



VÚKOZ Průhonice

VÝZKUMNÝ ÚSTAV SILVA TAROUČY
PRO KRAJINU A OKRASNÉ ZAHRADNICTVÍ, v.v.i.

Květnové náměstí 391
Průhonice, PSČ 252 43
Česká republika

Onemocnění olší způsobené druhem *Phytophthora alni* Brasier & S.A. Kirk

**Identifikace choroby,
odběr vzorků**



**Onemocnění olší způsobené druhem *Phytophthora alni* Brasier & S.A. Kirk. Identifikace choroby, odběr vzorků.
Certifikovaná metodika**

Karel Černý, Veronika Strnadová, Božena Gregorová & Marcela Mrázková

Výzkumný ústav Silva Taroucy pro krajinu a okrasné zahradnictví, v.v.i.
Květnové nám., 391
Průhonice, 252 43

cerny@vukoz.cz, 296 528 232

Fotografie: Karel Černý & Veronika Strnadová

Vypracováno s podporou projektu VaV SP/2d1/36/07 Ministerstva životního prostředí ČR.

Schváleno k použití Ministerstvem životního prostředí ČR.

Oponenti: RNDr. Jaroslava Marková CSc. (katedra botaniky, PřF UK Praha), Doc. RNDr. Michal Tomšovský, Ph.D. (ÚOLM, LDF, Mendelova Univerzita Brno)

© K. Černý a kol., 2010

Obsah

Obsah.....	2
Cíl a uplatnění metodiky.....	3
Úvod.....	4
Chřadnutí olší v Evropě a <i>Phytophthora alni</i>	4
Chřadnutí olší v ČR.....	4
Vliv <i>P. alni</i> na olše a jejich porosty, průběh onemocnění.....	5
Šíření <i>P. alni</i> a kontrola.....	5
Symptomy onemocnění olší vyvolaného druhem <i>Phytophthora alni</i>	7
Charakter prosychání porostu.....	7
Časná fáze napadení porostu.....	7
Pokročilá fáze poškození porostu.....	8
Symptomy v koruně napadených dřevin.....	10
Symptomy akutního napadení.....	11
Chlorotizace.....	11
Zmenšení plochy listové čepele.....	12
Symptomy dlouhodobého poškození.....	13
Zavětvení chřadnoucích stromů.....	14
Symptomy na bázi kmene.....	15
Symptomy akutního onemocnění.....	15
Symptomy dlouhodobého poškození.....	18
Symptomy na kořenech.....	19
Shrnutí.....	20
Odběr vzorků.....	21
Vývoj infekce a jejích symptomů.....	21
Vývoj infekce a doba odběru.....	21
Postup při odběru vzorků.....	22
Velikost vzorku.....	23
Balení vzorku.....	23
Uchovávání a transport vzorku.....	23
Dokumentace vzorku.....	23
Shrnutí.....	24
Formulář.....	24
Srovnání novosti postupů.....	25
Seznam použité související literatury.....	25
Seznam publikací, které předcházely metodice.....	26

Cíl a uplatnění metodiky

Phytophthora alni (*Oomycetes*, *Chromista*) je nebezpečný invazní parazit olší, který je příčinou současného hromadného chřadnutí olší ve velké části Evropy a významné škody způsobuje i v ČR. Zanedbání rozvoje choroby, kterou tento organismus způsobuje a její následné rozšíření může vést ke značným škodám v oblasti vodohospodářství, lesnictví a v ochraně přírody.

Metodika slouží jako pomůcka k terénní identifikaci onemocnění olší druhem *P. alni*. Cílem této metodiky je poskytnout pracovníkům subjektů, které se zabývají péčí o porosty, kde se tato choroba může vyskytnout, návod, podle kterého je možné v terénu bezpečně rozeznat symptomy této choroby od projevů poškození dalších (zejména vlivu zaplavení). Dalším cílem je poskytnout návod, podle kterého je možné provést odběr poškozených pletiv tak, aby bylo možné v dalším kroku potvrdit přítomnost patogenu izolačně či imunochemicky v laboratoři.

Metodika je především určena zaměstnancům subjektů podléhajících rezortům MZe a MŽP, zejména jednotlivým povodím (PVL, POH aj.), AOPK ČR, LČR, SRS a dalším.

Úvod

Chřadnutí olší v Evropě a *Phytophthora alni*

V osmdesátých letech se objevilo v západní Evropě epidemické chřadnutí olší a jako jeho původce byl identifikován agresivní, rychle se šířící a do té doby neznámý parazit z rodu *Phytophthora*. Parazit byl poprvé popsán roku 1995 pod jménem „alder-*Phytophthora*“ (BRASIER & al. 1995) a po bližších taxonomických studiích mu byl přiznán status druhu a dáno jméno *Phytophthora alni* BRASIER & S.A. KIRK 2004 (BRASIER & al. 2004). Parazit je hybridního původu (rodičovské druhy jsou *P. cambivora* a *P. cf. fragariae*) a je velmi polymorfní - v současné době jsou známy tři poddruhy - nejvíce nebezpečný je nominální poddruh - *P. alni* subsp. *alni* (dříve znám pod jménem „standard type“), další dva subsp. *P. a. uniformis* a *P. a. multififormis* jsou patogenní méně (BRASIER & al. 2004). Nominální poddruh je podle našich pozorování v ČR nejčastější (ČERNÝ & al. unpubl.).

P. alni se v současnosti vyskytuje v Evropě od Irska na východ zhruba po linii Švédsko – Pobaltí - Polsko – Slovensko – Maďarsko – Slovinsko (cf. JUNG & BLASCHKE 2004).

Phytophthora alni je oligofágní druh – z přírody je znám pouze na olších – *Alnus glutinosa*, *A. incana*, *A. cordata* a *Duschekia alnobetula* (v ČR je znám dosud na olši lepkavé a olši šedé) a celosvětově je jejich vůbec nevýznamnějším patogenem. V sousedním Bavorsku je např. tímto parazitem v různé míře napadeno zhruba 4500 km břehových porostů olší (cca 50 % břehových porostů olší) a 1655 ha (zhruba 45 %) lesních výsadeb olší (JUNG & BLASCHKE 2004). Situace v ČR (alespoň v západní části státu) se, alespoň co se týče břehových porostů, příliš od tohoto stavu neliší (ČERNÝ & STRNADOVÁ 2010).

Chřadnutí olší v ČR

Druh *Phytophthora alni* byl v České republice poprvé izolován v roce 2001 (ČERNÝ et al. 2003), nicméně je velmi pravděpodobné, že se zde vyskytoval už dříve. Na základě našich zjištění lze jednoznačně usoudit, že se na území ČR vyskytoval např. v povodí Lužnice, Berounky, Ohře, Ploučnice, Jizery, ale obvykle způsoboval pouze lokální škody (ČERNÝ et al. 2006). Je pravděpodobné, že výraznější chřadnutí olší pozorované Jančaříkem (JANČAŘÍK, 1993) v jižních Čechách v osmdesátých a devadesátých letech minulého století, bylo způsobeno tímto parazitem.

Dopad povodní v r. 2002 na olše se nejvýrazněji projevil v následujících 2 – 3 letech, kdy došlo k rychlému odumírání olší v některých nejvíce postižených břehových porostech. Většina porostů olší byla však pouze do větší či menší míry stresována v důsledku anoxie (cf. Kozłowski 1997, STRNADOVÁ & al. 2006, VYHLÍDKOVÁ et al. 2005).

V současné době je druh *Phytophthora alni* v ČR široce rozšířen – do konce r. 2010 bylo chřadnutí olší identifikováno na cca čtyř stech lokalitách po celé ČR, přičemž těžiště jeho výskytu je v západní části státu. Výskyt hromadného fytoftorového chřadnutí olší je potvrzen např. v povodí Vltavy, Berounky, Ohře, Ploučnice, Jizery, Labe, Orlice, Sázavy, Lužnice, Jihlavy a Moravy. Parazit působí značné škody na stovkách km vodních toků (místy je chřadnutí olší kalamitní) a vyskytuje se už nejspíše v tisících km břehových porostů (ČERNÝ & STRNADOVÁ 2010).

