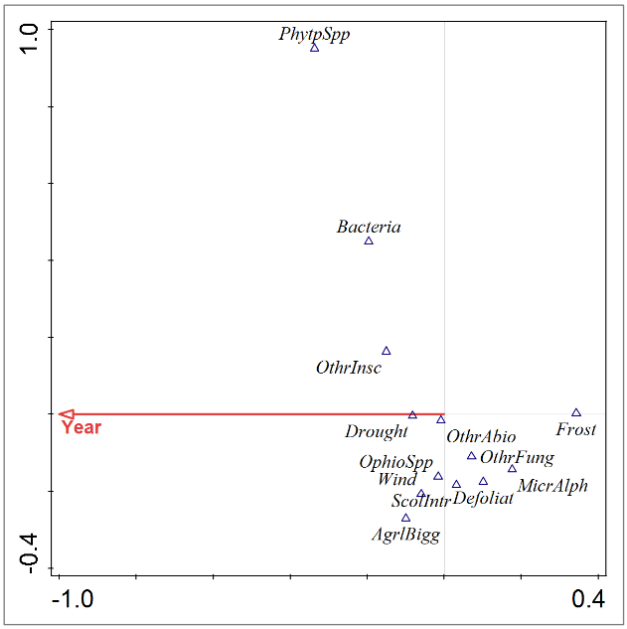


Graf 20: Časová osa zobrazující výskyt chřadnutí dubových porostů v Evropě (zpracováno na základě literatury uvedené v publikaci MACHÁČOVÁ et al. 2022).

Na základě databáze epizod chřadnutí dubů (Graf 20) byly zkoumány nejčastější postup a příčiny chřadnutí dubů. Vícerozměrná statistická analýza ukázala, že faktory podílející se na chřadnutí dubů se v průběhu posledních cca 130 let měnily (Graf 21). V nejstarších záznamech se většinou vyskytoval jeden hlavní faktor nebo několik faktorů společně (např. mráz, sucho, padlí dubové + defoliátoři). Postupně se začalo uvádět více faktorů působících společně, z nichž některé (obvykle sucho) byly uváděny jako hlavní a jiné jako vedlejší. V 90. letech 20. století se objevily i nové biotické faktory, jako jsou např. patogeny

r. *Phytophthora* nebo bakterie. Výsledky ukazují významný vztah mezi faktory a časovým rozsahem záznamů o chřadnutí dubů.

Extrémní klimatické jevy, zejména stres vysokou teplotou a letní sucha, jsou uváděny jako jeden z nejkritičtějších predispozičních faktorů, které se v souvislosti s měnícími se



Graf 21: Analýza výskytu faktorů uváděných jako příčina chřadnutí dubových porostů na časové ose od roku 1739 až 2020 (pF = 35.4, p <0.002), CCA = kanonická korespondenční analýza (CANOCO 5) (převzato z publikace MACHÁČOVÁ et al. 2022).

klimatickými podmínkami vyskytuje čím dál častěji (DOLEŽAL et al. 2010; LINDNER et al. 2010; SOHAR et al. 2014; HAAVIK et al. 2015). Zpracována meteorologická data dostupná v evropských databázích od roku 1901 do roku 2020 odhalila vztah mezi výskytem sucha a chřadnutím dubů. Tyto dvě proměnné byly sledovány a podrobně rozpracovány pro země střední Evropy (Příloha 18). Porovnání průměrného ročního úhrnu srážek a vypočtených odchylek vzhledem k průměru let 1902−2020 s výskytem epizod chřadnutí ukázalo, že pokud následuje přibližně 5 ročníků s podprůměrnými ročními srážkami, následující roky se projeví na chřadnutí dubů. V 80. letech byl tento scénář zaznamenán u většiny sledovaných zemí (Maďarsko, Polsko, Rakousko, Česko, Slovensko, Německo). Z toho vyplývá, že sucho působí jako kritický predispoziční faktor u chřadnutí dubů.

5.4. Aktuální posouzení zdravotního stavu dubových porostů

Výsledky našeho výzkumu ukázaly, že hodnocené příznaky chřadnutí dubů na všech lokalitách se projevovaly v různé intenzitě. Mezi lokalitami byl zaznamenán významný rozdíl v defoliaci stromů, nicméně prosychání v koruně a kmenová výmladnost se vyskytovaly na všech lokalitách. Nejhorší stav porostů byl zjištěn na lokalitách Nižbor a Český kras, které byly významně zasažené suchem v letech 2015−2020. Na 4 lokalitách (Český kras, Nižbor, Lásenice a Tvořihráz) se také ve větší míře vyskytovaly tmavé exudáty na borce kmenů často až do výšky několika metrů.

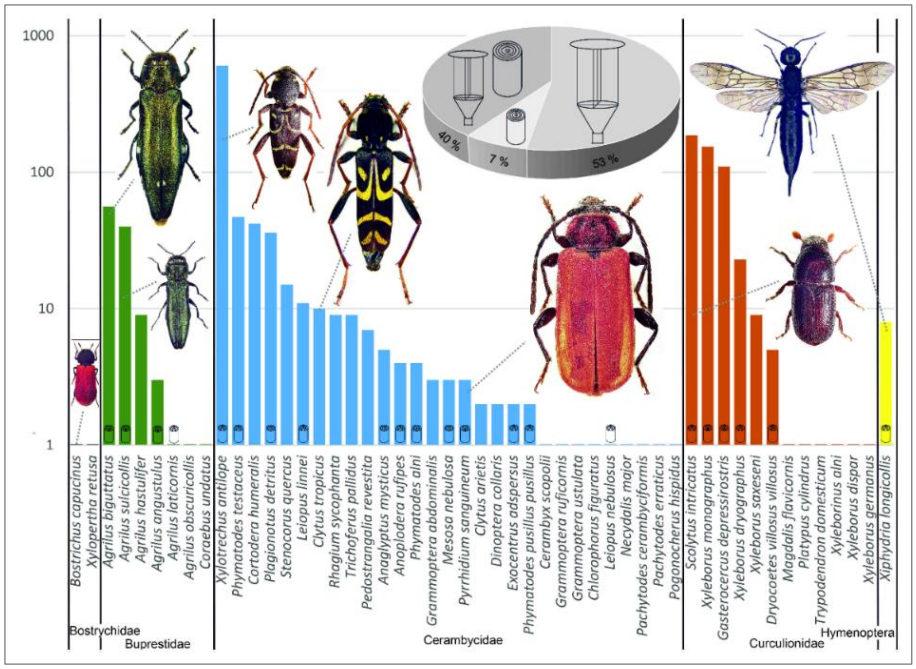
Zjištění spektra hmyzích škůdců

V rámci studie bylo zaznamenáno celkově 2 931 kusů podkorního hmyzu, z nichž 1 476 kusů bylo vychováno v chovných klecích z kmenů a větví, a 1 455 kusů bylo odchyceno do pasivních nárazových pastí. Celkem bylo určeno 55 druhů podkorního hmyzu náležejících do 2 řádů: Coleoptera (54 druhů) a Hymenoptera (1 druh). Nejbohatší skupinou byla čeleď Cerambycidae se 30 zjištěnými druhy (29 z pastí, 13 z klecí), dále 14 druhů Curculionidae (13 a 6), 8 druhů Buprestidae (7 a 5), 2 druhy Bostrichidae (1 a 1), a jeden druh čeledi Xiphydriidae (1 a 1). Početnost druhů vykazovala stejné pořadí jak u pasivních nárazových pastí, tak u odchovu z klád + větví ($p < 0{,}001$, $r = 0{,}694$). Údaje týkající se způsobu odchytu (odchyt do pasti versus vylíhnutí) u konkrétních druhů jsou uvedeny v Grafech 22 a 23 (absolutní počet záznamů viz Příloha 19).

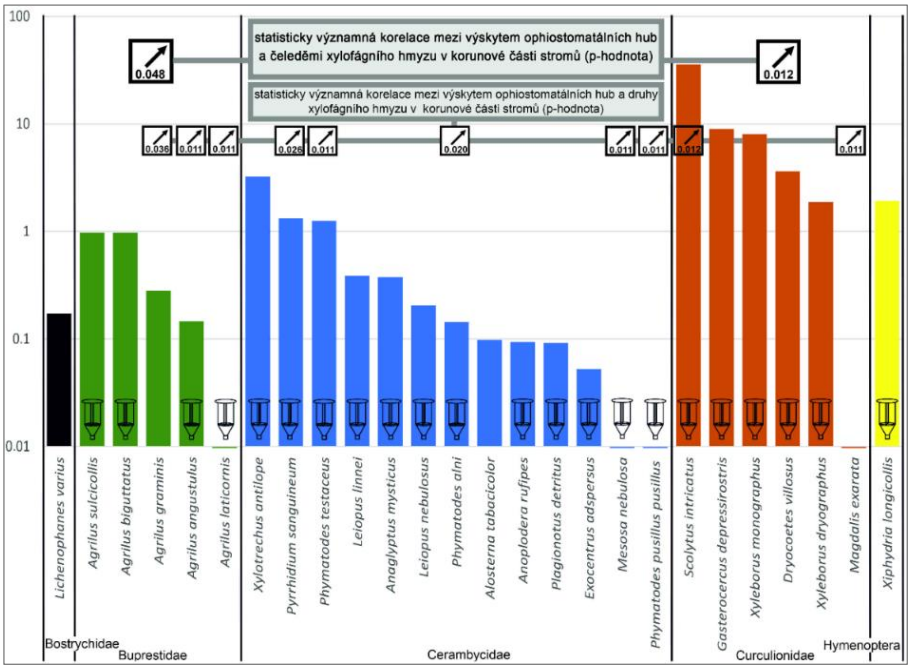
V nárazových pastech (NP) byl nejhojnějším druhem *Xylotrechus antilope* (Cerambycidae) (604 jedinců zachycených na všech plochách), a lze jej proto považovat za nejškodlivější druh tesaříka na studijních plochách. Běžný druh kůrovce bělokaz dubový (*Scolytus intricatus*) byl zachycen v nejvyšším počtu jak v NP (186 jedinců), tak v chovných klecích (CHK) (214,1 jedince na třech 1 m dlouhých úsecích z bazální + střední + korunové části). Druhým nejhojnějším druhem z čeledi Curculionidae byl *Xyleborus monographus*, který byl zjištěn na všech plochách (154 ks z NP; 48,4 ks z CHK). Další významný kůrovcovitý brouk, *Gasterocercus depressirostris*, byl zachycen především na lokalitách Český kras a Tvořihráz (83/25 z NP) a překvapivě na lokalitě Lásenice pouze z CHK (46,8 ks). Polní dvojtečný (*Agrilus biguttatus*) (56) a polník *A. sulcicollis* (52) z čeledi Buprestidae byli v největším počtu odchyceni ve NP především na lokalitách Český kras a Nižbor. Jednalo se o velmi suché lokality s nejvyšším počtem chřadnoucích a mrtvých stromů (Tab. 22). Ostatní druhy byly zastoupeny méně než 50 odchycenými jedinci v NP na plochu. Většina (73,4 %) všech jedinců xylofágního hmyzu (1068 ks) byla odchycena v NP na lokalitě Český kras (Příloha 19).

Korelace mezi výskytem ophiostomatálních hub a xylofágního hmyzu je znázorněna na Grafu 23. Statisticky významná korelace byla zjištěna u čeledí Buprestidae (*Agrilus graminis, A. angustulus, A. laticornis*), Curculionidae (*Scolytus intricatus*) a u několika

druhů Cerambycidae. Statisticky významná korelace mezi přítomností ophiostomatálních hub a výskytem sledovaného hmyzu (na úrovni druhů i čeledí), byla prokázána pouze u vzorků kotoučových výřezů z korunových částí stromů.



Graf 22: Druhy podkorního hmyzu odchycené do pasivních nárazových pastí na 6 lokalitách, rozdělené podle čeledí. Osa y reprezentuje logaritmický počet záznamů každého druhu. Koláčový graf znázorňuje procento druhů odchycených každou metodou odchytu zvlášť a oběma metodami dohromady (převzato z publikace MACHÁČOVÁ et al. 2022).



Graf 23: Druhy podkorního hmyzu vylíhlého z chovných klecí z 6 lokalit, podle čeledí. Osa y reprezentuje logaritmický počet záznamů každého druhu. Čísla v rámečkách se šipkami zobrazují pozitivní korelaci výskytu ophiostomatálních hub a podkorního hmyzu (p-hodnoty); větší rámečky jsou vztaženy k čeledím, menší rámečky k jednotlivým druhům (převzato z publikace MACHÁČOVÁ et al. 2022).

Výskyt patogenů

Výskyt perithecií ophiostomatálních hub byl zjištěn na kotoučových výřezech ze všech lokalit (Tab. 21). Intenzita výskytu se na jednotlivých lokalitách lišila podle místa odběru z části stromu, a také mezi jednotlivými lokalitami. Plodnice byly přítomné na všech vzorcích z korunové části kmene kromě lokality Nižbor, ovšem pouze na lokalitě Český kras byl zaznamenán silný výskyt. Na této lokalitě bylo také odchyceno i vylíhnuto největší množství bělokaza dubového, který je uváděn jako jeden z hlavních přenašečů těchto hub. Korelace mezi výskytem ophiostomatálních hub a bělokazem dubovým ukázala významný pozitivní vztah (p = 0,012, Graf 24).

Tabulka 21: Intenzita výskytu ophiostomatálních hub na jednotlivých lokalitách rozdělených podle části stromu. Intenzita [0] = bez výskytu, [1] = slabý výskyt, [2] = střední výskyt, [3] = silný výskyt.

Výzkumná plocha	Část stromu	Intenzita výskytu [0−3]
Pístecký les	bazální	0
	střední	1
	koruna	1
Česká Skalice	bazální	2
	střední	1
	koruna	1
Nižbor	bazální	3
	střední	1
	koruna	0
Český kras	bazální	0
	střední	0
	koruna	3
Lásenice	bazální	3
	střední	1
	koruna	1
Tvořihráz	bazální	1
	střední	3
	koruna	1

Vzorky půdy k izolaci patogenů r. *Phytophthora* byly odebrány a zpracovány na podzim roku 2020. Pozitivní izolace potvrdila přítomnost druhu *P. plurivora* pouze na lokalitě Pístecký les, a to ze vzorků rhizosféry chřadnoucích i zdravých stromů. Tato lokalita vykazovala nejméně příznaků chřadnutí porostu. Celkem bylo získáno 12 izolátů, které byly identifikovány na základě morfologických charakteristik a genetických analýz podle stejného postupu jako v kap. 4.1 (Izolace, kultivace a identifikace patogenů r. *Phytophthora*).

Defoliace

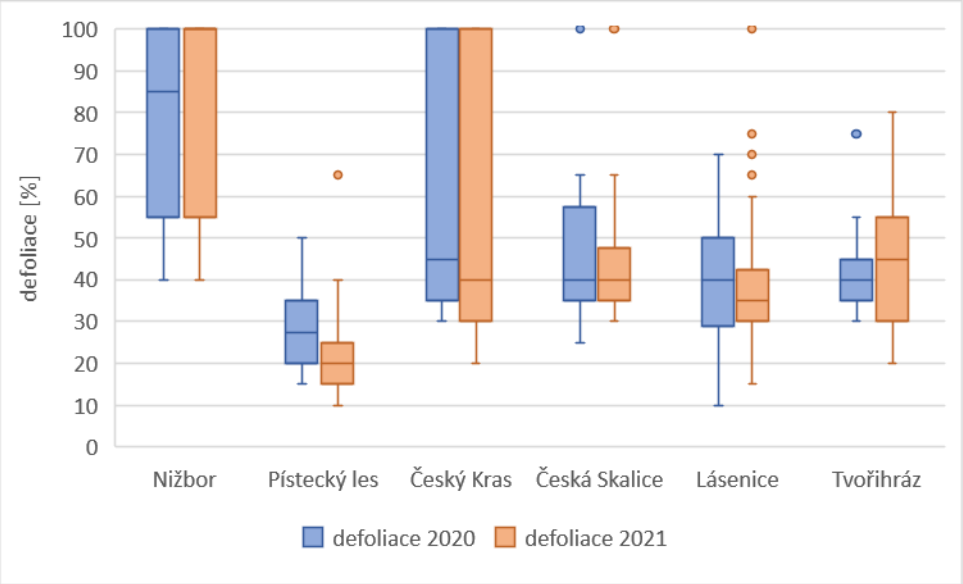
Defoliace byla hodnocena v letech 2020 a 2021. V obou letech byly zjištěné statisticky významné rozdíly v průměrné defoliaci mezi jednotlivými lokalitami (Kruskal-Wallis test; p > 0,001). Nejvyšší míra defoliace byla zaznamenána na lokalitách Nižbor a Český kras (Graf 24, Obr. 37), kde se nacházel také nejvyšší počet odumřelých jedinců (51 % a 41 % v roce 2021; Tab. 22). V roce 2021 došlo k mírnému zlepšení defoliace na většině

hodnocených porostů (kromě lokality Tvořihráz) vlivem srážkově příznivějšího roku. Celkově byl mezi oběma roky zjištěn statisticky významný rozdíl (Wilcoxonův test; $p = 0{,}0044$). Spearmanův korelační test odhalil středně silný negativní vztah mezi tloušťkou kmene a defoliací v roce 2020 a 2021 (Spearmanův korelační koeficient = -0,503 a -0,510; $p < 0{,}001$). Stromy s větší tloušťkou kmene vykazovaly nižší míru defoliace, nicméně při testování každé lokality zvlášť byl tento předpoklad potvrzen pouze u lokalit Český kras.

Na lokalitách Pístecký les, Český kras a Nižbor mnoho stromů vykazovalo silnou kmenovou výmladnost, která je považována za reakci stromu na působení biotických nebo abiotických faktorů. Na suchých lokalitách Český kras a Nižbor se ve větší intenzitě vyskytovaly suché kosterních větve a výmladky na hlavním kmeni. Stromy s kmenovou výmladností měly významně odlišnou defoliaci než stromy bez výmladků (Mann-Whitney test; $p < 0{,}001$).

Tabulka 22: Zastoupení odumřelých stromů na lokalitách v letech 2020 a 2021.

lokalita	počet stromů (n)	podíl mrtvých stromů [%] v 2020	podíl mrtvých stromů [%] v 2021
Pístecký les	32	0,0	0,0
Český kras	34	41,2	41,2
Nižbor	33	42,4	51,5
Lásenice	32	3,1	3,1
Tvořihráz	32	0,0	6,3
Česká Skalice	31	3,2	6,5

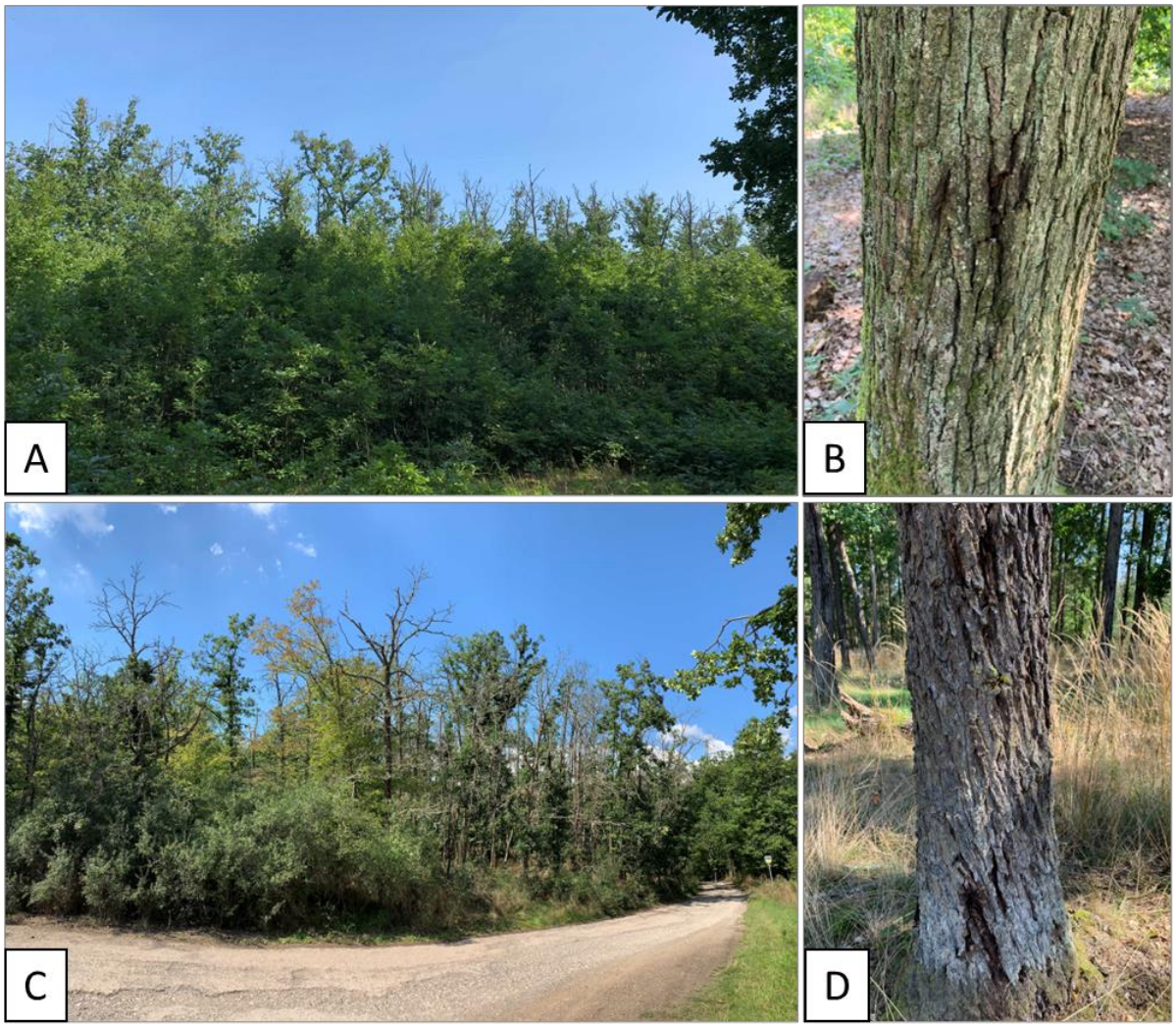


Graf 24: Defoliace dubových porostů v letech 2020/2021. Krabicové grafy představují medián (silná čára) a 25−75% kvartily (krabice), chybové úsečky označují minimální a maximální hodnoty, body značí odlehlé hodnoty.

Dále byl zaznamenán výskyt exudátů na kmenech hodnocených stromů (Obr. 39B, 39D). Na lokalitách Český kras, Nižbor, Lásenice a Tvořihráz se vyskytovaly exudáty ve větším množství často až do výšky 3−4 m na kmenech, nicméně exudáty byly černé a pravděpodobně staré. Analýza také potvrdila, že výskyt exudátů není významně korelován

s defoliací (Mann-Whitney test; $p > 0,05$). Rovněž nebyl potvrzen vztah mezi kmenovou výmladností a výskytem exudátů (Chí-kvadrát test; $p > 0,05$).

Na žádné z hodnocených lokalit nebyla zjištěna přítomnost plodnic dřevokazných hub, ani nebyl zaznamenán žír defoliátorů, zejména housenek motýlů (Tortriciade, Geometridae). Na lokalitě Tvořihráz došlo v roce 2018 k přemnožení bekyně velkohlavé, což mohlo mít vliv na oslabení porostů i v následujících letech. Tvořihráz byla jediná lokalita se zjištěným silným výskytem ochmetu evropského (*Loranthus europaeus*) u celkem 42 % stromů.



Obrázek 39: Příznaky chřadnutí dubových porostů na výzkumných lokalitách, září 2020. Silné prosychání korun a tmavé exudáty na borce na lokalitě Tvořihráz (A, B) a Nižbor (C, D) (foto: Markéta Macháčová).

6. Diskuse

6.1. Monitoring zdravotního stavu olšových porostů a identifikace patogenů rodu *Phytophthora*

6.1.1. Monitoring povodí Vltavy

V letech 2019 až 2023 bylo hodnoceno 20 porostů olše lepkavé v oblasti povodí Vltavy s celkovým počtem 686 stromů. Celkový výskyt patogenu byl poměrně vysoký, avšak podíl příznakových stromů na lokalitě se pohyboval u většiny lokalit mezi 3 a 30 %, pouze u třech silně zamořených lokalit přesáhl podíl 50 %. Podobné výsledky zaznamenali také THOIRAIN et al. (2007) při monitoringu 97 břehových porostů v severozápadní Francii v roce 2004**,** kteří potvrdili příznaky na 77,6 % lokalit, nicméně typické příznaky napadení zjistili pouze u 16 % stromů. Podobnou hodnotu průměrného napadení (5−25 %) na lokalitě zaznamenali také STREITO et al. (2001) v severovýchodní Francii nebo GIBBS et al. (2003) v jižní Británii, naopak v Bavorsku byl zjištěn výskyt příznaků napadení u 32 % z 3247 studovaných olšových porostů a v některých případech s více než 50 % napadených jedinců na lokalitě (JUNG et BLASCHKE 2004). Od prvního nálezu a identifikace *P. ×alni* v západních Čechách v povodí Ohře v roce 2001 (ČERNÝ et al. 2003) se předpokládá šíření patogenu od západu na východ (ČERNÝ et STRNADOVÁ 2010). Dle průzkumu v letech 2005 až 2010 byla situace v západních Čechách porovnatelná rozsahem poškození se situací ve Velké Británii, severovýchodní Francii nebo Bavorsku (ČERNÝ et STRNADOVÁ 2010). ČERNÝ et al. (2016) provedli rozsáhlý průzkum napadení olší *P. alni* v letech 2012−2016 na 1145 úseků břehových porostů na 925 tocích. Jejich výsledky ukázaly výskyt fytoftorového onemocnění olší na 374 tocích – tj. celkem na 40,54 % všech zkoumaných toků v celkové délce 5916,22 km (tj. 61,58 % celkové délky zkoumaných toků). Invazí *P. alni* jsou nejvíce zatížena povodí Vltavy a Ohře, přičemž silné poškození olšových porostů bylo zaznamenáno na řece Litavka, Úslava, Berounka (ČERNÝ et STRNADOVÁ 2010), což potvrzují i výsledky této práce.

Na lokalitách v oblasti CHKO Brdy nebyly zjištěny žádné příznaky napadení *P. alni* a provedené pokusy o izolaci dalších druhů fytoftor z půdy nepřinesly pozitivní výsledky. Z toho lze usuzovat, že se patogen v této oblasti nevyskytuje. Toto zjištění odpovídá predikčnímu modelu (ROMPORTL et al. 2016), který ukazuje, že největší riziko napadení lze očekávat v lužních a mokřadních olšinách v nižších polohách s vysokou hustotou říční sítí a velkým povodím jako potenciální zdrojovou oblastí patogenu, nebo naopak v horských oblastech s členitým reliéfem s vysokými srážkami a významným podílem podmáčených míst. Hlavním faktorem toho, že se patogen *P. alni* ani jiné druhy fytoftor v oblasti CHKO Brdy nevyskytly, je pravděpodobně fakt, že se jedná o izolovanou oblast s malým povodím, kde zatím nedošlo k zavlečení patogenu. Hodnocené porosty v oblasti Brd se od ostatních také odlišují mikroklimatickými poměry a složením porostů, kde převažují smrkové lesy. Oblast se vyznačuje celkově chladnějším mikroklimatem, které není ideální pro přežívání patogenu (BRASIER et al. 2004a; REDONDO et al. 2015).

Výsledky izolací přinesly pozitivní nálezy ***Phytophthora ×alni*** na 13 lokalitách, na dvou z nich byl izolován také druh *P. uniformis*. Převažující výskyt *P. ×alni* koresponduje se zjištěním ŠTĚPÁNKOVÉ et al. (2013), kteří zaznamenali *P. ×alni* v 88 % případů z 59 studovaných lokalit v Česku, zároveň jsou podobné záznamy o rozšíření reportovány z Evropy (BRASIER et al. 2004a; JUNG et BLASCHKE 2004). Na některých lokalitách byly vzorky podkorního pletiva odebírány opakovaně v různých obdobích vegetační sezony (červen, srpen, říjen) z důvodu různé aktivity patogenu. Přesto zde však izolace nebyla úspěšná ani při modifikaci techniky izolace (např. lokalita Loděnice-Jánská nebo Sedlec). Přestože se zde vyskytovaly čerstvé léze s typickým rezavým až černavým výtokem na povrchu borky, nelze vyloučit možnost selhání izolačních technik, které se osvědčily na jiných plochách. Úspěch izolace mohl být ovlivněn obrannými mechanismy stromu (např. tvorbou fenolických látek, OSSWALD et al. 2014) nebo kontaminací jinými mikroorganismy v pletivu (ERWIN et RIBEIRO 1996; PÉREZ-SIERRA et al. 2022). U dalších lokalit, kde byly pozorovány příznaky napadení, ale izolace nebyla úspěšná, se vyskytovaly většinou staré neaktivní léze, u kterých je pravděpodobnost pozitivní izolace velmi nízká (PÉREZ-SIERRA et al. 2022).

Patogen ***Phytophthora uniformis*** byl izolován pouze ze dvou lokalit – Příbram (Litavka) v roce 2020, a Hlubošský potok v roce 2023, v obou případech zároveň s druhem *P. ×alni* ze stejného stromu. První izolace tohoto patogenu v Česku byla v roce 2007 (ČERNÝ et STRNADOVÁ 2010). Nízké zastoupení tohoto druhu v rámci olšových porostů Česka potvrdila již ŠTĚPÁNKOVÁ et al. (2013), která na 59 studovaných lokalitách identifikovala *P. uniformis* pouze ve 12 % případů. Autoři dále zaznamenali rozdíly v rozšíření, kdy druh *P. uniformis* byl izolován zejména z břehových porostů malých vodních toků ve vyšších nadmořských výškách. V rámci této práce se obě lokality s pozitivním nálezem *P. uniformis* nacházely podél malých vodních toků v nadmořské výšce 507 m n. m. a 445 m n. m. Nízké zastoupení *P. uniformis* je způsobeno pravděpodobně jinými ekologickými nároky, jelikož *P. uniformis* má vyšší toleranci k mrazu (ČERNÝ et STRNADOVÁ 2010) a hraje tedy větší roli v odumírání olšových porostů ve Skandinávii nebo ve vyšších nadmořských výškách v Alpách (SCHUMACHER et al. 2006; CORCOBADO et al. 2023). Přestože *P. uniformis* má v Evropě široký areál výskytu (REDONDO et al. 2015), jeho roztroušené nálezy svědčí o tom, že se zřejmě jedná o původní druh potlačený agresivnějším příbuzným taxonem *P. ×alni* (IOOS et al. 2006; ŠTĚPÁNKOVÁ et al. 2013). Přesto je však možné předpokládat, že může docházet k interakci v působení těchto dvou druhů, které může vést k potenciálně vyššímu riziku chřadnutí a mortality napadených olší (CORCOBADO et al. 2017).

Odběry rhizosféry odhalily přítomnost dalších druhů r. *Phytophthora*. Jednalo se o druhy *P. plurivora* (4 lokality), *P. lacustris* (2), *P. gallica* (2), *P. inundata* (1) a *P. cactorum* (1). Všechny tyto druhy byly zjištěny na lokalitách s výskytem příznaků chřadnutí olší a napadení patogenem *P. ×alni*. Jak prokázalo již mnoho studií, podobné příznaky jako *P. ×alni* mohou být způsobeny i dalšími patogeny r. *Phytophthora* (JUNG et BLASCHKE 2004; TRZEWIK et al. 2015; KANOUN-BOULÉ et al. 2016; BREGANT et al. 2020), ovšem jejich

zastoupení bývá nižší než u komplexu druhů *P. alni* (ČERNÝ et al. 2020b). Nejvýznamnější je ***P. plurivora***, rozšířený patogen v Evropě s širokým spektrem hostitelů (JUNG et BLASCHKE 2004; JUNG et BURGESS 2009; JUNG et al. 2013, 2016, 2018; MRÁZKOVÁ et al. 2013; HAQUE et al. 2014; CORCOBADO et al. 2023; TKACZYK et al. 2023a, b). Patogen *P. plurivora* byl v této studii identifikován na řece Loděnici (lokality Ovčín, Sedlec, Hostím), kde se dá předpokládat šíření patogenu v rámci toku, stejně jako u *P.* ×*alni*; dále byl druh *P. plurivora* zjištěn na lokalitě Javornice. Tento druh byl izolován z lézí na kmeni olše v Polsku (TRZEWIK et al. 2015), většina záznamů však pochází z izolací z půdy pod chřadnoucími olšemi, které vykazovaly příznaky nekróz a krčkových hnilob např. ve Španělsku, Rumunsku, Rakousku nebo Německu (JUNG et BLASCHKE 2004; JUNG et BURGESS 2009; HAQUE et al. 2014). Novější studie z Turecka potvrdila *P. plurivora* v rhizosféře chřadnoucích olší (bez příznaků na kmenech) jako nejčastěji izolovaný druh (ADAY KAYA et al. 2018). Ze záznamů vyplývá, že patogenita druhu *P. plurivora* se může významně lišit, a je tedy potřeba ověřovat patogenitu získaných izolátů pomocí umělých inokulací. Experimenty s podkorní inokulací potvrdily významnou patogenitu *P. plurivora* vůči olši (MRÁZKOVÁ et al. 2013; HAQUE et al. 2014; ZAMORA-BALLESTEROS et al. 2017), nicméně podkorní inokulace olše lepkavé s izolátem *P. plurivora* (MM033, viz kap. 5.2.) pocházejícím z lokality Javornice patogenitu vůči olši lepkavé neprokázala (MACHÁČOVÁ et al. 2024). Přestože je v Česku tento patogen považovaný za zdomácnělý na mnoha typech stanovišť (MRÁZKOVÁ et al. 2010), otázkou k dalšímu výzkumu zůstává, do jaké míry jsou jednotlivé kmeny patogenní vůči různých hostitelských dřevinám.

Dalším izolovaným druhem byl ***Phytophthora lacustris***, dříve známý jako *P.* taxon Salixsoil, (poprvé izolovaný z kořenů *Salix matsudana* Koidz.). Tento druh patří do kladu 6, který se vyznačuje výskytem ve vodních prostředích a tolerancí k vysokým teplotám (NECHWATAL et al. 2013), a byl ve velké míře zjištěn z lužních a břehových oblastí (MATSIAKH et al. 2012, 2016; ADAY KAYA et al. 2018). V naší studii byl tento druh zjištěn na dvou lokalitách na řece Loděnici společně s druhy *P. plurivora* a *P. gallica*. Tyto lokality se vyznačují pomalým prouděním vody s výskytem meandrů, kde se mohou snadno šířit oomycety napadající kořenové systémy břehových porostů. *P. lacustris* je často označován jako saprofyt, nicméně studie ukázaly schopnost způsobit infekci a poškození tímto patogenem také na olši lepkavé (NECHWATAL et al. 2013; KANOUN-BOULÉ et al. 2016). Přestože studie potvrzující patogenitu tohoto druhu neukazují jasné závěry (ORŁIKOWSKI et al. 2012; NECHWATAL et al. 2013; NOWAK et al. 2015), je možné předpokládat, že tento druh může při oslabení dřevin způsobit poškození kořenových systémů (JUNG et al. 2011; NECHWATAL et al. 2013; KANOUN-BOULÉ et al. 2016). Druh ***P. gallica*** je považována za mírně agresivní vůči olši lepkavé (JUNG et NECHWATAL 2008), nicméně je často izolován z rhizosféry i jiných druhů dřevin s příznaky kořenové hniloby, např. jasan ztepilý, dub letní nebo vrba bílá (JUNG et NECHWATAL 2008; ČERNÝ et al. 2011). CHRISTOVA (2022) zjistila *P. gallica* a *P. plurivora* v Bulharsku pomocí návnadové metody na hladině řeky. MATSIAKH et al. (2021) zjistili na západní Ukrajině výskyt *P. gallica* z rhizosféry břízy bělokoré

v záplavové oblasti, zatímco okolo chřadnoucích olší potvrdili výskyt *P. lacustris*, *P. plurivora*, *P. polonica* a *P. bilorbang*. Podobně TKACZYK et al. (2023a) identifikovali *P. gallica* a další druhy z rhizosféry chřadnoucích olší lepkavých v Polsku.

Zajímavostí je nález druhu ***P. inundata*** na lokalitě Loděnice z rhizosféry chřadnoucího stromu. Tento druh byl poprvé izolovaný z olivovníku ve Španělsku v roce 1996, a popsaný jako samostatný druh byl v roce 2003 (BRASIER et al. 2003). Jedná se o relativně teplomilný druh s optimem 28−30 °C (JUNG et al. 2011). V Česku byl tento patogen poprvé izolován z ovocného sadu ze slivoně domácí s příznaky hniloby kořenů (GRÍGEL et al. 2019). *P. inundata* je často nalézána v půdách břehových a mokřadních porostů, nebo okrasných zahradních dřevin (JUNG et al. 2011). Lze předpokládat rozšíření tohoto druhu pravděpodobně s rostlinným materiálem, jelikož olšový porost na lokalitě Loděnice se nachází v bezprostřední blízkosti rodinných zahrad.

