

UNIVERZITA KARLOVA

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Botanika



Bc. Jiří Vaníček

**EKOLOGIE PATOSYSTÉMU *VINCA MINOR* – *PUCCINIA CRIBRATA*
V PŘIROZENÝCH POPULACÍCH**

**ECOLOGY OF THE PATHOSYSTEM *VINCA MINOR* – *PUCCINIA*
CRIBRATA IN NATURAL POPULATIONS**

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: Mgr. Tomáš Koubek, Ph.D.

Praha 2019

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne 8. 8. 2019

.....

podpis

Poděkování:

Děkuji tímto školiteli Tomáši Koubkovi za laskavé vedení práce, a dále rodinným příslušníkům za podporu ve studiu. Jmenovitě pak mámě za zapůjčení auta pro cesty na sběr dat ve Slovinsku a bratrovi za možnost využití výpočetního clusteru na MFF UK pro zpracování dat z výškového mapování LIDAR.

Abstrakt

Podmínky prostředí a vlastnosti hostitelských populací jsou významné faktory ovlivňující výskyt a projev patogenů v rostlinných populacích. Cílem této práce je odhalení vlivu mikroklimatických a edafických charakteristik prostředí a vlastností hostitelských populací na výskyt mikrocyklické rzi *Puccinia cribrata*, napadající stálezelenou klonální rostlinu *Vinca minor*. Sběr dat probíhal v údolí řeky Soči v Julských Alpách ve Slovinsku. Členitý terén horského údolí s výskytem různých geologických substrátů umožnil sledování výskytu patogenu na pestré škále lesních a křovinných stanovišť, lišícími se výrazně hloubkou půdy a hustotou zápoje stromového patra. Rez *P. cribrata* byla častěji přítomná a dosahovala vyšších prevalencí (vyššího podílu nakažených lodyh hostitele) na xerothermních stanovištích, charakteristických řidším zápojem stromového patra a mělkou půdou. Významným faktorem byla rovněž hustota hostitelských populací, spolu s níž vzrůstal podíl nakažených lodyh, a dále velikost hostitelských populací, pozitivně ovlivňující incidenci rzi v populaci. Pro zhodnocení možnosti predikovat výskyt patogenu jsem testoval různé terénní a vegetační indexy, získané pomocí dálkového průzkumu země. Vegetační indexy charakterizující množství a strukturu nadzemní biomasy dřevin na stanovišti se ukazují jako dobré prediktory prevalence rzi. Zdá se, že v případě tohoto patosystému hrají přírodní podmínky významnou roli, charakter studie však neumožňuje oddělení vlivu edafických a mikroklimatických charakteristik a historie managementu stanovišť.

Klíčová slova: patogeny planých rostlin, abiotické prostředí, rzi, klonální rostliny, ekologie lesa.

Abstract

Environment and demographic characteristics of host population are important factors affecting incidence and severity of plant diseases. The aim of this study was to reveal possible effects of microclimatic and edaphic characteristics and host population demographic factors on the biotrophic pathogen *Puccinia cribrata*, microcyclic rust parasitising clonal evergreen plant *Vinca minor*. I studied the ecology of this pathosystem in natural populations of *V. minor* in the Soča valley in the Julian Alps in Slovenia. Rugged terrain of the Soča valley with different bedrocks allowed to study pathogen distribution at topographically diverse forest and scrub sites, greatly differing in soil depth and canopy structure. *P. cribrata* was significantly more likely to occur in the thermophilous forest with shallow calcareous soils and open canopy than in the mesophilous forest types. Its prevalence (proportion of diseased stems in population) was also highest in this type of vegetation. Most important host population factors were population size and population density positively affecting incidence and prevalence respectively. Additionally, I tested various vegetation and topographic indexes derived from remote sensing for usability in prediction models. It appears that vegetation indexes connected with canopy density and aboveground biomass may be appropriate factors for basic prediction of pathogen prevalence. The environmental conditions are strongly affecting this pathosystem, but this study could not differentiate impact of microclimate from edaphic conditions and forest management history.

Key words: wild plant pathogens, abiotic environment, rust fungi, clonal plants, forest ecology.