Napadeny bývají břehové porosty velkých řek i středních a malých toků do šířky 1 m i břehové porosty vodních nádrží a rybníků. Parazit se vyskytuje také v občasně zaplavovaných nivách až několik set metrů od vodního toku, v periodicky zaplavovaných územích, výtópách, bažinách, slatinách, ale podle zahraničních údajů se může objevit i v lesních porostech, lesních školkách a jinde. Drtivá většina údajů z ČR (cca 95%) se týká břehových porostů anebo porostů, které bývají zaplavovány. Pouze výjimečně bylo zjištěno napadení porostů lesních a napadení olší v lesních

školkách doposud nebylo prokázáno v ČR vůbec, přesto je ale pravděpodobné (ČERNÝ & STRNADOVÁ 2010).

Vliv *P. alni* na olše a jejich porosty, průběh onemocnění

Napadené olše během jednoho nebo několika let odumírají nebo jsou vážně poškozeny a jejich funkce v břehovém porostu bývají více či méně redukovány. Nejčastěji poškozeny bývají kořeny olší přímo v korytě toku a v okrajové části břehu, tj. ty, které mají významnou stabilizační funkci.

Napadení porostu probíhá v první fázi nejčastěji skrytě na kořenech olší, obvykle bez typických doprovodných symptomů na nadzemních částech rostlin. S postupným zvětšujícím se rozsahem poškození kořenů a krčků se začínají objevovat změny v olistění napadených stromů a případně i symptomy na krčcích a bázích kmenů a porost začíná ohniskovitě prosychat. Zpravidla v této fázi je výskyt onemocnění identifikován, tehdy už ale může být (v závislosti na dalších faktorech) většina olší v porostu do různé míry napadena. V další fázi napadení kulminuje, některé stromy odumírají, jiné jsou trvale poškozeny a v porostu dochází k sanačnímu kácení odumřelých či odumírajících olší. Po několika dalších letech vrcholící epidemie mnohdy musí dojít k další vlně sanačního kácení. Četnost výskytu parazita na stanovišti nakonec klesá současně s redukcí počtu olší (respektive spíše s poklesem množství živého substrátu, který může být patogenem kolonizován – tedy nejčastěji kořenů olší v břehové linii či v její blízkosti). Porosty olší v podmínkách příznivých pro rozvoj patogenu mohou být významně postiženy (poškozena může být velká většina stromů v porostu – až 50 – 90%). Nakonec pravděpodobně dochází k ustavení určité oscilující rovnováhy mezi hostitelem a parazitem. K ustavení této rovnováhy dochází zhruba tehdy, kdy se olše na složení břehového porostu nepodílejí více než jen několika desítkami procent. V tomto stavu je ovšem stabilizační funkce zbylého porostu olší zpravidla minimální, protože i přeživší stromy mají obvykle značně poškozenou část kořenového systému, která je přímo v břehu. V případech masivního napadení porostu může ale také dojít k jeho téměř úplné destrukci.

Šíření *P. alni* a ochrana

Nejběžnějším způsobem šíření parazita je vodou po proudu toku – parazit se šíří buď ve formě volných zoospor nebo spolu s infikovaným, vodou unášeným materiálem. Dalším běžným způsobem je přenos infikovaným materiálem ze školek, zálivkou kontaminovanou vodou (ve školkách), splachy z výše položených infikovaných výsadeb, drenážemi, spolu s násadou ryb ze sádek s kontaminovanou vodou, ale také při stavebních a těžebních pracích v napadených porostech, kontaminovanou technikou a infikovaným vytěženým materiálem.

Opatření k omezení šíření a vlivu parazita jsou velmi problematická a zatím nepřilíš účinná. V lesních školkách patří k možným opatřením použití fungicidů (např. na bázi metalaxylu, fosetyl-Al, dimetomorfu), kontrola zdravotního stavu materiálu, dezinfekce závlahové vody či změna jejího zdroje a změna sortimentu vysazovaných sazenic na lokalitách s výskytem *P. alni* minimálně po tři roky.

Kontrola parazita v břehových porostech je komplikovaná – zejména tehdy, pokud lze předpokládat permanentní „zásobování“ porostu infekčním inokulem z úvodí. V břehových porostech nelze aplikovat klasické fungicidy, biologické přípravky nejsou zdaleka tak spolehlivé a zejména tu je problém odhalit mnohdy skrytě probíhající počáteční infekce. V břehových (a lesních) porostech je nutná výsadba zdravého materiálu, do napadených porostů je v zásadě zbytečné dosazovat olše. Na lokalitách, kde dojde k vykácení napadeného porostu olše nelze vysazovat 3 roky (JUNG & BLASCHKE 2004), přičemž kácení má (minimálně na dolních úsecích řek s výraznějším výskytem *P. alni*) spíše krátkodobý efekt. Kácení napadených stromů a další práce v napadených porostech musí probíhat jen v chladných měsících roku, kdy je parazit nejméně aktivní. Velmi riskantní je těžba, přeprava a skládkování infikovaného materiálu v létě a na podzim. Samozřejmě je dbát na

opatrnost při práci v napadených porostech (stavební a zemní práce, těžba dřeva) a desinfekci pracovního nářadí.

Značný preventivní význam může mít zjišťování drobných ohnisek výskytu choroby v úvodích a jejich likvidace. Jakmile se totiž populace parazita stabilizuje, je již velmi problematické zabránit masivnímu šíření infekce v napadeném porostu a níže po proudu toku. Tato ohniska mají velký význam právě jako zdroje inokula, kterým dříve či později budou infikovány zdravé břehové porosty olší dále po proudu.

Symptomy onemocnění olší vyvolaného druhem *Phytophthora alni*

Charakter prosychání jednotlivých dřevin a porostu

Časná fáze poškození porostu

V iniciální fázi infekce, kdy je poškození kořenových systémů či krčků napadených stromů dosud rozsahem omezené, nemusí být příznaky v olistění vůbec vyvinuty. V pozdější fázi napadení, kdy se rozsah poškození kořenových systémů zvětší na několik desítek procent, reaguje olistění stromu žloutnutím (obr. 1). Tato chlorotizace je vyvolána nedostatkem dusíku pro syntézu chlorofylu, který je zapříčiněn omezeným přísunem živin z kořenů. Později, v závislosti na rychlosti průběhu napadení a době infekce dochází k výraznému omezení přísunu živin a vody, k redukci fotosyntézy a v důsledku k omezení listové plochy (prosvětlení koruny). Ke žloutnutí a k redukci asimilační plochy dochází obvykle v celém objemu koruny najednou (obr. 1).

V počáteční fázi onemocnění porostu není ohniskovitý charakter vyvinut, proto pro včasnou identifikaci napadení je nutno věnovat pozornost **jednotlivým stromům či jejich skupinkám s chlorotickým, případně i řidším olistěním**).



Obr. 1. První zdálky patrné symptomy napadení porostu

Pokročilá fáze napadení porostu

V další fázi vývoje napadení porostu dostává jeho poškození více či méně **ohniskovitý charakter**. V typickém případě je střed ohniska tvořen odumřelými či odumírajícími stromy a směrem k okrajům ohniska je poškození stromů menší (obr. 2). Porost je tak složen ze skupin nemocných či odumřelých stromů a skupin stromů v počátečnímu stupni napadení a ze stromů opticky zdravých (obr. 3, 4, 5).

Chřadnutí porostu v ohniscích může být ale způsobeno i jinými faktory – např. odlišnými místními poměry (terénní deprese, vyšší hladina spodní vody aj.). Jako typický příklad může sloužit poškození olší (chlorotizace, prosychání, případně odumření) ve výtopách rybníků v letech s vysokým úhrnem srážek, při dlouhodobějším maximálním napuštění rybníků, po jejich opakovaném letnění apod.