Druh ***P. cactorum*** byl izolován pouze z jedné lokality (Hlubošský potok) společně s *P. ×alni* a *P. uniformis*. Vzhledem k mírným příznakům napadení a poškození kořenového systému na této lokalitě lze předpokládat, že infekce postupuje pomalu a *P. cactorum* nemusí být vůči olším významně patogenní. Tento druh je izolován z chřadnoucích olšových porostů v různé míře (JUNG et al. 2016; ADAY KAYA et al. 2018; BREGANT et al. 2020; TKACZYK et al. 2023b), často se však vyskytuje ve školkách (JUNG et al. 2016; BAČOVÁ et al. 2024). Není však známá úroveň patogenity tohoto druhu vůči olši v umělých podmínkách, proto nelze jednoznačně dávat do souvislosti izolaci druhu patogenu a příznaky chřadnutí dřevin (TKACZYK et al. 2023b).

Neúspěšná izolace druhů r. *Phytophthora* na ostatních lokalitách mohla být ovlivněna různými faktory, např. období roku nebo interakce s jinými půdními mikroorganismy (VANNINI et al. 2013). Navíc některé druhy r. *Phytophthora* rostou pomalu zejména na selektivním médiu, což dává možnost rychleji rostoucím druhům oomycet (*Pythium* nebo *Phytopythium)* přerůst pomalejší jedince (JUNG et al. 2000, 2016; SARKER et al. 2021).

Vývoj napadení olšových porostů

Postupný rozvoj patogenu a relativně pomalé odumírání napadených jedinců na lokalitách během 5 let monitoringu odpovídá pozorováním z ostatních studií, které zaznamenaly, že napadené stromy jsou schopny přežít až 10 let, přičemž postupně ztrácejí vitalitu (JUNG et BLASCHKE 2004). V některých případech může dojít k potlačení patogenu a regeneraci napadeného stromu, zejména vlivem silného mrazu v zimním období (JUNG et BLASCHKE 2004; JUNG et al. 2007). Regenerace napadených porostů byla pozorována především v roce 2021, který byl srážkově nadprůměrný oproti přechozím několika velmi suchým ročníkům (ČHMÚ 2024), a u středně až silně napadených olších byla pozorována výrazná kmenová výmladnost.

U silně napadených jedinců byl pozorován růst nekrotické léze každoročně až o několik desítek cm (viz Obrázek 33, kapitola 5.1.1.), a některé léze po 5 letech hodnocení dosáhly

až 4 metrů délky (viz Obrázek 34, kapitola 5.1.1.). Toto potvrzuje ve své studii i ČERNÝ et STRNADOVÁ (2010). Opakované izolace potvrdily přetrvávající výskyt patogenu v napadených stromech, zároveň však jeho další šíření. Jakmile se patogen v oblasti usadí, může se šířit prostřednictvím plovoucích zoospor z infikovaných kořenů, což vede k rychlému šíření přes říční sítě (JUNG et BLASCHKE 2004). Jak vyplývá z rozmístění lokalit v rámci této disertační práce (Obr. 20, kap. 4.1.), studované olšové porosty se nacházely většinou na samostatných přítocích větších toků. pouze lokality na řece Loděnice a Litavka se nacházely na jednom toku, a lze zde tedy předpokládat postupné šíření patogenu po směru toku. Na obou těchto tocích byl zaznamenán výskyt již v minulosti, na řece Litavka v Jincích byl patogen *P.* ×*alni* izolován a identifikován již v roce 2006 (ČERNÝ et STRNADOVÁ 2010). Další izolace z této lokality pochází z roku 2020, kdy zde provedl izolaci *P.* ×*alni* PECKA (2023), který ve své studii zkoumal změny populační struktury *Phytophthora* ×*alni* v povodí Vltavy za posledních 14 let. Jeho výsledky ukázaly, že dominantní genotyp Pxa-1 zvýšil své zastoupení z 63 % na 86 % během sledovaného období; dále potvrdil přítomnost genotypu Pu-E1 u druhu *Phytophthora uniformis*, zatímco další druhy rodu *Phytophthora* byly izolovány jen zřídka. PECKA (2023) dále identifikoval *P.* ×*alni*, genotyp Pxa-1, také na horním toku řeky Loděnice (izolace 2021). Lze tedy předpokládat, že izoláty získané v rámci této disertační práce na dolním toku Loděnice odpovídají taktéž tomuto genotypu a jeho rozšíření v rámci toku přetrvává nejméně 10 let od doby první izolace (ČERNÝ et al. 2016a).

Výsledky ukázaly, že vysoký podíl symptomatických jedinců na lokalitě neodpovídá vždy stejnému podílu jedinců s vysokou defoliací (nad 75 %), a to včetně zahrnutých pařezů. Příkladem je lokalita Příbram, která se nachází na sezónně zaplavovaném pomalém toku (vedlejší rameno Litavky), což představuje ideální podmínky pro postupný rozvoj infekce (JUNG et BLASCHKE 2004; ČERNÝ et STRNADOVÁ 2010). Během 5 let hodnocení zde došlo k výraznému zhoršení zdravotního stavu a odumření několika napadených jedinců. Izoláty *P.* ×*alni* a *P. uniformis* pocházející z této lokality byly použity v infekčním experimentu s podkorní inokulací olše lepkavé (MACHÁČOVÁ et al. 2024), jehož výsledky ukázaly srovnatelný rozvoj lézí a způsobenou mortalitu u obou druhů patogenu. Z pozorovaného vývoje lze usoudit, že lokalita je silně zamořená relativně agresivními kmeny *P.* ×*alni* (izolována z více jedinců na lokalitě) a *P. uniformis*, a postupně zde dochází k rozpadu olšového porostu, což významně podporují podmínky stanoviště. Jak potvrzují jiné studie, zaplavované oblasti jsou daleko více poškozované patogenem *P. alni* (REDONDO et al. 2015). Toto zjištění potvrdili i STRNADOVÁ et al. (2010) v experimentu s umělou inokulací, který potvrdil, že současný výskyt stresu způsobeného zaplavením a infekcí *P. alni* je pro olši lepkavou fatálnější než samotná infekce patogenem.

Faktory ovlivňující rozvoj a šíření patogenů

Z výsledků této práce vyplývá, že statisticky významným faktorem ovlivňujícím pravděpodobnost napadení je vzdálenost od vodního toku. Během 5 let hodnocení narostl

počet symptomatických jedinců se stupněm napadení [1−4] ve vzdálenosti do 0,5 m od vodního toku (kategorie 1), zatímco stromy nejvíce vzdálené (kategorie 4 = 5−6 m) nevykazovaly žádné napadení, což je v souladu s dalšími průzkumy (THOIRAIN et al. 2007). THOIRAIN et al. (2007) dále zjistili asociaci mezi vyšším výskytem napadení a přítomností mostu nebo cesty přes řeku, což koresponduje s výsledky této práce. Blízkost mostu nebo cesty vedoucí přes řeku souvisí s možností šíření patogenu s kontaminovanou půdou na pneumatikách vozidel nebo podrážkách bot (REDONDO et al. 2015; RUFFNER et al. 2019; ČERNÝ et al. 2020). Výsledky dále ukázaly pozitivní korelaci mezi průměrem kmene a pravděpodobností napadení. To může souviset s tím, že stromy s větším průměrem mají rozsáhlejší kořenový systém, a tedy vyšší pravděpodobnost napadení patogenem. Také pokryvnost a podíl olší se ukázaly jako faktory, které mají významný pozitivní vliv na napadení. Nejvyšší počet napadených jedinců byl zaznamenám v kategoriích s nejvyššími hodnotami pokryvnosti i podílu olší. Tento výsledek může souviset se zjištěním, že patogen přežívá v půdě bez svého hostitele méně než rok (JUNG et BLASCHKE 2004), což znamená, že se snižující se dostupností hostitele v porostu (tzn. nižší podíl olší) se snižuje i množství inokula v prostředí.

Výsledky dále ukázaly, že s nadmořskou výškou klesá pravděpodobnost napadení, jedná se však hlavně o nejvyšší kategorii (600−700 m n. m.), která se nachází převážně v oblasti CHKO Brdy. Patogen do této lokality nebyl zřejmě ještě zavlečen, a proto na základě výsledků této práce nelze vyslovit jednoznačný závěr o působení samotného faktoru nadmořské výšky. Malý vliv nadmořské výšky však potvrzují rovněž nejnovější modely (CHUMANOVÁ et al. 2021). Nižší zastoupení patogenu v rozsahu 3−5 % ve vyšších nadmořských výškách (nad 350 m n. m.) zjistil ve své studii také ČERNÝ et al. (2015). Přežívání patogenu v prostředí vyšších nadmořských výšek je však limitováno zejména průběhem počasí během zimy, resp. teplotou vzduchu a délkou období se silným mrazem (REDONDO et al. 2015). Z laboratorních experimentů vyplývá, že patogen *P.* ×*alni* je schopný přežít teplotu -7,5 °C po dobu 3 týdnů, až při teplotě -10 °C odumírá po 2 dnech (ČERNÝ et al. 2012). Proto je možné předpokládat, že patogen přežívá daleko lépe mírnější zimy oproti zimám s větším počtem mrazových dní (maximální teplota během dne nestoupne nad 0 °C) (ČERNÝ et STRNADOVÁ 2012), což odpovídá chladnější oblasti CHKO Brdy.

Naopak průběh léta, resp. teplota vody v řece, může mít významný vliv na šíření patogenu, což je důležité v kontextu změny klimatu. Růstové optimum patogenu *P. alni* je 22,5 až 25 °C (BRASIER et al. 1995), zatímco sporulace při teplotě 9 až 10 °C je velmi nízká (CHANDELIER et al. 2004), což vysvětluje lepší reprodukční schopnost patogenu při vyšší teplotě vody. Studie ukazují, s každým zvýšením teploty vody o 1 °C dochází k 1,2násobnému zvýšení rizika vzniku onemocnění (průměrná letní teplota vody v řece byla 11,6 až 19,7 °C) (THOIRAIN et al. 2007). V některých případech mohou klimatické změny vést i k opačnému efektu, jak ukazují některé modely (AGUAYO et al. 2014), neboť příliš vysoké teploty během léta mohou být naopak limitující s ohledem na výskyt patogenu. Mezi lety 2018 až 2023 bylo zaznamenáno několik historicky nejteplejší let (ČHMÚ 2024), což

mohlo ovlivnit šíření napadení na hodnocených lokalitách. Extrémní roky z pohledu průměrné roční teploty byly zároveň charakteristické střídáním srážkově podprůměrných a nadprůměrných měsíců (ČHMÚ 2024). Jedním z dalších projevů změny klimatu je častější výskyt povodní (TRADOWSKY et al. 2023; ČHMÚ 2024), během kterých dochází k významnému poškození stromů rostoucích v břehových porostech v důsledku mechanického poškození kmenů a zároveň v důsledku anoxie (STRNADOVÁ et al. 2002; CLAESSENS 2003; WEBBER et al. 2004). Spolupůsobení všech výše uvedených faktorů souvisejících s globální změnou klimatu pravděpodobně povede v budoucnu v oblasti střední Evropy k vyšší pravděpodobnosti šíření patogenu a větší zranitelnosti hostitelských stromů.

Hodnocení defoliace

Výsledky hodnocení defoliace ukázaly, že cca 80 % hodnocených olší vykazovalo nízkou úroveň defoliace (0−25 %) po celou dobu 5 let hodnocení. Ke změnám docházelo spíše u jedinců se střední až vysokou (50−100 %) hodnotou defoliace. V roce 2019 byly tyto hodnoty zaznamenány u 7,5 % jedinců, v roce 2020 u 9,5 % jedinců. Zvýšení úrovně defoliace bylo pravděpodobně ovlivněno napadení patogenem (JUNG et BLASCHKE 2004; ČERNÝ et al. 2016a). Stromy s vyšším stupněm napadení postupně vykazovaly vyšší podíl výrazné defoliace, což bylo potvrzeno i statisticky významnou korelací ve všech hodnocených letech. Defoliace v letech 2019 a 2020 byla ovlivněna přetrvávajícím obdobím silně podprůměrných srážek již od roku 2015 (ČHMÚ 2024). Srážkově příznivější rok 2021 se projevil na zdravotním stavu porostů pozitivně, nicméně napadené stromy vykazovaly postupující prosychání v korunách, a proto byla celková defoliace v porovnání s rokem 2020 vyšší. V roce 2023 došlo u většiny lokalit k mírnému nárůstu úrovně defoliace, což zřejmě souviselo s vývojem teplot (rok 2023 byl vyhodnocen jako nejteplejší za období od roku 1963; ČHMÚ 2024), ale také s vývojem patogenu.

Hodnocení fyziologických parametrů

Výsledky fotosyntetických měření ukázaly, že rychlost čisté fotosyntézy (Pn) se v roce 2020 mezi zdravými a napadenými olšemi lepkavými průkazně nelišila. V roce 2020 byly u zdravých olší naměřené průměrné hodnoty 8,8 μmol m^{-2} s^{-1} a u napadených olší 7,9 μmol m^{-2} s^{-1}. Na některých lokalitách však byly zaznamenány rozdíly mezi roky 2020 a 2021. V roce 2021 však byly u napadených jedinců zjištěny vyšší průměrné hodnoty Pn oproti zdravým stromům (13,6 ± 3,9 vs 12,9 ± 2,9 μmol m^{-2} s^{-1}). Tyto překvapivé výsledky je možné vysvětlit následovně – při napadení vodivých pletiv patogenem *P.* ×*alni* rostlina reaguje produkcí tylózy, tedy prorůstáním parenchymatických buněk do cév xylému, což může vést ke snížení hydraulické vodivosti (OSSWALD et al. 2014; VIEITES-BLANCO et al. 2023). Za běžných okolností jsou tedy vodivé cesty při napadení obtížně průchodné pro vodu a omezený je i transport živin ve floému. CLEMENZ et al. (2008) zjistili, že k zavírání průduchů u napadených dřevin dochází nejen vlivem tylózy ve vodivých pletivech, nýbrž vlivem poškození floému a akumulace škrobu v listech. V rámci našeho terénního měření

jsme zjistili, že pokud odřízneme větev olše (metodika viz kapitola 4.1.), zásobení listy vodou se okamžitě znásobí. To vede k otevření průduchů, k maximalizaci příjmu CO_2 a transpirace rovněž není omezená. I přesto, že má větev málo listů v důsledku defoliace a listy jsou chlorotické v důsledku omezeného transportu živin, krátkodobě dokážou navýšit fotosyntézu a svými parametry převýšit fyziologické parametry zdravého stromu. Zbývající listy u napadených olší tedy „dohání" uhlíkový deficit chybějícího asimilačního aparátu, což naznačuje ve své studii také FERREIRA et al. (2012), kteří zjistili, že dochází k akumulaci asimilátů v listoví olší napadených patogenem *P.* ×*alni*. V roce 2021 bylo zaznamenáno zvýšení Pn také u jedinců s vysokou úrovní defoliace, což odpovídá zejména jedincům s vysokou úrovní napadení. Podobné výsledky byly zjištěny také u stomatální vodivosti (Gs). V tomto parametru byl zjištěn statisticky významný rozdíl v roce 2021, kdy napadené stromy měly průměrně vyšší Gs (0,4 ± 0,1 mmol m^{-2} s^{-1}) než stromy zdravé (0,2 ± 0,1 mmol m^{-2} s^{-1}). Dá se konstatovat, že srážkově bohatší rok 2021 se projevil v lepší a stabilnější dostupností vody z půdního profilu, což má vliv na otevření průduchů a tím i na výkon fotosyntézy. Olše je obvykle považována za rostlinu s vysokými nároky na půdní vlhkost. Některé studie označují olši za tzv. isohydrickou dřevinu, která výrazně reaguje na snížení obsahu půdní vlhkosti (GÖRANSSON et al. 2016), a již při mírném vodním stresu zavírá průduchy (MCDOWELL et al. 2008). Jiné studie se v tomto liší a uvádí, že olše mají anizohydrický charakter, který se naopak projevuje omezenou regulací Gs (ESCHENBACH et KAPPEN 1999). Nižší hodnoty Gs naměřené v roce 2020 u všech studovaných olší v porovnání s rokem 2021 (viz Tab. 14, kapitola 5.1.1.) odpovídají charakteru isohydrických druhů, které obvykle vykazují nižší hodnoty Gs při stresu než druhy anisohydrické (GÖRANSSON et al. 2016).

Při silném poškození jemných kořenů dochází k narušení příjmu vody a živin, což se může projevit jako snížení vodního potenciálu listů, které má za následek uzavření průduchů a tím i snížení fotosyntézy (OSSWALD et al. 2014). Z našich výsledků vyplývá, že vyšší hodnoty **vodního potenciálu** byly naměřeny u napadených olší (-0,83 ± 0,5 MPa) oproti zdravým olším (-0,74 ± 0,4 MPa). Lepší zásobení vodou v pletivech napadených olší zřejmě souvisí s celkově menší listovou plochou u napadených olší. Olše lepkavá má navíc schopnost čerpat vodu z hlubších vrstev půdy, což jí umožňuje udržovat stabilní vodní potenciál i v obdobích sucha (ESCHENBACH et KAPPEN 1999). Z výsledků vyplývá, že zbývající listy napadených olší jsou i přes poškození kořenů a vodivých pletiv dobře zásobeny vodou. Výsledky odpovídají také závěrům CLEMENZE et al. (2008), kteří ve své studii zjistili, že olše uměle inokulované patogenem *P.* ×*alni* měly méně negativní vodní potenciál listoví.

Z našich výsledků dále vyplývá, že u napadených stromů s vysokou defoliací dokážou zbylé listy vyprodukovat více fotosyntetických produktů na jednotku spotřebované vody. To bylo patrné z výsledků okamžité **efektivity využití vody** (WUEi) zejména v suchém roce 2020, kdy byly vyšší hodnoty naměřeny u napadených oproti zdravým olším (5,8 ± 2,72 vs 4,7 ± 1,76 μmol CO_2/mmol H_2O). V následujícím roce byl zjištěn opačný trend s vyšší průměrnou hodnotou WUEi u zdravých oproti napadeným jedincům (5,6 ± 1,5 vs 4,3 ± 1,31 μmol

CO_2/mmol H_2O). V obou letech odpovídají naměřené hodnoty běžným hodnotám WUEi u listnatých dřevin (TEIZ et ZEIGER 2010). Naše pozorování odpovídá studii CLEMENZE et al. (2008), kteří zaznamenali minimální rozdíl WUE u kontrolních a inokulovaných olší patogenem *P.* ×*alni*.

Jedním z využívaných nástrojů pro detekci stresu u rostlin je měření rychlé kinetiky fluorescence chlorofylu (STRASSER et al. 2004). Výsledky našeho terénního měření ukázaly, že přítomnost symptomů napadení patogenem se ve fluorescenčních parametrech neprojevila. Stejné závěry uvádí i ORAMOVÁ (2024), která v rámci terénního šetření na zdravých a napadených olších lepkavých v povodí řeky Litavky zjistila, že s intenzitou napadení stromu roste šíře rozptylů měřených fyziologických parametrů listoví, včetně fluorescenčních parametrů. Porovnání hodnot maximálního výtěžku fluorescence (parametr Φ_{PO} vypočítán jako poměr mezi variabilní (Fv) a maximální (Fm) fluorescencí) ukázalo, že průměrné hodnoty se u zdravých i napadených olší pohybovaly okolo 0,75 až 0,85, což naznačuje hodnoty zdravých rostlin (MAXWELL et JOHNSON 2000). Výsledky studií zaměřených na měření fluorescence chlorofylu a provedené na rostlinách uměle inokulovaných patogenem obecně ukazují rozdílné závěry. Při napadení kořenů patogeny r. *Phytophthora* je poškození většinou rychle reflektováno ve vitalitě listoví, což bylo potvrzeno v rámci půdních inokulací (FLEISCHMANN et al. 2010; CORCOBADO et al. 2022). Naopak při poškození podkorních pletiv dochází primárně k nekróze kortexu (v případě mladých rostlin) a floému, což se projeví omezením proudu asimilátů, nikoli však ve fluorescenci chlorofylu, jak potvrdila např. studie s podkorní inokulací olše lepkavé patogenem *P.* ×*alni* (MACHÁČOVÁ et al. 2024). Na druhou stranu PFANZ et al. (2015) zjistili nízké hodnoty Fv/Fm po podkorní inokulaci, hodnoty však byly měřené na chlorenchymu kortexu. Ve všech těchto zmíněných případech však šlo o napadení mladých rostlin (max. 2 roky staré), oproti tomu u dospělých stromů nedochází k degradaci celého kořenového systému ani podkorních pletiv tak rychle a strom je naopak schopný intenzivní regenerace poškozených pletiv (CLAESSENS 2003), což potvrzují i výsledky zjištěné v této disertační práci.

Jelikož příznaky v koruně se často objevují až při pokročilém stadiu hniloby kořenů a krčků, může dojít ke ztrátě až 50 % postranních kořenů bez vlivu na růst nadzemní části rostliny (ERWIN et RIBEIRO 1996). U některých napadených jedinců se vyskytovaly rozsáhlé léze na bázi kmene, přesto však nebyly příznaky v koruně výrazné. Na základě výsledků fyziologických parametrů lze konstatovat, že poškození vodivých pletiv na kmeni se nemusí odrazit ve výkonu koruny, jelikož vodivá pletiva dokážou zásobit korunu i se zlomkem fungujících cévních svazků, což potvrzují i jiné studie (LUDWIG 1952; ČERMÁK et al. 2002). Naopak pokud dřevina trpí nedostatkem vody (vlivem nízké půdní vlhkosti nebo poškozením kořenů), listy a řapíky budou trpět jako první a budou případně opadávat, aby chránily hlavní stonky/větve před vážným poškozením (BERNINGER et NIKINMAA 1994). Zároveň jsou řapíky více zranitelné v důsledku kavitace způsobené vodním stresem oproti větvím (TYREE et al. 1993). Z toho důvodu je možné pozorovat v korunách napadených olší

typické prosychání okrajových větví (tzv. dieback) (JUNG et BLASCHKE 2004), ale tyto příznaky se nemusí nutně projevit na jiných fyziologických parametrech. Z hodnocení fyziologických parametrů tedy vyplývá, že každý měřený dospělý strom olše lepkavé reaguje na napadení patogenem *P.* ×*alni* jinak v závislosti na podmínkách stanoviště, předchozím fyziologickém stavu ovlivněném např. povětrnostními podmínkami nebo na základě své genetické výbavy (ŠTOCHLOVÁ et al. 2016). U bezpříznakových stromů, které byly v rámci měření považovány za zdravé, existuje pravděpodobnost latentního charakteru napadení (ČERNÝ et al. 2010). Napadené i zdravé stromy se totiž nacházejí na jednom toku několik desítek metrů od sebe a musely logicky přijít do kontaktu s patogenem, takže je možné, že u těchto stromů probíhá prozatím bezpříznakový rozvoj choroby. Může také dojít k tomu, že daný strom zastavil šíření patogenu uvnitř svých pletiv a jedná se o odolného jedince (OSSWALD et al. 2014), což by vysvětlovalo podobné hodnoty fotosyntetických parametrů naměřené u zdravých i napadených jedinců.

6.1.2. Monitoring povodí Odry

V letech 2019 a 2020 bylo v povodí Odry hodnoceno celkem 361 stromů na 12 lokalitách. Přítomnost symptomů fytoftorového onemocnění v roce 2019 byla zjištěna u 12 % jedinců olše, z toho 7,5 % olše lepkavé a 4,5 % olše šedé. Více napadených jedinců se vyskytovalo v nižších nadmořských výškách než ve vyšších polohách, nicméně rozdíly v průměrném stupni napadení nebyly mezi jednotlivými výzkumnými plochami statisticky průkazné. Izolace ze vzorků podkorních pletiv nepřinesla zjištění žádného patogenu komplexu *Phytophthora alni*, což mohlo být způsobeno tím, že se jednalo o staré neaktivní léze. Odběry půdních vzorků potvrdily přítomnost běžných půdních oomycet r. *Pythium* a *Phytopythium*, žádný druh r. *Phytophthora* zjištěn nebyl. Důležité je uvést, že návnadovou metodou, která byla použita, není možné zachytit odumřelé nebo odpočívající propagule patogenu (LA SPADA et al. 2022), a neúspěch detekce nemusí nutně znamenat absenci organismů (ERWIN et RIBEIRO 1996). Podle dosavadních průzkumů provedených v Česku nebyl žádný patogen komplexu druhů *P. alni* z oblasti povodí Odry reportován (ČERNÝ et al. 2016a). Příznaky pozorované na bázích kmenů byly pravděpodobně způsobeny silným prouděním vody, což mohlo vést k mechanickému poškození borky a vytvoření vstupní brány pro infekci jinými patogeny (ČERNÝ et al. 2010). U toků ve vyšších polohách s užším korytem, rychlejším průtokem a chladnějším podnebím byl již v minulosti zjištěn obecně nižší výskyt fytoftorového onemocnění např. ve Francii (THOIRAIN et al. 2006). Olšové porosty podél řek Morávka, Mohelnice, Ostravice a Čeladénka se zdají být prosté napadení *P. alni*, a lze tedy konstatovat, že pozorované příznaky napadení na kmenech jsou způsobeny jinými vlivy. V nižších nadmořských výškách však dochází k častým jarním záplavám, které se také mohou podílet na poškození kmenů. Podél částí toků s širším korytem a pomalejším prouděním vody jsou však podmínky pro šíření patogenu příznivé (ČERNÝ et al. 2016a) a bylo by vhodné provádět pravidelný monitoring pro případnou včasnou detekci napadení.

Mezi dvěma srovnávanými druhy olše nebyl zaznamenán rozdíl v úrovni napadení. Z průzkumů WEBBER et al. (2004) však vyplývá, že olše lepkavá je k napadení *P. alni* více náchylná, oproti tomu olše šedá vykazuje nejvyšší míru rezistence. Stejné výsledky zjistili u některých genotypů olše šedé i CHANDELIER et al. (2016) při hodnocení inokulačních metod pro testování rezistence proti *P. alni*.

Stromy se střední až vysokou hodnotou **defoliace** (50−100 %) byly zaznamenány jen v 5 % případů, a tato hodnota se v roce 2020 ještě lehce snížila. Největší vliv na poškození stromů a pravděpodobně také na defoliaci měl průběh počasí v daných letech. V roce 2019 byly zaznamenány podnormální úhrny srážek, které negativně ovlivnily průtoky v rámci povodí Odry, naopak v roce 2020 byly zaznamenány nadprůměrné hodnoty odtoků, které dosáhly 149 % dlouhodobého ročního průměru (1580 mm, stanice Raškovice, řeka Morávka), a v oblasti povodí Odry se vyskytovaly povodně v červnu a v říjnu 2020 (ČHMÚ 2024). Záplavy a poškození kořenů může vést k oslabení dřevin, které jsou pak náchylnější k napadení např. podkorním a listožravým hmyzem (např. bázlivec olšový) a sekundárními patogeny (JUNG et BLASCHKE 2004; REDONDO et al. 2015; BJELKE et al. 2016). Mezi oběma druhy olše byl zaznamenán statisticky významný rozdíl, a vyšší průměrná hodnota i rozptyl dat defoliace byly zjištěny v obou letech u olše šedé.

Fyziologické parametry, které byly v obou letech měřeny poslední týden v srpnu, ukázaly hodnoty odpovídající zdravým stromům u parametru rychlosti čisté fotosyntézy (Pn). U olše šedé byly v obou letech naměřeny mírně vyšší hodnoty Pn (2019: 12,4 ± 4,1 μmol m^{-2} s^{-1}; 2020: 11,9 ± 3,2 μmol m^{-2} s^{-1}) než u olše lepkavé (2019: 10,1 ± 2,7 μmol m^{-2} s^{-1}; 2020: 11,0 ± 2,3 μmol m^{-2} s^{-1}), rozdíl však nebyl statisticky průkazný. U stomatální vodivosti (Gs) také nebyl zaznamenán významný rozdíl mezi druhy olší, ale byl naměřen rozdílný trend mezi hodnocenými roky. Olše šedá měla v roce 2020 nižší hodnoty Gs v roce 2019, u olše lepkavé tomu bylo naopak. Zároveň byl u olše šedé zjištěn významný rozdíl v efektivitě využití vody (WUEi) mezi roky 2019 a 2020. Výsledky naznačují, že naměřené rozdíly ve fotosyntetických parametrech jsou dané druhovou odlišností. Přestože se areál výskytu obou druhů překrývá (HOUSTON et al. 2016a, b), olše šedá se vyskytuje převážně ve vyšších nadmořských výškách a je těmto podmínkám lépe přizpůsobena (KŘÍŽ et al. 1971; ČERNÝ et al. 2013). Jednou z adaptací je přítomnost a struktura listových povrchový struktur jako jsou např. trichomy, které se mezi olší šedou a olší lepkavou odlišují (HARDIN et BELL 1986). Dřeviny rostoucí ve vyšších nadmořských výškách mají běžně vyšší hustotu trichomů jako ochranu před vyšším UV zářením nebo chladem. Trichomy se podílejí na snížení transpirace tím, že vytvářejí mikroklima na povrchu listů, což je zvláště důležité v suchých a větrných podmínkách, které jsou ve vyšších nadmořských výškách běžné (WU et al. 2021), zároveň větší množství trichomů může významně ovlivňovat výkon fotosyntézy (KARABOURNIOTIS et al. 2021). Vyšší úroveň fotosyntézy naměřená u olše šedé může tedy souviset s lepší adaptací tohoto druhu na podmínky horských oblastí (HOUSTON et al. 2016b). Olše šedá také lépe snáší kratší zaplavení kmene během vegetační doby, ale i pokles hladiny podzemní vody, též snese i zanesení sutí a různá zranění (KŘÍŽ et al. 1971), zatímco olše lepkavá

upřednostňuje vlhčí a chladnější expozice zejména s větší vzdušnou vlhkostí (CLAESSENS et al. 2010). Špatně však snáší výkyvy hladiny spodní vody a v létě nesnáší vícedenní zatopení vodou (VÁLEK 1977). Nižší úroveň Pn u olše lepkavé může souviset s horší adaptací tohoto druhu na vyšší nadmořskou výšku. Tuto hypotézu podporuje studie provedená na olši zelené v Polsku, která odhalila, že olše rostoucí ve vyšších polohách mají nižší celkový obsah chlorofylu, což se projevilo nižší účinností fotosyntetického aparátu vlivem kombinace stresových faktorů (teplotní extrémy, vysoká úroveň UV záření) (SKOCZOWSKI et al. 2021).

6.2. Podkorní inokulace olše lepkavé patogeny rodu *Phytophthora* v různých koncentracích CO_2

Patogenita druhů z komplexu *Phytophthora alni* vůči všem evropským druhům olší byla prokázána v několika studiích, přičemž agresivita jednotlivých druhů r. *Phytophthora* se mezi studiemi lišila (Brasier et Kirk 2001; Santini et al. 2003; Jung et Blaschke 2006; Černý et Strnadová 2010; Haque et Diez 2012; Haque et al. 2015; Bjelke et al. 2016; Chandelier et al. 2016; Romportl et al. 2016; Zamora-Ballesteros et al. 2017). Testy patogenity zahrnující inokulaci podkorních pletiv na dospělých kmenech olše lepkavé odhalily vysokou agresivitu několika kmenů *P*. ×*alni* a nizozemských kmenů *P*. *multiformis*, zatímco německé kmeny *P*. *multiformis* a švédské kmeny *P*. *uniformis* byly pouze středně patogenní (Brasier et Kirk 2001). Nicméně, jiné studie naznačují, že *P*. *uniformis* může být pro o. lepkavou poměrně agresivní (Corcobado et al. 2017; Zamora-Ballesteros et al. 2017).

V naší studii způsobily oba druhy *P*. ×*alni* (PAA) a *P*. *uniformis* (PAU) rozsáhlé léze podkorních pletiv a vysokou mortalitu u olše lepkavé, zatímco *P. plurivora* (PLU) vytvořila pouze malé léze, které nevedly k odumření rostliny. Léze způsobené PAA a PAU se mezi sebou statisticky významně nelišily. Nicméně léze PAU vedly k vyšší míře mortality (45,8 %) ve srovnání s PAA (33,3 %), i když tento rozdíl nebyl statisticky významný. V podobné studii s podkorní inokulací provedenou Zamora-Ballesteros et al. (2017) vykazovaly PAA a PAU podobnou agresivitu vůči o. lepkavé s délkou lézí přibližně 35−40 mm. V jejich studii byla pravděpodobnost přežití 37 týdnů po inokulaci (p.i.) 50−70 % pro PAA (v závislosti na použitém izolátu) a 50 % pro PAU. Podobné míry mortality byly zjištěny i v naší studii 13 týdnů p.i., avšak zde byly léze podstatně delší, dosahující průměrně 110 mm u PAA a 117,8 mm u PAU. Léze se u některých rostlin rychle rozšířily během prvních dvou týdnů p.i. a někdy dosáhly své maximální délky během této doby. Podobný scénář byl pozorován i v dalších studiích s podkorní inokulací (Zamora-Ballesteros et al. 2017; Marques et al. 2019). Gibbs (2003) uvedl, že u 15 měsíců starých sazenic o. lepkavé inokulovaných druhy z komplexu *P. alni* tři týdny p.i. byly průměrné délky lézí v rozmezí 28 až 68 mm. Srovnání s výsledky z jiných studií naznačuje vyšší agresivitu izolátů PAA a PAU nebo vyšší citlivost genotypů o. lepkavé použitých v naší studii. Zdá se, že genotyp izolátu je důležitým faktorem ovlivňujícím vývoj lézí a mortalitu, jak bylo prokázáno v různých experimentech s PAA (Haque et Diez 2012; Chandelier et al. 2016; Štochlová et al. 2016; Zamora-Ballesteros et al. 2017). Citlivost nebo odolnost hostitelské rostliny závisí na mnoha proměnných. Významné rozdíly v citlivosti/toleranci jednotlivých stromů o. lepkavé vůči PAA byly prokázány v Belgii, Německu a Česku (Jung et Blaschke 2006; Chandelier et al. 2016; Štochlová et al. 2016). V rozsáhlé studii zahrnující 90 genotypů o. lepkavé odebraných po celém Česku zjistili Štochlová et al. (2016), že rozdíly v citlivosti vůči PAA závisí také na geografickém původu a nadmořské výšce genotypů olší. Geografické vzorce rezistence by mohly souviset s minulou expozicí

vůči invazním patogenům r. *Phytophthora* (FRAMPTON et al. 2013), protože stromy rostoucí v říčních koridorech, včetně olší, jsou zvláště vystaveny mnoha cizorodým patogenním oomycetám (ČERNÝ et al. 2011; MILENKOVIĆ et al. 2018; JUNG et al. 2019; CORCOBADO et al. 2023).

Věk hostitelské rostliny je dalším důležitým faktorem ovlivňujícím náchylnost k patogenům. Tenká borka mladých výhonů o. lepkavé s menším průměrem může být náchylnější ke kolonizaci pletiv než zralejší pletiva starších a silnějších výhonů (HAQUE et al. 2015). To je v souladu s výsledky naší studie, kdy první odumírající rostliny byly ty s nejmenším průměrem krčku (cca 4−6 mm). Naopak rostliny se silnějšími krčky (> 9 mm) přežily až do konce experimentu.

Phytophthora plurivora (PLU) vytvořila léze o délce přibližně 10−30 mm, ale nezpůsobila žádnou mortalitu. Všechny inokulované rostliny zahojily poškození pletiv kalusovým pletivem, a neprojevily se u nich žádné příznaky vadnutí nebo odumírání. Jako široce rozšířený patogen však byla PLU v mnoha testech patogenity považována za poměrně agresivní vůči různým hostitelským rostlinám (JUNG et al. 2003; RYTKÖNEN et al. 2012; HENRICOT et al. 2014; MILENKOVIĆ et al. 2018; OSZAKO et al. 2018; MILANOVIĆ et al. 2020; ĎURKOVIČ et al. 2021). Několik studií prokázalo, že PLU je patogenní pro sazenice olší, což je v rozporu s našimi výsledky. ZAMORA-BALLESTEROS et al. (2017) ve studii s podkorní inokulací na jednoletých sazenicích o. lepkavé zaznamenali délky lézí 35−40 mm a pravděpodobnost přežití sazenic přibližně 50 % po 37 týdnech p.i. (90 % po 13 týdnech). Podobně MRÁZKOVÁ et al. (2013) pozorovali délku lézí 35−40 mm na dvouletých sazenicích olší po 6 týdnech p.i. V jiné studii s podkorní inokulací zjistili HAQUE et al. (2014), že všechny inokulované rostliny uvadly a odumřely tři měsíce po inokulaci. V testu s inokulací zoosporami na odříznutých výhonech o. lepkavé zjistili JUNG et NECHWATAL (2008), že PLU (pod svým dřívějším názvem *P. citricola*) způsobila během tří týdnů významně delší léze než PAA (123 mm oproti 72 mm). Tyto kontrastní výsledky naznačují, že různé genotypy PLU vykazují značné rozdíly v agresivitě vůči o. lepkavé. V naší studii, i když byl patogen brzy omezen tvorbou kalusu, byl úspěšně reizolován ze všech inokulovaných rostlin. Z výsledků tedy vyplývá, že tento genotyp PLU má nízkou virulenci vůči o. lepkavé, ale je schopen přežít v odumřelém pletivu poměrně dlouhou dobu (13 týdnů), což pravděpodobně souvisí s tvorbou oospor (JUNG et BURGESS 2009). Patogen by však pravděpodobně po určité době ztratil svou životaschopnost a odumřel. To bylo prokázáno ve studii ĎURKOVIČE et al. (2021), kteří inokulovali kmeny 10letých topolů ve venkovních podmínkách patogeny *P. cactorum* a *P. plurivora*, a zjistili, že po čtyřech letech byly rány zcela zahojené bez přítomnosti patogenů.