Obsah

1. Úvod.....	7
2. Metodika	9
2.1 Patosystém	9
2.1.1 Hostitelská rostlina.....	9
2.1.2 Patogen	10
2.2 Lokalita	122
2.3 Sběr dat a vzorků	16
2.4 Zpracování dat a vzorků.....	17
2.6 Statistické analýzy	19
3. Výsledky	20
3.1 Charakteristika populací a vlastnosti prostředí.....	20
3.2 Vlastnosti prostředí a populací podle skupin dominantní dřeviny.....	21
3.3 Incidence rzi.....	23
3.4 Incidence rzi, faktory prostředí a vlastnosti populací.....	24
3.5 Prevalence rzi	27
4. Diskuse	30
4.1 Vlastnosti populací a incidence a prevalence rzi	30
4.2 Charakteristiky prostředí a incidence a prevalence rzi.....	31
4.3 Dálkový průzkum.....	35
5. Závěr.....	38
Literatura.....	40
Přílohy	46

1. Úvod

Fytopatogenní organismy mohou zásadně ovlivňovat růstové projevy a populační dynamiku rostlin a jsou považovány za významné hybatele evoluce a tvůrce struktury společenstev (Dinoor & Eshed 1984, Burdon 1991, Allan et al. 2010, Decaestecker et al. 2018), přesto jim při výzkumu ekologie a populační biologie rostlin nebývá věnováno příliš mnoho pozornosti. Znalost vlivu prostředí na projevy patogenů a jejich interakce s hostitelskými rostlinami nám umožňuje lépe porozumět procesům, jak přírodní podmínky působí na rostliny prostřednictvím organismů jiné trofické úrovně a je důležitým základem pro podrobné studium vztahů mezi patogenním organismem a hostitelskou rostlinou.

Přírodní podmínky zahrnující biotické a abiotické složky prostředí komplexně působí na životní projevy patogenů a jejich hostitelských rostlin. Ať už přímo, působením na růstové procesy v různých životních stádiích patogenu, nebo nepřímo, ovlivňováním metabolismu hostitelských rostlin. Pro lesní a křovinné ekosystémy je snad více než pro kterékoli jiné přirozené nebo polopřirozené ekosystémy charakteristická velká variabilita mikroklimatických podmínek v interiéru porostu, daná především strukturou stromového či keřového patra. Ta ovlivňuje teplotní, světelné, vlhkostní a větrné charakteristiky stanoviště (Chen et al. 1999). Všechny tyto vlastnosti prostředí mohou zásadně ovlivňovat výskyt a projev patogenů v populacích hostitelských rostlin (Agrios 2005). S rostoucí otevřeností zápoje lesního porostu roste množství pronikajícího světla k bylinnému patru. Dostatečné množství slunečního záření dopadajícího na asimilační orgány rostlin je považováno za klíčový faktor pozitivně ovlivňující obranyschopnost rostliny před patogeny. V souladu s tímto jsou výsledky mnohých terénních (Ichihara & Yamaji 2009, Austin et al. 2011, Garcia-Guzman et al. 2016, Fowler & Clay 1995) i experimentálních studií např. Cohen et al. (1978) pro review viz Roberts et al. (2006). V některých případech byl ale pozorován častější, nebo závažnější výskyt chorob na světlejších stanovištích (Bedimo et al. 2008, Jousimo et al. 2014). V přírodních podmínkách je s větší otevřeností zápoje stromového patra spojená i vyšší teplota a nižší vlhkost v interiéru porostu (Chen et al. 1999). Teplota podobně jako světlo hraje klíčovou roli v resistenci hostitelských rostlin proti patogenům (Laine 2008, Cheng et al. 2013) a přímo ovlivňuje sporulaci a klíčení spor patogenů (Smilanick et al. 1985, Anikster 1986, Roderick & Thomas 1997). Většina patogenů

klíčících na povrchu rostlin vyžaduje dostatečnou vlhkost pro klíčení spor, výjimkou jsou padlí, jejichž spory ve vodě rychle ztrácí klíčivost (Colhoun 1973). Vlhkost vyžadovaná pro klíčení spor je silně svázaná s teplotou. U většiny pozorovaných listových patogenů s rostoucí teplotou (do hodnoty optimální pro klíčení spor) výrazně klesá doba, po kterou musí být povrch listu dostatečně vlhký, aby došlo k infikování hostitele (Magarey et al. 2005). U rzi bývá vyšší intenzita napadení rostlin ve vlhčích obdobích roku (Tessmann et al. 2001), nebo ve srážkově bohatších oblastech (Del Ponte et al. 2006) a experimentální studie ukazují na veliký význam dopadajícího deště na závažnost výskytu rzi u *Coffea arabica* (Mouen Bedimo et al. 2010), nebo mlžící závlahy u kultur *Glycine max* (Narváez et al. 2010).