Obr. 4. Pokročilá fáze napadení



Obr. 5. Ohnisko odumřelých stromů

Symptomy v koruně napadených dřevin

Na omezení dodávek minerálů a vody, ke kterému dojde v důsledku napadení kořenového systému či krčku patogenem, strom reaguje změnami v koruně. Rozsah a rychlost těchto změn (vadnutí, žloutnutí, zmenšení listů a prosychání) odpovídají rozsahu poškození jedince. Charakter a rozsah těchto poškození a stavu zavětvení koruny odráží i dobu, kdy k postižení došlo a zda chřadnutí v současné době pokračuje či zda se poškozený jedinec do určité míry zotavuje. Při aktivním rozvoji choroby dochází obvykle k prosychání **v celém objemu korun** postižených jedinců (obr. 6). Je to způsobeno tím, že rozvoj infekce je většinou velmi rychlý a poškození je často značného rozsahu – k poškození až 50 % kořenového systému či obvodu krčku (a u mladých jedinců často více) dojde během velmi krátké doby – jednoho až několika málo let. **Tato první fáze vývoje poškození dřeviny je vždy spojena s výraznou chlorotizací olistění a často i s nápadným zmenšením listů a celkovou redukcí olistění. Naproti tomu zavětvení korun není změněno.**

Akutní prosychání korun v celém objemu s doprovodnou chlorotizací a zmenšením listů, případně uschnutí celého stromu, může být také odpověď na rozsáhlé poškození kořenových soustav v důsledku infekce jinými kořenovými parazity, může vzniknout v důsledku hypoxie na místech s dlouhodobě vysokou hladinou spodní vody nebo po povodních atp.



Symptomy akutního napadení

Výrazným projevem akutního onemocnění jsou změny v olistění poškozených jedinců. Týká se to zejména **změny barvy listů, zmenšení plochy listů a redukce olistění** (viz prosychání korun).

Chlorotizace

První fáze poškození se nejčastěji projevuje změnou barvy olistění (obr. 7) – listy mají více či méně žlutavý odstín v závislosti na intenzitě napadení a také pravděpodobně na době, kdy došlo k rozvoji poškození (koncem jara, počátkem léta). Zejména je to patrné u mladších jedinců, které bývají vzhledem k malým rozměrům relativně více parazitem poškozeny a mohou odumřít i během jedné vegetační sezóny. Chlorotizace je způsobena přerušением či omezením zásobování asimilačního aparátu dusíkem v důsledku rozvoje infekce parazita (nedostatek tohoto prvku v listech vede k poklesu syntézy chlorofylu). Symptom bývá někdy doprovázen zmenšením listové plochy – tehdy se může ale často jednat o opakovanou či pokračující rozsáhlou infekci anebo vliv dalšího (souběžného, předcházejícího) stresujícího faktoru. Ke chlorotizaci listů ovšem může také dojít v důsledku poškození kořenů záplavami a/nebo parazitární infekcí.

Nadměrná plodnost je dalším, byť méně obvyklým symptomem napadení (obr. 8).



Obr. 7. Chlorotizace olistění



Obr. 8. Nadměrná plodnost

Zmenšení plochy listové čepele

Tento symptom je často spojen v první akutní fázi chřadnutí s chlorotizací, někdy se objevuje ale až o sezónu později. Zmenšení listů je charakteristické také pro stromy v dalších letech procesu chřadnutí, či stromy delší dobu poškozené (obr. 9). Tento symptom se na poškozených stromech objevuje řadu let (chlorotizace olistění už nemusí být vůbec zřetelná) a může přetrvávat tak dlouho, dokud se bude ustavovat rovnováha mezi zbylou živou částí podzemní biomasy (která v důsledku infekce odumřela nebo s níž byl kontakt přerušen) a nadzemní biomasou a dokud se nevytvoří odpovídající druhotná koruna.

Zmenšení listů může být zapříčiněno samozřejmě dalšími faktory – redukcí kořenových soustav v důsledku záplav či infekce jinými parazity, často vlivem sucha, silně exponovaného osvětleného stanoviště a rovněž může být znakem stromů na stanovištích dlouhodobě stresovaných (např. trvale vysokou hladinou podzemní vody). Velikost plochy listové čepele je velmi proměnlivý znak i v rámci jednoho jedince – závisí např. na zástině, expozici daného segmentu koruny a stavu kořenů zásobujících daný segment koruny. Vadnutí a zkrucování listů (obr. 7), či změna jejich postavení jsou symptomy velmi nápadné, ale méně časté a vesměs jsou to odpovědi na akutní a rozsáhlé poškození kořenové soustavy či přerušení vodivých drah ve spodní části kmene.

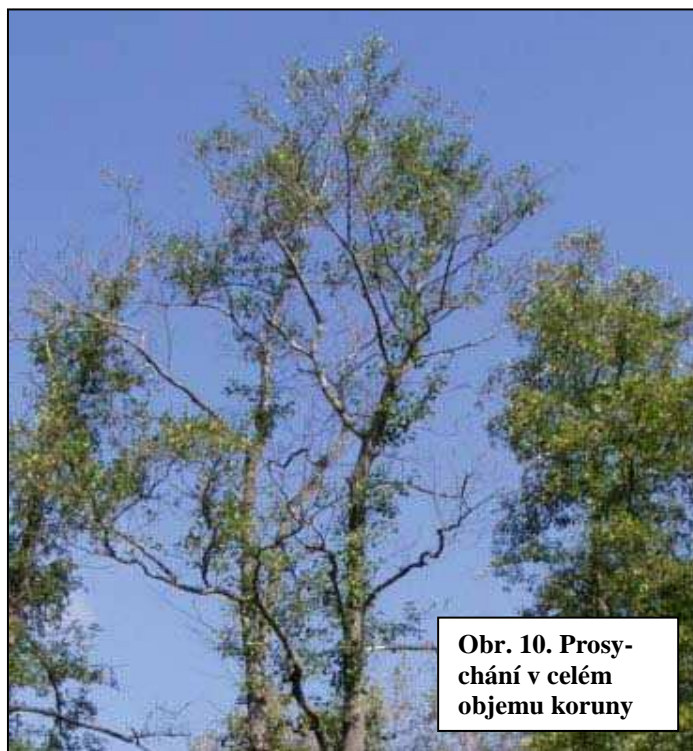
Obr. 9. Zmenšení listů v celém objemu koruny



Symptomy dlouhodobého poškození

V letech následujících po infekci olše reagují na vzniklé poškození náhlou a výraznou redukcí olistění (často kolem 50 %) a změnami v zavětvění korun. Pro tyto stromy je charakteristické nejen celkově **řidké olistění, ale i usychání drobných i silnějších větví, jejich odlamování a vyholování kosterních větví** (obr. 10). Jestliže infekce u těchto jedinců dále nepostupuje a rozsah nekrózy se nezvětšuje, může dojít ke stabilizaci zdravotního stavu stromu, přestože jsou jeho kořeny či báze významně poškozeny. U těchto jedinců pak dochází k ustavování nové rovnováhy mezi nadzemní a podzemní biomasou jedince, která byla narušena redukcí kořenové biomasy nebo přerušením zásobování z části kořenové soustavy. V této fázi může dojít k určité regeneraci stromu a k vytvoření **sekundární koruny se shlukovitým olistěním** (obr. 11). Strom je dlouhodobě charakteristický zmenšenou velikostí listů, chlorotizace olistění nebývá zpravidla přítomná. Stabilizační funkce těchto přeživších jedinců je ale obvykle značně redukována, protože bývá poškozena část kořenového systému přímo zpevňující svah břehu. Koruny přeživších jedinců mohou mít takto deformovaný habitus po celý zbytek života. V závislosti na napadení dalšími oportunními parazity může docházet k pomalému chřadnutí těchto jedinců. Pokud jsou tyto stromy znovu významně napadeny druhem *P. alni*, dojde zpravidla k jejich úhynu.

Dlouhodobé či chronické prosychání může také souviset s mnoha nejrůznějšími příčinami poškození stromů, které může být obtížné zpětně identifikovat (záplavy, kořenové hniloby, aj.). Často to bývá odpověď na výraznější a přitom méně časté výkyvy podmínek prostředí (záplavy, pokles hladiny spodní vody, atd.), které je postižený jedinec schopen zvládnout, byť třeba za cenu redukce olistění, snížení koruny a zmenšení rozsahu kořenového systému.