Studií, které se zabývají interakcí mezi fytoftorou a hostitelskými rostlinami při zvýšených úrovních CO_2, bylo provedeno velmi málo, a jejich závěry ukazují protichůdné výsledky. OSZAKO et al. (2016) nezjistili žádný vliv zvýšené koncentrace CO_2 (800 ppm) na vývoj kořenů a výhonů sazenic dubu rostoucích v neinfikované půdě nebo v půdě infikované

patogenem *P. quercina*. V naší studii byla zjištěna statisticky významná negativní korelace mezi zvýšenou úrovní CO_2 a poměrem nadzemní/podzemní biomasy u sazenic o. lepkavé u kontrolní skupiny a rostlin inokulovaných *P. plurivora*, ale nikoli u rostlin inokulovaných agresivními kmeny PAA a PAU. Ačkoli míra mortality se mezi běžnými a zvýšenými úrovněmi CO_2 (830 ppm) významně nelišila, byl pozorován vliv úrovní CO_2 na rozsah lézí u rostlin inokulovaných PAU. Při zvýšené úrovni CO_2 PAU způsobila významně menší plochu a šířku lézí, stejně jako tendenci k menší délce lézí. Podobně ve studii s rajčaty byla zjištěna tendence ke zvýšené toleranci vůči *P. nicotianae* (označována jako *P. parasitica*) při zvýšené úrovni CO_2 (JWA et WALLING 2001). Na druhou stranu v jiných studiích vykazovaly patogeny r. *Phytophthora* obecně vyšší agresivitu vůči hostitelským rostlinám při zvýšené úrovni CO_2. TKACZYK et al. (2014) uvedli, že *P. cactorum* a *P. plurivora* způsobily rozsáhlejší destrukce jemných kořenů sazenic buku při zvýšené úrovni CO_2 ve srovnání s běžnými podmínkami. Podobné výsledky se zvýšenou náchylností sazenic buku k *P. plurivora* (označována jako *P. citricola*) při zvýšené úrovni CO_2 byly zaznamenány FLEISCHMANNEM et al. (2010).

Provenience, resp. genotyp dřevin, může předpovědět možnou náchylnost nebo odolnost vůči novým patogenům. V této studii nebyl pozorován žádný významný rozdíl v reakci rostlin. Vývoj lézí a pravděpodobnost přežití byly podobné u obou populací olší (Litavka, Beskydy). Podle pozorování v rámci monitoringu (kap. 5.1.2.) populace olší v Beskydech není napadena patogeny komplexu *P. alni*. Naopak populace z Litavky je infikována *P.* ×*alni* více než 20 let (ČERNÝ et STRNADOVÁ 2010). Na základě našich výsledků mohou být obě populace ovlivněny na stejné úrovni všemi třemi patogeny r. *Phytophthora* použitými v této studii.

6.3. Historický přehled a faktory působící chřadnutí dubových porostů

Fenomén chřadnutí dubů existoval vždy, avšak nikdy v takovém rozsahu, v jakém se začal objevovat od 80. letech 20. století a jak pokračuje dodnes. Pravděpodobně se dříve jednotlivě působící faktory začaly kumulovat a působit v synergii. Z tohoto důvodu je chřadnutí dubů považováno za dynamický proces s komplexními vzájemnými vztahy mezi hostitelem a jeho prostředím (RAGAZZI et al. 1993; SOMOGYI 2000) a za synergický komplex abiotických, biotických a antropogenních faktorů, které působí společně (MARCU 1987; FÜHRER 1998; SIWECKI et UFNALSKI 1998; SELOCHNIK et al. 2015). Kombinace abiotických a biotických stresových faktorů, jako jsou sezónní suché periody a teploty pod bodem mrazu v zimě spolu s vodním stresem, defoliátory a houbovými patogeny byly považovány za nejdůležitější predispoziční faktory způsobující chřadnutí dubů (MARCU 1987; FÜHRER 1998). Z modelu THOMASE et al. (2002) vyplývá, že působením mnoha abiotických faktorů (letní sucho, zimní a jarní mrazy, nevyvážená výživa atd.) dochází k postupnému oslabování dubů, které jsou dále oslabovány dalšími biotickými faktory. Za rozhodující příčinné faktory chřadnutí dubů jsou považovány tři faktory: defoliace hmyzem, letní sucho a zimní a/nebo jarní mráz. Obvykle se musí alespoň dva z těchto faktorů (vždy včetně defoliace) vyskytnout současně, aby došlo k chřadnutí. THOMAS et al. (2002) vyslovili teorii, že fyziologické účinky defoliace na duby je činí náchylnějšími ke klimatickým extrémům, jako je sucho a mráz. Konkrétně předpokládali, že vyčerpání zásob uhlíku zhoršuje produkci jemných kořenů, a to ztrátou fotosyntetické plochy a snížením rychlosti fotosyntézy (což dokládá snížená stomatální vodivost) (např. FROST et HUNTER 2008). Snížená biomasa jemných kořenů omezuje příjem vody během sucha a spolu s kavitací (porušením vodního sloupce v cévách) vedoucí k embolizaci (tvorbě vzdušných bublin v xylému) způsobené suchem nebo škodlivým mrazem vážně zhoršuje vodní režim stromu (THOMAS et al. 2002; GIEGER et THOMAS 2005). Sekundární činitelé, obvykle *Agrilus biguttatus* a/nebo kořenové patogeny, pak oslabené duby napadají a způsobují jejich odumření.

Databáze epizod chřadnutí dubů ukázala, že se různé faktory v průběhu času objevovaly společně (viz Graf 21). Pomocí analýzy CCA bylo zjištěno, že u prvních záznamů chřadnutí byly uváděny jednotlivě působící faktory, postupně však začalo být reportováno více faktorů současně, což však může být způsobeno i širším záběrem studovaných faktorů. Sucho je uváděno jako jeden z nejkritičtějších faktorů a novější studie považují extrémní klimatické události za hlavní spouštěč chřadnutí (DOLEŽAL et al. 2010; SOHAR et al. 2014; HAAVIK et al. 2015). V souvislosti s tím byl vyhodnocen vztah mezi epizodami chřadnutí dubů a roky s podprůměrnými srážkovými úhrny pro střední Evropu (viz Příloha 18). Výsledky ukazují, že důležitá je délka období s podprůměrnými ročními srážkami. Pokud následuje po sobě přibližně 5 suchých let, lze očekávat chřadnutí dubů v následujících letech. Na severu Německa způsobilo sucho v letech 1976 až 1983 oslabení dubů, které byly následně poškozeny mrazem v letech 1984–1987 (HARTMANN et BLANK 1993). Podobně v bývalém

Československu se první velmi suchý rok objevil v roce 1976 a od té doby se deficit srážek postupně zvyšoval v následujících letech. Následně se postupně objevilo výrazné chřadnutí dubů po celé zemi (PŘÍHODA 1990; LEONTOVYČ 1992). Na konci 80. let se tento scénář v Československu opakoval, stejně jako v jiných evropských zemích (OSZAKO 2000). Výsledky analýzy epizod chřadnutí v souvislosti posouzením zdravotního stavu dubových porostů ukazují, že sucho způsobuje oslabení jednotlivých stromů nebo skupin stromů, zejména pokud se objevuje na začátku vegetačního období, např. v květnu až červnu (SIWECKI et UFNALSKI 1998). Nejdůležitější je však reakce dřeviny na následně se vyskytující biotické činitele, kteří můžou způsobit závažné chřadnutí až odumření stromu, jak ukazují i jiné studie (FÜHRER 1998).

6.4. Aktuální posouzení zdravotního stavu dubových porostů

Vzhledem k nepříznivým klimatickým podmínkám (období sucha) v letech 2015 až 2019 (ČHMÚ 2024) bylo možné předpokládat, že abiotické faktory budou hrát významnou roli jako predispoziční faktor u studovaných dubových porostů. Následný vývoj porostů mohl být ovlivněn intenzivním rozvojem biotických činitelů, včetně hmyzích škůdců. Na dvou zkoumaných lokalitách (Tvořihráz, Nižbor) bylo chřadnutí dubů zhoršeno působením defoliátorů (*Lymantria dispar*). Zdá se, že podkorní druhy hmyzu preferují takto poškozené stromy, jak bylo pozorováno v Tvořihrázi (oblast termofytika na jižní Moravě), kde byl zaznamenán nejbohatší komplex podkorních druhů (29 druhů).

Stromy oslabené suchem ztrácí schopnost odolávat xylofágnímu hmyzu, například snížením produkce kalusového pletiva (McIntyre et al. 1996; Haavik et Stephen 2011). Oslabené stromy lákají mnoho druhů hmyzu, zejména krasce rodu *Agrilus.* Jako náchylné k napadení těmito škůdci byly tradičně považovány dospělé porosty (Moraal et Hilszczański 2000), avšak po oslabení suchem byly těmito škůdci napadeny i mnohem mladší stromy (asi 30–40 let) v Polsku (Hilszczański et Sierpinski 2007). Toto zjištění je v souladu s výsledky této studie, která zjistila největší výskyt *Agrilus* sp. v Českém krasu a Nižboru (dubové porosty ve stáří 42 a 48 let). Jak však naznačují jiná pozorování, epizody sucha mohou ovlivnit zdravotní stav dubů s několikaletým zpožděním, což značně ztěžuje určení příčin jejich odumírání (Drobyshev et al. 2007; Andersson et al. 2011).

Podkorní hmyz často hraje klíčovou roli v závěrečné fázi působení faktorů, které vedou k odumírání dubů (Führer 1998; Sallé et al. 2014). Výsledky této studie ukazují na významnou roli těchto škůdců v procesu chřadnutí dubů. Mezi nejhojnější zjištěné druhy patřily *Scolytus intricatus*, *Agrilus biguttatus*, *Xylotrechus antilope* a *Xyleborus monographus*. Krascovití brouci silně preferují osluněné dřevo, kde samičky kladou vajíčka a následně se zde vyvíjejí larvy (Vansteenkiste et al. 2004). Silné oslunění je často přímým předpokladem fyzické aktivity dospělců. Z tohoto pohledu je neobvyklý výskyt krasce *A. biguttatus* v pasivních nárazových pastech v silně zastíněném rozlehlém dubovém porostu na lokalitě Lásenice. Tento nález naznačuje, že populační hustota tohoto významného škůdce je ve vhodných porostech výrazně vyšší než lze zjistit monitorováním pomocí pastí. Brouci mohou být mnohem hojnější v korunách stromů a osluněných částech porostu, nicméně sestupují do zastíněných míst, když v osluněných oblastech chybí vhodná místa k vývoji. Na všech studijních plochách byly nalezeny malé černé exudáty, které indikovaly přítomnost *A. biguttatus*. Tyto symptomy na kůře, spolu se závrtovými nebo výletovými otvory, jsou obvykle asociovány s různými druhy hmyzu, z nichž jsou nejčastější xylofágní brouci, např. krasci (Evans et al. 2004; Brown et al. 2015). Nicméně na všech šesti studovaných lokalitách byly nalezeny také exudáty bez podkorních chodeb, jejichž původ zůstává nejasný. Mohou pocházet z nekrotizujících pletiv v důsledku aktivity larev nebo z kolonizace oportunistickými saprofyty či patogenními bakteriemi (Vansteenkiste

et al. 2004; DENMAN et al. 2010). Fyziologicky oslabené listnaté stromy jsou často primárním cílem také pilořitek (Hymenoptera: Xiphydriidae). Na Ukrajině způsobila pilořitka dubová (*X. longicollis)* hromadné odumření dubových porostů (DOMINIK et STARCZYK 1988). V této studii byl tento druh nalezen na třech lokalitách, avšak ve velmi nízkém počtu. Pouze na velmi suché lokalitě – Nižbor – bylo zjištěno větší množství jedinců (11 ks z chovných klecí).

Některé druhy škůdců dubů, které byly v minulosti považovány za nevýznamné nebo dokonce ohrožené, mohou v reakci na změnu klimatu a chřadnutí dubových porostů nabývat na významu. Druh *Scolytus intricatus* byl dříve považován za málo významný druh v lesnictví (KNÍŽEK 2002), avšak jeho dopad se výrazně zvýšil na počátku 80. let 20. století, kdy byl tento druh zjištěn jako nejhojnější škůdce v tříletém průzkumu na Slovensku během nejrozsáhlejší epizody chřadnutí dubů, která tam byla zaznamenána (PATOČKA et NOVOTNÝ 1987). *S. intricatus* způsobuje škody nejen přímým žírem, ale také jako přenašeč ophiostomatálních hub (GOGOLA et CHOVANEC 1987; KUBÁTOVÁ et al. 2002). Podle výsledků naší studie byl druh *S. intricatus* nejhojnějším druhem na všech sledovaných lokalitách. Byla také potvrzena korelace mezi výskytem *S. intricatus* a houbami r. *Ophiostoma*. Také druh *X. monographus* byl zaznamenán na vzorcích stromů, kde byly rovněž identifikovány houby r. *Ophiostoma*. To by mohlo naznačovat, že oba druhy mohou působit jako důležití přenašeči těchto hub při napadení vlhkého dřeva: *S. intricatus* během zralostního žíru a *X. monographus* při hloubení mateřských chodeb. Nosatcovitý brouk *Gasterocercus depressirostris* byl relativně hojně zastoupen na 4 ze 6 studovaných lokalit. Byl zachycen jak v nárazových pastech, tak v chovných klecích. Zajímavé je, že v Česku byl tento druh v roce 2005 zařazen na Červený seznam bezobratlých se statusem „Zranitelný druh" (FARKAČ et al. 2005), stejně jako v roce 2017 (HEJDA et al. 2017). V Polsku je uveden jako „Ohrožený druh" (GŁOWACIŃSKI et NOWACKI 2004) a v Německu jako „Kriticky ohrožený" (BINOT et al. 1998). Podobně je tesařík *Clytus tropicus* považován za „Téměř ohrožený" v Česku (HEJDA et al. 2017) a za „Ohrožený" v Německu (BINOT et al. 1998). Nicméně na základě pozorování v této studii oba druhy významně přispěly k chřadnutí dubů na zkoumaných lokalitách. Další druhy uvedené na Červeném seznamu, např. *Trichoferus pallidus* (Cerambycidae) nebo *Agrilus hastulifer* (Buprestidae), byly zaznamenány v menší míře (HEJDA et al. 2017). Běžný druh *A. biguttatus* byl v minulosti pravděpodobně přehlížen a byl považován za vzácný druh hodný ochrany (GIBBS et GREIG 1997; MORAAL et HILSZCZAŃSKI 2000), avšak dnes je považován za jednoho z nejnebezpečnějších škůdců dubových porostů, zejména oslabených suchem (HILSZCZAŃSKI et SIERPINSKI 2007). Jedná se o prvního škůdce, který se objevuje na často jen lehce oslabených stromech, a je jedním z nejvýznamnějších faktorů přispívajících k odumírání dubů (HAAVIK et al. 2015). Podle nálezů ve Velké Británii hraje *A. biguttatus* klíčovou roli v novém typu chřadnutí dubů (označovaném jako akutní chřadnutí dubů = Acute Oak Decline), který se objevil v roce 2008 (DENMAN et WEBBER 2009). Příznaky napadených stromů zahrnovaly výskyt krvácejících exudátů z podélných prasklin na kmenech s nekrotickými pletivy a přítomnost

larválních chodeb *A. biguttatus*. Z infikovaného pletiva byly izolovány bakterie z čeledi *Enterobacteriaceae* (BRADY et al. 2010; DENMAN et al. 2012). Další škůdce, *X. antilope* (Cerambycidae), byl nejhojnějším druhem v naší studii (celkem bylo zachyceno 604 jedinců v nárazových pastech) a lze ho tedy považovat za významného škůdce, což podobně uvádí i jiné studie (SZONTAGH 1987; SCHOPF 1992).

Odběr vzorků rhizosféry dubů pro zjištění přítomnosti patogenů r. *Phytophthora* přinesl pozitivní výsledky pouze na lokalitě Pístecký les, kde byl identifikován druh *P. plurivora*. Tento dubový porost se nachází v termofytické zóně a je charakterizován stabilní půdní vlhkostí. Duby zde vykazovaly relativně méně závažné příznaky chřadnutí, žádnou mortalitu, a také průměrná defoliace byla nejnižší ze všech lokalit (28 % v r. 2020, 21 % v r. 2021). Navíc na této ploše bylo zachyceno nejmenší množství xylofágního hmyzu. *P. plurivora* je obecně považována za vážnou hrozbu pro dubové porosty (MRÁZKOVÁ et al. 2012; TKACZYK et al. 2020). Tento druh je také nejrozšířenějším nepůvodním zástupcem rodu *Phytophthora* v přirozených lesních porostech v Česku (ČERNÝ et al. 2011; MRÁZKOVÁ et al. 2012), včetně dubových porostů (MRÁZKOVÁ et al. 2013). *P. plurivora* je druh často identifikovaný z rhizosféry chřadnoucích dubových porostů po celé Evropě, např. v Německu (JUNG et al. 1996; JUNG et al. 2000), Francii (HANSEN et DELATOUR 1999), Rakousku (BALCI et HALMSCHLAGER 2003), Itálii (VETTRAINO et al. 2002), Polsku (JANKOWIAK et al. 2014), Turecku (BALCI et HALMSCHLAGER 2003). Nejnovější nálezy pochází např. ze Slovenska (TKACZYK et al. 2020) nebo ze západní Ukrajiny (MATSIAKH et al. 2021). *P. plurivora* je polyfágní druh s širokým hostitelským spektrem listnatých stromů (JUNG et al. 2016), jehož původ se udává v jižní a východní Asii (JUNG et al. 2017d; JUNG et al. 2020).

Studovaný porost na lokalitě Pístecký les se nachází těsně podél cesty, což může vysvětlit zavlečení patogenu *P. plurivora* s kontaminovanými pneumatikami vozidel nebo podrážkami bot, jak bylo zjištěno také v jiných porostech v Česku (ČERNÝ et al. 2020a) i v zahraničí (DAVIDSON et al. 2008; HANSEN 2015; RUFFNER et al. 2019; MCDOUGALL et LIEW 2024). Utužení půdy v důsledku dopravy a lesnických prací zvyšuje obsah vody v půdě, ale snižuje infiltraci vody a hydraulickou vodivost, což vede k větší náchylnosti stromů k infekci patogeny r. *Phytophthora*. Stromy ve vodou nasycené půdě jsou obzvláště náchylné k infekci, protože vysoká vlhkost půdy vytváří ideální podmínky pro růst a šíření těchto patogenů (RUFFNER et al. 2019). Stabilní půdní vlhkost na lokalitě Pístecký les na jedné straně tedy podporuje šíření půdních fytoftor (ERWIN et RIBEIRO 1996), na druhé straně je však velmi důležitá pro regeneraci poškozených kořenů. Výzkumy totiž ukázaly, že k největšímu poškození kořenových systémů dochází na stanovištích, kde dochází ke střídání extrémních období záplav a poté sucha, a napadené stromy tak nemají možnost zregenerovat odumřelé kořeny (JUNG et BLASCHKE 2004). V Česku odhalil průzkum KYSELÁKOVÉ a BENEDÍKOVÉ (2010) v dubových mlazinách výskyt *P. quercina, P. cactorum, P. citricola, P. pseudosyringae* a *P. syringae* na dubech s typickými příznaky tmavých exudátů. Exudáty se zde však vyskytovaly hlavně na bázi kmene, a to zejména na lokalitě,

kde došlo k silnému jarnímu zaplavení. Zajímavostí je, že na této lokalitě nebyly zaznamenány symptomy v koruně, což mohlo znamenat relativně čerstvé napadení porostů. Naopak na lokalitě Pístecký les byla zaznamenána kmenová výmladnost, což je obecně příznak stresu u dřevin, který však mohl být vyvolaný více faktory. Na ostatních studovaných dubových plochách byla izolace fytoftor neúspěšná. Neúspěch detekce nemusí však nutně znamenat absenci organismů (ERWIN et RIBEIRO 1996). Odběr vzorků byl totiž proveden na podzim 2020, a půda na těchto plochách byla velmi suchá, což mohlo mít vliv na přežívání patogenu a úspěch izolace, jak uvádí i jiné studie (KOX et al. 2002; GARBELOTTO et al. 2003). Některé pomalu rostoucí druhy, např. *P. quercina*, je navíc velmi obtížné izolovat (CORCOBADO, pers. comm.).

Role patogenů rodu *Ophiostoma* byla dlouho nejasná, a zejména v 90. letech bylo v Česku toto téma často studováno kvůli možnému přenosu těchto hub podkorním hmyzem (JANČAŘÍK 1992; ČÍŽKOVÁ et ŠVECOVÁ 1995). Výsledky této práce ukázaly pozitivní korelaci mezi přítomností ophiostomatálních hub a některými druhy hmyzu. Statisticky významná korelace byla potvrzena u 3 druhů krasců, 5 druhů tesaříků a 2 druhů nosatců. Přítomnost ophiostomatálních hub se však výrazně lišila mezi jednotlivými lokalitami a také mezi částmi kmene (báze, střed, koruna). To lze vysvětlit možnými vektory, které přenášejí spory do různých částí stromu, jako je například *S. intricatus* v malých větvích (ZUMR 1995). Některé studie však naznačují, že houby rodu *Ophiostoma* nejsou běžnými endofyty dubů, a že žádná z nich není úzce spjata s druhem *S. intricatus*. Tyto houby se totiž projevují jako nepatogenní nebo slabě patogenní vůči zdravým dubům, avšak v případě, že jsou stromy oslabené nedostatkem vody, můžou se stát významnějšími patogeny (KOWALSKI et BUTIN 1989; KOWALSKI et DOMANSKI 1991; PRZYBYL 1991; RAGAZZI et al. 1995; SOUKUP 1995). Na druhou stranu jiné studie potvrdily přenos spor ophiostomatálních hub hmyzem, například kůrovci (Scolytinae) (JANKOVSKÝ et al. 2001; KUBÁTOVÁ et al. 2002) nebo druhy r. *Xiphydria* (PŘÍHODA 1990; ŠRŮTKA et al. 2007).

7. Závěr

Z pětiletého hodnocení olšových porostů vyplynulo, že oblast povodí Vltavy (přítoky Berounky) je silně zamořená patogenem *Phytophthora ×alni*. Příznaky napadení byly zaznamenány na 16 z 20 studovaných lokalit. Incidence příznaků však byla relativně nízká, nicméně během doby monitoringu došlo k nárůstu z 16,5 % na 18,5 % z celkového počtu 686 olší lepkavých. Největší nárůst příznakových stromů byl pozorován na lokalitách s pomalým prouděním toku a periodickými záplavami, zároveň také větší podíl napadených stromů byl zjištěn na dolní části toku. Opakovaná izolace patogenu v roce 2023 ze stejných i nově napadených stromů potvrdila přetrvávající výskyt patogenu, zároveň však jeho další šíření. To potvrzuje dlouhodobé přežívání patogenu v břehových porostech, min. 10 let od doby první izolace (Černý et al. 2016). Z většiny napadených porostů byl z podkorních lézí izolován patogen *P. ×alni*, pouze ze dvou lokalit také *P. uniformis*, což odpovídá převládajícímu rozšíření agresivnějšího hybridního druhu. Na chřadnutí olší se také mohou podílet další druhy fytoftor, jejichž největší diverzita byla zjištěna v oblasti CHKO Český kras (*P. plurivora*, *P. lacustris*, *P. gallica, P. inundata*). Významným faktorem ovlivňujícím pravděpodobnost napadení patogenem *P. alni* je vzdálenost olše od vodního toku. Nejvíce napadených olší se vyskytovalo v nejbližší vzdálenosti od toku, naopak ve vzdálenosti 5−6 m nebyly zjištěny žádné napadené stromy. Důležitým faktorem je také přítomnost mostu nebo cesty přes vodní tok, což může souviset s antropogenním šířením patogenu. Výsledky dále naznačují, že s vyšší nadmořskou výškou klesá pravděpodobnost napadení, jak bylo potvrzeno na lokalitách v CHKO Brdy (601−700 m n. m.). V této oblasti však zřejmě ještě nedošlo k zavlečení patogenu, i vzhledem k nevhodným podmínkám pro rozvoj patogenu (např. průběh zimy). Výsledky fyziologických měření v povodí Vltavy ukázaly, že rychlost fotosyntézy u napadených olší může být srovnatelná nebo dokonce vyšší než u zdravých jedinců. Listy napadených olší jsou zřejmě schopné kompenzovat uhlíkový deficit chybějícího asimilačního aparátu. Olše také velmi dobře reaguje na příznivé meteorologické podmínky, což bylo zjištěno porovnáním fotosyntetických parametrů jedinců měřených v suchém roce 2020 a srážkově bohatším roce 2021.

V oblasti povodí Odry v rámci Beskyd nebyla prokázána přítomnost napadení *P. alni* ani jiných druhů r. *Phytophthora* z půdy. Fyziologická měření ukázala hodnoty fotosyntetických parametrů odpovídajících zdravým stromům u obou druhů olše. Olše šedá měla mírně vyšší hodnoty rychlosti čisté fotosyntézy než olše lepkavá, což naznačuje lepší přizpůsobení taxonu na růst ve vyšších nadmořských výškách. Přestože se v oblasti Beskyd patogen prozatím nevyskytuje, v níže položených oblastech podél částí s širším korytem a pomalejším prouděním vody jsou podmínky pro šíření patogenu příznivé (Černý et al. 2016a), a bylo by vhodné provádět pravidelný monitoring pro případnou včasnou detekci napadení.

Výsledky infekčního pokusu s podkorní inokulací olše lepkavé třemi druhy r. *Phytophthora* prokázaly, že *P. uniformis* může vykazovat podobnou agresivitu vůči olši lepkavé jako

P. ×*alni*. Naopak *P. plurivora*, izolát pocházející ze silně napadeného porostu olše, nezpůsobil žádnou mortalitu ani rozvoj lézí. Mezi dvěma populacemi olše nebyl zjištěn rozdíl mezi reakcí na podkorní inokulaci patogeny. Zdravá populace olše bez přítomnosti nákazy tedy není vhodným rostlinným materiálem na výsadbu do zamořených oblastí. Statisticky významný vliv zvýšené koncentrace CO_2 na příznaky napadení o. lepkavých inokulovaných pod kůru, jako je mortalita, vývoj lézí nebo biomasa rostlin, nebyly zaznamenány. *P. uniformis* způsobila významně větší léze naopak při běžné úrovni CO_2, avšak u *P.* ×*alni* byla pozorována tendence menší plochy lézí při zvýšené úrovni CO_2. K objasnění vlivu zvýšené úrovně CO_2 na napadení o. lepkavé patogenem *P. alni* jsou zapotřebí další experimenty využívající metody inokulace půdy, které simulují přirozený infekční proces (JUNG et al. 1996, 2018), a delší expozice různým úrovním CO_2, aby bylo možné zaznamenat významný vliv na růst a produkci nadzemní biomasy rostlin vystavených zvýšené úrovni CO_2 (AINSWORTH et LONG 2005) a potenciálně výraznější vliv infekcí patogeny r. *Phytophthora* na růst nadzemních částí rostlin.

Z analýzy faktorů uváděných jako příčina chřadnutí dubových porostů vyplynulo, že u prvních záznamů chřadnutí byly uváděny jednotlivě působící faktory, postupně však začalo být reportováno více faktorů současně. Sucho je uváděno jako nejčastější predispoziční faktor pro chřadnutí dubů. Výsledky srovnání vztahu mezi ročními srážkami a epizodami chřadnutí dubů ukázaly, že k chřadnutí dochází pravidelně po suchých obdobích trvajících přibližně 5 let v řadě, jak bylo zaznamenáno v 80. letech 20. století ve střední Evropě. Sucho je prezentováno jako primární příčina chřadnutí, ale obvykle se zapojují i další faktory, jako jsou defoliátoři, kůrovci a další podkorní hmyz (*Scolytus intricatus*, *Agrilus biguttatus* atd.), patogeny (*Ophiostoma* spp., *Phytophthora* spp., *Microsphaera alphitoides* atd.) nebo jiné abiotické faktory (zejména mráz).

V rámci studie šesti dubových porostů s příznaky chřadnutí bylo zjištěno, že sekundární škůdci, zejména tesaříci, kůrovci a krasci, hrají velkou roli v chřadnutí porostů. Tyto studované porosty byly v předcházejících letech výrazně oslabeny suchem, což vedlo k prosychání a prosvětlování porostů. Kmeny zbylých stromů byly náhle více vystaveny slunečnímu záření, což lákalo xylofágní hmyz. Jako nejhojnější druhy xylofágního hmyzu byly zaznamenány *Xylotrechus antilope*, *Scolytus intricatus*, *Xyleborus monographus*, *Agrilus biguttatus* a *A. sulcicollis*. U silně chřadnoucích porostů se na odumírání podílely i ohrožené druhy hmyzu (např. *Gasterocercus depressirostris*). Přítomnost hub rodu *Ophiostoma* byla potvrzena na všech šesti dubových lokalitách, a výskyt těchto hub byl statisticky významně korelován s výskytem nejčastějších druhů hmyzu v korunové části stromů. Patogen *Phytophthora plurivora* byl detekován ve vzorcích rhizosféry pouze na jedné vlhčí lokalitě s mírnějšími příznaky chřadnutí. Jelikož zde byla zaznamenána nejnižší intenzita přítomnosti ophiostomatálních hub i nejnižší počet podkorního hmyzu, *P. plurivora* zde může být hlavní příčinou chřadnutí dubů.

S narůstající frekvencí suchých period lze předpokládat, že vliv sekundárních škůdců a patogenů, spolu s dalšími abiotickými vlivy, bude narůstat a působit v synergii, jak naznačují i jiné studie (RAGAZZI et al. 1993; FÜHRER 1998; SELOCHNIK et al. 2015). Studium chřadnutí dubů proto vyžaduje individuální přístup se zohledněním možných komplexních příčin.

8. Seznam literatury a použitých zdrojů

1. Abad, Z. G., Burgess, T. I., Redford, A. J., Bienapfl, J. C., Srivastava, S., Mathew, R. and Jennings, K. 2023a. IDphy: An international online resource for molecular and morphological identification of *Phytophthora*. Plant disease, 107(4), 987−998. https://doi.org/10.1094/PDIS-02-22-0448-FE
2. Abad, Z. G., Burgess, T. I., Bourret, T., Bensch, K., Cacciola, S., Scanu, B., Mathew, R., Kasiborski, B., Srivastava, S., Kageyama, K., Bienapfl, J. C., Verkleij, G., Broders, K., Schena, L. and Redford, A. J. 2023b. *Phytophthora*: taxonomic and phylogenetic revision of the genus. Studies in Mycology, 106, 259−348. https://doi.org/10.3114/sim.2023.106.05
3. Adams, G. C., Catal, M., Trummer, L., Hansen, E. M., Reeser, P. and Worrall, J. J. 2008. *Phytophthora alni* subsp. *uniformis* Found in Alaska Beneath Thinleaf Alders. Plant Health Progress, 9(1), 38. https://doi.org/10.1094/PHP-2008-1212-02-BR
4. Aday Kaya, A. G., Lehtijärvi, A., Şaşmaz, Y., Nowakowska, J. A., Oszako, T., Doğmuş Lehtijärvi, H. T. and Woodward, S. 2018. *Phytophthora* species detected in the rhizosphere of *Alnus glutinosa* stands in the floodplain forests of Western Turkey. Forest Pathology, 48(6), 12470. https://doi.org/10.1111/efp.12470
5. Afek, U. and Sztejnberg, A. 1988. Accumulation of scoparone, a phytoalexin associated with resistance of Citrus to *Phytophthora citrophthora*. Phytopathology, 78(12), 1678−1682.
6. Aguayo, J., Adams, G. C., Halkett, F., Catal, M., Husson, C., Nagy, Z. Á., Hansen, E. M., Marçais, B. and Frey, P. 2013. Strong genetic differentiation between North American and European populations of *Phytophthora alni* subsp. *uniformis*. Phytopathology, 103(2), 190–199. https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-12-0116-R
7. Ahrens, U. and Seemüller, E. 1994. Detection of mycoplasmalike organisms in declining oaks by polymerase chain reaction. European Journal of Forest Pathology, 24(1), 55−63. https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1994.tb01323.x
8. Ainsworth, E. A. and Long, S. P. 2005. What have we learned from 15 years of free-air CO_2 enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis, canopy properties and plant production to rising CO_2. New Phytologist, 165, 351–372. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01224.x
9. Allen, C. D., Macalady, A. K., Chenchouni, H., Bachelet, D., McDowell, N., Vennetier, M., Kitzberger, T., Rigling, A., Breshears, D. D., Hogg, E. T. and Gonzalez, P. 2010. A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. Forest ecology and management, 259(4), 660−684. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.09.001
10. Andersson, M., Milberg, P. and Bergman, K.O. 2011. Low pre-death growth rates of oak (*Quercus robur* L.)—Is oak death a long-term process induced by dry years? Annals of Forest Science, 68, 159−168. https://doi.org/10.1007/s13595-011-0017-y
11. Bačová, A., Cooke, D. E., Milenković, I., Májek, T., Nagy, Z. Á., Corcobado, T., Randall, E., Keillor, B., Cock, P. J., Jung, M. H. and Jung, T. 2024. Hidden *Phytophthora* diversity unveiled in tree nurseries of the Czech Republic with traditional and metabarcoding techniques. European Journal of Plant Pathology, 170, 131−156. https://doi.org/10.1007/s10658-024-02886-1
12. Baker, N. R. 2008. Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis in vivo. Annual Review of Plant Biology, 59(1), 89−113. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092759
13. Balci, Y. and Halmschlager, E. 2003. *Phytophthora* species in oak ecosystems in Turkey and their association with declining oak trees. Plant Pathology, 52(6), 694−702. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2003.00919.x
14. Barwell, L. J., Perez-Sierra, A., Henricot, B., Harris, A., Burgess, T. I., Hardy, G., Scott, P., Williams, N., Cooke, D. E., Green, S. and Chapman, D. S. 2021. Evolutionary trait-based approaches for predicting future global impacts of plant pathogens in the genus *Phytophthora*. Journal of Applied Ecology, 58(4), 718−730. https://doi.org/10.1111/1365-2664.13820
15. Bazinet, Q., Tang, L. and Bede, J. C. 2022. Impact of future elevated carbon dioxide on C3 plant resistance to biotic stresses. MPMI, 35(7), 527–539. https://doi.org/10.1094/MPMI-07-21-0189-FI
16. Beakes, G. W., Honda, D. and Thines, M. 2014. 3 Systematics of the Straminipila: Labyrinthulomycota, Hyphochytriomycota, and Oomycota. Systematics and Evolution, 39–97. https://doi.org/10.1007/978-3-642-55318-9_3
17. Běhalová, M. 2006. Surveys for *Phytophthora ramorum* in the Czech Republic. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 36, 393−395. https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2006.01018.x
18. Belmecheri, S. and Lavergne, A. 2020. Compiled records of atmospheric CO_2 concentrations and stable carbon isotopes to reconstruct climate and derive plant ecophysiological indices from tree rings. Dendrochronologia, 63, 125748. https://doi.org/10.1016/j.dendro.2020.125748