Výzkum patogenů především kulturních a modelových rostlin ukazuje na význam zásobení rostlin živinami při jejich obraně před patogenními organismy (Datnoff et al. 2007, Huber & Haneklaus 2007, Amtmann et al. 2008, Dordas 2008). Významné mohou být i interakce mezi jednotlivými faktory prostředí (Colhoun 1973), pro jejichž odhalení má však terénní výzkum značně omezené možnosti. Výsledky studií ukazují, že u různých patogenů může mít dodání živin různé následky. U některých patosystémů může mít lepší zásobení danou minerální živinou pozitivní vliv na rozvoj choroby a u jiných negativní. Obecně bývá vyšší prevalence chorob spojována s lepším zásobením rostlin dusíkem (Dordas 2008), čemuž odpovídají i výsledky experimentu na přirozeném patosystému (Strengbom et al. 2006) i pozorování v terénu (Jarosz & Burdon 1988). Obdobně tomu může být i u fosforu, tedy další živiny významné pro rychlý růst rostlin (Hart 1926). Naopak převážně pozitivní vliv na obranyschopnost rostlin před patogeny bývá připisován draslíku (Amtmann et al. 2008) a manganu (Huber & Wilhelm 1988).

Vliv na to, jestli a s jakou prevalencí se v populaci vyskytne choroba samozřejmě nemají pouze přírodní podmínky, ale významnou roli hrají i demografické vlastnosti hostitelské populace a zastoupení jedinců resistantních vůči přítomným rasám patogenu. S rostoucí velikostí populace klesá pravděpodobnost vymření patogenu a roste pravděpodobnost stochastického uchycení spory. S rostoucí hustotou populace klesají ztráty inokula – větší podíl spor najde hostitele (Burdon & Laine 2019). Tomu odpovídají i výsledky terénních studií, které tyto parametry sledovaly, např. Abbate & Antonovics (2014) pozorovali rostoucí incidenci květní sněti s velikostí populace a rostoucí prevalencí s densitou populace, či u rzi *Uromyces valerianae* zaznamenali Ericson et al. (2017) rostoucí incidenci a meziroční přežívání patogenu s rostoucí velikostí hostitelské populace. U některých patosystémů vysoká míra meziroční fluktuace incidence v hostitelských populacích

napovídá existenci metapopulační struktury patogenu s rychlým obratem populací (Antonovics 2004, Laine & Hanski 2006).

Předmětem mé diplomové práce je vyhodnocení vlivu vybraných vlastností prostředí a demografických charakteristik hostitelských populací na výskyt patogenu v patosystému *Vinca minor* – *Puccinia cribrata*. Členitý terén horských údolí jižních Julských Alp skýtá možnost sledovat projevy patogenu na široké škále ekologicky odlišných lesních a křovinných biotopů. Testuji vliv světelných podmínek na stanovišti a charakteristik stromového patra měřených pomocí hemisférických fotografií a dálkového průzkumu země, a dále vliv vybraných edafických charakteristik na incidenci (přítomnost patogenu) a prevalenci (podíl symptomatických lodyh) v tomto patosystému. Kvůli relativní dlouhověkosti ramet hostitelské rostliny a pouze jedné generaci spor patogenu ročně, primárně neuzpůsobených k dálkovému transportu větrem, předpokládám relativně malý meziroční obrat patogenu v populacích. Kvůli tomu považuji tento patosystém za vhodný pro provedení krátkodobé terénní studie vlivu podmínek prostředí.

2. Metodika

2.1 Patosystém

2.1.1 Hostitelská rostlina

Vinca minor L. je stálezelená plazivá rostlina z čeledi *Apocynaceae* rostoucí především v opadavých listnatých lesích. Autochtonní areál druhu zahrnuje pravděpodobně Itálii, jižní Franci, Švýcarsko a západ Balkánského poloostrova, hranice původního rozšíření jsou však velmi nejasné (Meusel et al. 1978). Ve střední Evropě bývá někdy považován za původní druh, např. v České republice (Danhelka et al. 2012), nicméně práce založené na genetických analýzách populací (Möller 2015, Hlásná Čepková et al. 2016) nebo na historii lokalit (Prange 1996) ukazují, že je v prostoru střední Evropy pravděpodobně naturalizovaným archeofytem. Jako okrasná a léčivá rostlina byl rozšířen do různých temperátních oblastí světa. V severní Americe je obtížným invazním druhem (Darcy & Burkart 2002, invasiveplantatlas.org).

Vinca minor utváří dva druhy vytrvalých lodyh. Plazivé, které mohou přirůstat až několik