Obr. 10. Prosy-
chání v celém
objemu koruny



Obr. 11. Tvorba
sekundární ko-
runy

Zavětvení chřadnoucích stromů

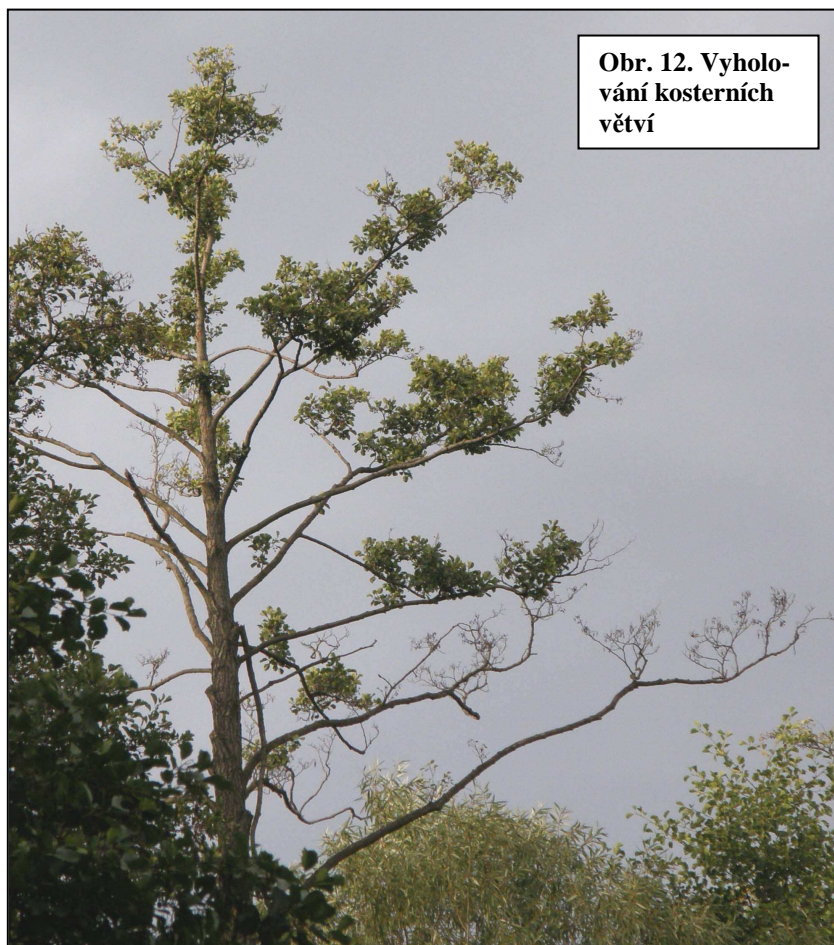
V prvních 1 až 2 letech po nástupu infekce nebývá struktura zavětvení korun napadených stromů změněna. Později ale dochází k redukci množství drobných větví v celém objemu koruny (obr. 11) a dále k **vyholování kosterních větví** (obr. 12). Rychlost procesu a jeho intenzita je dána rozsahem poškození jedince. V poslední fázi chřadnutí se na kosterních větvích či kmeni může vytvářet pouze sekundární obrost (obr. 13).

Redukce zavětvení korun může být způsobena jak infekcí *P. alni*, tak dlouhodobou či akutní hnilobou kořenů, poškozením dalšími parazity, v důsledku, sucha, povodní, dlouhodobě vysokou hladinou podzemní vody na stanovišti atp.

Deformace zavětvení koruny může být také důsledkem značného zástínu v porostu (anebo hustého sponu) a velmi často bývá vytvořena u jedinců ve spodní etáži či ve spodních partiích korun. Uvolněním porostu pak deformace korun těchto jedinců vyniknou.

Na základě změn v olistění a prosychání korun stromů nelze samozřejmě přesně určit příčinu chřadnutí. Je to ale významné vodítko k odhadnutí příčiny poškození, aktuálního zdravotního stavu, rychlosti a nebezpečnosti chřadnutí a také doby, kdy k poškození došlo.

Vždy i jen lehké a rovnoměrné řídnutí olistění či prosychání korun doprovázené chlorotizací a případně zmenšením listů může být symptomem napadení *P. alni*.



Obr. 12. Vyholování kosterních větví



Obr. 13. Sekundární obrost na kmeni

Symptomy na bázi kmene

Symptomy akutního onemocnění

Znaky na bázích kmenů stromů jsou pro identifikaci napadení jedince *P. alni* velmi významné, protože se jedná o znaky do značné míry specifické. K infekci nejčastěji dochází ve vodě na kořenech či na krčku. Parazit způsobuje nekrotizaci drobných kořínků a později vodivých pletiv a spodních vrstev kůry silnějších kořenů a krčku. Nekrózy se velmi rychle prodlužují v podélném směru (ročně o desítky cm) a pokud patogen na hostiteli neodumře, během několika let od infekce se nekrózy rozšíří z kořenů na krček a bázi kmene stromu. Na krčku a bázi kmene jsou symptomy napadení nejlépe zjistitelné. Infekce (a nekróza) se rozvíjí koncem jara a počátkem léta, nejrychleji se zvětšuje koncem léta. Nekróza má největší rozsah na podzim, s poklesem teplot pak parazit snižuje svoji aktivitu a postupně přestává růst zcela či dokonce odumírá. **Nekrotizace pletiv je doprovázena tvorbou rezavě, červeně až černavě zbarvených exudátů, které pronikají prasklinami v borce na povrch (obr. 14). Čerstvé exudáty jsou nejlépe viditelné od srpna do prosince.**



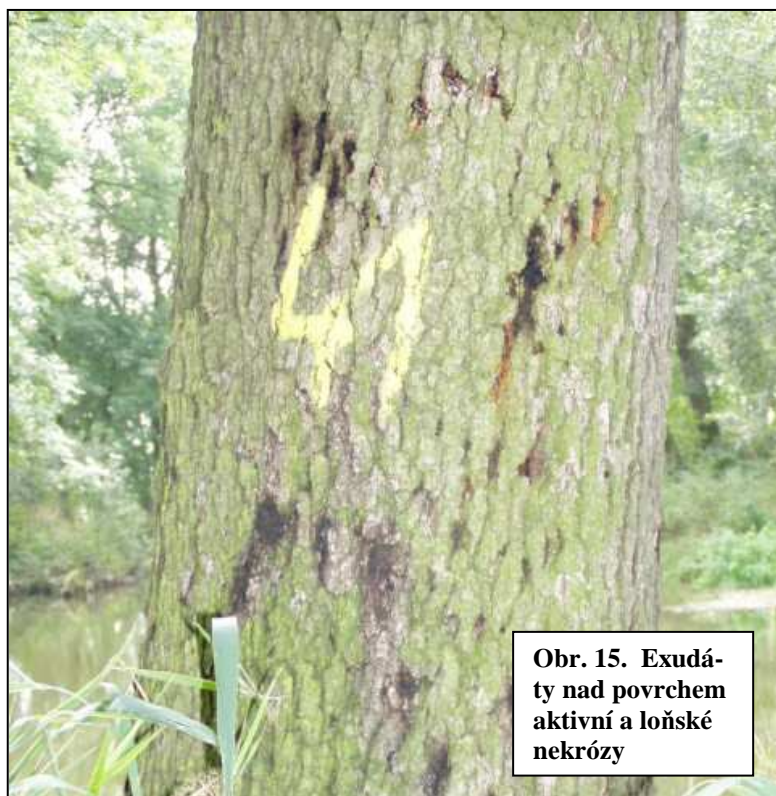
Obr. 14. Čerstvé exudáty. Detail

Exudáty bývají postupně smývány srážkami a postupem času ztrácejí skvrny charakteristické červenavě hnědé zbarvení a zůstávají jen tmavě hnědé až černé rozmazané skvrny a kůra pak poněkud vypadá jako ožehnutá plamenem (obr. 15 srovnej čerstvé exudáty na borce nad aktivní nekrózou a rok staré ve spodní části snímku). Tyto skvrny mohou přetrvávat do další vegetační sezóny, ale pak mizí (déšť, povodně, epifytické organismy, zvětrávání, aj.). Často mohou být na jednom stromě exudáty jak loňských nekróz, tak letošních. Exudáty nemusí být patrné na stromech s extrémně silnou kůrou (nebo mohou být jen v hlubokých prasklinách) anebo se nemusí projevit vůbec – pokud se jedná o lokalitu s chladným mikroklimatem anebo bylo enormně chladné léto (aktivita parazita je malá), nebo je porost vyšetřován na počátku vegetační sezóny.