19. Benjamini, Y. and Hochberg, Y. 1995. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach tomultiple testing. Journal of the Royal Statistical Society Series B, 57, 289–300. https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x
20. Bentz, B. J., Jönsson, A. M., Schroeder, M., Weed, A., Wilcke, R.A.I. and Larsson, K. 2019. *Ips typographus* and *Dendroctonus ponderosae* models project thermal suitability for intra-and inter-continental establishment in a changing climate. Frontiers in Forests and Global Change, 2, 1. https://doi.org/10.3389/ffgc.2019.00001
21. Beranová, J. 1989. Umělá infekce dubových sazenic houbovými původci tracheomykózního onemocnění. Zprávy lesnického výzkumu, 3, 38–41.
22. Berger, S., Sinha, A. K. and Roitsch, T. 2007. Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant–pathogen interactions. Journal of experimental botany, 58(15−16), 4019−4026. https://doi.org/10.1093/jxb/erm298
23. Bergot, M., Cloppet, E., Pérarnaud, V., Déqué, M., Marçais, B., Desprez-Loustau, M. L. 2004. Simulation of potential range expansion of oak disease caused by *Phytophthora cinnamomi* under climate change. Global Change Biology, 10, 1539–1552. https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2004.00824.x
24. Berninger, F. and Nikinmaa, E. 1994. Foliage area sapwood area relationships of Scots pine (*Pinus sylvestris*) trees in different climates. Canadian Journal of Forest Research, 24(11), 2263−2268. https://doi.org/10.1139/x94-290
25. Binot, M., Bless, R., Boye, P., Gruttke, H., Pretscher, P. 1998. Rote Liste Gefährdeter Tiere Deutschlands; Bundesamt für Naturschutz: Leipzig, Germany. ISBN: 3-89624-110-9.
26. Bjelke, U., Boberg, J., Oliva, J., Tattersdill, K. and Mckie, B. G. 2016. Dieback of riparian alder caused by the *Phytophthora alni* complex: Projected consequences for stream ecosystems. Freshwater Biology, 61(5), 565–579. https://doi.org/10.1111/fwb.12729
27. Blackwell, E. 1949. Terminology in *Phytophthora*. Mycological Papers, 30, 1−24.
28. Brady, C., Arnold, D., McDonald, J. and Denman, S. 2017. Taxonomy and identification of bacteria associated with acute oak decline. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 33, 143. https://doi.org/10.1007/s11274-017-2296-4
29. Brasier, C. M. 1992. Evolutionary Biology of *Phytophthora*. Part I: genetic system, sexuality and the generation of variation. Annual Review of Phytopathology, 30(1), 153−170. https://doi.org/10.1146/annurev.py.30.090192.001101
30. Brasier, C. M. 1993. *Phytophthora cinnamomi* as a contributory factor on European oak declines. In Recent Advances in Studies on Oak Decline. N. Luisi, P. Lerario and A. Vannini (eds). Dipartimento di Patologia Vegetale, Universita Degli Studi, Bari, Italy, pp. 49−58.
31. Brasier, C. M. 1996. *Phytophthora cinnamomi* and oak decline in southern Europe. Environmental constraints including climate change. Annals of Forest Science, 53(2−3), 347−358. https://doi.org/10.1051/forest:19960217
32. Brasier, C. M. 2001. Rapid evolution of introduced plant pathogens via interspecific hybridization: hybridization is leading to rapid evolution of Dutch elm disease and other fungal plant pathogens. Bioscience, 51(2), 123−133. https://doi.org/10.1641/0006-3568(2001)051[0123:REOIPP]2.0.CO;2
33. Brasier, C. M. 2008. The biosecurity threat to the UK and global environment from international trade in plants. Plant Pathology, 57(5), 792–808. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2008.01886.x
34. Brasier, C. M. 2009. *Phytophthora* biodiversity: How many *Phytophthora* species are there. Phytophthoras in Forests and Natural Ecosystems. Proceedings of the Fourth Meeting of IUFRO Working Party S07.02.09 USDA. Dostupné online: https://www.fs.usda.gov/psw/publications/documents/psw_gtr221/psw_gtr221.pdf#page=113
35. Brasier, C.M., Rose, J. and Gibbs, J.N. 1995. An unusual *Phytophthora* associated with widespread alder mortality in Britain. Plant Pathology, 44, 999–1007.
36. Brasier, C. M. and Kirk, S. A. 2001. Comparative aggressiveness of standard and variant hybrid alder *Phytophthora*s, *Phytophthora cambivora* and other *Phytophthora* species on bark of *Alnus*, *Quercus* and other woody hosts. Plant Pathology, 50(2), 218–229. https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2001.00553.x
37. Brasier, C. and Webber, J. 2010. Sudden larch death. Nature, 466, 824–825. https://doi.org/10.1038/466824a
38. Brasier, C. M., Cooke, D. E. L. and Duncan, J. M. 1999. Origin of a new *Phytophthora* pathogen through interspecific hybridization. *PNAS* 96(10), 5878−5883. https://doi.org/10.1073/pnas.96.10.5878
39. Brasier, C. M., Sanchez-Hernandez, E. and Kirk, S. A. 2003. *Phytophthora inundata* sp. nov., a part heterothallic pathogen of trees and shrubs in wet or flooded soils. Mycological Research, 107, 477–484. https://doi.org/10.1017/S0953756203007548

40. Brasier, C. M., Kirk, S. A., Delcan, J., Cooke, D. E. L., Jung, T. and Man In't Veld, W. A. 2004a. *Phytophthora alni* sp. nov. and its variants: Designation of emerging heteroploid hybrid pathogens spreading on *Alnus* trees. Mycological Research, 108(10), 1172–1184. https://doi.org/10.1017/S0953756204001005
41. Brasier, C. M., Denman, S., Brown, A. and Webber, J. 2004b. Sudden Oak Death (*Phytophthora Ramorum*) Discovered on Trees in Europe. Mycological Research, 108(10), 1108–1110. https://doi.org/10.1017/S0953756204221244
42. Brasier, C., Franceschini, S., Forster, J. and Kirk, S. 2021. Enhanced Outcrossing, Directional Selection and Transgressive Segregation Drive Evolution of Novel Phenotypes in Hybrid Swarms of the Dutch Elm Disease Pathogen *Ophiostoma novo-ulmi*. Journal of Fungi, 7(6), 452. https://doi.org/10.3390/jof7060452
43. Brasier, C. M., Scanu, B., Cooke, D. and Jung, T. 2022. *Phytophthora*: An ancient, historic, biologically and structurally cohesive and evolutionarily successful generic concept in need of preservation. IMA Fungus, 13, 12. https://doi.org/10.1186/s43008-022-00097-z
44. Breda, N., Huc, R., Granier, A. and Dreyer, E. 2006. Temperate forest trees and stands under severe drought: a review of ecophysiological responses, adaptation processes and long-term consequences. Annals of Forest Science, 63(6), 625−644. https://doi.org/10.1051/forest:2006042
45. Bregant, C., Sanna, G. P., Bottos, A., Maddau, L., Montecchio, L. and Linaldeddu, B. T. 2020. Diversity and pathogenicity of *Phytophthora* species associated with declining alder trees in Italy and description of *Phytophthora alpina* sp. nov. Forests, 11(8), 848. https://doi.org/10.3390/f11080848
46. Bregant, C., Batista, E., Hilário, S., Linaldeddu, B.T. and Alves, A. 2023. *Phytophthora* species involved in *Alnus glutinosa* decline in Portugal. Pathogens, 12(2), 276. https://doi.org/10.3390/pathogens12020276
47. Brown, N., Inward, D. J., Jeger, M. and Denman, S. 2015. A review of *Agrilus biguttatus* in UK forests and its relationship with acute oak decline. Forestry: An International Journal of Forest Research, 88(1), 53−63. https://doi.org/10.1093/forestry/cpu039
48. Burgess, T. I., White, D., McDougall, K. M., Garnas, J., Dunstan, W. A., Catala, S., Carnegie, A. J., Worboys, S., Cahill, D., Vettraino, A.-M., Stukely, M. J. C., Liew, E. C. Y., Paap, T., Bose, T., Migliorini, D., Williams, B., Brigg, F., Crane, C., Rudman, T., Hardy, G. E. S. J. 2017. Distribution and diversity of *Phytophthora* across Australia. Pacific Conservation Biology, 23, 150–162. https://doi.org/10.1071/PC16032
49. Burgess, T. I., Simamora, A. V., White, D., Wiliams, B., Schwager, M., Stukely, M. J. C. and Hardy, G. E. S. J. 2018. New species from *Phytophthora* Clade 6a: Evidence for recent radiation. Persoonia, 41, 1–17. https://doi.org/10.3767/persoonia.2018.41.01
50. Buse, J., Ranius, T., Assmann, T. 2008. An endangered long horn beetle associated with old oaks and its possible role as an ekosystem engineer. Conservation biology, 22(2), 329–337. https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2007.00880.x
51. Cahill, D. M. and Mccomb, J. A. 1992. A Comparison of changes in phenylalanine ammonia-lyase activity, lignin and phenolic synthesis in the roots of *Eucalyptus calophylla* (field resistant) and *E. marginata* (susceptible) when infected with *Phytophthora cinnamomi*. Physiological and Molecular Plant Pathology, 40, 315–332. https://doi.org/10.1016/0885-5765(92)90014-M
52. Cahill, D. M., Bennett, I. J. and McComb, J. A. 1993. Mechanisms of Resistance to *Phytophthora cinnamomi* in clonal, micropropagated *Eucalyptus marginata*. Plant Pathology, 42, 865–872.
53. Cech, T. 1997. *Phytophthora* – Krankheit der Erle in € Osterreich. Fortschutz Aktuell, 19(20), 14–16.
54. Cech, T. L. and Brandstetter, M. 1999. *Phytophthora*-Erlensterben – Aktuelle Situation in Österreich. Forstschutz Aktuell, 23(24), 16–19.
55. Cech, T. and Hendry, S. 2003. A review of diebacks and declines of alder (*Alnus* spp.) in Europe. Forestry Commission Bulletin, 126, 15–24.
56. Cejp, K. 1961. Dvě nebezpečné a škodlivé fytoftory v Československu. Česká Mykologie, 15, 246–252.
57. Cejp, K., Jechová, V. 1962. Subtropické druhy rodu *Phytophthora* de Bary dovezené k nám s jižním ovocem: *Phytophthora citrophthora* (Sm. et Sm.) Leonian a *P. citricola* Sawada. Česká Mykologie, 16, 198–202.
58. Cerny, K., Gregorova, B., Strnadova, V., Holub, V., Tomsovsky, M. and Cervenka, M. 2008. *Phytophthora alni* causing decline of black and grey alders in the Czech Republic. Plant Pathology, 57, 2. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01718.x
59. Cerny K., Strnadova V., Gregorova B., Holub V., Tomsovsky M., Mrazkova M., Gabrielova S. 2009. *Phytophthora cactorum* causing bleeding canker of common beech, horse chestnut, and white poplar in the Czech Republic. Plant Pathology, 58, 394. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2008.01970.x

60. Claessens, H. 2003. The alder populations of Europe. Forestry Commission Bulletin, 126, 5–14.
61. Claessens, H. 2005. L'aulne Glutineux. Ses Stations et sa Sylviculture. ASBL For^et Wallonne, Gembloux.
62. Claessens, H., Oosterbaan, A., Savill, P., Rondeux, J. 2010. A review of the characteristics of black alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) and their implications for silvicultural practices. Forestry, 83, 163–175. https://doi.org/10.1093/forestry/cpp038
63. Clemenz, C., Fleischmann, F., Häberle, K. H., Matyssek, R. and Osswald, W., 2008. Photosynthetic and leaf water potential responses of *Alnus glutinosa* saplings to stem-base inoculaton with *Phytophthora alni* subsp. *alni*. Tree physiology, 28(11), 1703−1711. https://doi.org/10.1093/treephys/28.11.1703
64. Colangelo, M., Camarero, J. J., Borghetti, M., Gentilesca, T., Oliva, J., Redondo, M. A. and Ripullone, F. 2018. Drought and *Phytophthora* are associated with the decline of oak species in southern Italy. Frontiers in plant science, 9, 1595. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01595
65. Condon, A. G., Richards, R. A., Rebetzke, G. J. and Farquhar, G. D. 2004. Breeding for high water-use efficiency. Journal of Experimental Botany, 55(407), 2447−2460. https://doi.org/10.1093/jxb/erh277
66. Cooke, D. E. L., Drenth, A., Duncan, J. M., Wagels, G. and Brasier, C. M. 2000. A molecular phylogeny of *Phytophthora* and related oomycetes. Fungal genetics and biology, 30 (1), 17–32. https://doi.org/10.1006/fgbi.2000.1202
67. Corcobado, T., Cubera, E., Moreno, G. and Solla, A. 2013. *Quercus ilex* forests are influenced by annual variations in water table, soil water deficit and fine root loss caused by *Phytophthora cinnamomi*. Agricultural and forest meteorology, 169, 92–99. http://dx.doi.org/10.1016/j.agrformet.2012.09.017
68. Corcobado, T., Schwanda, K., Daxer, A., Hüttler, C. and Cech, T. 2017. Effects of co-inoculations of *Alnus incana* with *Phytophthora alni* complex and *P. plurivora* on disease development and mortality. 8th Meeting IUFRO Working Party 7.02.09 (*Phytophthora* in Forests and Natural Ecosystems), Sapa, Vietnam.
69. Corcobado, T., Cech, T. L., Brandstetter, M., Daxer, A., Hüttler, C., Kudláček, T., Horta Jung, M. and Jung, T. 2020. Decline of European beech in Austria: Involvement of *Phytophthora* spp. and contributing biotic and abiotic factors. Forests, 11(8), 895. https://doi.org/10.3390/f11080895
70. Corcobado, T., Cech, T. L., Daxer, A., Ďatková, H., Janoušek, J., Patra, S., Jahn, D., Hüttler, C., Milenković, I., Tomšovský, M., Horta Jung, M. and Jung, T. 2023. *Phytophthora*, *Nothophytophthora* and *Halophytophthora* diversity in rivers, streams and riparian alder ecosystems of Central Europe. Mycological Progress, 22(7), 50. https://doi.org/10.1007/s11557−023−01898−1
71. Čapek, M. (ed.). 1987. Problematika hynutia dubov na Slovensku. Vedecké Práce VÚLH Zvolen, 36, 355 s.
72. Čermák, J., Jiménez, S. M., González-Rodríguez, A. and Morales, D. 2002. Laurel forests in Tenerife, Canary Islands: II. Efficiency of the water conducting system in *Laurus azorica* trees. Trees, 16, 538−546. https://doi/10.1007/s00468-002-0198-y
73. Černý, K. and Strnadová, V. 2010. *Phytophthora* Alder Decline: Disease Symptoms, Causal Agent and Its Distribution in the Czech Republic. Plant Protection Science, 46(1), 12–18. https://doi.org/10.17221/43/2009-PPS
74. Černý, K. and Strnadová, V. 2012. Winter survival of *Phytophthora alni* subsp. *alni* in aerial tissues of black alder. Journal of Forest Science, 58(7), 328–336.
75. Černý, K., Gregorová, B., Vladimír H. and Strnadová, V. 2003. First Finds of 'Alder-*Phytophthora*' in the Czech Republic. Czech Mycology, 55(3–4), 291–96. https://doi.org/10.33585/cmy.55314
76. Černý, K., Gregorová, B., Strnadová, V., Holub, V. 2006. *Phytophthora alni* – a Serious Invasive Pathogen of Alders in the Czech Republic. In Kniha příspěvků, XVII. Česká a slovenská konference o ochraně rostlin. Praha, FAPPZ ČZU Praha. Zemědělská společnost při ČZU Praha, Československá společnost rostlinolékařská, 190–195.
77. Černý, K., Strnadová, V., Gregorová, B., Mrázková, M. 2010a. Onemocnění olší způsobené druhem *Phytophthora alni* Brasier & S.A. Kirk. Identifikace choroby, odběr vzorků. Certifikovaná metodika. Průhonice, Výzkumný ústav Silva Taroucy pro krajinu a okrasné zahradnictví, v.v.i. 26 s.
78. Černý, K., Strnadová, V. and Hrubá, T. 2010b. Rozšíření fytoftorového onemocnění olší v České republice. Specializovaná mapa s odborným obsahem. NAZV QI 92A207. Certifikace 18. 3. 2011. MZe (č.j. 54683/2011-MZE). 4 s.
79. Černý, K., Tomšovský, M., Mrázková, M. and Strnadová, V. 2011. The Present State of Knowledge on *Phytophthora* Spp. Diversity in Forest and Ornamental Woody Plants in the Czech Republic. New Zealand Journal of Forestry Science, 41S, S75–S82. ISSN: 1179-5395.
80. Černý, K., Filipová, N. and Strnadová, V. 2012. Influence of low temperature and frost duration on

Phytophthora alni subsp. *alni* viability. Forest Systems, 21(2), 337–42. https://doi.org/10.5424/fs/2012212-02250
81. Černý, K., Strnadová, V. and Pešková, V. 2013. *Phytophthora alni* Brasier et S. A. Kirk – plíseň olšová. Lesnická práce, 92(6), příloha I–IV.
82. Černý, K., Pešková, V. and Modlinger, R. 2015. Rozšíření fytoftorového onemocnění olší v lesních porostech ČR – předběžné výsledky. Zprávy lesnického výzkumu, 60(4), 256–61.
83. Černý, K., Romportl, D., Strnadová, V., Zahradník, D. 2016a. Současné rozšíření fytoftorové hniloby olší v břehových porostech povodí Vltavy. Specializovaná mapa s odborným obsahem. Výzkumný ústav Silva Taroucy pro krajinu a okrasné zahradnictví, v.v.i. 19 s. ISBN: 978-80-87674-17-8.
84. Černý, K., Strnadová, V., Fedusiv, L., Gabrielová, Š., Haňáčková, Z., Havrdová, L., … and Romportl, D. 2016b. Ekonomické škody způsobené plísní olšovou v břehových porostech vodních toků a nádrží s dominantní olší v modelové oblasti povodí Vltavy. Předběžné výsledky. Vodní hospodářství, 66(8), 1−5.
85. Černý, K., Zahradník, D., Chumanová, E., Havrdová, L., Strnadová, V., Romportl, D. 2017. Fytoftorová hniloba olše – predikce rozšíření a rozsahu choroby v lesních porostech olší v ČR. Rostlinolékař, 4, 20−24.
86. Černý, K., Tsykun, T., Strnadová, V., Křížová, M., Hrabětová, M. 2020a. Plíseň buková – nebezpečný invazní patogen buku lesního zdomácněl v ČR. Ochrana přírody, 4, 26−29.
87. Černý, K. eds. 2020b. Integrovaná ochrana sazenic v lesních školkách před patogeny z r. *Phytophthora*. VÚKOZ, v.v.i., Průhonice. 35 s. ISBN: 978-80-87674-37-6.
88. Černý, K., Haňáčková, Z., Chumanová, E., Lorenc, F. 2024. Invazní patogeny v lesnictví – co víme v roce 2024. In Lorenc, F., Knížek, M. (eds.): Škodliví činitelé v lesích Česka 2023/2024 - Invazní organizmy z pohledu ochrany lesa. Sborník referátů z celostátního semináře s mezinárodní účastí. Průhonice, 25. 4. 2024. Zpravodaj ochrany lesa, pp.73−87.
89. ČHMÚ. 2024. Český hydrometeorologický ústav [online]. Praha. [cit. 2024-07-20]. Dostupné z: www.chmi.cz
90. Čížková, D. and Švecová, M. 1995. Odumírání dubů s příznaky tracheomykózy na mimolesních dřevinách v jižních Čechách. In Aktuální problémy ochrany dřevin. Sborník referátů I, Prachatice, 3.–4. října 1995. Čížková, D., Švecová, M., Eds.; Ministerstvo Životního Prostředí ČR: Praha, pp. 18–23.
91. Dang, Q. N., Pham, T. Q., Arentz, F., Hardy, G. E. S. J. and Burgess, T. I. 2021. New *Phytophthora* species in clade 2a from the Asia-Pacific region including a re-examination of *P. colocasiae* and *P. meadii*. Mycological Progress, 20(2), 111–129. https://doi.org/10.1007/s11557-020-01656-7
92. Davidson, J. M., Patterson, H. A. and Rizzo, D. M. 2008. Sources of inoculum for *Phytophthora ramorum* in a redwood forest. Phytopathology, 98(8), 860−866. https://doi.org/10.1094/PHYTO-98-8-0860
93. Davison, E. M., Stukely, M. J. C., Crane, C. E. and Tay, F. C. S. 1994. Invasion of phloem and xylem of woody stems and roots of *Eucalyptus marginata* and *Pinus radiata* by *Phytophthora cinnamomi*. Phytopathology, 84(4), 335−340. https://doi.org/10.1094/Phyto-84-335
94. De Merlier, D., Chandelier, A., Debruxelles, N., Noldus, M., Laurent, F., Dufays, E., Claessens, H. and Cavelier, M. 2005. Characterization of alder *Phytophthora* isolates from Wallonia and development of SCAR primers for their specific detection. Journal of Phytopathology, 153(2), 99−107. https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2005.00936.x
95. Delatour, C. 1983. Les dépérissements de chênes en Europe. Biologie et Forêt, 35, 265−282.
96. Denman, S. and Webber, J. 2009. Oak declines: new definitions and new episodes in Britain. Quaterly Journal of Forestry, 103, 285−290.
97. Denman, S., Kirk, S. A. and Webber, J. F. 2010. Managing Acute Oak Decline. Forestry Commission. Farnham, UK. 6 p. ISBN: 978-0-85538-802-7.
98. Derelle, R., López-García, P., Timpano, H. and Moreira, D. 2016. A Phylogenomic Framework to Study the Diversity and Evolution of Stramenopiles (=Heterokonts). Molecular Biology and Evolution, 33(11), 2890−2898. https://doi.org/10.1093/molbev/msw168
99. Dinis, L. T., Peixoto, F., Zhang, C., Martins, L., Costa, R. and Gomes-Laranjo, J. 2011. Physiological and biochemical changes in resistant and sensitive chestnut (*Castanea*) plantlets after inoculation with *Phytophthora cinnamomi*. Physiological and molecular plant pathology, 75(4), 146−156. https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2011.04.003
100. Djumaeva, D., Lamers, J. P. A., Martius, C. and Vlek, P. L. G. 2012. Chlorophyll meters for monitoring foliar nitrogen in three tree species from arid Central Asia. Journal of Arid Environments, 85, 41−45. https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2012.03.008
101. Doležal, J., Mazurek, P. and Klimešová, J. 2010. Oak decline in southern Moravia: the association between climate change and early and late wood formation in oaks. Preslia, 82, 289–306.

102. Dominik, J. and Starczyk, J. R. 1988. Owady Niszczace Drewno; PanstwoweWydawnictwo Rolnicze i Leśne: Warszawa, Poland. p. 523.
103. Drenth, A. and Sendall, B. 2001. Practical guide to detection and identification of *Phytophthora*. Tropical Plant Protection, 1, 32−33.
104. Drobyshev, I., Linderson, H. and Sonesson, K. 2007. Temporal mortality pattern of pedunculate oaks in southern Sweden. Dendrochronologia, 24(2-3), pp.97-108. https://doi.org/10.1016/j.dendro.2006.10.004
105. Dubach, V., Dennert, F., Blaser, S., Beenken, L., Hölling, D., Stroheker, S., Kupferschmid, A. D., Heinzelmann, R., Britt, E., Queloz, V. 2023. Protection des forêts – Vue d'ensemble 2022. Heft 137, 2023. Institut fédéral de recherches sur la forêt, la neige et le paysage WSL CH-8903 Birmensdorf. p. 78.
106. Ďurkovič, J., Bubeníková, T., Gužmerová, A., Fleischer, P., Kurjak, D., Canová, I., et al. 2021. Effects of *Phytophthora* inoculations on photosynthetic behaviour and induced defence responses of plant volatiles in field-grown hybrid poplar tolerant to bark canker disease. Journal of Fungi, 7, 969. https://doi.org/10.3390/jof7110969
107. Eichhorn, J., Roskams, P., Potočić, N., Timmermann, V., Ferretti, M., Mues,V., Szepesi,A., Durrant D., Seletković, I., Schröck, H-W., Nevalainen, S., Bussotti, F., Garcia, P., Wulff, S. 2016. Part IV: Visual Assessment of Crown Condition and Damaging Agents. In: UNECE ICP Forests Programme Coordinating Centre (ed.): Manual on methods and criteria for harmonized sampling, assessment, monitoring and analysis of the effects of air pollution on forests. Thünen Institute of Forest Ecosystems, Eberswalde, Germany, 49 p. + Annex [http://www.icp-forests.org/manual.htm).
108. Érsek, T. and Nagy, Z. Á. 2008. Species hybrids in the genus *Phytophthora* with emphasis on the alder pathogen *Phytophthora alni*: a review. European Journal of Plant Pathology, 122, 31–39. https://doi.org/10.1007/s10658-008-9296-z
109. Erwin, D. C. and Ribeiro, O. K. 1996. *Phytophthora* Diseases Worldwide. American Phytopathological Society (APS) Press: St. Paul, MN, USA, p. 592. ISBN: 0-89054-212-0.
110. Eschenbach, C. and Kappen, L. 1999. Leaf water relations of black alder [*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.] growing at neighbouring sites with different water regimes. Trees, 14, 28−38. https://doi.org/10.1007/s004680050004
111. Evans, H. F., Oszako, T. (eds.) 2007. Alien invasive species and international trade. Warsaw, Poland: Forest Research Institute. p. 179. ISBN: 978-83-87647-64-3.
112. Evans, H. F., Moraal, L. G. and Pajares, J. A. 2004. Biology, ecology and economic importance of Buprestidae and Cerambycidae. In Lieutier, F., Day, K.R., Battisti, A., Grégoire, JC., Evans, H.F. (eds.) Bark and Wood Boring Insects in Living Trees in Europe, a Synthesis. Springer, Dordrecht, pp. 447−474. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2241-8_20
113. Evans, J. R. and Santiago, L. S. 2014. PrometheusWiki gold leaf protocol: gas exchange using LI-COR 6400. Functional Plant Biology, 41(3), 223−226. https://doi.org/10.1071/FP10900
114. Falck, R. 1918. Oak Decline in Lödderitz Forest District and in Westphalia. Zeitschrift für Forst- und Jagdwesen 50, 123–132.
115. Farkač, J., Král, D. and Škorpík, M. 2005. Červený Seznam Ohrožených Druhů České republiky – Bezobratlí. Agentura ochrany přírody a krajiny ČR, Praha. ISBN: 80-86064-96-4.
116. Fassatiová, O. 1954. Houby v chodbách kůrovců. Česká Mykologie, 8, 138–143.
117. Fernandes, C., Duarte, L., Naves, P., Sousa, E. and Cruz, L. 2022. First report of *Brenneria goodwinii* causing acute oak decline on *Quercus suber* in Portugal. Journal of Plant Pathology, 104(2), 837–838. https://doi.org/10.1007/s42161-022-01046-w
118. Ferreira, V., Pazianoto, L. H. and Solla, A. 2022. Invasive forest pathogens affect the characteristics, microbial colonisation, and decomposition of leaf litter in streams. Freshwater Biology, 67(2), 416−429. https://doi.org/10.1111/fwb.13851
119. Fiala, T. and Holuša, J. 2020. Trapping ambrosia beetles by artificially produced lures in an oak forest. Soil & Water Research, 56(3). https://doi.org/10.17221/133/2019-PPS
120. Fischer, E. M., Seneviratne, S. I., Lüthi, D. and Schär, C. 2013. Contribution of land-atmosphere coupling to recent European summer heat waves. Geophysical Research Letters, 34(6). https://doi.org/10.1029/2006GL029068
121. Fleischmann, F., Göttlein, A., Rodenkirchen, H., Lütz, C., Osswald, W. 2004. Biomass, nutrient and pigment content of beech (*Fagus sylvatica*) saplings infected with *Phytophthora citricola*, *P. cambivora, P. pseudosyringae* and *P. undulata*. Forest Pathology, 34, 79–92. https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.2004.00349.x
122. Fleischmann, F., Raidl, S. and Osswald, W. F. 2010. Changes in susceptibility of beech (*Fagus sylvatica*) seedlings towards *Phytophthora citricola* under the influence of elevated atmospheric CO_2 and nitrogen fertilization. Environmental Pollution, 158, 1051–1060.

https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.10.004
123. Frampton, J., Isik, F. and Benson, D. M. 2013. Genetic variation in resistance to *Phytophthora cinnamomi* in seedlings of two Turkish *Abies* species. Tree genetics & genomes, 9(1), 53−63. https://doi.org/10.1007/s11295-012-0529-0
124. Frost, C. J. and Hunter, M. D. 2008. Insect herbivores and their frass affect *Quercus rubra* leaf quality and initial stages of subsequent litter decomposition. Oikos, 117(1), 13−22. https://doi.org/10.1111/j.2007.0030-1299.16165.x
125. Führer, E. 1998. Oak decline in Central Europe: a synopsis of hypotheses. In McManus, M. L., Liebhold, A .M. (Eds): Proc. Population Dynamics, Impacts, and Integrated Management of Forest Defoliating Insects. USDA Forest Service General Technical Report NE-247. USDA, Washington (DC), pp. 7–24
126. Galko, J., Nikolov, C., Kimoto, T., Kunca, A., Gubka, A., Vakula, J., Zúbrik, M., Ostrihoň, M. 2014. Attraction of ambrosia beetles to ethanol baited traps in a Slovakia oak forest. Biologia, 69, 1376–1383. https://doi.org/10.2478/s11756-014-0443-z
127. Galko, J., Dzurenko, M., Ranger, C. M., Kulfan, J., Kula, E., Nikolov, C., Zúbrik, M., Zach, P. 2019. Distribution, habitat preference and management of the invasive ambrosia beetle *Xylosandrus germanus* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in European forests with an emphasis on the West Carpathians. Forests, 10(1), 10. https://doi.org/10.3390/f10010010
128. Garbelotto, M., Davidson, J. M., Ivors, K., Maloney, P. E., Hüberli, D., Koike, S. T. and Rizzo, D. M. 2003. Non-oak native plants are main hosts for sudden oak death pathogen in California. California Agriculture, 57(1).
129. Georgevitch, P. 1926. *Ceratostomella querci* n. sp. Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences, 183, 759−761.
130. Georgevitch, P. 1927. *Ceratostomella quercus* n. sp. Ein Parasit der slawonischen Eichen. Biologia Generalis, 3, 245−252.
131. Gibbs, J. N. 1995. *Phytophthora* root disease of alder in Britain. EPPO Bulletin, 25, 661–664.
132. Gibbs, J. N. and Greig, B. J. W. 1997. Biotic and abiotic factors affecting the dying back of pedunculate oak *Quercus robur* L. Forestry: An International Journal of Forest Research, 70(4), 399−406. https://doi.org/10.1093/forestry/70.4.399
133. Gibbs, J. N., Lipscombe M. A. and Peace A. J. 1999. The Impact of *Phytophthora* Disease on Riparian Populations of Common Alder (*Alnus Glutinosa*) in Southern Britain. European Journal of Forest Pathology, 29(1), 39–50. https://doi.org/10.1046/j.1439-0329.1999.00129.x
134. Gibbs, J. N., Cech, T., Jung, T. and Streito, J. C. 2003. Field studies on dissemination of the alder *Phytophthora* and disease development. In *Phytophthora* Disease of Alder in Europe. J. N. Gibbs, C. van Dijk, and J. Webber, eds. Forest Research Bulletin, 126, pp. 55−64.
135. Gieger, T. and Thomas, F. M. 2005. Differential response of two Central-European oak species to single and combined stress factors. Trees, 19, 607−618. https://doi.org/10.1007/s00468-005-0424-5
136. Giesbrecht, M. B., Hansen, E. M. and Kitin, P. 2011. Histology of *Phytophthora ramorum* in *Notholithocarpus densiflorus* bark tissues. New Zealand Journal of Forestry Science, 41S, S89−S100.
137. Głowaciński, Z. and Nowacki, J. 2004. Polska Czerwona Ksiega Zwierzat—Bezkregowce; Instytut Ochrony Przyrody PAN, Kraków, Poland. ISBN: 83-88934-60-0.
138. Gogola, E. and Chovanec, D. 1987. Podkornik Dubový a Tracheomykóza Dubov. Videopress MON, Bratislava, Slovakia. 79 s.
139. González, A. J. and Ciordia, M. 2020. *Brenneria goodwinii* and *Gibbsiella quercinecans* isolated from weeping cankers on *Quercus robur* L. in Spain. European Journal of Plant Pathology, 156, 965–969. https://doi.org/10.1007/s10658-019-01891-z
140. Göransson, H., Bambrick, M. T. and Godbold, D. L. 2016. Overyielding of temperate deciduous tree mixtures is maintained under throughfall reduction. Plant and Soil, 408, 285−298. https://doi.org/10.1007/s11104-016-2930-1
141. Gregus, L. (eds.) 1986. Záchrana jilmů – Metodická příručka č. 9. ÚV Českého svazu ochránců přírody. Praha. 46 s.
142. Grígel, J., Černý, K., Mrázková, M., Havrdová, L., Zahradník, D., Jílková, B. and Hrabětová, M. 2019. *Phytophthora* root and collar rots in fruit orchards in the Czech Republic. Phytopathologia Mediterranea, 58(2), 261−276. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediter-10614
143. Grünwald, N. J., Martin, F. N., Larsen, M. M. S., Press, C. M., Coffey, M. D., Hansen, E. M. and Parke, J. L. 2011. Phytophthora-ID.org: A sequence-based *Phytophthora* identification tool. Plant Disease, 95, 337–342. https://doi.org/10.1094/PDIS-08-10-0609
144. Grünwald, N. J., Garbelotto, M., Goss, E. M., Heungens, K. and Prospero, S. 2012. Emergence of the sudden oak death pathogen *Phytophthora ramorum*. Trends in microbiology, 20(3), 131−138. https://doi.org/10.1016/j.tim.2011.12.006

145. Haavik, L. J. and Stephen, F. M. 2011. Factors that affect compartmentalization and wound closure of *Quercus rubra* infested with *Enaphalodes rufulus*. Agricultural and Forest Entomology, 13(3), 291−300. https://doi.org/10.1111/j.1461-9563.2011.00522.x
146. Haavik, L. J., Billings, S. A., Guldin, J. M. and Stephen, F. M. 2015. Emergent insects, pathogens and drought shape changing patterns in oak decline in North America and Europe. Forest Ecology and Management, 354, 190−205. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2015.06.019
147. Haňáčková, Z., Hrabětová, M., Zíbarová, L., Šafránková, I., Sedlářová, M., Černý, K. 2023. Seznam nepůvodních hub a houbových organismů ČR. Průhonice, VÚKOZ, 38.
148. Hansen, E. M. 2015. *Phytophthora* Species Emerging as Pathogens of Forest Trees. Current Forestry Reports 1, 16–24. https://doi.org/10.1007/s40725-015-0007-7
149. Hansen, E. M. and Delatour, C. 1999. *Phytophthora* species in oak forests of north-east France. Annals of Forest Science, 56(7), 539−547. https://doi.org/10.1051/forest:19990702
150. Hansen, E. M., Reeser, P.W. and Sutton, W. 2012. *Phytophthora* beyond agriculture. Annual review of phytopathology, 50(1), 359–378. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-081211-172946
151. Haque, M. M. and Casero, J. J. D. 2012. Susceptibility of common alder (*Alnus glutinosa*) seeds and seedlings to *Phytophthora alni* and other *Phytophthora* species. Forest Systems, 21(2), 313−322. https://doi.org/10.5424/fs/2012212-02267
152. Haque, M. M. U., Martínez-Álvarez, P., Lomba, J. M., Martín-García, J., Diez, J. J. 2014. First report of *Phytophthora plurivora* causing collar rot on common alder in Spain. Plant Disease, 98(3), 425. https://doi.org/10.1094/PDIS-07-13-0784-PDN
153. Haque, M. M. U., Martín-García, J. and Diez, J. J. 2015. Variation in pathogenicity among the three subspecies of *Phytophthora alni* on detached leaves, twigs and branches of *Alnus glutinosa*. Forest Pathology, 45, 484–491. https://doi.org/10.1111/efp.12198
154. Hardham, A. R. and Blackman, L. M. 2018. *Phytophthora cinnamomi*. Molecular Plant Pathology, 19, 260–285. https://doi.org/10.1111/mpp.12568
155. Hardin, J., W. and Bell, J., M. 1986. Atlas Of Foliar Surface Features In Woody Plants, Ix. Betulaceae Of Eastern United States. New York Botanical Garden, Bronx, NY. Brittonia, 38(2): 133-144.
156. Harris, I. C., Jones, P. D. and Osborn, T. 2021. CRU TS4.05: Climatic Research Unit (CRU) Time-Series (TS) Version 4.05 of High-Resolution Gridded Data of Month-by-Month Variation in Climate (January 1901–December 2020); University of East Anglia Climatic Research Unit; NERC EDS Centre for Environmental Data Analysis: Norwich, UK.
157. Hartmann, G. 1995. Wurzelhalsfäule der Schwarzerle (*Alnus glutinosa*) – eine bisher unbekannte Pilzkrankheit durch *Phytophthora cambivora*. Forst und Holz, 50, 555–7.
158. Hartmann, G. R. and Blank, R. 1993. Etiology of oak decline in northern Germany: History, symptoms, biotic and climatic predisposition, pathology. In Recent Advances in Studies on Oak Decline. N. Luisi, P. Lerario and A. Vannini (eds). Dipartimento di Patologia Vegetale, Universita Degli Studi, Bari, Italy, pp. 277−284.
159. Hejda, R., Farkač, J. and Chobot, K. 2017. Červený Seznam Ohrožených Druhů České republiky— Bezobratlí. Agentura ochrany přírody a krajiny ČR, Praha. ISBN: 978-80-88076-53-7.
160. Henricot, B., Pérez-Sierra, A. and Jung, T. 2014. *Phytophthora pachypleura* sp. nov., a new species causing root rot of *Aucuba japonica* and other ornamentals in the United Kingdom. Plant Pathology, 63, 1095–1109. https://doi.org/10.1111/ppa.12194
161. Heško, J. 1985. Diagnostické znaky tracheomykóznych dubov. Les, 9, 391–394.
162. Hilszczański, J. and Sierpinski, A. 2007. *Agrilus* spp. The Main Factor Of Oak Decline In Poland. Forest Research Institute, Sękocin Stary 3, 05-090 Raszyn. IUFRO Working Party 7(10), pp. 11–14.
163. Holub, V., Černý, K., Strnadová, V., Mrázková, M., Gregorová, B. and Gabrielová, Š. 2010. The survey of some factors affecting bark lesion development caused by *Phytophthora cactorum* on common beech and other broadleaved trees. Journal of Forest science, 56(3), 93−100. https://doi.org/10.17221/104/2009-JFS
164. Houston, Durrant, T., De Rigo, D. and Caudullo, G. 2016a. *Alnus glutinosa* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. In: San-Miguel-Ayanz, J., de Rigo, D., Caudullo, G., Houston Durrant, T., Mauri, A. (Eds.), European Atlas of Forest Tree Species. Publ. Off. EU, Luxembourg, pp. e01f3c0+.
165. Houston, Durrant, T., De Rigo, D. and Caudullo, G. 2016b. *Alnus incana* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. In: San-Miguel-Ayanz, J., de Rigo, D., Caudullo, G., Houston Durrant, T., Mauri, A. (Eds.), European Atlas of Forest Tree Species. Publ. Off. EU, Luxembourg, pp. e01ff87+.
166. Hrabetova, M., Mrazkova, M. and Cerny, K. 2023. First report of *Phytophthora occultans* causing dieback of *Buxus sempervirens* in the Czech Republic. Plant Disease, 107(4), 1246. https://doi.org/10.1094/PDIS-07-22-1537-PDN