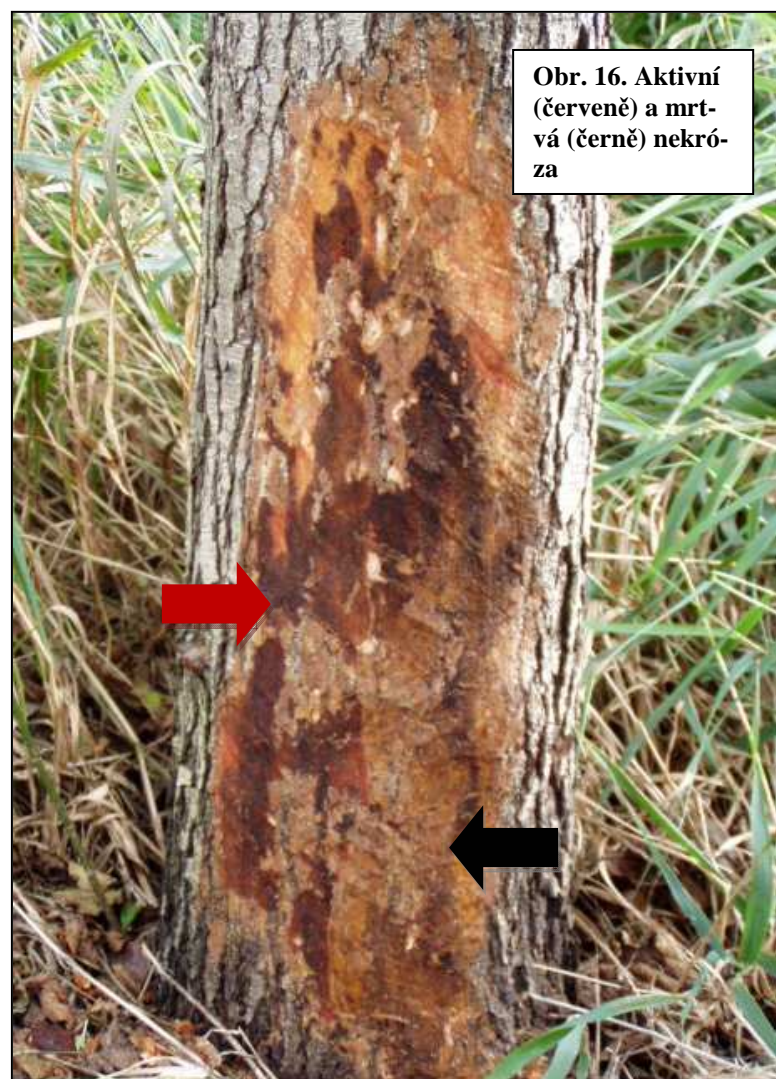
Po odstranění kůry lze pak snadno identifikovat nápadnou **jazykovitou, medově až rudě zbarvenou nekrózu** (obr. 16, označeno červenou šipkou). Nekróza stará je pak charakteristická hnědou barvou a změněnými vlastnosmi pletiv, která už jsou částečně rozložena a kolonizována saprofyty (obr. 16, označeno černou šipkou).

Nekróza v době intenzivního vývoje patogenu bývá ve své horní části být zbarvena medově a mohou na ní být viditelné i jednodenní přírůstky (obr. 17).

V závislosti na několika faktorech mohou nekrózy dosáhnout výšky až 1 – 3 a více m a šířky několika desítek cm (obvykle se ale jedná ale o 0,5 – 1 m výšky a cca 20 – 30 cm šířky). Lokalizace, velikost a tvar nekróz a množství a barva exudátů jsou velmi variabilní. Záleží zejména na místě, kde došlo k infekci, na době vzniku a rychlosti rozrůstání infekce, na vývoji klimatických faktorů, na stanovištních podmínkách a na



Obr. 15. Exudáty nad povrchem aktivní a loňské nekrózy



Obr. 16. Aktivní (červeně) a mrtvá (černě) nekróza

zdravotním stavu samotného hostitele.

Na řezu pařezovou částí kmenu jsou patrné nestejněměrné přírůstky letokruhů či jejich absence v místě staré nekrózy (obr. 18, černá šipka). Rudou barvou jsou opět charakteristická vodivá pletiva s aktivním rozvojem nekrózy (obr. 18, červená šipka).

Nestejněměrnost přírůstků ovšem může vzniknout také v důsledku hniloby části kořenového systému či pod vlivem prostorově značně heterogenního prostředí v rámci kořenového systému jedince (které je v břehových porostech spíše pravidlem než výjimkou).

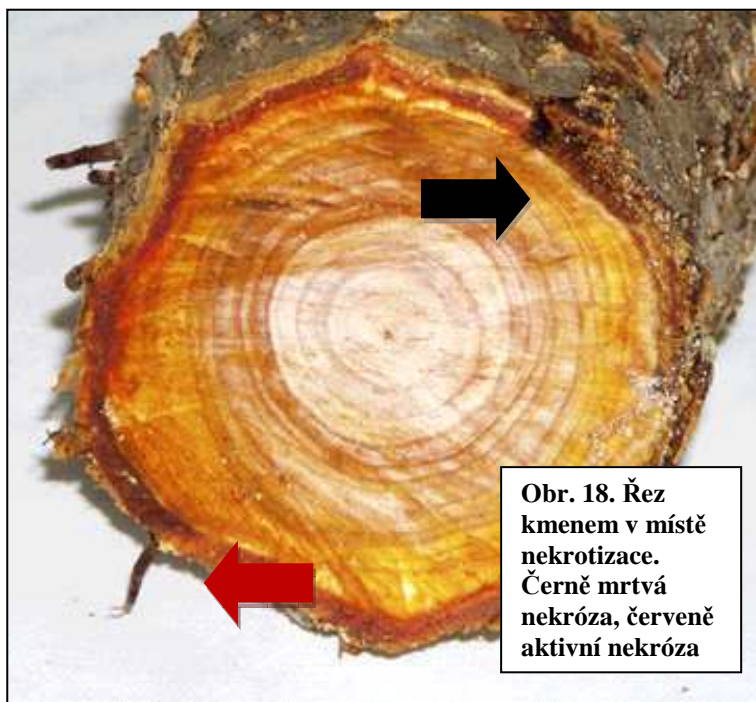
Příznačná je také **tvorba adventivních kořenů** (obr. 18), které mohou být také patogenem kolonizovány.

Četnost aktivních nekrotů a výtoků na jednotlivých lokalitách může kolísat v závislosti na vývoji teplot v zimním období - parazit pak přežívá velmi chladné zimy jen pod silnou kůrou (někdy krytou epifyty) a na bázi kmenů pod hrabankou či na kořenech v půdě či vodě. V delší dobu napadených porostech, kde došlo k výrazné redukci počtu jedinců hostitele, pak dojde i k poklesu frekvence výskytu parazita. Důsledkem je fakt, že v některých v porostech se **může tento symptom napadení vyskytovat relativně zřídka a je nutné prověřit větší počet jedinců (několik desítek).**

Exudáty a jazykovité nekrózy jsou významným a spolehlivým symptomem choroby. Mohou být samozřejmě způsobeny také dalšími parazitickými organismy či abiotickými poškozeními – ale tehdy jen v omezeném rozsahu a nikoliv na více stromech v typických jazykovitých formacích.



Obr. 17. Horní okraj aktivní nekrózy



Obr. 18. Řez kmenem v místě nekrotizace. Černě mrtvá nekróza, červeně aktivní nekróza

Symptomy dlouhodobého poškození

Na napadeném stromě může parazit zcela odumřít – pak je **celá rána nebo její část zavalována**. Báze stromů s takovýmito hojícími se poškozeními mívají typický vzhled s jazykovitými, více či méně úzkými poškozeními, která dosahují do výše několika desítek cm a někdy i jednoho metru či výše. Charakteristická je vpadlá nekróza s popraskanou borkou (obr. 19, 20). U starých stromů se silnou borkou ale oba tyto symptomy nemusí být zjevné a lze je odhalit až po odstranění kůry. Tato poškození bývají často místem vstupu infekce *Inonotus radiatus*, která pak vede ke snížení mechanické odolnosti kmene a častým zlomům v pařezové části.