167. Husson, C., Aguayo, J., Revellin, C., Frey, P., Ioos, R. and Marçais, B. 2015. Evidence for homoploid speciation in *Phytophthora alni* supports taxonomic reclassification in this species complex. Fungal Genetics and Biology, 77, 12–21. https://doi.org/10.1016/j.fgb.2015.02.013
168. Chandelier, A., Laurent, F., Abras, S., Debruxelles, N. and Cavelier, M. 2004. *Phytophthora* disease of alder: Role of bacteria in the production of sporangia. In Progress in Research on Phytophthora Diseases of Forest Trees. Meeting at Freising, Germany, 11–18 September 2004.Third International IUFRO Working Party S07.02.09.
169. Chandelier, A., Gerarts, F., San Martin, G., Herman, M. and Delahaye, L. 2016. Temporal evolution of collar lesions associated with ash dieback and the occurrence of *Armillaria* in Belgian forests. Forest Pathology, 46(4), 289−297. https://doi.org/10.1111/efp.12258
170. Chen, Q., Bakhshi, M., Balci, Y., Broders, K. D., Cheewangkoon, R., Chen, S. F., Fan, X. L., Gramaje, D., Halleen, F., Horta Jung, M., Jiang, N., Jung, T., Májek, T., Marincowitz, S., Milenković, I., Mostert, L., Nakashima, C., Nurul Faziha, I., Pan, M., … Crous, P. W. 2022. Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 4. Studies in Mycology, 101(1), 417–564. https://doi.org/10.3114/sim.2022.101.06
171. Christiansen, E., Waring, R. H. and Berryman, A. A. 1987. Resistance of conifers to bark beetle attack: searching for general relationships. Forest Ecology and Management, 22(1−2), 89−106.
172. Christova, P. K. 2022. Detection of *Phytophthora gallica* in Bulgaria and co-existence with other *Phytophthora* species in a small river. Journal of Plant Diseases and Protection, 129(6), 1377−1387. https://doi.org/10.1007/s41348-022-00664-x
173. Christova, P.K. 2024. *Phytophthora polonica* and *Phytophthora hydropathica* from Clade 9 Associated with Alder Decline in Bulgaria. Life, 14(6), p.720. https://doi.org/10.3390/life14060720
174. Chumanová, E., Černý, K., Brestovanská, T., Haňáčková, Z., Havrdová, L., Zýka, V. 2021. Atlas potenciální distribuce vybraných druhů invazních patogenů dřevin a jejich impaktu na lesní ekosystémy v ČR. Specializovaná mapa s odborným obsahem. Výzkumný ústav Silva Taroucy pro krajinu a okrasné zahradnictví, v. v. i., Průhonice. 103 s. ISBN: 978-80-87674-45-1.
175. Ioos, R., Andrieux, A., Marçais, B. and Frey, P. 2006. Genetic characterization of the natural hybrid species *Phytophthora alni* as inferred from nuclear and mitochondrial DNA analyses. Fungal Genetics and Biology, 7, 511–529. https://doi.org/10.1016/j.fgb.2006.02.006
176. IPCC. 2001. Climate Change 2001: The scientific Basis. Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change; IPCC: Cambridge, UK; New York, NY, USA.
177. Jacobsen, A. L., Pratt, R. B., Tobin, M. F., Hacke, U. G. and Ewers, F. W. 2012. A global analysis of xylem vessel length in woody plants. American Journal of Botany, 99(10), 1583−1591. https://doi.org/10.3732/ajb.1200140
178. Jančařík, V. 1986. Nekrózy olše. Lesnická práce, 65, 523.
179. Jančařík, V. 1988. Choroby větví a kmínků olší. Lesnická práce, 67, 377.
180. Jančařík, V. 1992. Fytopatologické problémy působené houbami rodu *Ophiostoma* a možnosti ochrany. In Proceedings of the Ophiostomatales—Výsledky Současného Taxonomického a Fytopatologického Výzkumu. Sborník Referátů, Praha. 29. května 1991; Holubová, V., Prášil, K., Eds.; Československá Vědecká Společnost pro Mykologii při ČSAV: Praha, pp. 95–110.
181. Jančařík, V. 1993. Usychání olší. Lesnická práce, 72 (1), 14–16.
182. Jančařík, V. 1995. Tracheomykózní onemocnění lesních dřevin – realita a hrozba. In Čížková, D., Švecová, M. (eds.): Aktuální problémy ochrany dřevin. Sborník referátů II, Prachatice 1995, pp. 5–17.
183. Jankovský, L. and Mrkva, R. 1997. Přenos patogenů vaskulárních pletiv na smrku lýkožroutem smrkovým *Ips typographus* L. In Proceedings of the Les, Drevo, Životné Prostredie, Zbornik Referátov, Zvolen, Slovakia, 8–11 September 1997; Križová, E., Kodrík, M., Eds.; Technická Univerzita vo Zvolene: Zvolen, Slovakia, 1997, pp. 209–218.
184. Jankovský, L., Novotný, D. and Mrkva, R. 2001. Doprovodná mykoflóra *Ips typographus* a ranové reakce smrku na umělou inokulaci imágy lýkožrouta smrkového. In Hlaváč, P., Reinprecht, L., Gáper, J . (eds.), Ochrana lesa a lesnická fytopatológia, Zvolen, pp. 229−243.
185. Jankowiak, R. 2005. Fungi associated with *Ips typographus* on *Picea abies* in Southern Poland and their succession into the phloem and sapwood of beetle-infested trees and logs. Forest Pathology, 35, 37–55. https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.2004.00395.x
186. Jankowiak, R. and Hilszczanski, J. 2005. Ophiostomatoid fungi associated with *Ips typographus* [L.] on *Picea abies* [L.] H. Karst.] and *Pinus sylvestris* L. in North-Eastern Poland. Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 74, 4. https://doi.org/10.5586/asbp.2005.043
187. Jankowiak, R., Stępniewska, H., Bilański, P. and Kolařík, M. 2014. Occurrence of *Phytophthora*

plurivora and other *Phytophthora* species in oak forests of southern Poland and their association with site conditions and the health status of trees. Folia microbiologica, 59, 531−542. https://doi.org/10.1007/s12223-014-0331-5
188. Jeger, M. J. and Pautasso, M. 2008. Plant disease and global change – the importance of long-term data set. New Phytologist, 177, 8–11. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02312.x
189. Jönsson, U. 2006. A conceptual model for the development of *Phytophthora* disease in *Quercus robur*. New Phytologist, 171(1), 55−68. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01743.x
190. Jönsson, U., Jung, T., Rosengren, U., Nihlgård, B., Sonesson, K. 2003a. Pathogenicity of Swedish isolates of *Phytophthora quercina* to *Quercus robur* in two different soils. New Phytologist, 158(2), 355–64. https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00734.x
191. Jönsson, U., Lundberg, L., Sonesson, K., Jung, T. 2003b. First records of soilborne *Phytophthora* species in Swedish oak forests. Forest Pathology, 33(3),175–9. https://doi.org/10.1046/j.1439-0329.2003.00320.x
192. Judelson, H. S. 2009. Sexual reproduction in oomycetes: biology, diversity, and contributions to fitness. Oomycete genetics and genomics: diversity, interactions and research tools, pp. 121−138. ISBN: 978-04-7025-56-74.
193. Jung, T. 2009. Beech decline in Central Europe driven by the interaction between *Phytophthora* infections and climatic extremes. Forest Pathology, 39, 73–94. https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.2008.00566.x
194. Jung, T. and Blaschke, M. 2004. *Phytophthora* Root and Collar Rot of Alders in Bavaria: Distribution, Modes of Spread and Possible Management Strategies. Plant Pathology, 53, 197–208. https://doi.org/10.1111/j.0032-0862.2004.00957.x
195. Jung, T. and Blaschke, M. 2006. Management strategies for the *Phytophthora* root and collar rot epidemic of alders in Bavaria. In Brasier C.M., Jung T., Osswald W. (eds): Progress in Research on *Phytophthora* Diseases of Forest Trees. Forest Research, Farnham, Surrey, pp. 61–66.
196. Jung, T. and Nechwatal, J. 2008. *Phytophthora gallica* sp. nov., a new species from rhizosphere soil of declining oak and reed stands in France and Germany. Mycological Research, 112(10), 1195–1205. https://doi.org/10.1016/j.mycres.2008.04.007
197. Jung, T. and Burgess T. I. 2009. Re-Evaluation of *Phytophthora Citricola* Isolates from Multiple Woody Hosts in Europe and North America Reveals a New Species, *Phytophthora Plurivora* Sp. Nov. Persoonia – Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi, 22, 95–110. https://doi.org/10.3767/003158509X442612
198. Jung, T., Blaschke, H. and Neumann, P. 1996. Isolation, identification and pathogenicity of *Phytophthora* species from declining oak stands. European Journal of Forest Pathology, 26(5), 253–272. https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1996.tb00846.x
199. Jung, T., Blaschke, H. and Osswald, W. 2000. Involvement of soilborne *Phytophthora* species in Central European oak decline and the effect of site factors on the disease. Plant Pathology, 49, 706–718. https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2000.00521.x
200. Jung, T., Cooke, D. E. L., Blaschke, H., Duncan, J. M. and Osswald, W. 1999. *Phytophthora quercina* sp. nov., causing root rot of European oaks. Mycological Research, 103(7), 785−798. https://doi.org/10.1017/S0953756298007734
201. Jung, T., Hansen, E.M., Winton, L., Osswald, W. and Delatour, C. 2002. Three new species of *Phytophthora* from European oak forests. Mycological Research, 106(4), 397−411. https://doi.org/10.1017/S0953756202005622
202. Jung, T., Blaschke, H. and Osswald, W. 2003. Effect of environmental constraints on *Phytophthora*-mediated oak decline in Central Europe. In McComb, J., Hardy, G., Tommerup, I., eds. *Phytophthora* in forests and natural ecosystems. 2nd International IUFRO Working Party 7.02.09. meeting, Albany, W. Australia 30th September – 5th October, 2001. Murdoch, Australia: Murdoch University Print, pp. 89–98.
203. Jung, T., Downing, M., Blaschke, M. and Vernon, T. 2007. *Phytophthora* root and collar rot of Alders caused by the invasive *Phytophthora alni*: actual distribution, pathways, and modeled potential distribution in Bavaria. Alien Invasive Species and International Trade, 10, 10–18.
204. Jung, T., Stukely, M. J. C., Hardy, G. E. St. J., White, D., Paap, T., Dunstan, W. A. and Burgess, T. I. 2011. Multiple new *Phytophthora* species from ITS Clade 6 associated with natural ecosystems in Australia: Evolutionary and ecological implications. Persoonia – Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi, 26(1), 13–39. https://doi.org/10.3767/003158511X557577
205. Jung, T., Vettraino, A. M., Cech, T. L., Vannini, A. 2013. The impact of invasive *Phytophthora* species on European forests. In *Phytophthora*: A global perspective. Ed. by Lamour, K. CABI, Wallingford, UK, pp. 146–158.
206. Jung, T., Orlikowski, L., Henricot, B., Abad-Campos, P., Aday, A. G., Aguín Casal, O., Bakonyi, J.,

Cacciola, S. O., Cech, T., Chavarriaga, D., Corcobado, T… Peréz-Sierra, A. 2016. Widespread *Phytophthora* infestations in European nurseries put forest, semi-natural and horticultural ecosystems at high risk of *Phytophthora* diseases. Forest Pathology, 46(2), 134−163. https://doi.org/10.1111/efp.12239

207. Jung, T., Scanu, B., Bakonyi, J., Seress, D., Kovács, G. M., Durán, A., Schena, L., Mosca, S., Thu, P. Q., Nguyen, C.M. and Fajardo, S. 2017a. *Nothophytophthora* gen. nov., a new sister genus of *Phytophthora* from natural and semi-natural ecosystems. Persoonia – Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi, 39(1), 143−174. https://doi.org/10.3767/persoonia.2017.39.07
208. Jung, T., Jung, M. H., Cacciola, S. O., Cech, T., Bakonyi, J., Seress, D., Mosca, S., Schena, L., Seddaiu, S., Pane, A. and di San Lio, G. M. 2017b. Multiple new cryptic pathogenic *Phytophthora* species from Fagaceae forests in Austria, Italy and Portugal. IMA fungus, 8, 219−244. https://doi.org/10.5598/imafungus.2017.08.02.02
209. Jung, T., Jung, M. H., Scanu, B., Seress, D., Kovács, G. M., Maia, C., Pérez-Sierra, A., Chang, T. T., Chandelier, A., Heungens, K. and Van Poucke, K. 2017c. Six new *Phytophthora* species from ITS Clade 7a including two sexually functional heterothallic hybrid species detected in natural ecosystems in Taiwan. Persoonia – Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi, 38(1), 100−135. https://doi.org/10.3767/003158517X693615
210. Jung, T., Chang, T. T., Bakonyi, J., Seress, D., Pérez-Sierra, A., Yang, X., Hong, C., Scanu, B., Fu, C. H., Hsueh, K. L., Maia, C., Abad-Campos, P., Léon, M. and Horta Jung, M. 2017d. Diversity of *Phytophthora* species in natural ecosystems of Taiwan and association with disease symptoms. Plant Pathology, 66, 194−211. https://doi.org/10.1111/ppa.12564
211. Jung, T., Pérez-Sierra, A., Durán, A., Jung, M. H., Balci, Y. and Scanu, B. 2018. Canker and decline diseases caused by soil-and airborne *Phytophthora* species in forests and woodlands. Persoonia – Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi, 40(1), 182−220. https://doi.org/10.3767/persoonia.2018.40.08
212. Jung, T., Scanu, B., Brasier, C. M., Webber, J., Milenković, I., Corcobado, T., Tomšovský, M., Pánek, M., Bakonyi, J., Maia, C., Bačová, A., Raco, M., Rees, H., Pérez-Sierra, A. and Horta Jung, M. 2020. A survey in natural forest ecosystems of Vietnam reveals high diversity of both new and described *Phytophthora* taxa including *P. ramorum*. Forests, 11(1), 93. https://doi.org/10.3390/f11010093
213. Jung, T., Horta Jung, M., Webber, J.F., Kageyama, K., Hieno, A., Masuya, H., Uematsu, S., Pérez-Sierra, A., Harris, A.R., Forster, J. and Rees, H. 2021. The destructive tree pathogen *Phytophthora ramorum* originates from the laurosilva forests of East Asia. Journal of Fungi, 7(3), 226. https://doi.org/10.3390/jof7030226
214. Jung, T., Milenković, I., Corcobado, T., Májek, T., Janoušek, J., Kudláček, T., Tomšovský, M., Nagy, Z.Á., Durán, A., Tarigan, M. and Sanfuentes von Stowasser, E. 2022. Extensive morphological and behavioural diversity among fourteen new and seven described species in *Phytophthora* Clade 10 and its evolutionary implications. Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi, 49(1), 1−57. https://doi.org/10.3767/persoonia.2022.49.01
215. Jung, T., Milenković, I., Balci, Y., Janoušek, J., Kudláček, T., Nagy, Z. Á., ... Horta Jung, M. 2024. Worldwide forest surveys reveal forty-three new species in *Phytophthora* major Clade 2 with fundamental implications for the evolution and biogeography of the genus and global plant biosecurity. Studies in Mycology, 107, 251−388. https://doi.org/10.3114/sim.2024.107.04
216. Jwa, N. S. and Walling, L. L. 2001. Influence of elevated CO_2 concentration on disease development in tomato. New Phytologist, 149, 509–518. https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2001.00063.x
217. Kalaji, H. M., Jajoo, A., Oukarroum, A., Brestic, M., Zivcak, M., Samborska, I. A., Cetner, M. D., Łukasik, I., Goltsev, V. and Ladle, R. J. 2016. Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. Acta physiologiae plantarum, 38, 1−11. https://doi.org/10.1007/s11738-016-2113-y
218. Kanoun-Boulé, M., Vasconcelos, T., Gaspar, J., Vieira, S., Dias-Ferreira, C. and Husson, C. 2016. *Phytophthora ×alni* and *Phytophthora lacustris* associated with common alder decline in Central Portugal. Forest Pathology, 46, 174−176. https://doi.org/10.1111/efp.12273
219. Karabourniotis, G., Liakopoulos, G., Bresta, P. and Nikolopoulos, D. 2021. The Optical Properties of Leaf Structural Elements and Their Contribution to Photosynthetic Performance and Photoprotection. Plants, 10, 7, 1455. https://doi.org/10.3390/plants10071455
220. Kazan, K. 2018. Plant-biotic interactions under elevated CO_2: a molecular perspective. Environmental and Experimental Botany, 153, 249−261. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.06.005
221. Keča, N., Koufakis, I., Dietershagen, J., Nowakowska, J.A. and Oszako, T. 2016. European oak decline phenomenon in relation to climatic changes. Folia Forestalia Polonica, 58(3), 170−177. https://doi.org/10.1515/ffp-2016-0019

222. Kirisits, T. 2001. Studies on the Association of Ophiostomatoid Fungi with Bark Beetles in Austria with Special Emphasis on *Ips typographus* and *Ips cembrae* and Their Associated Fungi *Ceratocystis polonica* and *Ceratocystis laricicola*. Ph.D. Thesis, Universität für Bodenkultur (BOKU), Wien, Austria.
223. Kirschner, R. 2001. Diversity of filamentous fungi in bark beetle galleries in central Europe. In Trichomycetes and Other Fungal Groups, 1st ed.; Lichtwardt Commemoration Volume; Robert,W., Misra, J.K., Horn, B.W., Eds.; Science Publishers, Inc.: Plymouth, UK. pp. 175–196. ISBN: 97-815-7808-1325.
224. Knaus, B. J., Fieland, V. J., Graham, K. A. and Grünwald, N. J. 2015. Diversity of foliar *Phytophthora* species on *Rhododendron* in Oregon nurseries. Plant Disease, 99(10), 1326−1332. https://doi.org/10.1094/PDIS-09-14-0964-RE
225. Knížek, M. 2002. Bělokaz dubový. *Scolytus intricatus* (Ratzeburg). Lesnická práce 81(12), příloha I–IV.
226. Knížek, M. 2011. Polník dvojtečný *Agrilus biguttatus* (Fabricius, 1777) (a ostatní krasci rodu *Agrilus* na dubech). Lesnická práce 20(11), příloha I–IV.
227. Kotýnková-Sychrová, E. 1966. Mykoflóra chodeb kůrovců v Československu. Česká Mykologie, 20, 45−53.
228. Kowalski, T. 2006. *Chalara fraxinea* sp. nov. associated with dieback of ash (*Fraxinus excelsior*) in Poland. Forest Pathology, 36(4), 264–270. https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.2006.00453.x
229. Kowalski, T. and Butin, H. 1989. Taxonomie bekannter und neuer Ceratocystis-Arten an Eiche (*Quercus robur* L.). Journal of Phytopathology, 124, 236–248.
230. Kowalski, T. and Bartnik, C. 1990. *Ceratocystis* species on *Quercus robur* with oak decline symptoms in southern Poland. EPPO Bulletin, 1990, 20(2, 221–8.
231. Kowalski, T. and Domanski, S. 1991. Preliminary results of artificial inoculations of *Quercus robur* L. with different species of *Ceratocystis*. Oak Decline in Europe. In Proceedings of the International Symposium, Kórnik, Poland, 15–18 May 1990; Siwecki, R., Liese, W., Eds.; Polish Academy of Sciences Institute of Dendrology: Kórnik, Poland. pp. 93–104.
232. Kox, L., De Gruyter, H., Garbelotto, M., Van Brouwershaven, I., Admiraal, J., Baayen, R. 2002. Validation of a PCR method for detection and identification of *Phytophthora ramorum*. Poster abstract. Sudden Oak Death, a Science Symposium, December 17–18, 2002, Monterey, California, pp. 57−58.
233. Kozlowski, T. T. 1997. Responses of woody plants to flooding and salinity. Tree physiology, 17(7), 490−490. https://doi.org/10.1093/treephys/17.7.490
234. Kramer, P. J. and Boyer, J. S. 1995. Water relations of plants and soils. Academic press. San Diego, California. 495 p. ISBN: 0-12-425060-2.
235. Kroon, L. P. N. M., Bakker, F. T., Van Den Bosch, G. B. M., Bonants, P. J. M. and Flier, W. G. 2004. Phylogenetic analysis of *Phytophthora* species based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. Fungal Genetics and Biology, 41(8), 766−782. https://doi.org/10.1016/j.fgb.2004.03.007
236. Kříž, Z., Králik, J., Míchálek, J., Richtár, V. 1971. Lesnická botanika: Učebnice pro žáky středních lesnických technických škol. 1. vydání. Praha, SZN. 449 s.
237. Kubátová, A. and Prášil, K. 1995. Ophiostomatální a další mikroskopické houby lesních dřevin s příznaky tracheomykózního onemocnění. Předběžné výsledky. In Čížková, D., Švecová, M. (eds.): Aktuální problémy ochrany dřevin. Sborník referátů (II), Prachatice, 1995, pp. 89−92.
238. Kubátová, A., Novotný, D. and Prášil, K. 2002. Microscopic fungi associated with oak bark beetle (*Scolytus intricatus*) in the Czech Republic. - Book of abstracts of the seventh international mycological congress (IMC7), Oslo, Norway, August 11−17, 2002, p. 300.
239. Kubiak, K., Żółciak, A., Damszel, M., Lech, P. and Sierota, Z. 2017. *Armillaria* Pathogenesis under Climate Changes. Forests, 8(4), 100. https://doi.org/10.3390/f8040100
240. Kunca, A. and Leontovyč, R. 2006. Dieback of Broadleaved Trees in Slovakia. In Possible Limitation of Decline Phenomena in Broadleaved Stands; Oszako, T., Woodward, S.W., Eds.; Forest Research Institute: Warsaw, Poland, pp. 29–33. ISBN: 83-87647-56-X.
241. Kyseláková, A. and Benedíková, M. 2010. *Phytophthora* spp. v dubových mlazinách. Zprávy lesnického výzkumu, 55, 43–53.
242. La Porta, N., Capretti, P., Thomsen, I. M., Kasanen, R., Hietala, A. M., Von Weissenberg, K. 2008. Forest pathogens with higher damage potential due to climate change in Europe. Canadian Journal of Plant Pathology, 30, 177–195. https://doi.org/10.1080/07060661.2008.10540534
243. La Spada, F., Cock, P. J., Randall, E., Pane, A., Cooke, D. E. and Cacciola, S. O. 2022. DNA metabarcoding and isolation by baiting complement each other in revealing *Phytophthora* diversity in anthropized and natural ecosystems. Journal of Fungi, 8(4), 330.

https://doi.org/10.3390/jof8040330
244. Lamour, K. and Kamoun, S. 2009. Oomycete genetics and genomics: diversity, interactions, and research tools. Blackwell Publisher, Hoboken. 592 p. ISBN: 978-04-7025-56-74.
245. Lamour, K. eds. 2013. *Phytophthora*: a global perspective. Cambridge, MA: CABI, c2013. CABI plant protection series, 2. 232 p. ISBN: 978-1-78064-093-8.
246. Landolt, J., Gross, A., Holdenrieder, O. and Pautasso, M. 2016. Ash dieback due to *Hymenoscyphus fraxineus*: What can be learnt from evolutionary ecology? Plant Pathology, 65(7), 1056–1070. https://doi.org/10.1111/ppa.12539
247. Lenz, H. D., Bartha, B., Straßer, L. and Lemme, H. 2016. Development of ash dieback in south-eastern Germany and the increasing occurrence of secondary pathogens. Forests, 7(2), 41. https://doi.org/10.3390/f7020041
248. Leontovyč, R. 1992. Výskyt rodu *Ophiostoma* na listnatých dřevinách v súčasných zmenených ekologických podmienkach Slovenska. In Proceedings of the Ophiostomatales—Výsledky současného taxonomického a fytopatologického výzkumu. Sborník referátů Praha, Czech Republic, 29 May 1991; Holubová, V., Prášil, K., Eds.; Československá Vědecká Společnost pro Mykologii při ČSAV: Praha, 1992; pp. 30–35.
249. Leontovyč, R. and Gontková, E. 1987. Napadnutie, náchylnosť a odolnosť jednotlivých druhov k hromadnému hynutiu dubov. Vedecké práce VÚLH vo Zvolene. 36, 211−232.
250. Lichtenthaler, H. K. and Rinderle, U. 1988. The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress conditions in plants. CRC Critical Reviews in Analytical Chemistry, 19(1), S29−S85.
251. Lichtenthaler, H. K., Langsdorf, G., Lenk, S. and Buschmann, C. 2005. Chlorophyll fluorescence imaging of photosynthetic activity with the flash-lamp fluorescence imaging system. Photosynthetica, 43, 355−369. https://doi.org/10.1007/s11099-005-0060-8
252. Lichtenthaler, H. K. 2021. Multi-colour fluorescence imaging of photosynthetic activity and plant stress. Photosynthetica, 59, 364–380. https://doi.org/10.32615/ps.2021.020
253. Lindner, M., Maroschek, M., Netherer, S., Kremer, A., Barbati, A., Garcia-Gonzalo, J., Seidl, R., Delzon, S., Corona, P., Kolström, M. and Lexer, M. J. 2010. Climate change impacts, adaptive capacity, and vulnerability of European forest ecosystems. Forest ecology and management, 259(4), 698−709. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.09.023
254. Liška, J. 1995. Role listožravého hmyzu v procesu odumírání. Dílčí závěrečná zpráva výzkumného projektu č. 329-91-9106: Odumírání dubů a dalších dřevin v lesních porostech s příznaky tracheomykózního onemocnění. VÚLHM, Jíloviště-Strnady.
255. Lonsdale, D. 2003. *Phytophthora* disease of alder: sources of inoculum, infection and host colonisation. Forestry Commission Bulletin, 126, 65–72.
256. Ludwig, R. A. 1952. Studies on the physiology of hadromycotic wilting in the tomato plant. MacDonald College, McGill University. Technical Bulletin, 20, 39.
257. Luisi, N., Lerario, P., Vannini, A. eds. 1993. Recent Advances in Studies on Oak Decline. In Conference proceedings; 1992 September 13–18; Selva di Fasano (Brindisi), Italy. Bari, Italy: Dipartimento di Patologia vegetale, Università degli Studi; 1993.
258. Lyubenova, A. B., Nowakowska, J. A., Sikora, K., Kostov, K., Borys, M., Slavov, S. B. and Oszako, T. 2016. Pathogenicity of *Phytophthora* isolates originating from several woody hosts in Bulgaria and Poland. Folia Forestalia Polonica, 58(3), 105−115. https://doi.org/10.1515/ffp-2016-0012
259. Madden, L. V., Hughes, G. and van den Bosch, F. 2007. The Study of Plant Disease Epidemics. CHAPTER 2: Measuring Plant Diseases. St. Paul, MN: APS Press. pp. 11−31. ISBN:978-0-89054-505-8. https://doi.org/10.1094/9780890545058.002
260. Madsen, C. L., Kosawang, C., Thomsen, I. M., Hansen, L. N., Nielsen, L. R. and Kjær, E. D. 2021. Combined progress in symptoms caused by *Hymenoscyphus fraxineus* and *Armillaria* species, and corresponding mortality in young and old ash trees. Forest Ecology and Management, 491, 119177. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2021.119177
261. Macháčová, M., Nakládal, O., Samek, M., Baťa, D., Zumr, V. and Pešková, V. 2022. Oak decline caused by biotic and abiotic factors in Central Europe: a case study from the Czech Republic. Forests, 13(8), 1223. https://doi.org/10.3390/f13081223
262. Macháčová, M., Tomášková, I., Corcobado, T., Nagy, Z., Milanović, S., Janoušek, J., Pešková, V., Čepl, J., Gezan, S., Nakládal, O. and Zumr, V. 2024. Response of *Alnus glutinosa* to *Phytophthora* bark infections at ambient and elevated CO_2 levels. Frontiers in Forests and Global Change, 7, 1379791. https://doi.org/10.3389/ffgc.2024.1379791
263. Májek, T., Schwanda, K. and Cech, T. L. 2019. Decline of alpine green alder (*Alnus viridis*) and relation to *Phytophthora* species, preliminary results. 9th Meeting of IUFRO Working Party 7.02.09 (*Phytophthora* in Forests and Natural Ecosystems), La Maddalena, Sardinia, Italy. https://doi.org/10.5281/zenodo.3564233

264. Malloch, D. and Blackwell, M. 1993. Dispersal biology of the ophiostomatoid fungi. In *Ceratocystis* and *Ophiostoma*: Taxonomy, Ecology, and Pathogenicity; Wingfield, M. J., Seifert, K. A., Webber, J. F., Eds. American Phytopathological Society Press: St Paul, MN, USA. pp. 195–206. ISBN: 978-0890541562.
265. Man in't Veld, W. A., Rosendahl, K. C. and Hong, C. 2012. *Phytophthora× serendipita* sp. nov. and *P.× pelgrandis*, two destructive pathogens generated by natural hybridization. Mycologia, 104(6), 1390−1396. https://doi.org/10.3852/11-272
266. Manion, P. D. 1981. Tree Disease Concepts, 2nd ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ, USA. 416 p. ISBN: 978-01-3929-4235.
267. Marcu, G. 1966. Studiul cauzelor si al metodelor de prevenire si combatere a uscarii stejalurui. Centrul de documentare technica pentru economia forestiera, Bucuresti, 582 p.
268. Marcu, G. 1987. Ursachen des Eichensterbens in Rumänien und Gegenmassnahmen. Österreichische Forstzeitung, 98, 53–54.
269. Marques Gomes, I., Neno, J., Jansson, R., Corcobado, T., Cech, T., Laurent, Y. et al. 2019. Responses of *Alnus glutinosa* populations to different inoculation methods of *Phytophthora* × *alni*. 9th Meeting of IUFRO Working Party 7.02.09 (*Phytophthora* in Forests and Natural Ecosystems), La Maddalena, Sardinia, Italy.
270. Matsiakh, I., Kramarets, V., Orlikowski, L. B. and Trzewik, A. 2012. Pierwsze doniesienie o występowaniu *Phytophthora* spp. i *Pythium litorale* w rzekach Beskidu Ukraińskich Karpat [First report on *Phytophthora* spp. and *Pythium litorale* occurrence in Beskid's rivers (of the Ukrainian Carpathians)]. Progress in Plant Protection 52 (4): 1200-1203. (in Polish with English abstract).
271. Matsiakh, I., Oszako, T., Kramarets, V. and Nowakowska, J. A. 2016. *Phytophthora* and *Pythium* species detected in rivers of the Polish-Ukrainian border areas. Baltic Forestry, 22(2), 230−238.
272. Matsiakh, I., Kramarets, V. and Cleary, M. 2021. Occurrence and diversity of *Phytophthora* species in declining broadleaf forests in western Ukraine. Forest Pathology, 51(1), 12662. https://doi.org/10.1111/efp.12662
273. Maurel, M., Robin, C., Capdevielle, X., Loustau, D. and Desprez-Loustau, M.L. 2001. Effects of variable root damage caused by *Phytophthora cinnamomi* on water relations of chestnut saplings. Annals of Forest Science, 58(6), 639−651. https://doi.org/10.1051/forest:2001151
274. Maxwell, K. and Johnson, G. N. 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. Journal of experimental botany, 51(345), 659−668. https://doi.org/10.1093/jexbot/51.345.659
275. McDougall, K. L. and Liew, E. C. 2024. Dispersal of *Phytophthora* species by off-road vehicles in New South Wales. Australasian Plant Pathology, 53, 63–65. https://doi.org/10.1007/s13313-023-00961-5
276. McDowell, N., Pockman, W. T., Allen, C. D, Breshears, D. D., Cobb, N., Kolb, T., Plaut, J., Sperry, J., West, A., Willams, D. G., Yepez, E. A. 2008. Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought? New Phytologist, 178, 719–739. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02436.x
277. McElrone, A. J., Reid, C. D., Hoye, K. A., Hart, E. and Jackson, R. B. 2005. Elevated CO_2 reduces disease incidence and severity of a red maple fungal pathogen via changes in host physiology and leaf chemistry. Global Change Biology, 11, 1828–1836. https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2005.001015.x
278. McIntyre, G. A., Jacobi, W. R. and Ramaley, A. W. 1996. Factors affecting *Cytospora* canker occurrence on aspen. Arboriculture & Urban Forestry (AUF), 22(5), 229−233. https://doi.org/10.48044/jauf.1996.035
279. McVean, D. N. 1953. *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. Journal of Ecology. 41(2), 447–466.
280. McVean, D. N. 1956. Ecology of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn: IV. Root System. Journal of Ecology. 44(1), 219–225.
281. Milanović, S., Milenković, I., Dobrosavljević, J., Popović, M., Solla, A., Tomšovský, M., Jankovský, L. 2020. Growth rates of *Lymantria dispar* larvae and *Quercus robur* seedlings at elevated CO_2 concentration and *Phytophthora plurivora* infection. Forests, 11, 1–14. https://doi.org/10.3390/f11101059
282. Milenković, I., Keča, N., Karadžić, D., Radulović, Z., Nowakowska, J. A., Oszako, T., Sikora, K., Corcobado, T. and Jung, T. 2018. Isolation and pathogenicity of *Phytophthora* species from poplar plantations in Serbia. Forests, 9(6), 330. https://doi.org/10.3390/f9060330
283. Moore, T. R., Matthews, H. D., Simmons, C. and Leduc, M. 2015. Quantifying changes in extreme weather events in response to warmer global temperature. Atmosphere-ocean 53, 412–425. https://doi.org/10.1080/07055900.2015.1077099
284. Moraal, L. G. and Hilszczánski, J. 2000. The oak buprestid beetle, *Agrilus biguttatus* (F.) (Col., Buprestidae), a recent factor in oak decline in Europe. Anzeiger für Schädlingskunde. 73, 134−138.

285. Mrázková, M., Černý, K., Gabrielová, S. and Tomšovský, M. 2007. First report of leaf spot, shoot blight, and stem and collar canker of *Rhododendron* spp. caused by *Phytophthora citricola* in the Czech Republic. Plant Disease, 91(11), 1515−1515. https://doi.org/10.1094/PDIS-91-11-1515B
286. Mrázková, M., Černý, K., Tomšovský, M., Holub, V., Strnadová V., Zlatohlávek A., Gabrielová, S. 2010. First Report of Root Rot of Pedunculate Oak and Other Forest Tree Species Caused by *Phytophthora plurivora* in the Czech Republic. Plant Disease, 94(2), 272−272. https://doi.org/10.1094/PDIS-94-2-0272B
287. Mrázková, M., Černý, K., Tomšovský, M. and Strnadová, V. 2011. *Phytophthora plurivora* T. Jung & T. I. Burgess and other *Phytophthora* species causing important diseases of ericaceous plants in the Czech Republic. Plant Protection Science, 47, 13–19. https://doi.org/10.17221/3108-PPS
288. Mrázková M., Černý K., Strnadová V., Filipová N. 2012. Identifikace symptomů napadení dřevin a okrasných rostlin patogeny z rodu *Phytophthora* de Bary. Certifikovaná metodika. VÚKOZ. Praha. 37 s.
289. Mrázková, M., Černý, K., Tomšovský, M., Strnadová, V., Gregorová, B., Holub, V., Pánek, M., Havrdová, L., Hejná, M. 2013. Occurrence of *Phytophthora multivora* and *Phytophthora plurivora* in the Czech Republic. Plant Protection Science, 49(4), 155–164. https://doi.org/10.17221/74/2012-pps
290. Mrazkova, M., Hrabetova, M., Setinova, D. and Cerny, K. 2022. First Report of *Phytophthora nicotianae* Causing Root and Basal Stem Rot of *Rosmarinus* and *Thymus* and Foliar Blight of *Rhododendron* in the Czech Republic. Plant Disease, 106(11), 2990. https://doi.org/10.1094/PDIS-08-21-1712-PDN
291. Mrkva, R. 2003. Praskliny kůry suchem jako poškození a dosud neznámý symptom chřadnutí listnatých dřevin. Zprávy lesnického výzkumu, 48, 136–142.
292. Mullett, M. S., Van Poucke, K., Haegeman, A., Focquet, F., Cauldron, N. C., Knaus, B. J., Horta Jung, M., Kageyama, K., Hieno, A., Masuja, H., Uematsu, S., Webber, J. F., Brasier, C. M., Bakonyi, J., Heungens, K., Grünwald, N. J., Jung, T. 2023. Phylogeography and population structure of the global, wide host-range hybrid pathogen *Phytophthora* × *cambivora*. IMA Fungus, 14(1), 4. https://doi.org/10.1186/s43008-023-00109-6
293. Nagy, Z. Á., Bakonyi, J. and Érsek, T. 2003. Standard and Swedish variant types of the hybrid alder *Phytophthora* attacking alder in Hungary. Pest Management Science, 59(4), 484–492. https://doi.org/10.1002/ps.681
294. Nakládal, O., Zumr, V., Remeš, J., Macháčová, M., Pešková, V. 2022. Heritage trees as an important sanctuary for saproxylic beetles in the Central European landscape: a case study from litovelské Pomoraví, Czech Republic. Forests, 13(7), 1128. https://doi.org/10.3390/f13071128
295. National Center for Biotechnology Information (NCBI). 1988. Bethesda (MD), National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information. [cit. 2024-07-18]. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/
296. Navarro, B. S., Sims, L. and Hansen, E. 2015. Pathogenicity to alder of *Phytophthora* species from riparian ecosystems in western Oregon. Forest Pathology, 45, 358–366. https://doi.org/10.1111/efp.12175
297. Nave, C., Schwan, J., Werres, S. and Riebesehl, J. 2021. *Alnus glutinosa* Threatened by Alder *Phytophthora*: A Histological Study of Roots. Pathogens, 10(8), 977. https://doi.org/10.3390/pathogens10080977
298. Nechwatal, J., Bakonyi, J., Cacciola, S. O., Cooke, D. E. L., Jung, T., Nagy, Z. A., Vannini, A., Vettraino, A. M. and Brasier, C. M. 2013. The morphology, behaviour and molecular phylogeny of *Phytophthora* taxon Salixsoil and its redesignation as *Phytophthora lacustris* sp. nov. Plant Pathology, 62(2), 355−369. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2012.02638.x
299. Nicklová-Navrátilová, H. 1949. Tři čtvrti roku zahradnické práce očima fytopatologa. Ochrana rostlin, 22, 238–256.
300. Nienhaus, F. 1987. Viren und primitive Prokaryonten in Eichen. Österreichische Forstzeitung, 3, 64–65.
301. Norby, R. J., Warren, J. M., Iversen, C. M., Medlyn, B. E. and McMurtrie, R. E. 2010. CO_2 enhancement of forest productivity constrained by limited nitrogen availability. Proceedings of the National Academy of Sciences, 107(45), 19368−19373. https://doi.org/10.1073/pnas.1006463107
302. Novotná, K., Štochlová, P., Havrdová, L., Černý K. 2017. Současná ohrožení vybraných klíčových dřevin lužních lesů a břehových porostů a možnosti jejich eliminace. Ochrana přírody, 6, 24−27.
303. Novotný, D. 1995. Příspěvek k mykoflóře dubů s tracheomykózními příznaky. In Čížková, D., Švecová, M. (eds.): Aktuální problémy ochrany dřevin. Sborník referátů (II), Prachatice, 1995, pp. 89−92.