Obr. 19. Vpadlá mrtvá nekróza na bázi kmene



Obr. 20. Popraskaná borka v místě nekrotizace

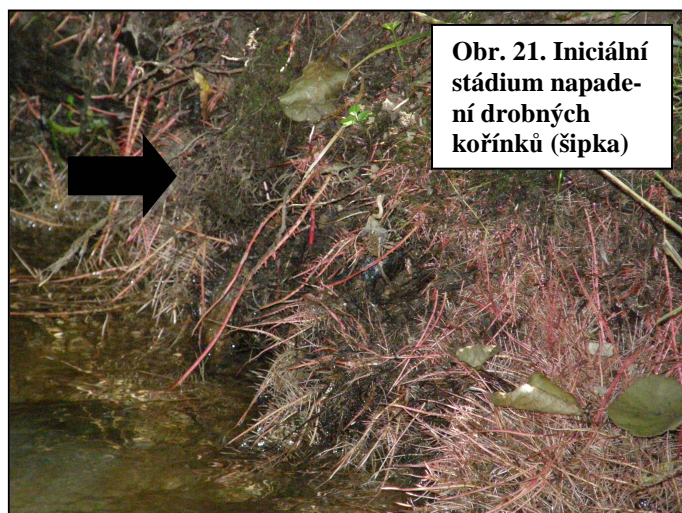
Symptomy na kořenech

Infikovány jsou obvykle nejprve drobné kořínky přímo ve vodě. Zdravé kořínky jsou červenavě či růžově zbarveny, nekrotické kořínky jsou šedavé a postupně černají (obr. 21, označeno šipkou). Poměrně rychle pak dochází k odumření části kořenového systému, která je exponovaná ve vodě či přímo v břehu. Odumřelé kořínky rychle ztrácejí pevnost, jsou ulamovány a z původně značně prokořenělého břehu trčí jejich šedé či zčernalé odumřelé zbytky (obr. 22). V důsledku odumření kořenů přestane být břeh chráněn a může pak dojít k jeho poškození (pokud není např. zpevněn kamenným záhozem). Během eroze dochází k postupnému odnosu materiálu a k obnažení hlavních kořenových větví zbavených vlášení a tenčích kořenů. Kořenový systém je obvykle odumřelý a charakteristický černou barvou (obr. 23).

Velký význam má napadení kořenů olší v profilu koryta a v břehu, je to nejen nejčastější místo vstupu infekce, ale vzhledem k rychlému postupu choroby dochází k odumření kořenového systému a významně se zvyšuje riziko poškození břehu. Na hnilobách kořenů v půdě se *P. alni* podílí jen malou částí (nesnáší konkurenci dalších, obvykle saprofytických mikroorganismů).

Znaky napadení kořenů patogenem jsou obtížně odhalitelné (v první fázi onemocnění) a nespecifické, proto zpravidla nemají velký význam pro posouzení výskytu *P. alni*. Pro určení přesné příčiny hniloby kořenů je pak potřeba časově náročnější laboratorní vyšetření.

K odumírání kořenů dochází často v důsledku záplav nebo napadení kořenových soustav různými druhy rodu *Phytophthora* případně i jinými patogeny, tehdy obvykle bývají poškozeny drobné kořeny.



Shrnutí

Při zjišťování výskytu *P. alni* v břehových porostech olší je nutno zohlednit více symptomů chřadnoucích stromů. V první fázi identifikace choroby je nutné **zaměřit se na existenci ohnisek či skupin chřadnoucích dřevin anebo alespoň jednotlivých stromů**. Typická ohniska jsou tvořena odumřelými či odumírajícími stromy ve středu ohniska; stromy na okrajích ohnisek jsou poškozeny méně. **Velmi charakteristické je pro napadené stromy řídnutí korun v celém objemu, výrazná chlorotizace listů a posléze i jejich zmenšení listů**. V počáteční fázi rozvoje choroby se ovšem napadení projevuje jen mírně prořídłym chlorotickým olistěním některých stromů v porostu. V případě souběžného či předchozího značného poškození porostu povodněmi nebo rovnoměrnému poškození porostu v důsledku stresu (např. vysoká hladina spodní vody) jsou ohniska choroby často méně nápadná.

Ve druhé fázi identifikace choroby v porostu je nutné detailně prohlédnout báze podezřelých jedinců a hledat **přítomnost červenavě až černavě zbarvených exudátů a jazykovitých nekrotických vodivých pletiv a spodních vrstev kůry**. Tyto symptomy jsou charakteristické pro přítomnost *Phytophthora alni*. Ideální doba pro identifikaci těchto symptomů je druhá polovina roku, ale lze je najít (byť ne v čerstvém stavu) mnohdy po celý rok. Vývoj nekrotických exudátů jsou ovšem silně závislé na mnoha faktorech, což může na některých lokalitách výrazně znesnadnit odhalení přítomnosti parazita (např. v iniciální fázi napadení porostu, nebo naopak po dlouhodobějším napadení, kdy populace hostitele i parazita jsou značně redukovány anebo na stanovištích pro patogen nepříznivých), proto je někdy nutno vyšetřit až několik desítek jedinců. V případě dlouhodobě napadeného porostu, kdy se nepodaří objevit symptomy akutního napadení, lze nemoc identifikovat na základě poškození kořenů a charakteristických vpadlých, zavalujících jazykovitých poškození bází jedinců. Tato poškození jsou často kryta rozpraskanou kůrou a mnohdy se na okrajích zdravých pletiv vyvíjejí adventivní kořeny.

Přestože na základě symptomů lze s vysokou pravděpodobností odhadnout přítomnost *P. alni* na lokalitě (zejména pokud jsou projevy choroby typické), stoprocentně je možné napadení prokázat pouze přímou izolací.

Vzhledem k tomu, že *Phytophthora alni* je velmi vážný invazní parazit se zásadním dopadem na břehové porosty olší, je u každého nápadného progresivně chřadnouceho porostu olší ohniskovitěho charakteru a s typickými symptomy na bázích kmenů (nekrotizace, exudáty) vždy nutno předpokládat možnost napadení právě tímto parazitem.

Odběr vzorků

Přestože jsou symptomy fytoftorového onemocnění olší poměrně typické, spolehlivým způsobem prokázání choroby je přímá identifikace parazita, tj. jeho izolace z poškozených pletiv, případně imonochemické potvrzení jeho přítomnosti. Odběr vzorků sice není příliš technicky komplikovaný, je však zapotřebí respektovat určité zákonitosti vyplývající z ekologie parazita, aby jeho detekce v odebraných pletivech byla úspěšná a nedocházelo k falešně negativním výsledkům.

Vývoj infekce a jejích symptomů

Nejčastěji dochází k infekci *P. alni* na kořenech ve vodě, méně často na náběžích a krčku stromu. Po infekci hostitele se parazit šíří jeho vodivými pletivy a spodními vrstvami kůry a postupně prorůstá proximálně směrem do kmene. Než nekróza dosáhne báze kmene, může uplynout jeden rok nebo i více let a v této fázi je obvykle špatně identifikovatelná; rovněž pletiva jsou pro odběr méně vhodná (jednak z důvodů technických, jednak z důvodů přítomnosti velkého množství dalších mikroorganismů v půdě, které vzorek mohou rychle znehodnotit). Ve fázi, kdy dojde k nekrotizaci nadzemních pletiv, jsou symptomy napadení většinou dobře viditelné a zároveň jsou tato pletiva ideální pro provedení odběru. Na bázi kmene parazit způsobuje nápadně rudohnědě zbarvené nekrózy, které se rychle rozrůstají v pruzích či jazycích od báze kmene vzhůru. Nekrotizace pletiv je obvykle doprovázena tvorbou exudátů, které v místě nekrózy pronikají na povrch kmene. Exudáty jsou nejnápadnějším a téměř nezaměnitelným průvodním jevem nekrotizace vodivých pletiv kmene. Exudáty mají charakteristické rezavé, červené až černavé zbarvení (obr. 14, obr. 15 v horní části snímku, obr. 24). Postupně však bývají smyty srážkami nebo při povodních a zůstávají jen černavé rozmazané skvrny, přičemž kůra pak vypadá jako ožehnutá plamenem (obr. 15 v dolní části snímku). Tyto skvrny mohou přetrvávat i do dalších vegetačních sezón, ale pak postupně mizí. Často mohou být na jednom stromě exudáty jak loňských nekrot, tak letošních. Exudáty nemusí být patrné na stromech s extrémně silnou kůrou (nebo mohou být jen v hlubokých prasklinách) nebo se nemusí objevit vůbec (v závislosti na faktorech prostředí a intenzitě rozvoje infekce).



Vývoj infekce a doba odběru

První viditelné symptomy aktivního růstu patogenu na bázích kmenů (produkce čerstvých exudátů) se objevují obvykle koncem jara či v první polovině léta (v polovině jara může dokonce docházet k potlačení aktivity patogenu pod vlivem nastartování obranných mechanismů hostitele na začátku vegetace). Množství exudátů se během sezóny zvyšuje s postupným zvětšováním ploch aktivních nekrot až do poloviny podzimu. Aktivita patogenu poté klesá s poklesem teplot v druhé polovině podzimu. Po nástupu prvních silných mrazů, kdy dojde k promrznutí nekrot (narozdíl od živých pletiv) může dojít k odumření větší či menší části mycelia patogenu v nekrotizovaném pletivu; patogen dokonce může na napadené olši zcela odumřít. Exudáty však v nezměněném stavu obvykle přetrvávají až hluboko do zimy či do jara příštího roku. **Nejvhodnější doba k odběru vzorků pro detekci patogenu je tedy červenec až listopad, kdy je patogen nejvíce aktivní.** V období zimním a v první půli jara je pravděpodobnost jeho izolace řádově nižší.

Postup při odběru vzorků

1. Před odběrem vzorku se ujistíme o tom, že jsou na kůře nad nekrotizací **čerstvé exudáty** (obr. 25). Poté opatrně tenkým dlátem postupně identifikujeme drobnými vrypy rozsah nekrotizace a lokalizujeme její horní růstový okraj, který může být i několik desítek cm nad exudáty na povrchu kůry. Přesvědčíme se, že nekrotizace je aktivní (rudě až medově zbarvená). **Patogen je možné detekovat pouze v těchto aktivních nekrotizacích.** V nekrotizacích starších, obvykle hnědě zbarvených (obr. 16 vpravo) s výrazněji rozloženými pletivy patogen již přítomný není (obvykle odumře během zimy) a nelze tedy jeho přítomnost laboratorně potvrdit. Vhodné je odebírat vzorky na horním (proximálním) okraji nekrotizace, neboť se mycelium patogenu tímto směrem nejrychleji rozrůstá do zdravých pletiv hostitele a při odběru vzorku zde bývá menší pravděpodobnost přítomnosti oportunních parazitů a dřevokazných hub, které vzorek mohou znehodnotit.

2. Proximální růstový okraj nekrotizace pak odhalíme v šířce cca 10 – 20 cm (obr. 26).

3. Poté postupně odlupujeme širokým dlátem **proužky vodivých pletiv** od dřeva (obr. 27). S jejich odběrem začneme 5 – 10 cm pod okrajem nekrotizace a končíme cca 2 – 3 cm ve zdravém pletivu. Proužky odebíraných pletiv by měly být co nejtlustší. Vzorek musí vždy obsahovat přechody zdravých a napadených pletiv (obr. 28). Odebraná pletiva ihned ukládáme do sterilních obalů, ve kterých budou transportována.



4. Při odběru se musí postupovat pečlivě, ale rychle, aby nebyl vzorek zbytečně kontaminován. Vzorek by rovněž měl být odebírán, pokud je to možné, za suchého a klidného počasí (snížení možnosti kontaminace).

5. Po odběru vzorku je nutné ihned vysterilizovat pracovní nástroje lihem, vydezinfikovat a zatřít vzniklou ránu na kmeni a posbírat a zlikvidovat odpad vzniklý při odběru, který také obsahuje mycelium patogenu, aby nedošlo k jeho nechtěnému rozšíření.

Velikost vzorku

Jeden vzorek by měl obsahovat alespoň 100 cm² vodivých pletiv odebraných z horního růstového okraje aktivní nekrózy (přímo z přechodu zdravých a napadených pletiv). Vždy je vhodné odebrat několik vzorků (alespoň 2 – 3) z několika napadených olší v porostu. Vzorky se samozřejmě balí odděleně. Na velikosti vzorku by se nemělo příliš šetřit z následujících důvodů. S malým vzorkem je obtížné pracovat – při čištění a kultivaci se ho část spotřebuje a část je nutné uschovat pro případné další ověřující kultivace. Vzorek je navíc obvykle kontaminován z terénu a při kultivaci (přes povrchovou sterilizaci vzorku) může dojít někdy k rozvoji saprofytických vláknitých hub, kvasinek či bakterií a ke znehodnocení alespoň části vzorku. Část vzorku rovněž nemusí být z různých důvodů vhodná ke zpracování (může např. utrpět při dopravě) nebo nemusí patogen v životaschopném stavu obsahovat aj.

Balení vzorku

Nutné je ukládat vzorek přímo v terénu již do obalů, ve kterých bude transportován. Různé vzorky (i vzorky z různých nekrotických stromů) je potřeba balit odděleně.

Vzorky pletiv hostitele musí být uloženy v nových, **sterilních PE obalech**, aby nedošlo k vyschnutí vzorku a k odumření patogena a aby se zamezilo další kontaminaci. Vzorky není vhodné odebírat a balit příliš mokré, protože pak snadněji dochází k zapaření vzorku a k jeho rychlému znehodnocení. Další možností je uchovávat odebrané vzorky v nádobách (cca 250 ml) s destilovanou vodou. Destilovanou vodu je ale potřeba alespoň jednou či vícekrát za den vyměnit vzhledem k uvolňování inhibujících fenolických látek z pletiv olše do vody. Tento postup je vhodný použít zejména tehdy, když nebude vzorek bezprostředně dodán do laboratoře.

Uchovávání a doručení vzorku

Vzorky by měly být uchovávány ve tmě a v chladu (teplota cca 5 – 10 °C), dále je nutné vyvarovat se velkého kolísání teplot, vzorky nesmí být vystaveny slunečnímu záření a nesmí dojít k jejich zapaření či vyschnutí. Obsáhlejší vzorky je vhodné odebrat a dopravit tak, aby nedošly do laboratoře v posledním pracovním dnu týdne, nebo se domluvit s příslušnými pracovníky laboratoře telefonicky. **Vzorky by měly být vždy doručeny do laboratoře co nejdříve** – nejlépe tentýž či druhý den po odběru.

Dokumentace vzorku

Dokumentace ke vzorku má obsahovat alespoň nejnutnější údaje, které je nutné zaevidovat a také pro případ potřeby ověření výskytu patogena, rozsahu poškození porostu atd. (viz formulář na následující straně). Mezi základní údaje patří datum odběru, jméno pracovníka, který vzorek odebíral (včetně kontaktu), přesné určení lokality (kilometráž toku, katastr, GPS souřadnice aj.), charakteristika stromu či porostu (druh, stáří) a jeho poškození (stupeň prosychání, počet poškozených dřevin, četnost výskytu symptomů v porostu, odkdy je poškození pozorováno, možný stres ze strany prostředí – např. povodně či trvale vysoká hladina spodní vody apod.). Vhodné je také přiložit fotodokumentaci, která zachycuje detaily poškození a symptomů napadení, celkový habitus dřeviny či porostu a lokalitu.

Shrnutí

Při odběru vzorků vodivých pletiv olší je nutno dodržet několik základních pravidel, aby byla pravděpodobnost následné detekce patogenu co nejvyšší.

1. Identifikace aktivní nekrózy, která obsahuje mycelium živého patogenu a přesná lokalizace přechodu mrtvých a živých pletiv.

2. Před odběrem je odstraněna kůra – vzorek je odebírán pouze z vodivých pletiv. Vzorek musí být dostatečně velký (alespoň 100 cm²) a doporučujeme odebrat současně raději několik vzorků (které musí být baleny odděleně).

3. Při vlastním odběru je nutno postupovat promyšleně a pracovat sterilně a rychle. Je třeba brát ohled na možnost rozšíření původce choroby do okolí a zachovávat příslušná opatření.

4. Vzorek se ukládá do sterilních PE obalů či nádob s destilovanou vodou. Při uchovávání a dopravě vzorku je potřeba zejména zabránit zapaření a přehřátí vzorku. Vzorky nesmí být vystaveny přímému slunci, vysokým teplotám a musí být minimalizována možnost rozvoje saprofytů, které mohou vzorek znehodnotit.

5. Dokumentace ke vzorku má být co možná nejúplnější a má obsahovat zejména datum odběru, přesnou lokalizaci, druh dřeviny, rozsah poškození, možný stres prostředí či jiný faktor a jméno pracovníka, který odběr provedl a kontakt.