304. Novotný, D. 1999. Ophiostomatales a lesní dřeviny (zvláště dub). In Sborník konference s mezinárodní účastí „Houby a les“, MZLU v Brně, 3.− 4. 6. 1999, pp. 89–94.
305. Novotný, D. 2003. Endofyty a ophiostomatální houby ve vztahu k listnatým dřevinám. Zprávy lesnického výzkumu, 48, 126–129.
306. Nowak, K., Trzewik, A., Tułacz, D., Orlikowska, T. and Orlikowski, L. 2015. Characterization of Polish *Phytophthora lacustris* isolates obtained from water environments. Polish Journal of Environmental Studies, 24(2), 619–630. https://doi.org/10.15244/pjoes/29195
307. Oleksyn, J. and Przybyl, K. 1987. Oak decline in the Soviet Union-Scale and hypotheses. European Journal of Plant Pathology, 17, 321–336. https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1987.tb01325.x
308. Olsson, C. H. 1999. Diagnosis of root-infecting Phytophthora spp. Uppsala, Sweden: Sveriges Lantbruksuniversitet (Swedish University of Agricultural Sciences). 100 pp.
309. Oosterbaan, A. 1990. Oak Decline and the Status of *Ophiostoma* spp. on Oak in Europe (Netherlands). Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 20, 405–422. https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.1990.tb00164.x
310. Oramová, V. 2024. Vztah fyziologických a optických vlastností listu k projevům napadení olše lepkavé (*Alnus glutinosa*) patogenem *Phytophtora* × *alni*. Diplomová práce. Univerzita Karlova. Přírodovědecká fakulta. 94 s.
311. Orlikowski, L. B., Trzewik, A., Ptaszek, M. and Orlikowska, T. 2012. Relationship between source of water, occurrence, and pathogenicity of *Phytophthora plurivora*. Acta Mycologica, 47, 1. https://doi.org/10.5586/am.2012.001
312. Osswald, W., Fleischmann, F., Rigling, D., Coelho, A. C., Cravador, A., Diez, J., Dalio, R. J., Horta Jung, M., Pfanz, H., Robin, C. and Sipos, G. 2014. Strategies of attack and defence in woody plant–*Phytophthora* interactions. Forest Pathology, 44(3), 169–190. https://doi.org/10.1111/efp.12096
313. Oszako, T. 1997. Influence of Water Stress, Defoliation and Inoculation with *Ophiostoma querci* on Pedunculate Oak Seedlings. Folia Forestalia Polonica Series A Forestry, 39, 5–15.
314. Oszako, T. 2000. Oak declines in Europe’s forests—History, causes and hypothesis. In Recent Advances on Oak Health in Europe, Proceedings of the International Scientific Conference, Warsaw, Poland, 22–24 November 1999; Oszako, T., Delatour, C., Eds.; Forest Research Institute: Warsaw, Poland, 11–40.
315. Oszako, T. 2004. Protection of Forests Against Pest Insects and Diseases. European Oak Decline Study Case, Forests Research Institute (IBL): Warsaw, Poland. ISBN: 83-87-647-37-3.
316. Oszako, T. 2005. Zamieranie olszy w Europie. Lesne Práce Badawcze, Supplementum 1, 53–63.
317. Oszako, T., Sikora, K., Borys, M., Kubiak, K. A., and Tkaczyk, M. 2016. *Phytophthora quercina* infections in elevated CO_2 concentrations. Folia Forestalia Polonica, 58(3), 131–141. https://doi.org/10.1515/ffp-2016-0015
318. Pánek, M., Maňasová, M., Wenzlová, J., Zouhar, M. and Mazáková, J. 2022. Peronosporales species associated with strawberry crown rot in the Czech Republic. Journal of Fungi, 8(4), 346. https://doi.org/10.3390/jof8040346
319. Parke, J. L., Knaus, B. J., Fieland, V. J., Lewis, C. and Grünwald, N. J. 2014. *Phytophthora* community structure analyses in Oregon nurseries inform systems approaches to disease management. Phytopathology, 104(10), 1052–1062. https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-14-0014-R
320. Parke, J. L., Redekar, N. R., Eberhart, J. L. and Funahashi, F. 2019. Hazard analysis for *Phytophthora* species in container nurseries: Three case studies. HortTechnology, 29(6), 745–755. https://doi.org/10.21273/HORTTECH04304-19
321. Patočka, J. and Novotný, J. 1987. Účasť hmyzu na hromadnom hynutí dubov na Slovensku. Vedecké práce VÚLH Zvolen. 355 s. 36, 59−90.
322. Pecka, Š. 2023. Vývoj vnitrodruhové diverzity invazního patogenu olší *Phytophthora* ×*alni*. Diplomová práce. Univerzita Karlova. Přírodovědecká fakulta. 54 s.
323. Percy, K. E., Awmack, C. S., Lindroth, R. L., Kubiske, M. E., Kopper, B. J., Isebrands, J. G., Pregitzer, K. S., Hendrey, G. R., Dickson, R. E., Zak, D. R. and Oksanen, E. 2002. Altered performance of forest pests under atmospheres enriched by CO_2 and O_3. Nature, 420(6914), 403−407. https://doi.org/10.1038/nature01028
324. Pérez-Sierra, A., Kalantarzadeh, M., Sancisi-Frey, S. and Brasier, C. M. 2015. *Phytophthora siskiyouensis* causing stem lesions and cankers on *Alnus incana*. New Disease Reports, 31, 17−17. http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2015.031.017
325. Pérez-Sierra, A., Jung, M. H. and Jung, T. 2022. Survey and Monitoring of *Phytophthora* Species in Natural Ecosystems: Methods for Sampling, Isolation, Purification, Storage, and Pathogenicity Tests. In Luchi, N. (eds) Plant Pathology. Methods in Molecular Biology, vol 2536. Humana, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2517-0_2
326. Petrescu, M., 1974. Le Dépérissement du Chene en Roumanie. European Journal of Plant Pathology, 4, 222−227.

327. Pintos Varela, C., Rial Martínez, C., Mansilla Vázquez, J. P. and Aguín Casal, O. 2010. First report of *Phytophthora* rot on alders caused by *Phytophthora alni* subsp. *alni* in Spain. Plant Disease, 94, 273–273. https://doi.org/10.1094/PDIS-94-2-0273A
328. Procházková, Z. and Jančařík, V. 1991. Diseases in Czech-Slovak forest nurseries. Proceedings of the first meeting of IUFRO working party S2.07-09. Victoria, Canada, pp. 37–50.
329. Przybyl, K. 1991. On the pathogenicity of *Ophiostoma piceae*. Oak decline in Europe. In Proceedings of the International Symposium, Kórnik, Poland, 15–18 May 1990; Siwecki, R., Liese,W., Eds.; Polish Academy of Sciences Institute of Dendrology: Kórnik, Poland, pp. 83–89.
330. Příhoda, A. 1990. Hynutí dubů ve středních Čechách. Bohemia Centralis, 19, 81–90.
331. Příhoda, A. and Jančařík, V. 1988. Tracheomykózy dubu. In TEI—Bulletin Technickoekonomických Informací 1. VÚLHM, Jíloviště-Strnady, Praha, 1–8.
332. R development CORE team. 2021. R: A language and environment for statistical computing R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.
333. Ragazzi, A., Mugnai, L., Moricca, S., Vagniluca, S. and Dellavalle, I. 1993. Requirements and biological aspects of *Fusarium eumartii* and its possible role in oak decline in North-eastern Italian oak forests. European journal of forest pathology, 23(3), 171–177. https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1993.tb00957.x
334. Ragazzi, A., Vagniluca, S. and Moricca, S. 1995. European expansion of oak decline, involved microorganisms and methodological approaches. Phytopathologia Mediterranea, 34(3), 207−226.
335. Redondo, M. A., Boberg, J., Olsson, C. H. and Oliva, J. 2015. Winter conditions correlate with *Phytophthora alni* subspecies distribution in Southern Sweden. Phytopathology, 105(9), 1191−1197. https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-15-0020-R
336. Redondo, M. A., Thomsen, I. M. and Oliva, J. 2017. First report of *Phytophthora uniformis* and *P. plurivora* causing stem cankers on *Alnus glutinosa* in Denmark. Plant Disease, 101(3), 512−512. https://doi.org/10.1094/PDIS-09-16-1287-PDN
337. Redondo, M. A., Stenlid, J. and Oliva, J. 2020. Genetic variation explains changes in susceptibility in a naïve host against an invasive forest pathogen: The case of alder and the *Phytophthora alni* complex. Phytopathology, 110(2), 517−525. https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-19-0272-R
338. Reeksting, B. J., Taylor, N. J. and Van den Berg, N. 2014. Flooding and *Phytophthora cinnamomi*: Effects on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in shoots of non-grafted *Persea americana* (Mill.) rootstocks differing in tolerance to *Phytophthora* root rot. South African Journal of Botany, 95, 40−53. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2014.08.004
339. Rigling, D. and Prospero, S. 2017. *Cryphonectria parasitica*, the causal agent of chestnut blight: Invasion history, population biology and disease control. Molecular Plant Pathology, 19(1), 7−20. https://doi.org/10.1111/mpp.12542
340. Robideau, G. P., De Cock, A. W., Coffey, M. D., Voglmayr, H., Brouwer, H., Bala, K., Chitty, D. W., Desaulniers, N., Eggertson, Q. A., Gachon, C. M. and Hu, C. H. 2011. DNA barcoding of oomycetes with cytochrome c oxidase subunit I and internal transcribed spacer. Molecular ecology resources, 11(6), 1002−1011. https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2011.03041.x
341. Rohde, T. 1936. Beitrag zur Kenntnis einer krebsartigen Eichenkrankheit und ihrer Pilzflora. Inaugural Dissertation. Schaper, Hannover. 54 p.
342. Romportl, D., Chumanová, E., Havrdová, L., Pešková, V. and Černý, K. 2016. Potential risk of occurrence of *Phytophthora alni* in forests of the Czech Republic. Journal of Maps, 12(sup1), 280−284. https://doi.org/10.1080/17445647.2016.1198996
343. Ruffner, B., Rigling, D. and Schoebel, C. N. 2019. Multispecies *Phytophthora* disease patterns in declining beech stands. Forest Pathology, 49(3), 12514. https://doi.org/10.1111/efp.12514
344. Ruffner, B., Schneider, S., Meyer, J., Queloz, V. and Rigling, D. 2020. First report of acute oak decline disease of native and non-native oaks in Switzerland. New Disease Reports, 41(18), 2044–0588. https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2020.041.018
345. Rytkönen, A., Lilja, A., Vercauteren, A., Sirkiä, S., Parikka, P., Soukainen, M. and Hantula, J. 2012. Identity and potential pathogenicity of *Phytophthora* species found on symptomatic *Rhododendron* plants in a Finnish nursery. Canadian Journal of Plant Pathology, 34(2), 255–267. https://doi.org/10.1080/07060661.2012.686455
346. Sallé, A., Nageleisen, L. M. and Lieutier, F. 2014. Bark and wood boring insects involved in oak declines in Europe: Current knowledge and future prospects in a context of climate change. Forest Ecology and Management, 328, 79−93. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2014.05.027
347. Sansome, E. and Brasier, C. M. 1973. Diploidy and chromosomal structural hybridity in *Phytophthora infestans*. Nature, 241, 344–345.
348. Santini, A., Barzanti, G. P. and Capretti, P. 2001. A new *Phytophthora* root disease of alder in Italy.

Plant Disease, 85(5), 560. https://doi.org/10.1094/PDIS.2001.85.5.560A
349. Santini, A., Barzanti, G. P. and Capretti, P. 2003. Susceptibility of some mesophilic hardwoods to alder *Phytophthora*. Journal of Phytopathology, 151(7–8), 406–410. https://doi.org/10.1046/j.1439-0434.2003.00739.x
350. Santini, A., Ghelardini, L., De Pace, C., Desprez-Loustau, M. L., Capretti, P., Chandelier, A., Cech, T., Chira, D., Diamandis, S., Gaitniekis, T. and Hantula, J. 2013. Biogeographical patterns and determinants of invasion by forest pathogens in Europe. New Phytologist, 197(1), 238−250. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04364.x
351. Sarker, S. R., McComb, J., Burgess, T. I. and Hardy, G. E. S. J. 2021. Timing and abundance of sporangia production and zoospore release influences the recovery of different *Phytophthora* species by baiting. Fungal Biology, 125(6), 477−484. https://doi.org/10.1016/j.funbio.2021.01.009
352. Sarker, S. R., McComb, J., Hardy, G. E. S. J. and Burgess, T. I. 2023. Sample volume affects the number of *Phytophthora* and *Phytopythium* species detected by soil baiting. European Journal of Plant Pathology, 166(3), 303−313. https://doi.org/10.1007/s10658-023-02661-8
353. Seddaiu, S., Brandano, A., Ruiu, P. A., Sechi, C. and Scanu, B. 2020. An overview of *Phytophthora* species inhabiting declining *Quercus suber* stands in Sardinia (Italy). Forests, 11(9), 971. https://doi.org/10.3390/f11090971
354. Selochnik, N. N., Pashenova, N. V., Sidorov, E., Wingfield, M. J., Linnakoski, R. 2015. Ophiostomatoid fungi and their roles in *Quercus robur* dieback in Tellermann forest, Russia. Silva Fennica, 49 (5), 1328. https://doi.org/10.14214/sf.1328
355. Shakya, S. K., Grünwald, N. J., Fieland, V. J., Knaus, B. J., Weiland, J. E., Maia, C., Drenth, A., Guest, D. I., Liew, E. C., Crane, C. and Chang, T. T. 2021. Phylogeography of the wide-host range panglobal plant pathogen *Phytophthora cinnamomi*. Molecular Ecology, 30(20), 5164−5178. https://doi.org/10.1111/mec.16109
356. Schmitthenner, A. F. and Bhat, R. G. 1994. Useful Methods for Studying *Phytophthora* in the Laboratory. The Ohio State University, Department of Plant Pathology. Oardc special circular, 143, 1−10.
357. Schoebel, C. N., Stewart, J., Gruenwald, N. J., Rigling, D. and Prospero, S. 2014. Population history and pathways of spread of the plant pathogen *Phytophthora plurivora*. PLoS One, 9(1), 85368. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085368
358. Scholander, P. F., Bradstreet, E. D., Hemmingsen, E. A. and Hammel, H. T. 1965. Sap Pressure in Vascular Plants: Negative hydrostatic pressure can be measured in plants. Science, 148(3668), 339−346. https://doi.org/10.1126/science.148.3668.339
359. Schopf, A. 1992. Rinden- und holzbriitende Schädlinge an erkrankten Eichen in Österreich. Österreichische Forstzeitung, 103, 33−35.
360. Schumacher, J., Sindy, L., Grundmann, B. M. and Roloff, A. 2006. New alder disease in Spreewald biosphere reserve – causes and incidental factors of an epidemic. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes, 58(6), 141–147.
361. Schütt, P. 1993. Oak decline in central and eastern Europe. A critical review of a little understood phenomenon. In Conference proceedings; 1992 September 13–18; Selva di Fasano (Brindisi), Italy. Bari, Italy: Dipartimento di Patologia vegetale, Università degli Studi; 1993, pp. 235−239.
362. Siwecki, R. and Liese, W. 1991. Oak Decline in Europe. In Proceedings of the International Symposium, Kórnik, Poland, 15–18 May 1990; Siwecki, R., Liese,W., Eds.; Polish Academy of Sciences Institute of Dendrology: Kórnik, Poland, pp. 233−239.
363. Siwecki, R. and Ufnalski, K. 1998. Review of oak stand decline with special reference to the role of drought in Poland. European Journal of Plant Pathology, 28(2), 99–112. https://doi.org/10.1111/j.1439-0329.1998.tb01171.x
364. Skoczowski, A., Odrzywolska-Hasiec, M., Oliwa, J., Ciereszko, I., Kornaś, A. 2021. Ecophysiological Variability of *Alnus viridis* (Chaix) DC. Green Alder Leaves in the Bieszczady Mountains (Poland). Plants, 10(1), 96. https://doi.org/10.3390/plants10010096
365. Smith, F. and Luna, E. 2023. Elevated atmospheric carbon dioxide and plant immunity to fungal pathogens: do the risks outweigh the benefits? Biochemical Journal, 480, 1791–1804. https://doi.org/10.1042/BCJ20230152
366. Sohar, K., Helama, S., Läänelaid, A., Raisio, J. and Tuomenvirta, H. 2014. Oak decline in a southern Finnish forestas affected by a drought sequence. Geochronometria, 41, 92–103. https://doi.org/10.2478/s13386-013-0137-2

367. Solla, A., Pérez-Sierra, A., Corcobado, T., Haque, M. M., Diez, J. J. and Jung, T. 2010. *Phytophthora alni* on *Alnus glutinosa* reported for the first time in Spain. Plant Pathology, 59(4), 798−798. https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02254.x
368. Somogyi, Z. 2000. Oak decline in Hungary: Case study. Recent Advances on Oak Health in Europe. In Proceedings of the International Scientific Conference, Warsaw, Poland, 22–24 November 1999; Oszako, T., Delatour, C., Eds.; Forest Research Institute: Warsaw, Poland, 73–82, 91–103.
369. Soukup, F. 1995. Závěrečná zpráva o řešení výzkumného projektu č. 329-91-9106. Odumírání dubů a dalších dřevin v lesních porostech s příznaky tracheomykózního onemocnění.
370. Southwood, T. R. E. 1961. The number of species of insect associated with various trees. Journal of Animal Ecology, 30(1), 1–8. https://doi.org/10.2307/2109
371. Stirbet, A. and Govindjee. 2012. Chlorophyll a fluorescence induction: a personal perspective of the thermal phase, the J–I–P rise. Photosynthesis research, 113, 15−61. https://doi.org/10.1007/s11120-012-9754-5
372. Strasser, R. J., Tsimilli-Michael, M. and Srivastava, A. 2004. Analysis of the fluorescence transient. In George, C., Papageorgiou, C., Govindjee (eds.): Chlorophyll Fluorescence: A Signature of Photosynthesis. Advances in Photosynthesis and Respiration Series. Springer, Dordrecht, 321–362. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9
373. Streito, J. C., Alioua, M. and Marçais, B. 2001. The impact of *Phytophthora* disease on riparian population of common alder (*Alnus glutinosa*) along the Moselle River (NE France). Second International IUFRO Meeting on *Phytophthora* in Forest and Natural Ecosystems. IUFRO, Vienna.
374. Streito, J. C., Legrand, Ph., Tabary, F. and Jarnouen de Villartay, G. 2002. *Phytophthora* disease of alder (*Alnus glutinosa*) in France: investigations between 1995 and 1999. Forest Pathology, 32, 179–191. https://doi.org/10.1046/j.1439-0329.2002.00282.x
375. Strnadová, V., Černý, K., Brejchová, P., Gregorová, B., Holub, V. and Gabrielová, Š. 2006. Chřadnutí olší v České republice – role *Phytophthora alni* a povodní v r. 2002. Mykologické Listy, 97, 46–47.
376. Strnadová, V., Černý, K., Holub, V. and Gregorová, B. 2010. The effects of flooding and *Phytophthora alni* infection on black alder. Journal of Forest Science, 56(1), 41–46. https://doi.org/10.17221/67/2009-JFS
377. Strømeng, G. M., Brurberg, M. B., Herrero, M.-L., Couanon, W., Stensvand, A., Børja, I. and Talgø, V. 2012. *Phytophthora alni* forarsaker sjukdom pa or (*Alnus* spp.) i Norge. Bioforsk TEMA, 12, 1–8.
378. Struková, S., Vosátka, M. and Pokorný, J. 1996. Root symbioses of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. and their possible role in alder decline: A preliminary study. Folia Geobotanica et Phytotaxonomica, 31(1), 153−162.
379. Szabó, I., Lakatos, F. and Sipos, G. 2013. Occurrence of soilborne *Phytophthora* species in declining broadleaf forests in Hungary. European Journal of Plant Pathology, 137, 159−168. https://doi.org/10.1007/s10658-013-0228-1
380. Szabó, I., Nagy, Z., Bakonyi, J. and Érsek, T. 2000. First report of *Phytophthora* root and collar rot of alder in Hungary. Plant Disease, 84, 1251–1251. https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.11.1251A
381. Szewczyk, W., Kwaśna, H. and Behnke-Borowczyk, J. 2016. *Armillaria* population in flood-plain forest of natural pedunculate oak showing oak decline. Polish Journal of Environmental Studies, 25(3), 1253−1262. https://doi.org/10.15244/pjoes/61412
382. Szontagh, P. 1987. Die Rolle der Insektengradation im Verlauf der Krankheiten von Trauben-eichenbeständen. Österreichische Forstzeitung, 98, 65−66.
383. Šmilauer, P. and Lepš, J. 2014. Multivariate Analysis of Ecological Data using CANOCO 5. Cambridge University Press. https://doi.org/10.1017/CBO9781139627061
384. Šrůtka, P., Pažoutová, S. and Kolařík, M. 2007. *Daldinia Decipiens* and *Entonaema Cinnabarina* as Fungal Symbionts of *Xiphydria* Wood Wasps. Mycological Research, 111(2), 224–31. https://doi.org/10.1016/j.mycres.2006.10.006
385. Štěpánková, P., Černý, K., Strnadová, V., Hanáček, P. and Tomšovský, M. 2013. Identification of *Phytophthora alni* subspecies in riparian stands in the Czech Republic. Plant Protection Science, 49(10), S3–S10. https://doi.org/10.17221/41/2013-PPS
386. Štochlová, P., Novotná, K. and Černý, K. 2016. Variation in *Alnus glutinosa* susceptibility to *Phytophthora ×alni* infection and its geographic pattern in the Czech Republic. Forest Pathology, 46, 3−10. https://doi.org/10.1111/efp.12205
387. Švecová, M. and Skalický, C. 1992. Problematika hub řádu Ophiostomatales a jejich výskyt v českých zemích. In Holubová, V., Prášil, K. Ophiostomatales – Výsledky současného taxonomického a fytopatologického výzkumu. Sborník referátů. Praha. 1992, pp. 19–29.
388. Taiz, L. and Zeiger, E. 2010. Plant Physiology. 5th Edition. Sunderland, MA: Sinauer Associates. 782 p. ISBN: 978-08-7893-866-7.

389. Thach, L., Shapcott, A., Schmidt, S. and Critchley, A. Ch. 2007. The OJIP fast fluorescence rise characterizes *Graptophyllum* species and their stress responses. Photosynthesis Research. Springer, 94(2−3), 423−436. https://doi/10.1007/s11120-007-9207-8
390. Thines, M. and Choi, Y. J. 2016. Evolution, diversity, and taxonomy of the Peronosporaceae, with focus on the genus Peronospora. Phytopathology, 106(1), 6–18. https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-15-0127-RVW
391. Thoirain, B., Husson, C. and Marçais, B. 2007. Risk factors for the *Phytophthora*-induced decline of alder in northeastern France. Phytopathology, 97(1), 99−105. https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-0099
392. Thomas, F. M. 2008. Recent Advances in Cause-Effect Research on Oak Decline in Europe. CABI Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, 3(037), 1−12. https://doi.org/10.1079/PAVSNNR20083037
393. Thomas, F.M., Blank, R. and Hartmann, G. 2002. Abiotic and biotic factors and their interactions as causes of oak decline in Central Europe. Forest Pathology, 32(4–5), 277–307. https://doi.org/10.1046/j.1439-0329.2002.00291.x
394. Tkaczyk, M., Sikora, K., Nowakowska, J. A., Kubiak, K. and Oszako, T. 2014. Effect of CO_2 enhancement on beech (*Fagus sylvatica* L.) seedling root rot due to *Phytophthora plurivora* and *Phytophthora cactorum*. Folia Forestalia Polonica, 56, 149–156. https://doi.org/10.2478/ffp-2014-0016
395. Tkaczyk, M., Milenković, I., Nowakowska, J.A., Borys, M., Kałuski, T., Gawlak, M., Czyż, M. and Oszako, T. 2017. Morphological and molecular identification of *Phytophthora* species isolated from the rhizosphere of declining oak trees in Krotoszyn Plateau. Genetika, 49(1), 203–215. https://doi.org/10.2298/GENSR1701203T
396. Tkaczyk, M., Sikora, K., Galko, J., Kunca, A. and Milenković, I. 2020. Isolation and pathogenicity of *Phytophthora* species from sessile oak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) stands in Slovakia. Forest Pathology, 50(5), 12632. https://doi.org/10.1111/efp.12632
397. Tkaczyk, M., Celma, L., Ruņģis, D. E. and Bokuma, G. 2021. First report of *Brenneria goodwinii* and *Gibbsiella quercinecans* bacteria, detected on weaken oak trees in Poland. Baltic Forestry, 27(1), 563. https://doi.org/10.46490/F563
398. Tkaczyk, M., Szmidla, H. and Sikora, K. 2023a. Occurrence of *Phytophthora* species in the rhizosphere of dying black alder *Alnus glutinosa* in central and northeastern Poland. Sylwan, 167, 07. https://doi.org/10.26202/sylwan.2023040
399. Tkaczyk, M., Sikora, K., Galko, J. and Kunca, A. 2023b. Occurrence of *Phytophthora* species in riparian stands of black alder (*Alnus glutinosa*) in Slovakia. Forest Pathology, 53(2), 12800. https://doi.org/10.1111/efp.12800
400. Tkaczyk, M., Sikora, K. and Galko, J. 2024. First report of bacteria causing Acute Oak Decline on *Quercus robur* in Slovakia. European Journal of Plant Pathology, 169(1), 113–120. https://doi.org/10.1007/s10658-024-02813-4
401. Tradowsky, J. S., Philip, S. Y., Kreienkamp, F., Kew, S. F., Lorenz, P., Arrighi, J., Bettmann, T., Caluwaerts, S., Chan, S. C., De Cruz, L. and de Vries, H. 2023. Attribution of the heavy rainfall events leading to severe flooding in Western Europe during July 2021. Climatic Change, 176(7), 90. https://doi.org/10.1007/s10584-023-03502-7
402. Trajber, D., Orgis, N., Jurc, D., Piškur, B. 2020. Problems with *Hymenoscyphus fraxineus* and *Phytophtora alni* in norteastern part of Slovenia. In Zbornik predavanj in referatov, 14. slovensko posvetovanje o varstvu rastlin z mednarodno udeležbo, 5.-6. marec 2019, Maribor, Slovenija, 12, pp. 92–98.
403. Trzewik, A., Maciorowski, R. and Orlikowska, T. 2021. Pathogenicity of *Phytophthora× alni* isolates obtained from symptomatic trees, soil and water against alder. Forests, 13(1), 20. https://doi.org/10.3390/f13010020
404. Trzewik, A., Orlikowski, L. B., Oszako, T., Nowakowska, J. A. and Orlikowska, T. 2015. The characterization of *Phytophthora* isolates obtained from diseased *Alnus glutinosa* in Poland. Baltic Forestry, 21(1), 44–50. ISSN: 1392–1355.
405. Tsao, P. H. 1990. Why many *Phytophthora* root rots and crown rots of tree and horticultural crops remain undetected. EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization) Bulletin, 20, 11–17.
406. Tschaplinski, T. J. and Blake, T. J. 1985. Effects of root restriction on growth correlations, water relations and senescence of alder seedlings. Physiologia Plantarum, 64, 167–176. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1985.tb02331.x
407. Turner, N. C. 1981. Techniques and experimental approaches for the measurement of plant water

status. Plant and soil, 58, 339–366. https://doi.org/10.1007/bf02180062
408. Turner, R. S. 2005. After the famine: Plant pathology, *Phytophthora infestans*, and the late blight of potatoes, 1845–1960. Historical Studies in the Physical and Biological Sciences, 35(2), 341–370. https://doi.org/10.1525/hsps.2005.35.2.341
409. Tyree, M. T., Cochard, H., Cruiziat, P., Sinclair, B., Ameglio, T. 1993. Drought-induced leaf shedding in walnut: evidence for vulnerability segmentation. Plant, Cell & Environment, 16, 879–882. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1993.tb00511.x
410. Uhlířová, H. (eds.) 1996. Symptomy poškození lesních dřevin – Příručka usnadňující rozlišování příčin poškození. Ministerstvo zemědělství, Praha. 244 s. ISBN: 80-7084-137-0.
411. Uroševič, B. 1963. Usýchání olší. Slovenská akadémia vied. Lesnický časopis, 9(1), 5–14.
412. Válek, Z. 1977. Lesní dřeviny jako vodohospodářský a protierozní činitel. SZN. Praha. 203 s.
413. Van Vuuren, D. P., Edmonds, J., Kainuma, M., Riahi, K., Thomson, A., Hibbard, K., Hurtt, G. C., Kram, T., Krey, V., Lamarque, J.F. and Masui, T. 2011. The representative concentration pathways: an overview. Climatic change, 109, 5–31. https://doi.org/10.1007/s10584-011-0148-z
414. Vannini, A., Bruni, N., Tomassini, A., Franceschini, S. and Vettraino, A. M. 2013. Pyrosequencing of environmental soil samples reveals biodiversity of the *Phytophthora* resident community in chestnut forests. FEMS microbiology ecology, 85(3), 433–442. https://doi.org/10.1111/1574-6941.12132
415. Vansteenkiste, D., Tirry, L., Van Acker, J. and Stevens, M. 2004. Predispositions and symptoms of Agrilus borer attack in declining oak trees. Annals of Forest Science, 61(8), 815–823. https://doi.org/10.1051/forest:2004076
416. Vejpustková, M. (ed.). 2019. Monitoring zdravotního stavu lesa v České republice v rámci programu ICP Forests a navazujících projektů. Data do roku 2018 [Monitoring of forest condition in the Czech Republic in frame of ICP Forests programme and follow-up projects. Data to 2018]. Strnady, Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i., 92 s.
417. Vettraino, A. M., Barzanti, G. P., Bianco, M. C., Ragazzi, A., Capretti, P., Paoletti, E., Luisi, N., Anselmi, N. and Vannini, A. 2002. Occurrence of *Phytophthora* species in oak stands in Italy and their association with declining oak trees. Forest Pathology, 32(1), 19–28. https://doi.org/10.1046/j.1439-0329.2002.00264.x
418. Vieites-Blanco, C., Colangelo, M., Camarero, J. J., Caballol, M., García Breijo, F. J., Štraus, D., Oliva, J. 2023. Pathogenicity of *Phytophthora* and *Halophytophthora* species on black alder and the host histological response. Mycological Progress, 22, 71. https://doi.org/10.1007/s11557-023-01923-3
419. Viiri, H. and Lieutier, F. 2004. Ophiostomatoid fungi associated with the spruce bark beetle, *Ips typographus*, in three areas in France. Annals of forest science, 61(3), 215–219. https://doi.org/10.1051/forest:2004013
420. Vyhlídková, I., Palovčíková, D., Rybníček, M., Čermák, P., Jankovský, L. 2005. Some aspects of alder decline along the Lužnice River. Journal of Forest Science, 51, 381–391.
421. Waterhouse, G. M. 1963. Key to the species of *Phytophthora* de Bary. Mycological Papers, 92,1–22.
422. Webber, J., Gibbs, J. and Hendry, S. 2004. *Phytophthora* disease of alder. Forestry Commission Information Note 6 (revised). Forestry Commission, Edinburgh.
423. White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T. and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR protocols: a guide to methods and applications, 18(1), 315−322.
424. Wingfield, M. J., Barnes, I., de Beer, Z. W., Roux, J., Wingfield, B. D. and Taerum, S. J. 2017. Novel associations between ophiostomatoid fungi, insects and tree hosts: current status—future prospects. Biological Invasions, 19, 3215–3228. https://doi.org/10.1007/s10530-017-1468-3
425. Wright, I. J., Reich, P. B., Westoby, M., Ackerly, D. D., Baruch, Z., Bongers, F., ... and Villar, R. 2004. The worldwide leaf economics spectrum. Nature, 428(6985), 821–827. https://doi.org/10.1038/nature02403
426. Wu, R., Lev-Yadun, S., Sun, L., Sun, H. and Song, B. 2021. Higher Elevations Tend to Have Higher Proportion of Plant Species With Glandular Trichomes. Frontiers in Plant Science, 12, 632464. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.632464
427. Yakoylev, A. I. and Yakovlev, S. A. 2000. Oak decline in the Middle Povolzhje region of Russia. Recent Advances on Oak Health in Europe. In Proceedings of the International Scientific Conference,Warsaw, Poland, 22–24 November; Oszako, T., Delatour, C., Eds.; Forest Research Institute: Warsaw, Poland, 1999, pp. 73–82.
428. Zalkalns, O. and Celma, L. 2021. The distribution of bacteria *Gibbsiella quercinecans* and *Brenneria goodwinii* in oak (*Quercus robur* L.) stands in Latvia. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 875, No. 1, p. 012033). IOP Publishing. https://doi.org/10.1088/1755-1315/ 875/1/ 012033
429. Zamora-Ballesteros, C., Haque, M.M.U., Diez, J.J. and Martín-García, J. 2017. Pathogenicity of

Phytophthora alni complex and *P. plurivora* in *Alnus glutinosa* seedlings. Forest Pathology, 47(2), 12299. https://doi.org/10.1111/efp.12299
430. Zhori, A., Meco, M., Brandl, H. and Bachofen, R. 2015. In situ chlorophyll fluorescence kinetics as a tool to quantify effects on photosynthesis in *Euphorbia cyparissias* by a parasitic infection of the rust fungus *Uromyces pisi*. BMC Research Notes, 8, 1–7. https://doi.org/10.1186/s13104-015-1681-z
431. Zhu, X.-G., Long, S. P. and Ort, D. R. 2010. Improving photosynthetic efficiency for greater yield. Annual Review of Plant Biology, 61, 235–261. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112206
432. Zółciak, A. 2000. Occurrence of *Armillaria* species in oak stands in Poland. In Recent Advances on Oak Health in Europe, Proceedings of the International Scientific Conference, Warsaw, Poland, 22–24 November 1999; Oszako, T., Delatour, C., Eds.; Forest Research Institute: Warsaw, Poland, 2000, pp. 243−248.
433. Zúbrik, M. eds. 2023. Hmyz a huby: atlas poškodení lesných drevín. III. doplnené vydanie. Národné lesnícke centrum, Lesnícka ochranárska služba. Banská Štiavnica. ISBN: 978-80-8093-347-0.
434. Zúbrik, M., Kunca, A. and Novotný, J. 2008. Hmyz a huby, atlas poškodení lesných drevín. Národné lesnícke centrum – Lesnícky výskumný ústav Zvolen, Zvolen, 178 s. ISBN: 978-80-8093-044-8.
435. Zumr, V. 1995. Hmyz jako potenciální vektor tracheomykózního odumírání dubů. In Čížková D., Švecová M. (eds.): Aktuální problémy ochrany dřevin. Sborník referátů (II), Prachatice, 1995, pp. 89–92.

9. Seznam obrázků, grafů a tabulek

9.1. Seznam obrázků

Obrázek 1: Mycelium Phytophthora ×alni s typickým krátkým, téměř pravoúhlým větvením postranních hyf, měřítko 100 µm *21*
Obrázek 2: Phytophthora cactorum – limoniformní, papilátní sporangium a oogonium s paragynním antheridiem (foto: Ivan Milenković) *22*
Obrázek 3: Životní cyklus patogenů rodu Phytophthora (převzato a upraveno podle ERWIN et RIBEIRO 1996) *24*
Obrázek 4: Kolonie Phytophthora plurivora vyrůstající z jemných kořenů dubu na selektivním PARPNH médiu *31*
Obrázek 5: Izolace Phytophthora plurivora ze vzorku půdy s využitím jablka Golden Delicious a umístění infikovaného pletiva na selektivní PARPNH médium. *32*
Obrázek 6: Podkorní inokulace agarovými výřezy z čerstvé kultury na V8A médiu *34*
Obrázek 7: Porost olše lepkavé s typickým ohniskem napadení Phytophthora ×alni, Libomyšl, řeka Litavka, květen 2021 ..... *39*
Obrázek 8: Exudáty způsobené patogenem Phytophthora ×alni na borce olše lepkavé (A), o. šedé (B), a detail (C). Rezavé exudáty jsou důkazem letošního růstu aktivní léze, v dolní části kmenů jsou černé exudáty starší, pravděpodobně z minulého roku (A) *40*
Obrázek 9: Příklady aktivních nekrotických lézí s typickým tvarem způsobených patogenem Phytophthora ×alni (září, říjen 2023) *41*
Obrázek 10: Následky napadení Phytophthora ×alni na olši lepkavé. Vpadlá nekrotická léze s popraskanou borkou (A), napadení sekundárními patogeny na odumírajících kmenech (B) rezavcem lesknavým (Inonotus radiatus) a (C) pevníkem (Stereum sp.) *41*
Obrázek 11: Phytophthora ×alni – kultura na V8A médiu po 7 dnech ve tmě, ornamentované oogonium s amfigynickým antheridiem, nepapilátní sporangium *43*
Obrázek 12: Oranžové hlízky symbiotických aktinomycet na kořenech olše lepkavé *46*
Obrázek 13: Měření plynové výměny přístrojem LI-6400/XT (Licor, NE, USA) na listech olše v terénu, vpravo detail listu vkládaného do gazometrické komory (foto: Ivana Tomášková) *51*
Obrázek 14: Měření vodního potenciálu pomocí tlakové komory (1505D, PMS Instrument Company, Albany, USA) *53*
Obrázek 15: Mikroskopické řezy kořeny olše lepkavé (Alnus glutinosa) tři týdny po inokulaci patogeny Phytophthora ×alni (A, B, C, D) a P. uniformis (K, L) (převzato a upraveno podle publikace Nave et al. 2021) *54*
Obrázek 16: Mikroskopické řezy kmínku olše lepkavé inokulované Phytophthora ×alni (převzato a upraveno podle publikace Vieites-Blanco et al. 2023) *55*
Obrázek 17: Odumírající porost dubů na lokalitě LS Nižbor, která byla intenzivně zasažená suchem v období 2015−2020 ..... *58*
Obrázek 18: Přehled nejčastějších škůdců na chřadnoucích dubech *61*
Obrázek 19: Poškození dubů houbovými patogeny: (A) Napadení václavkou (Armillaria sp.) a zároveň silný výskyt požerků (modré šipky) způsobených brouky r. Agrilus (převzato z Denman et al. 2014), (B) staré plodnice Fistulina hepatica na bázi kmene, (C) hojný výskyt plodnic Phellinus robustus) *62*
Obrázek 20: Příznaky odumírání dubů v oblasti Mediteránu v důsledku napadení patogeny Phytophthora cinnamomi a dalšími druhy rodu Phytophthora (foto: Sardínie, říjen 2019) *64*
Obrázek 21: Příznaky akutního odumírání dubů (Acute Oak Decline) ve Velké Británii: a) exudáty na borce, b) prasklá borka v důsledku nekrotického podkorního pletiva, c) léze na vnitřní kůře, d) požerky A. biguttatus v blízkosti nekrotických lézí (převzato z BRADY et al. 2017) *65*
Obrázek 22: Výzkumné plochy v rámci povodí Vltavy (červené body), oblasti CHKO (zeleně) *66*

Obrázek 23: Výzkumné plochy v rámci povodí Odry (červené body), zeleně oblasti CHKO Beskydy. 69
Obrázek 24: Příklady hodnocení stupně napadení na olši lepkavé. 70
Obrázek 25: Ukázka „leaf-baiting" metody 2 dny po založení a 5 dní po založení 71
Obrázek 26: Mycelium Phytophthora plurivora vyrůstající z nekrotických segmentů listů na PARPNH selektivním médiu (vlevo); detail hyfových vláken vyrůstajících z listového segmentu 72
Obrázek 27: Odběr podkorního pletiva na horním okraji nekrózy pomocí dláta, vzorek pletiva, příprava segmentů pletiva z různých vrstev vzorku k izolaci Phytophthora alni 73
Obrázek 28: Mycelium Phytophthora ×alni vyrůstající ze vzorků podkorního pletiva na PARPNH selektivním médiu po 5 dnech kultivace 73
Obrázek 29: Měření fyziologických parametrů v terénu na listech olše lepkavé 75
Obrázek 30: Rostliny olše lepkavé použité v rámci experimentu s podkorní inokulací 80
Obrázek 31: Založené výzkumné plochy s chřadnoucími dubovými porosty 84
Obrázek 32: Ukázky perithecií ophiostomatálních hub narostlých na dubových kotoučích 86
Obrázek 33: Výsledky pozitivní izolace patogenů Phytophthora ×alni a Phytophthora uniformis v povodí Vltavy 87
Obrázek 34: Příznakový strom na lokalitě Bradava a porovnání defoliace v roce 2021 (defoliace 55 %) a v roce 2023 (defoliace 75 %. 88
Obrázek 35: Příklad silně napadeného kmene olše lepkavé na lokalitě Libomyšl s místem odběru podkorního pletiva v roce 2020 (vlevo), detail exudátů nad místem odběru indikující rostoucí lézi způsobenou patogenem Phytophthora ×alni 91
Obrázek 36: Postupující infekce patogenem Phytophthora ×alni kmenem olše lepkavé a porovnání v roce 2021 a 2023 92
Obrázek 37: (A) Podemleté kořeny následkem prudkých záplav na řece Morávka v roce 2020, (B) skeletovitý žír způsobený bázlivcem olšovým, (C) odhalená stará léze na kmeni olše šedé 102
Obrázek 38: Symptomy olše lepkavé 13 týdnů po podkorní inokulaci třemi druhy r. Phytophthora v ambientní (415 ppm) a zvýšené (830 ppm) úrovni CO2 (převzato z publikace Macháčová et al. 2024). 108
Obrázek 39: Příznaky chřadnutí dubových porostů na výzkumných lokalitách, září 2020 119

9.2. Seznam grafů

Graf 1: Průměrná roční teplota vzduchu v Česku v období 1771–2022 proložená 11letým klouzavým průměrem (červeně) a polynomem druhého stupně (převzato bez úprav z ČHMÚ 2023). 49
Graf 2: Podíl symptomatických stromů [stupeň napadení 1-4] na výzkumných lokalitách povodí Vltavy v roce 2023 v porovnání s podílem stromů s defoliací nad 75 % (včetně pařezů). 90
Graf 3: Podíl symptomatických stromů na výzkumných lokalitách povodí Vltavy v roce 2021 a 2023. 90
Graf 4: Úroveň defoliace u jedinců olše lepkavé v povodí Vltavy vyjádřeno v jednotlivých kategoriích stupně napadení v letech 2019, 2020, 2021 a 2023. 94
Graf 5: Podíl jedinců s jednotlivými stupni napadení [0−4] podle kategorie vzdálenosti od vodního toku a porovnání v letech 2019, 2020, 2021 a 2023 (kategorie vzdálenosti – viz kap. 4.1, Tab. 5). 94
Graf 6: Četnosti výskytu zdravých a napadených olší podle kategorií jednotlivých faktorů. 96
Graf 7: Rychlost čisté fotosyntézy (Pn) u napadených a zdravých olší lepkavých v povodí Vltavy v roce 2020 a 2021 na jednotlivých lokalitách. 97
Graf 8: Rychlost čisté fotosyntézy (Pn) u olší lepkavých podle úrovně defoliace (do 50 % a nad 50 %) v povodí Vltavy v roce 2020 (vlevo) a 2021 (vpravo). 98
Graf 9: Stomatální vodivost (Gs) u napadených a zdravých olší lepkavých v povodí Vltavy v roce 2020 a 2021 na jednotlivých lokalitách. 98

Graf 10: Efektivita využití vody (WUEi) [µmol CO2/mmol H2O] u napadených a zdravých olší lepkavých v povodí Vltavy v roce 2020 a 2021. 99
Graf 11: Porovnání vodního potenciálu u zdravých a napadených olší lepkavých v povodí Vltavy v září 2021. 100
Graf 12: Porovnání defoliace mezi olší lepkavou (OL) a olší šedou (OLS) v povodí Odry v letech 2019 a 2020. 104
Graf 13: Rychlost čisté fotosyntézy (Pn) u olše lepkavé a o. šedé v povodí Odry v roce 2019 a 2020. 104
Graf 14: Stomatální vodivost (Gs) u olše lepkavé a o. šedé v povodí Odry v letech 2019 a 2020. 105
Graf 15: Efektivita využití vody (WUEi) u olše lepkavé a o. šedé v povodí Odry v letech 2019 a 2020.. 105
Graf 16: Porovnání plochy lézí na stoncích olší lepkavých způsobených třemi druhy r. Phytophthora ve dvou koncentracích CO2 (ambientní 415 ppm, zvýšená 830 ppm). (převzato z publikace Macháčová et al. 2024). 109
Graf 17: Porovnání hodnoty AUDPC na stonku olší lepkavých inokulovaných Phytophthora ×alni (PAA), P. uniformis (PAU) a P. plurivora (PLU) ve dvou úrovních CO2 (415 ppm a 830 ppm). (převzato z publikace Macháčová et al. 2024). 110
Graf 18: Pravděpodobnost přežívání olše lepkavé 13 týdnů po inokulaci v ambientní (aCO2) a zvýšené (eCO2) úrovni CO2. (převzato z publikace Macháčová et al. 2024). 110
Graf 19: Korelace mezi výškou rostlin olší lepkavých a mortalitou (převzato z publikace Macháčová et al. 2024). 111
Graf 20: Časová osa zobrazující výskyt chřadnutí dubových porostů v Evropě (zpracováno na základě literatury uvedené v publikaci Macháčová et al. 2022). 113
Graf 21: Analýza výskytu faktorů uváděných jako příčina chřadnutí dubových porostů na časové ose od roku 1739 až 2020 (pF = 35.4, p <0.002). CCA = kanonická korespondenční analýza (CANOCO 5) (převzato z publikace Macháčová et al. 2022). 114
Graf 22: Druhy podkorního hmyzu odchycené do pasivních nárazových pastí na 6 lokalitách, rozdělené podle čeledí (převzato z publikace Macháčová et al. 2022). 116
Graf 23: Druhy podkorního hmyzu vylíhlého z chovných klecí z 6 lokalit, podle čeledí (převzato z publikace Macháčová et al. 2022). 116
Graf 24: Defoliace dubových porostů v letech 2020/2021. 118

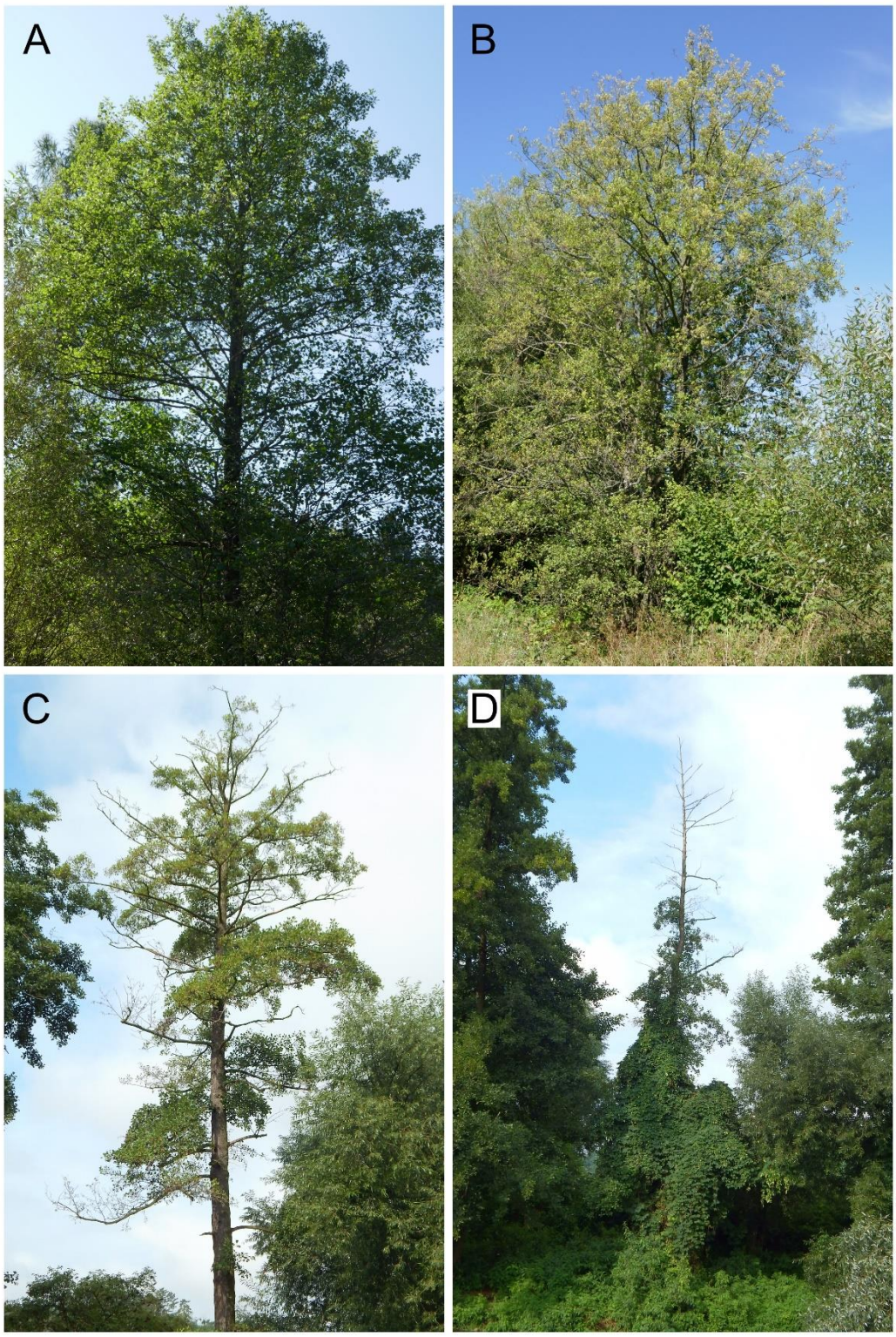
9.3. Seznam tabulek

Tabulka 1: Reportovaný výskyt patogenů komplexu P. alni v jednotlivých zemích (převzato z BJELKE et al. (2016) a upraveno) 36
Tabulka 2: Přehled základních charakteristik výzkumných ploch v rámci povodí Vltavy 67
Tabulka 3: Přehled základních charakteristik výzkumných ploch v rámci povodí Odry 68
Tabulka 4: Hodnocení symptomů napadení patogenem Phytophthora alni na stupnici [0–4]. 69
Tabulka 5: Kategorie vzdálenosti kmene olše lepkavé od vodního toku. 69
Tabulka 6: Výpočet reakční PCR směsi (upraveno dle návodu) 74
Tabulka 7: Původ osiva olše lepkavé použitého v experimentu s podkorní inokulací 79
Tabulka 8: Původ izolátů r. Phytophthora použitých v rámci podkorní inokulace a GenBank přístupové kódy jejich (a) ITS a (b) β-tubulin sekvencí. 80
Tabulka 9: Hodnocení rozsahu nekrotizace kmínku rostliny (podle ZAMORA-BALLESTEROS et al. 2017). 81
Tabulka 10: Přehled základních charakteristik výzkumných ploch. 84
Tabulka 11: Výsledky izolací půdních vzorků pomocí „leaf-baiting“ metody 89

Tabulka 12: Porovnání průměrného stupně napadení mezi jednotlivými roky (párový t-test).....89
Tabulka 13: Porovnání průměrné defoliace mezi jednotlivými roky (párový t-test). 93
Tabulka 14: Porovnání fotosyntetických parametrů u jednotlivých stromů v povodí Vltavy v letech 2020 a 2021.....100
Tabulka 15: Výsledky lineárního smíšeného modelu porovnávajícího průměrné hodnoty Φ_{PO} u zdravých a napadených jedinců olše lepkavé v povodí Vltavy v roce 2020 a 2021. 101
Tabulka 16: Výsledky lineárního smíšeného modelu porovnávajícího průměrné hodnoty PI_{ABS} u zdravých a napadených jedinců olše lepkavé v Povodí Vltavy v roce 2020 a 2021.....101
Tabulka 17: Výsledky lineárního smíšeného modelu porovnávajícího průměrné hodnoty Φ_{PO} u jedinců olše 106
Tabulka 18: Výsledky lineárního smíšeného modelu porovnávajícího průměrné hodnoty PI_{ABS} u jedinců olše lepkavé a o. šedé v Povodí Odry v roce 2019 a 2020. 106
Tabulka 19: Patogenita tří druhů r. Phytophthora 13 týdnů po inokulaci olše lepkavé. V každé variantě bylo inokulováno 12 rostlin (CO_2/Phytophthora) (převzato z publikace Macháčová et al. 2024). 107
Tabulka 20: Výsledky podkorní inokulace olše lepkavé po 13 týdnech – charakteristika rostlin (převzato z publikace MACHÁČOVÁ et al. 2024). 112
Tabulka 21: Intenzita výskytu ophiostomatálních hub na jednotlivých lokalitách rozdělených podle části stromu.. 117
Tabulka 22: Zastoupení odumřelých stromů na lokalitách v letech 2020 a 2021. 118

10. Přílohy

Příloha 1: Příklady hodnocení defoliace na olši lepkavé: A) zdravý strom – 10 %, B) chlorotizace – 45 %, C) silné prosychání kosterních větví – 75 %, D) odumřelý strom – 100 %



Příloha 2: Přístroj FluorPen (PAR-FluorPen FP 110, PSI, Drásov, ČR) a zatemňovací klip, který se využívá k měření fluorescence chlorofylu (foto: Ivana Tomášková)

Příloha 3: Původ vybraných izolátů s uvedenými sekvencemi ITS regionu v Přílohách 4 až 6.

ID	Druh	Datum izolace	Lokalita	ID	Druh	Datum izolace	Lokalita
MM085	*P.* ×*alni*	23.09.2020	Javornice	**MM078**	*P. uniformis*	13.09.2020	Příbram
MM094	*P.* ×*alni*	12.06.2020	Hostím	**MM129**	*P. uniformis*	05.10.2023	Hluboš
MM097	*P.* ×*alni*	04.09.2020	Libomyšl				
MM103	*P.* ×*alni*	10.09.2020	Lochovice	**MM015***	*P. plurivora*	16.04.2020	Ovčín
MM110	*P.* ×*alni*	21.09.2020	Třemošná	**MM033***	*P. plurivora*	07.05.2020	Javornice
MM113	*P.* ×*alni*	23.09.2020	Korečnický potok	**MM040***	*P. plurivora*	19.04.2020	Sedlec
MM120	*P.* ×*alni*	01.12.2020	Jince				
MM123	*P.* ×*alni*	13.09.2020	Příbram	**MM007**	*P. lacustris*	19.04.2020	Sedlec
MM126	*P.* ×*alni*	05.10.2020	Bohutín	**MM019**	*P. lacustris*	16.04.2020	Ovčín
MM128	*P.* ×*alni*	05.10.2023	Hluboš				
MM130	*P.* ×*alni*	05.10.2023	Lochovice	**MM010****	*P. gallica*	19.04.2020	Sedlec
MM131	*P.* ×*alni*	14.09.2023	Zbirožský potok				
MM133	*P.* ×*alni*	15.09.2023	Javornice	**MM072**	*P. inundata*	19.4.2020	Loděnice
MM134	*P.* ×*alni*	13.10.2023	Přívětice				
MM137	*P.* ×*alni*	15.08.2023	Příbram	**MM091**	*P. cactorum*	22.6.2020	Hluboš

*Izoláty MM015, MM033 a MM040 byly porovnány se sekvencí *P. plurivora* publikovanou v práci JUNG et BURGESS (2009). Ze 761 pozic se sekvence shodovaly v 759 pozicích, což potvrdilo identifikaci druhu *P. plurivora*.

** Sekvence izolátu *P. gallica* (MM010) byla 100 % identická se sekvencí ex-type izolátu *P. gallica* podle (JUNG et NECHWATAL 2008).

Příloha 4: Polymorfní pozice nukleotidů v upravených ITS sekvencích izolátů *Phytophthora ×alni* a *P. uniformis* a jejich příbuzných druhů (*P. ×multiformis* a *P. ×cambivora*) izolovaných z podkorních pletiv olše lepkavé v povodí Vltavy v roce 2020 a 2023. Sekvence ex-type izolátů byly získány z genobanky NCBI (2024).

	9	23	54	55	60	165	167	194	199	201	275	346	427	435	463	466	467	477	522	587	705	706	795
AF139368.1_P_x_multiformis[1]	A	G	C	T	T	A	C	C	T	T	G	T	G	G	A	T	C	-	C	C	A	G	C
KU899179_P_x_cambivora[2]	A	G	T	A	C	A	T	T	T	T	G	T	G	G	T	T	C	-	C	C	A	G	C
AF139366.1_P_x_alni[1]	A	G	Y	W	Y	W	C	Y	T	Y	G	T	G	R	W	T	C	-	Y	C	R	R	C
P_x_alni_MM085_ITS	A	G	Y	W	Y	W	C	Y	T	Y	R	T	R	G	W	T	C	-	Y	C	R	R	C
P_x_alni_MM094_ITS	A	G	Y	W	T	W	C	Y	T	Y	G	T	R	G	A	T	C	-	C	C	R	R	C
P_x_alni_MM097_ITS	A	G	Y	W	Y	W	C	Y	T	Y	G	T	R	G	W	T	C	-	Y	C	R	R	C
P_x_alni_MM103_ITS	A	G	Y	W	T	W	C	Y	T	Y	G	T	G	G	A	T	C	-	Y	C	R	R	C
P_x_alni_MM110_ITS	A	G	Y	W	T	W	C	Y	T	Y	G	T	R	G	W	T	C	-	Y	C	R	R	C
P_x_alni_MM113_ITS	A	G	Y	W	Y	W	C	Y	T	Y	G	T	R	G	W	T	C	G	Y	C	R	R	C
P_x_alni_MM120_ITS	A	G	Y	W	Y	W	C	Y	T	Y	G	T	R	G	W	Y	C	G	Y	C	R	R	C
P_x_alni_MM123_ITS	A	G	Y	W	T	W	C	Y	T	Y	G	T	G	G	A	T	C	-	Y	C	R	R	C
P_x_alni_MM126_ITS	A	G	Y	W	T	W	C	Y	T	Y	R	T	R	G	W	T	C	-	Y	C	R	R	C
P_x_alni_MM128_ITS	A	G	Y	W	Y	W	C	Y	T	Y	G	T	R	G	W	T	C	-	Y	C	R	R	C
P_x_alni_MM130_ITS	-	G	Y	W	H	W	C	Y	T	Y	G	T	G	G	W	T	C	-	Y	C	R	R	C
P_x_alni_MM131_ITS	A	G	Y	W	H	W	C	Y	T	Y	G	T	R	G	W	T	C	-	Y	C	R	R	C
P_x_alni_MM133_ITS	A	G	Y	W	Y	W	C	Y	T	Y	G	T	R	G	W	Y	C	-	Y	C	R	R	C
P_x_alni_MM134_ITS	A	G	Y	W	H	W	C	Y	T	Y	G	T	G	G	W	T	C	-	Y	C	R	R	C
P_x_alni_MM137_ITS	-	-	Y	W	Y	W	C	Y	K	Y	G	K	G	G	W	Y	C	-	Y	C	R	R	M
AF139367.1_P_uniformis[1]	A	G	T	A	C	T	C	T	T	Y	G	T	G	R	T	T	C	-	Y	C	G	A	C
P_uniformis_MM078_ITS	A	G	T	A	C	T	C	T	T	C	G	T	R	G	T	Y	Y	G	Y	C	G	A	C
P_uniformis_MM129_ITS	A	G	T	A	C	T	C	T	T	C	G	T	R	G	T	Y	C	-	Y	C	G	A	C

[1] ex-type *P. ×multiformis*, *P. ×alni* a *P. uniformis* (BRASIER et al. 1999)

[2] *P. ×cambivora* ex-type (JUNG et al. 2017c)

Příloha 5: Polymorfní pozice nukleotidů v upravených ITS sekvencích izolátů *Phytophthora inundata* a *P. lacustris* (Clade 6) a porovnání s jejich ex-type izoláty z genobanky a příbuzným druhem *P. humicola* (NCBI 2024). Izoláty pochází z půdních vzorků v roce 2020 na výzkumných plochách v povodí Vltavy.
[1] *P. inundata* ex-type (COOKE et al. 2000)

	9	42	43	45	46	48	52	57	60	106	130	172	181	189	344	355	363	455	457	477	530	531	556	577	587	589	590	592	595	599	655	667	668	669	670	677	678	703	718	727	728	757	783	785	794	795
AF266791.1_P_inundata_extype[1]	A	T	A	G	A	T	A	G	C	G	T	C	T	-	A	C	A	A	C	C	C	G	A	T	A	T	A	A	C	A	G	A	T	T	G	C	A	A	T	C	-	C	T	A	C	G
P_inundata_MM072_ITS	A	T	A	G	A	T	A	G	Y	G	T	C	T	-	A	C	A	A	C	C	C	G	A	T	A	T	A	A	C	A	G	A	T	T	G	C	A	A	T	Y	-	C	T	A	Y	G
MK496519_P_humicola[2]	A	T	A	G	A	T	A	G	C	G	T	C	T	-	A	C	A	A	C	C	C	G	A	T	A	T	A	A	C	A	A	A	T	T	G	C	A	A	T	C	-	C	T	A	C	G
AF266793.2_P_lacustris[3]	A	A	T	A	T	C	G	G	C	G	C	A	A	C	A	A	G	G	C	T	C	G	G	C	G	C	G	T	A	A	G	G	C	-	A	T	G	T	C	C	T	T	C	T	C	G
P_lacustris_MM007_ITS	A	A	T	A	T	C	G	R	C	R	C	A	A	C	A	A	G	R	Y	T	C	G	G	C	G	C	G	T	A	A	G	G	C	-	A	T	G	T	C	C	T	T	C	T	C	R
P_lacustris_MM019_ITS	A	A	T	A	T	C	G	G	C	G	C	A	A	C	A	A	G	G	C	T	Y	R	G	C	G	C	G	T	A	W	G	G	C	-	A	T	G	T	C	C	T	T	M	T	C	G

[2] Sekvence ITS regionu *P. humicola* byla získána z genobanky NCBI na základě přístupového kódu (MK496519).
[3] *P. lacustris* ex-type (NECHWATAL et al. 2013)

Příloha 6: Polymorfní pozice nukleotidů v upravených ITS sekvencích izolátu *P. cactorum* (Clade 1) a porovnání s izoláty z genobanky (NCBI 2024) a příbuzným druhem *P. pseudotsugae*. Izolát pochází z půdních vzorků v roce 2020 na výzkumných plochách v povodí Vltavy.

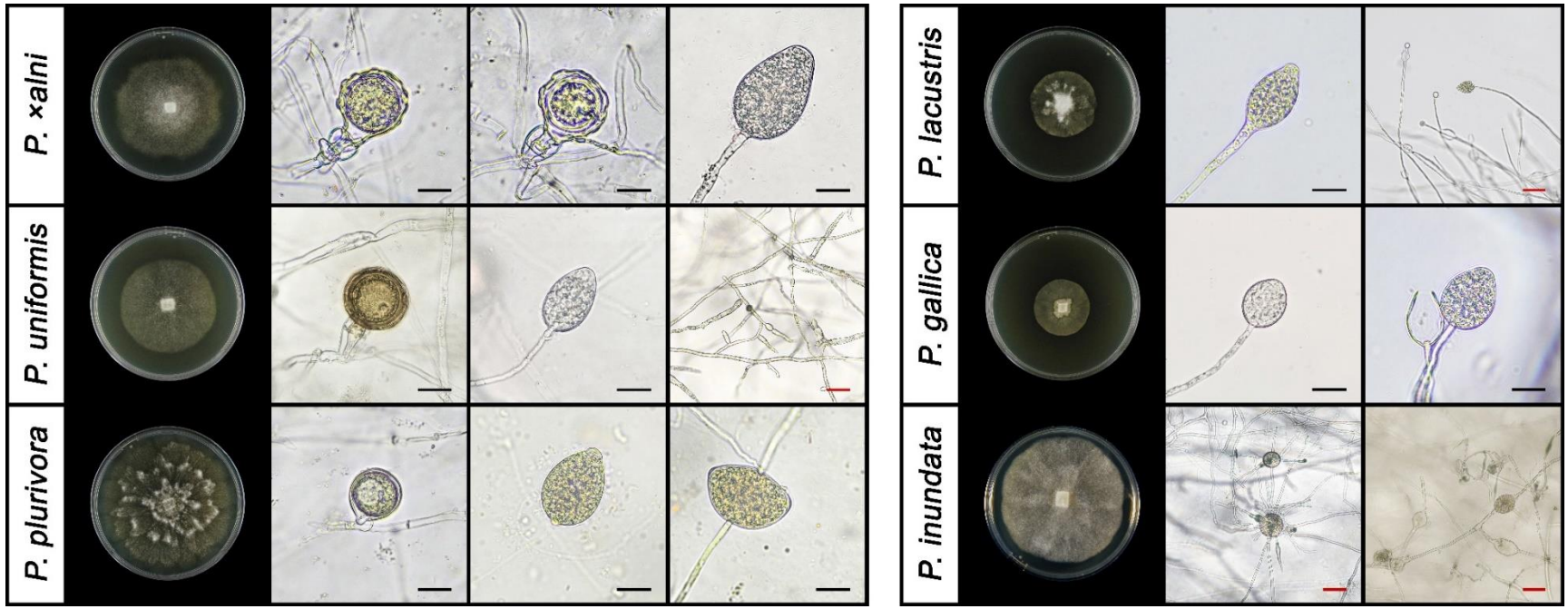
	79	133	232	611	642	686	712
FJ801258_P_cactorum_ITS [1]	A	-	T	G	T	T	G
EU109566_P_cactorum_ITS [1]	A	G	T	A	T	T	A
P_cactorum_MM091_ITS	A	G	T	G	T	G	G
FJ802112_P_pseudotsugae_ITS [1]	G	G	T	G	A	G	G

[1] Sekvence ITS regionů *P. cactorum* byly získány z genobanky NCBI na základě přístupových kódů (FJ801258, EU109566, FJ802112).

Příloha 7: Charakteristika pohlavních a nepohlavních spor izolátů *Phytophthora* v povodí Vltavy.

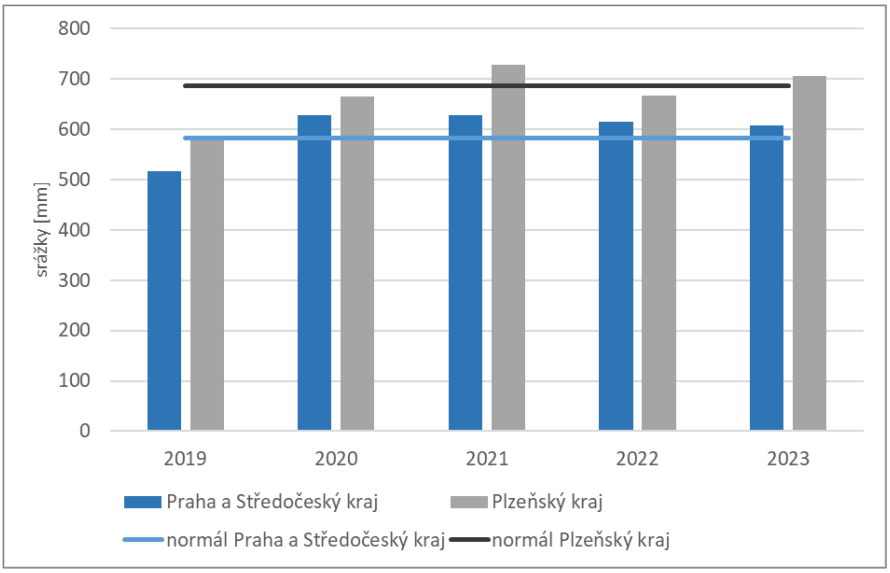
	P. ×alni	***P. uniformis***	***P. plurivora***	***P. lacustris***	***P. gallica***
oogonia: průměr	42,7 ± 3,6 µm	45,4 ± 3,6 µm	30,9 ± 3,1 µm	/	/
sporangia: délka	37,3 ± 6,4 µm	34,4 ± 15,8 µm	42,4 ± 6,5 µm	39,1 ± 5,4 µm	34,0 ± 4,3 µm
sporangia: šířka	28,8 ± 3,5 µm	24,1 ± 10,4 µm	33,2 ± 5,0 µm	24,9 ± 4,0 µm	27,0 ± 3,6 µm
sporangia: d/š	1,3 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,6 ± 0,2	1,3 ± 0,1

Příloha 8: Kolonie vybraných izolátů a jejich morfologické struktury. Měřítko černé = 20 µm, červené = 50 µm (foto: Markéta Macháčová).

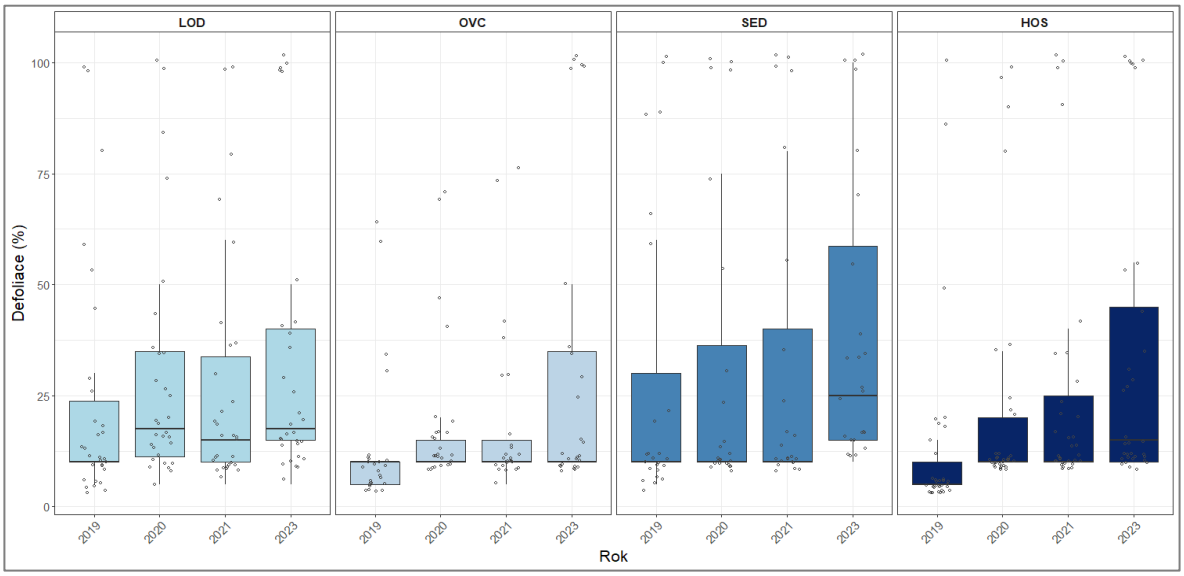


P. ×alni*:* globózní ornamentovaná oogonia s amfigynickým dvoubuněčným antheridiem, nepapilátní ovoidní sporangium
P. uniformis*:* globózní hladkostěnné oogonium s amfigynickým dvoubuněčným antheridiem, nepapilátní ovoidní sporangium, hyfové mrkvovité zduřeniny
P. plurivora: globózní hladkostěnné oogonium s paragynickým antheridiem, semipapilátní ovoidní a bipapilátní sporangium
P. lacustris: ovoidní nepapilátní sporangia, interní proliferace
P. gallica: ovoidní nepapilátní sporangia
P. inundata: globózní až subglobózní hyfové zduřeniny (s četnými hyfovými výběžky)

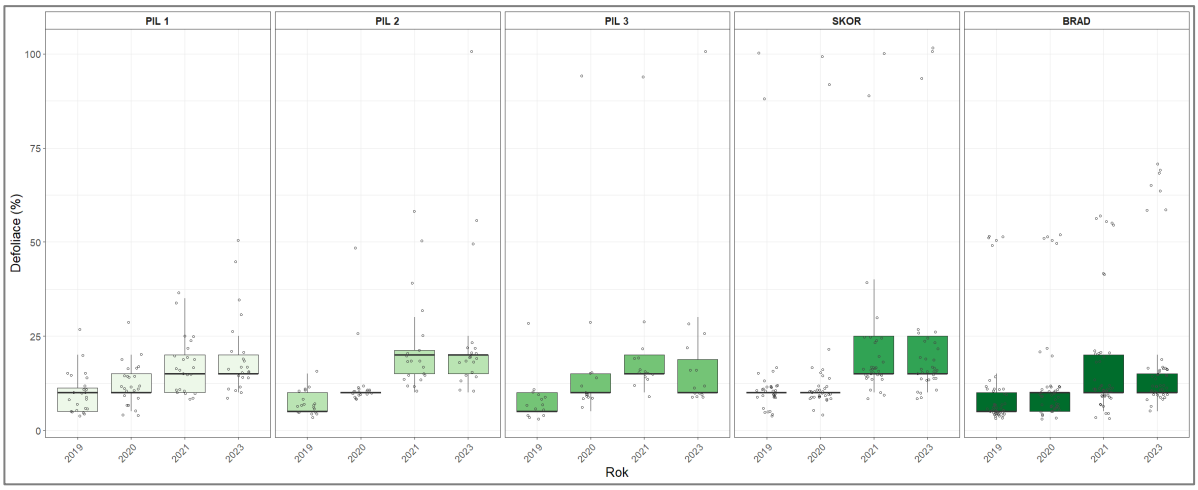
Příloha 9: Vývoj srážek v Praze a Středočeském kraji a v Plzeňském kraji v letech 2019−2023 a porovnání s dlouhodobým normálem pro dané oblasti (1991−2020). Zpracováno na základě dat z ČHMÚ (2024).