Formulář pro dokumentaci vzorku:

Vzorek č.:

tok (nádrž), kilometráž, GPS souřadnice:	
lokalita, katastr, okres:	
stáří porostu (desítky let):	podíl olší v porostu (%): ≤25/>25-50/>50-75/>75
chřadnutí olší pozorováno od roku:	počet chřadnoucích olší: ≤10 / >10-100 / >100

olše lepkavá	olše šedá	křestice zelená	neurčeno
--------------	-----------	-----------------	----------

břehový porost/niva	mimo vodní tok/nádrž	lesní porost	vysoká hladina spodní vody
---------------------	----------------------	--------------	----------------------------

Odběr provedl:

jméno:	datum:
provoz:	kontakt:

Poznámka:

Srovnání novosti postupů

Předkládaná metodika obsahuje nový postup, vyvinutý pro rychlou a přesnou detekci onemocnění olší způsobené cizím invazním mikroorganismem *Phytophthora alni* odbornými terénními a dalšími pracovníky institucí podléhajících rezortům MZe a MŽP, které se zabývají správou a péčí o nejrůznější typy porostů, kde se choroba může vyskytnout (LČR, Povodí s.p., AOPK a další), které nemají dostatečné laboratorní zázemí a pro další dotčené organizace (např. SRS). Metodika dále obsahuje nový postup pro odběr vzorků pletiv, tak aby bylo možno následně přítomnost živého patogenu ve vzorku potvrdit buď izolačně anebo imunochemicky ve specializovaných laboratořích. Předkládaná metodika je v rámci ČR zcela nová.

Seznam použité související literatury

- BRASIER, C.M., ROSE, J., GIBBS, J.N.** (1995): An unusual *Phytophthora* associated with widespread alder mortality in Britain. *Plant Pathol.*, 44: 999–1007.
- BRASIER, C.M., KIRK, S.A., DELCAN, J., COOKE, D.E.L., JUNG, T., MAN IN'T VELDT, W.A.** (2004): *Phytophthora alni* sp. nov. and its variants: designation of emerging heteroploid hybrid pathogens spreading on *Alnus* trees. *Mycol. Res.*, 108: 1172–1184.
- ČERNÝ K., GREGOROVÁ B., HOLUB V. & STRNADOVÁ V.** (2003): First finds of „alder-*Phytophthora*“ in the Czech Republic. *Czech. Mycol.*, 55: 291–296.
- ČERNÝ K., GREGOROVÁ B., STRNADOVÁ V. & HOLUB V.** (2006): *Phytophthora alni* – a Serious Invasive Pathogen of Alders in the Czech Republic. *Knihá příspěvků, XVII česká a slovenská konference o ochraně rostlin*, Praha, 12.-14.9. 2006, 190–195.
- ČERNÝ K., STRNADOVÁ V.** (2010): *Phytophthora Alder Decline: Disease Symptoms, Causal Agent and its Distribution in the Czech Republic*. *Plant Prot. Sci.*, 46: 12–18.
- JANČAŘÍK, V.** (1993): Usychání olší. *Les. Práce*, 72: 14–16.
- JUNG, T., BLASCHKE, M.** (2004): *Phytophthora* root and collar rot of alders in Bavaria: distribution, modes of spread and possible management strategies. *Plant Pathol.*, 53: 197–208.
- KOZŁOWSKI, T.T.** (1997): Responses of woody plants to flooding and salinity [online]. *Three Physiology Monograph No. 1* [cit. 2007–26–11]. Victoria, Heron Publishing. s. 1–29. Dostupný z WWW:< <http://heronpublishing.com/tp/monograph/kozłowski.pdf>>.
- STRNADOVÁ V., ČERNÝ K., BREJCHOVÁ P., GREGOROVÁ B., HOLUB V. & GABRIELOVÁ Š.** (2006): The Epidemy of Alder Decline in the Czech Republic – the Effect of *Phytophthora alni* and Floods in 2002. *Knihá příspěvků, XVII česká a slovenská konference o ochraně rostlin*, Praha, 12.14.9. 2006, 356–361.
- VYHLÍDKOVÁ, I., PALOVČÍKOVÁ, D., RYBNÍČEK, M., ČERMÁK, P., JANKOVSKÝ, L.** (2005): Some aspects of alder decline along the Lužnice River. *J. For. Sci.*, 51: 381–391.

Seznam publikací, které předcházely metodice

- ČERNÝ K. & STRNADOVÁ V. (2010): *Phytophthora* Alder Decline: Disease Symptoms, Causal Agent and its Distribution in the Czech Republic. *Plant Prot. Sci.*, 46: 12–18.
- STRNADOVÁ V., ČERNÝ K., HOLUB V. & GREGOROVÁ B. (2010): The effects of flooding and *Phytophthora alni* infection on black alder.- *J. For. Sci.*, 56:41–46.
- CERNÝ K., GREGOROVÁ B., STRNADOVÁ V., HOLUB V., TOMSOVSKÝ M. & CERVENKA M. (2008): *Phytophthora alni* causing the decline of black and gray alders in the Czech Republic. *Plant Pathol.*, 57: 370
- ČERNÝ K., STRNADOVÁ V. & GABRIELOVÁ Š. (2008): Nové poznatky o rozšíření *Phytophthora alni* Brasier et al. 2004 v ČR. *Mykol. Listy* 104: 56.
- ČERNÝ K., STRNADOVÁ V., GREGOROVÁ B., HOLUB V. & GABRIELOVÁ Š. (2008): Nový invazní patogen *Phytophthora alni* a epidemické chřadnutí břehových porostů olší v ČR. *Ochr. Přír.*, 63: 6–9.
- STRNADOVÁ V., ČERNÝ K. & GABRIELOVÁ Š. (2008): *Phytophthora alni* a povodně – dva hlavní faktory zodpovědné za chřadnutí olší v ČR. *Les. Práce*, 87: 20–21.
- STRNADOVÁ V. & ČERNÝ K. (2007): Současné poškození břehových porostů olší z pohledu ochrany krajiny. In: Dreslerová et Packová /ed./ *Ohrožené dřeviny České republiky*, Geobiocenologické spisy, 12: 180–183.
- STRNADOVÁ V., BREJCHOVÁ P. & ČERNÝ K. (2007): Olše lepkavá, *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. a její chřadnutí na modelovém příkladu břehových porostů řeky Lomnice. *Acta Průhoniana* 86: 15–38.
- ČERNÝ K., GREGOROVÁ B., STRNADOVÁ V. & HOLUB V. (2006): *Phytophthora alni* – a Serious Invasive Pathogen of Alders in the Czech Republic.- *Knihá příspěvků, XVII česká a slovenská konference o ochraně rostlin*, Praha, 12.14.9. 2006, 190–195.
- ČERNÝ K., GREGOROVÁ B., STRNADOVÁ V., HOLUB V. & MRÁZKOVÁ M. (2006): Poznámky k metodice odběru vzorků dřevin pro fytopatologické vyšetření s důrazem na choroby houbového původu. *Rostlinolékař*, 17: 27–29.
- ČERNÝ K., GREGOROVÁ B., STRNADOVÁ V., HOLUB V. & MRÁZKOVÁ M. (2006): Poznámky k metodice odběru vzorků dřevin pro fytopatologické vyšetření s důrazem na choroby houbového původu.- *Rostlinolékař*, 17: 27–29.
- STRNADOVÁ V., ČERNÝ K., BREJCHOVÁ P., GREGOROVÁ B., HOLUB V. & GABRIELOVÁ Š. (2006): Chřadnutí olší v České republice – role *Phytophthora alni* a povodní v r. 2002. *Mykol. Listy*, 97: 46–47.
- STRNADOVÁ V., ČERNÝ K., BREJCHOVÁ P., GREGOROVÁ B., HOLUB V. & GABRIELOVÁ Š. (2006): The Epidemy of Alder Decline in the Czech Republic – the Effect of *Phytophthora alni* and Floods in 2002.- *Knihá příspěvků, XVII česká a slovenská konference o ochraně rostlin*, Praha, 12.14.9. 2006, 356–361.
- ČERNÝ K., GREGOROVÁ B., HOLUB V. & STRNADOVÁ V. (2003): First finds of „alder-*Phytophthora*“ in the Czech Republic. *Czech. Mycol.*, 55: 291–296.