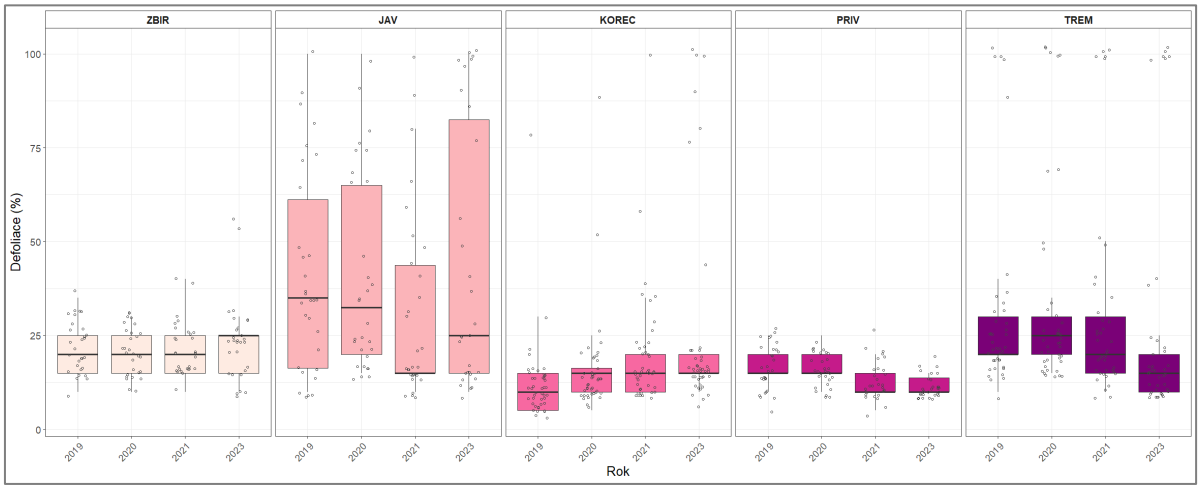
Příloha 10: Vývoj defoliace na výzkumných plochách v povodí Vltavy v letech 2019, 2020, 2021 a 2023. Krabicové grafy ukazují medián a 25−75% kvartily, čáry označují minimální a maximální hodnoty. Body představují jednotlivé hodnocené stromy. Body mimo maximální hodnoty představují odlehlé hodnoty.



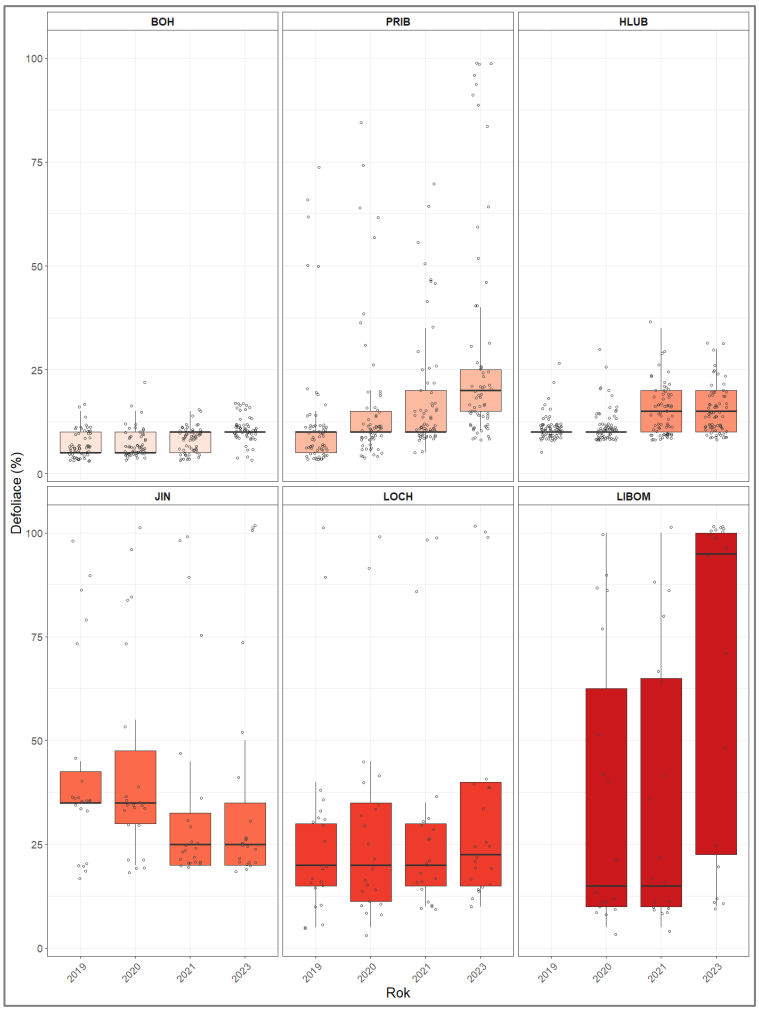
Řeka Loděnice (LOD = Loděnice, OVC = Ovčín, SED = Sedlec, HOS = Hostím)



CHKO Brdy (PIL 1 = pod Pilskou nádrží, PIL 2 = nad Pilskou nádrží, PIL 3 = u Bohutína, SKOR = Skořický potok, BRAD = Bradava)

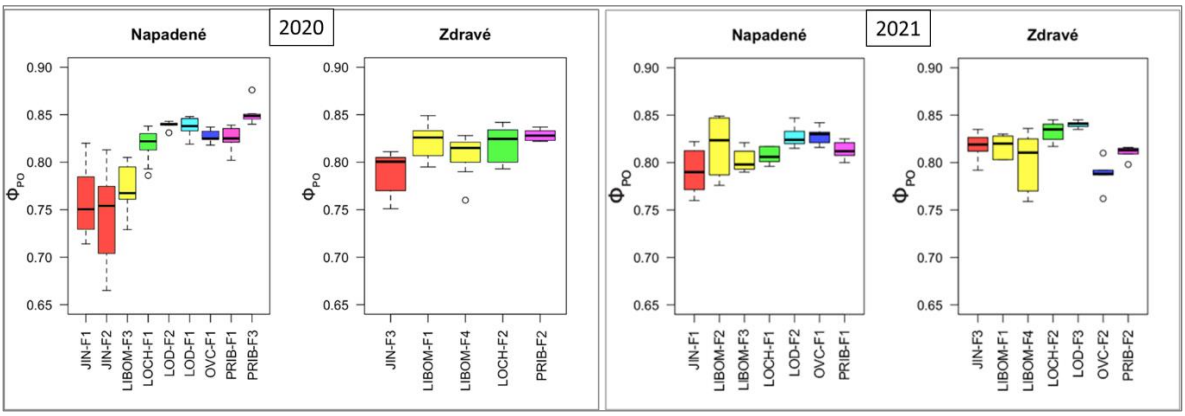


Přítoky Berounky (ZBIR = Zbirožský potok, JAV = Javornice, KOREC = Korečnický potok, PRIV = Přívětice, TREM = Třemošná

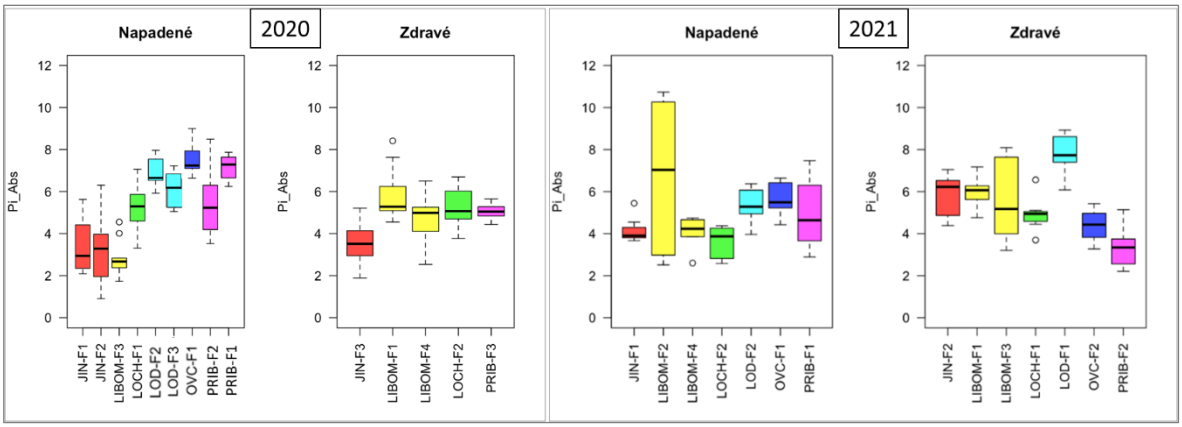


Litavka a její přítoky (BOH = Bohutín, PRIB = Příbram, HLUB = Hlubošský potok, JIN = Jince, LOCH = Lochovice, LIBOM = Libomyšl); *LIBOM – plocha založená až v roce 2020, v r. 2023 zde došlo ke kácení napadených stromů, které bylo nutné započítat do defoliace jako hodnota 100 %

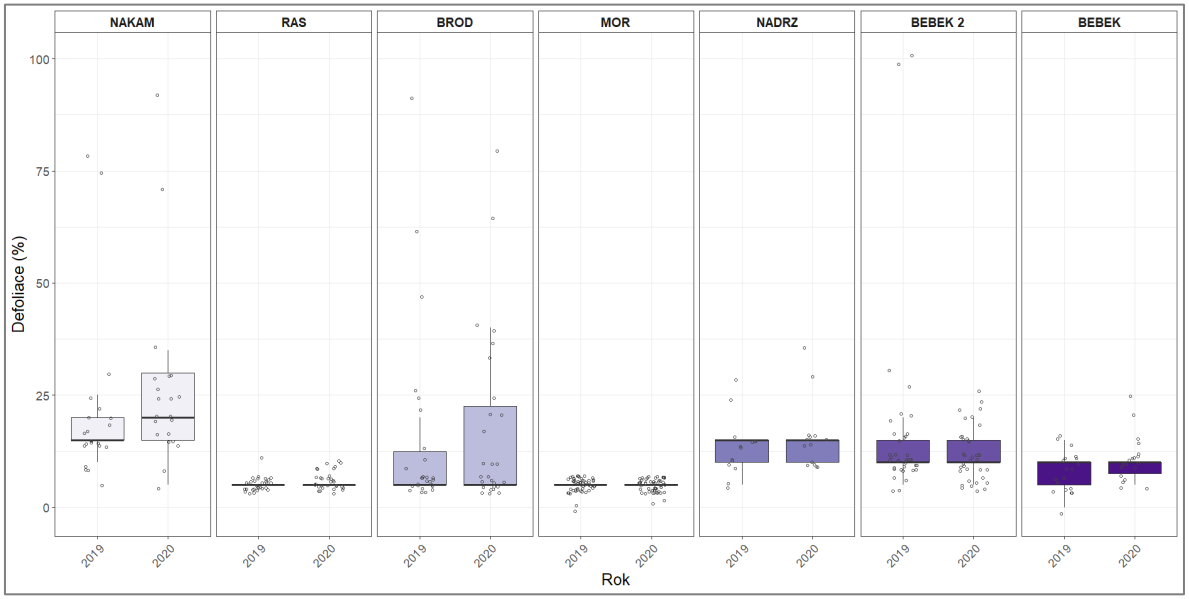
Příloha 11: Hodnoty parametru Φ_{PO} u napadených a zdravých jedinců olše lepkavé v roce 2020 a 2021 na vybraných lokalitách v povodí Vltavy (JIN = Jince, LIBOM = Libomyšl, LOCH = Lochovice, LOD = Loděnice, OVC = Ovčín, PRIB = Příbram). Krabicové grafy představují medián (silná čára) a 25−75% kvartily (krabice), chybové úsečky označují minimální a maximální hodnoty, kroužky značí odlehlé hodnoty.



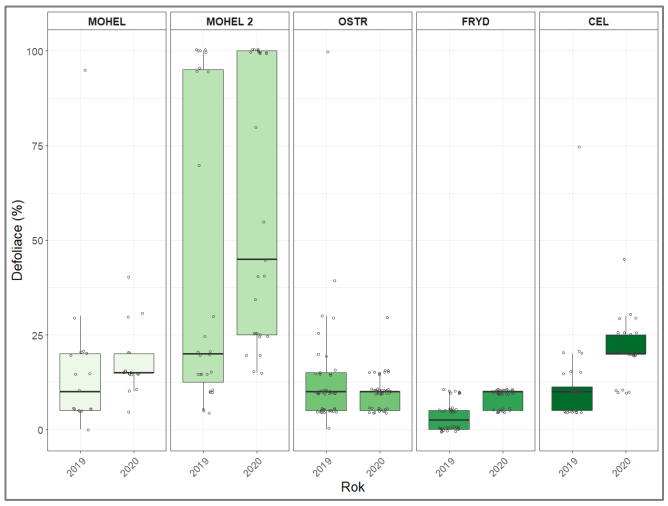
Příloha 12: Hodnoty indexu odolnosti vůči suchu (PI_{ABS}) u napadených a zdravých jedinců olše lepkavé v roce 2020 a 2021 na vybraných lokalitách v povodí Vltavy (JIN = Jince, LIBOM = Libomyšl, LOCH = Lochovice, LOD = Loděnice, OVC = Ovčín, PRIB = Příbram). Krabicové grafy představují medián (silná čára) a 25−75% kvartily (krabice), chybové úsečky označují minimální a maximální hodnoty, kroužky značí odlehlé hodnoty.



Příloha 13: Vývoj defoliace na výzkumných plochách v povodí Odry v letech 2019 a 2020. Krabicové grafy ukazují medián a 25−75% kvartily, čáry označují minimální a maximální hodnoty. Body představují jednotlivé hodnocené stromy. Body mimo maximální hodnoty představují odlehlé hodnoty.

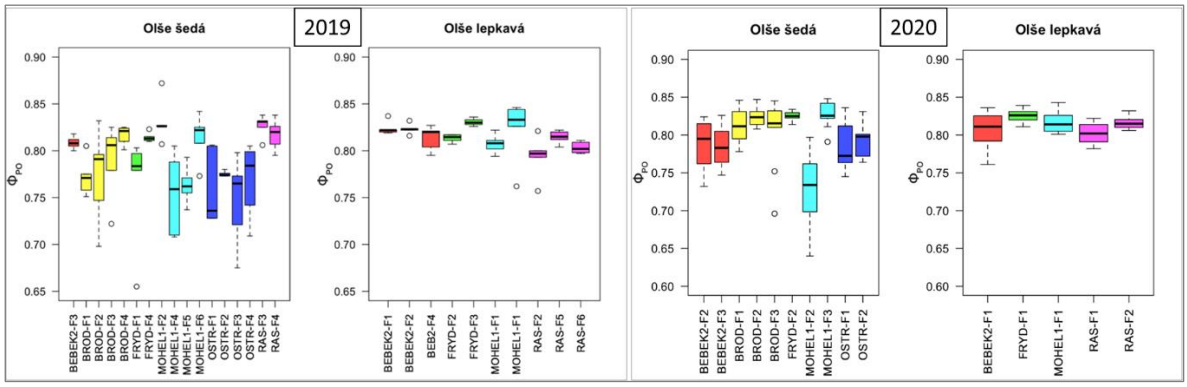


Řeka Morávka (NAKAM = Na Kamenci, RAS = Raškovice, Klimánek, BROD = Raškovice, Brod, MOR = vesnice Morávka, NADRZ = Vodní nádrž Morávka, BEBEK 2 = Bebek, Morávka, BEBEK = aut. zastávka Bebek)

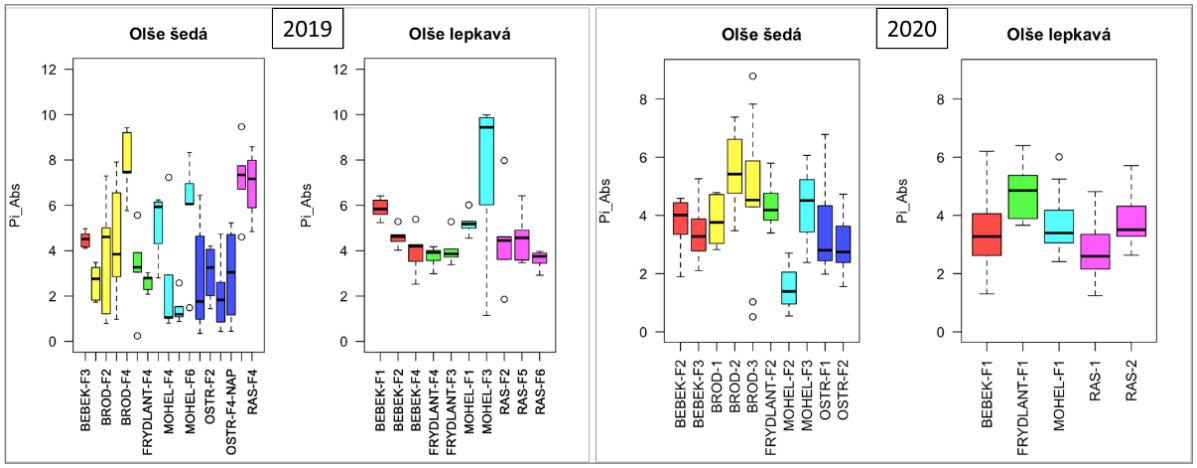


Řeka Mohelnice (MOHEL a MOHEL 2), a řeka Ostravice a její přítoky (OSTR = Ostravice, FRY = Frýdlant n. Ostravicí, CEL = Čeladénka)

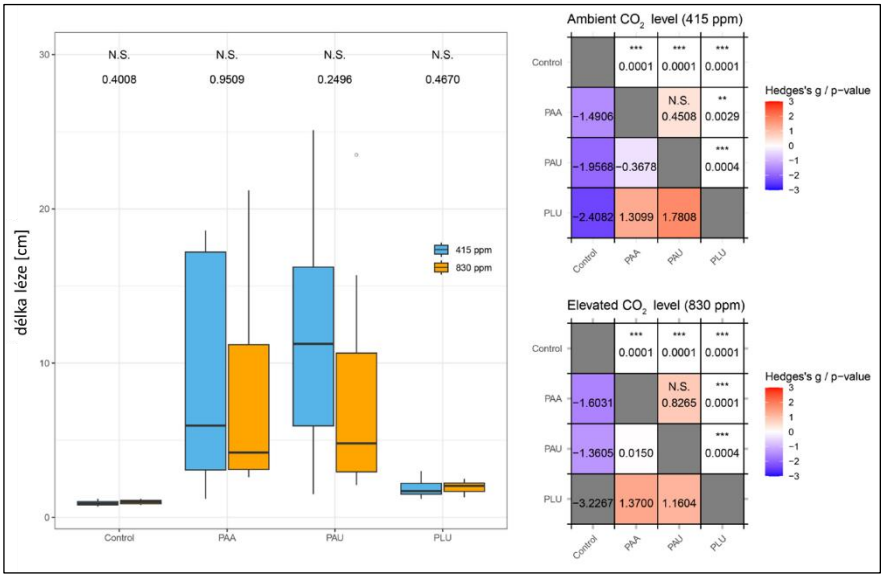
Příloha 14: Hodnoty parametru Φ_{PO} u olše šedé a olše lepkavé v roce 2019 a 2020 na vybraných lokalitách v povodí Odry (BEB 2 = Bebek 2, BROD = Morávka Brod, FRYD = Frýdlant n. Ostravicí, MOHEL = Mohelnice 1, OSTR = Ostravice, RAS = Raškovice, Morávka). Krabicové grafy představují medián (silná čára) a 25−75% kvartily (krabice), chybové úsečky označují minimální a maximální hodnoty, kroužky značí odlehlé hodnoty.



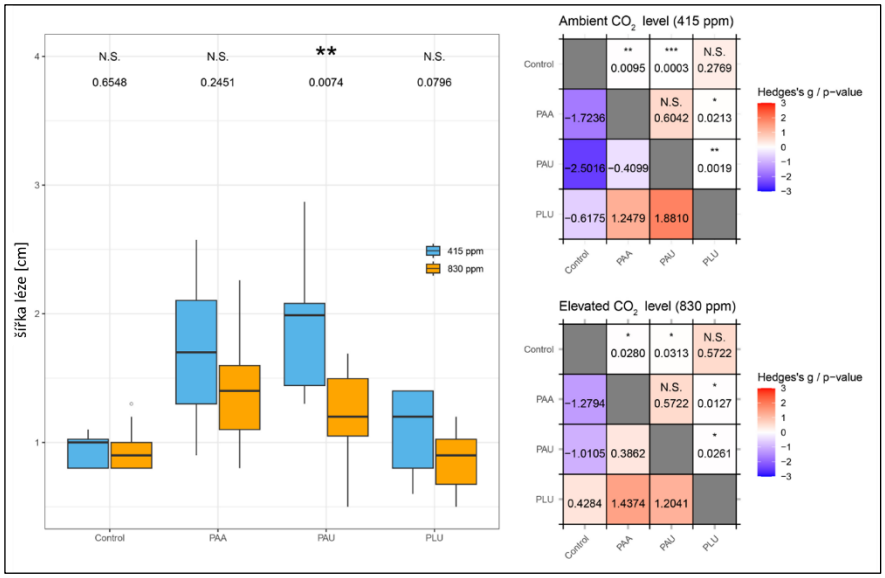
Příloha 15: Hodnoty indexu odolnosti vůči suchu (PI_{ABS}) u olše šedé a olše lepkavé v roce 2019 a 2020 na vybraných lokalitách v povodí Odry (BEB 2 = Bebek 2, BROD = Morávka Brod, FRYD = Frýdlant n. Ostravicí, MOHEL = Mohelnice 1, OSTR = Ostravice, RAS = Raškovice, Morávka). Krabicové grafy představují medián (silná čára) a 25−75% kvartily (krabice), chybové úsečky označují minimální a maximální hodnoty, kroužky značí odlehlé hodnoty.



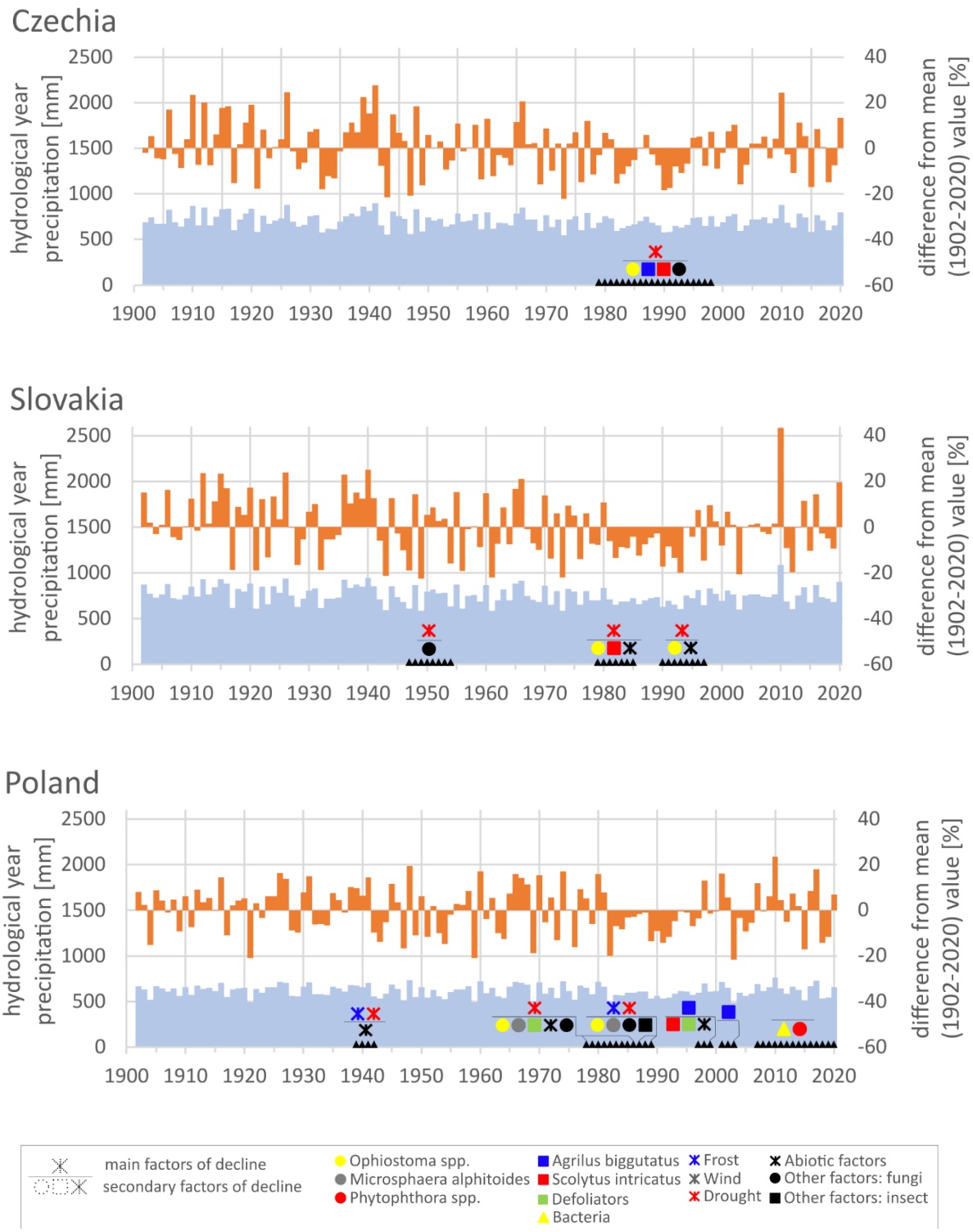
Příloha 16: Porovnání délky lézí na stoncích olší lepkavých způsobených třemi druhy r. *Phytophthora* ve dvou koncentracích CO_2 (ambientní 415 ppm, zvýšená 830 ppm). PAA = *P. ×alni*, PAU = *P. uniformis*, PLU = *P. plurivora*. Statistická významnost porovnání dvojic úrovní CO_2 je označena jako N.S. (nevýznamné) nebo hvězdičkou ($p \leq 0,05$). Tabulky vpravo obsahují všechny párové porovnání; horní trojúhelník představuje p-hodnotu párových porovnání, dolní trojúhelník představuje velikost efektu podle Hedgesova g. (převzato z publikace MACHÁČOVÁ et al. 2024)

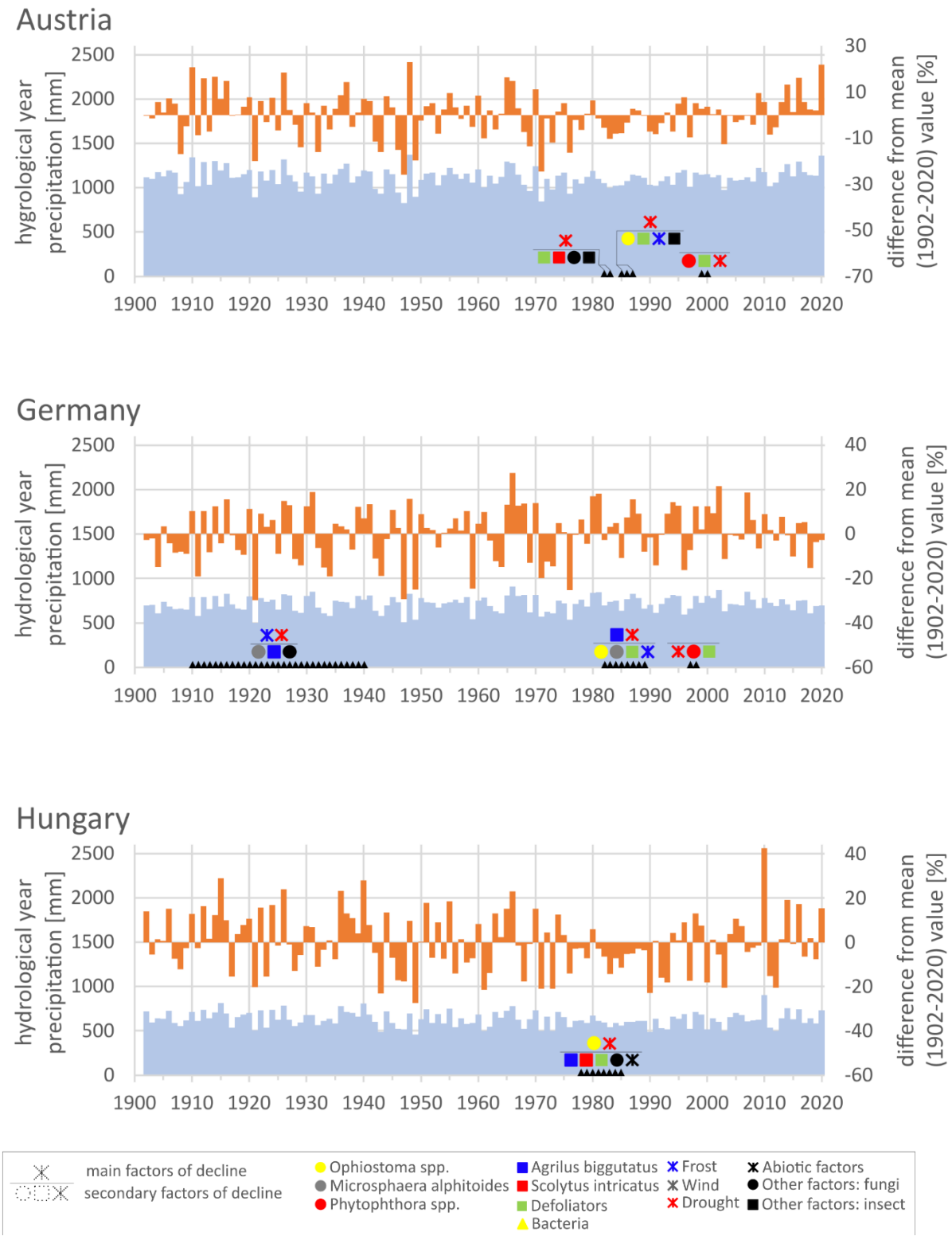


Příloha 17: Porovnání šířky lézí na stoncích olší lepkavých způsobených třemi druhy r. *Phytophthora* ve dvou koncentracích CO_2 (ambientní 415 ppm, zvýšená 830 ppm). PAA = *P. ×alni*, PAU = *P. uniformis*, PLU = *P. plurivora*. Statistická významnost porovnání dvojic úrovní CO_2 je označena jako N.S. (nevýznamné) nebo hvězdičkou ($p \leq 0,05$). Tabulky vpravo obsahují všechny párové porovnání; horní trojúhelník představuje p-hodnotu párových porovnání, dolní trojúhelník představuje velikost efektu podle Hedgesova g. (převzato z publikace MACHÁČOVÁ et al. 2024)



Příloha 18: Znázornění výskytu epizod chřadnutí dubů v zemích střední Evropy v kontextu ročních úhrnů srážek a odchylky od dlouhodobého normálu (1902−2020). Vysvětlivky jsou na konci každé ze dvou stránek (převzato z publikace MACHÁČOVÁ et al. 2022).




Austria
hygrological year precipitation [mm]
2500
2000
1500
1000
500
0
30
10
-10
-30
-50
-70
difference from mean (1902-2020) value [%]
1900 1910 1920 1930 1940 1950 1960 1970 1980 1990 2000 2010 2020
Germany
hydrological year precipitation [mm]
2500
2000
1500
1000
500
0
40
20
0
-20
-40
-60
difference from mean (1902-2020) value [%]
1900 1910 1920 1930 1940 1950 1960 1970 1980 1990 2000 2010 2020
Hungary
hydrological year precipitation [mm]
2500
2000
1500
1000
500
0
40
20
0
-20
-40
-60
difference from mean (1902-2020) value [%]
1900 1910 1920 1930 1940 1950 1960 1970 1980 1990 2000 2010 2020
main factors of decline
secondary factors of decline
Ophiostoma spp.
Microsphaera alphitoides
Phytophthora spp.
Agrilus biggutatus
Scolytus intricatus
Defoliators
Bacteria
Frost
Wind
Drought
Abiotic factors
Other factors: fungi
Other factors: insect

Příloha 19: Počet jedinců odchycených do pasivních nárazových pastí (WT) a vylíhnutých z chovných klecí (RC) v rámci šesti studovaných lokalit s chřadnoucími dubovými porosty. (Počet jedinců z chovných klecí vyjadřuje přepočet z 1 m korunové + 1 m střední + 1 m bazální části kmene) (převzato z publikace MACHÁČOVÁ et al. 2022).

	Study Plot	Pístecký les		Česká Skalice		Nižbor		Český Kras		Lásenice		Tvořihráz		Total	Total
Family	**Species**	**WT**	**RC**	**WT**	**RC**	**WT**	**RC**	**WT**	**RC**	**WT**	**RC**	**WT**	**RC**	**WT**	**RC**
Bostrichidae	*Bostrichus capucinus*							1						**1**	**0.0**
	Lichenophanes varius				0.8				0.2					**0**	**1.0**
	Xylopertha retusa											1		**1**	**0.0**
Buprestidae	*Agrilus angustulus*	1					0.3	1	0.6			1		**3**	**0.9**
	Agrilus biguttatus			3		7	5.3	45		1	0.6			**56**	**5.8**
	Agrilus graminis				0.5		0.3		0.9					**0**	**1.7**
	Agrilus hastulifer							9						**9**	**0.0**
	Agrilus laticornis								0.0	1				**1**	**0.0**
	Agrilus obscuricollis							1						**1**	**0.0**
	Agrilus sulcicollis	2			0.4	7	5.1	42	0.4			1		**52**	**5.9**
	Coraebus undatus											1		**1**	**0.0**
Cerambycidae	*Alosterna tabacicolor*				0.6									**0**	**0.6**
	Anaglyptus mysticus	4						1					2.3	**5**	**2.3**
	Anoplodera rufipes											4	0.6	**4**	**0.6**
	Cerambyx scopolii											1		**1**	**0.0**
	Clytus arietis	1				1								**2**	**0.0**
	Clytus tropicus					9		1						**10**	**0.0**
	Cortodera humeralis			1		10		13				18		**42**	**0.0**
	Dinoptera collaris						0.3	2			21.4			**2**	**21.7**
	Exocentrus adspersus				0.1		0.2	2						**2**	**0.3**
	Grammoptera abdominalis					1		1				1		**3**	**0.0**
	Grammoptera ruficornis	1												**1**	**0.0**
	Grammoptera ustulata	1												**1**	**0.0**
	Chlorophorus figuratus											1		**1**	**0.0**
	Leiopus linnei	2		3			1.9	5	0.4			1		**11**	**2.3**
	Leiopus nebulosus				0.4	1	0.2				0.7			**1**	**1.2**
	Mesosa nebulosa					1		1	0.0			1		**3**	**0.0**
	Necydalis major	1												**1**	**0.0**
	Pachytodes cerambyciformis							1						**1**	**0.0**
	Pachytodes erraticus											1		**1**	**0.0**

	Study Plot	Pístecký les		Česká Skalice		Nižbor		Český Kras		Lásenice		Tvořihráz		Total	Total
Family	**Species**	**WT**	**RC**	**WT**	**RC**	**WT**	**RC**	**WT**	**RC**	**WT**	**RC**	**WT**	**RC**	**WT**	**RC**
Cerambycidae	*Pedostrangalia revestita*							1				6		**7**	**0.0**
	Phymatodes alni			1	0.2				0.6			3		**4**	**0.9**
	Phymatodes pusillus pusillus					2			0.0					**2**	**0.0**
	Phymatodes testaceus			11	0.6	4		17	6.9	2		13		**47**	**7.5**
	Plagionotus detritus							29	0.6			7		**36**	**0.6**
	Pogonocherus hispidus					1								**1**	**0.0**
	Pyrrhidium sanguineum				0.2	2		1	7.7					**3**	**7.9**
	Rhagium sycophanta			2		2		1				4		**9**	**0.0**
	Stenocorus quercus							7				8		**15**	**0.0**
	Trichoferus pallidus											9		**9**	**0.0**
	Xylotrechus antilope				1.0	9	13.2	589	1.0		4.4	6		**604**	**19.5**
Curculionidae	*Dryocoetes villosus villosus*							2				3		**5**	**0.0**
	Gasterocercus depressirostris			1		1	7.1	83			46.8	25		**110**	**53.9**
	Magdalis exarata								0.0					**0**	**0.0**
	Magdalis flavicornis											1		**1**	**0.0**
	Platypus cylindrus											1		**1**	**0.0**
	Scolytus intricatus	4		2	3.8	22	94.8	140	114.0		1.4	18		**186**	**214.1**
	Trypodendron domesticum			1										**1**	**0.0**
	Xyleborinus alni					1								**1**	**0.0**
	Xyleborus dispar											1		**1**	**0.0**
	Xyleborus dryographus							22			11.3	1		**23**	**11.3**
	Xyleborus germanus									1				**1**	**0.0**
	Xyleborus monographus	1		45	4.1	6	9.2	37	0.6		32.7	65	1.7	**154**	**48.3**
	Xyleborus saxeseni			1		2		6						**9**	**0.0**
Hymenoptera	*Xiphydria longicollis*			1			11.0	7			0.6			**8**	**11.6**
Total WT		**18**		**72**		**89**		**1068**		**5**		**203**		**1455**	
Total RC			**0**		**12.7**		**148.9**		**134.0**		**119.7**		**4.5**		**419.9**