dm za rok. V nódách tyto lodyhy mohou zakořeňovat, větvit se v další plazivé nebo vystoupavé lodyhy. Starší plazivé lodyhy ztrácí listy, ale nadále spojují místa větvení lodyh, odkud vyrůstají 10 až 25 cm vysoké vystoupavé lodyhy, ty jsou krátce vytrvalé a po odumření mohou být nahrazovány lodyhami vyrůstajícími ze stejného nodu. Oba typy lodyh nesou vstřícné, křížmostojné, krátce řapíkaté kožovité listy eliptického tvaru, přibližně 1 až 2 cm široké a 2 až 4 cm dlouhé. Pětičetné květy s nálevkovitou korunou se utváří na plazivých i vystoupavých lodyhách. Plodem je podlouhlý, srpovitě prohnutý měchýřek s jedním až třemi semeny. V nepůvodním areálu zcela převažuje vegetativní rozmnožování, díky kterému někdy vytváří mnohahektarové monoklonální populace, které bývají kvůli autoinkompatibilitě rostlin sterilní. Plodící rostliny *V. minor* je ve střední Evropě možné najít především na zahrádkách, v okolí lidských sídel a v parcích, tedy tam, kde se na prostoru který mohou obsáhnout opylovači vyskytují kompatibilní klony (osobní pozorování). V přirozeném areálu jsou populace často geneticky variabilní, vytváří semena a je možné nalézt semenáčky (Möller 2015, osobní pozorování). Z interakcí hub s *V. minor* je detailně popsáno působení druhově nespecifického patogenu *Phoma exigua* (Paulson & Schoeneweiss 1971) a působení endofytních hub v kořenech na růst a produkci alkaloidů *in vitro* (Verma et al. 2014).

2.1.2 Patogen

Puccinia cribrata Arthur & Cummins je systemická mikrocyklická monoecická rez (řád *Pucciniales*, *Basidiomycota*). Jejím obligátním hostitelem je *Vinca minor* (Klenke & Scholler 2015). Popsané infekce druhu *V. herbacea* mohou být záměnou s druhem *Puccinia anatolica*. Infekce se projevuje na mladých vystoupavých lodyhách, ty již v průběhu růstu vykazují odlišnou morfologii a většinou světlejší barvu než lodyhy asymptomatické. Symptomatické vystoupavé lodyhy jsou sterilní a obvykle dosahují zhruba dvojnásobné výšky oproti lodyhám zdravým (na málo úživných stanovištích bývají často vysoké zhruba stejně jako lodyhy asymptomatické). Na spodní straně listů parazitovaných lodyh se utvářejí spermogonia a následně telia (obr. 1) z nichž se uvolňují hnědočerné teliospory. Koncem jara symptomatické lodyhy odumírají, nody ze kterých rostly, však přežívají, a nadále z nich mohou vyrůstat nové lodyhy. Parazitem této rzi je mitosporická houba *Tubercullina sbrozii* (Lutz et al. 2004).



Obr. 1: Symptomatická lodyha druhu *V. minor* nakažená rzí *Puccinia cribrata*, na spodní straně listů jsou patrná černá telia.
Foto: Autor.

O rozšíření *P. cribrata* existují pouze sporadické záznamy, holotyp byl sebrán v roce 1902 poblíž řeky Soči u města Gorizia a je uložen v herbáriu PUR (Global Plants on JSTOR). Další lokalizované výskyty uvedené v literatuře pochází z Lombardie (Lutz et al 2004), jižního Švýcarska (Bergamini et al. 2011), Meklenburska-Pomořanska (Scholler 1992) či východního Slovenska (Urban & Marková 2009). Klenke & Scholler (2015) uvádí vzestupný trend počtu lokalit ve střední Evropě, především pak v Německu. V červnu 2017 jsem *P. cribrata* našel v Českém Krasu poblíž obce Bubovice u rozcestí Bubovice – u lomu.

2.2 Lokalita

Terénní výzkum probíhal ve Slovinských Julských Alpách, v údolí řeky Soči v okolí měst Bovec a Kobarid, na území o rozloze cca 50 km² (obr. 4 a 5, mapová příloha), v květnu a červnu 2017 a květnu 2018. Dno údolí má nadmořskou výšku mezi 200 až 430 m, nejvyšší vrcholy nad říčním údolím přesahují 2000 m. n. m. Geologický podklad zde tvoří především třetihorní vápence a dolomity, významně jsou zastoupeny též flyše (Geologická mapa Slovinska, Kuščer et al. 1974). Na prudších svazích jsou vyvinuty mělké suťovité rendziny, na bázích vápencových a dolomitových svahů jsou dřevinnou vegetací porostlé balvanité osypy. Na flyši jsou vyvinuté poměrně hluboké hlinité až jílovité kambizemě s nízkým obsahem skeletu. Dno údolí tvoří většinou zemědělsky využívané pleistocenní terasy modifikované přítomností ledovce, který byl v údolí řeky Soči přítomný při posledním zalednění (Monegato et al. 2015). Na nejnižší říční terase řeky Soči jsou holocenní štěrkovité sedimenty. Průměrná roční teplota na meteorologické stanici v Bovci (452 m n.m.) je 9,9 °C (měření z let 1981 až 2010), průměrné roční srážky za stejné období 2600 mm (<https://meteo.arso.gov.si>).

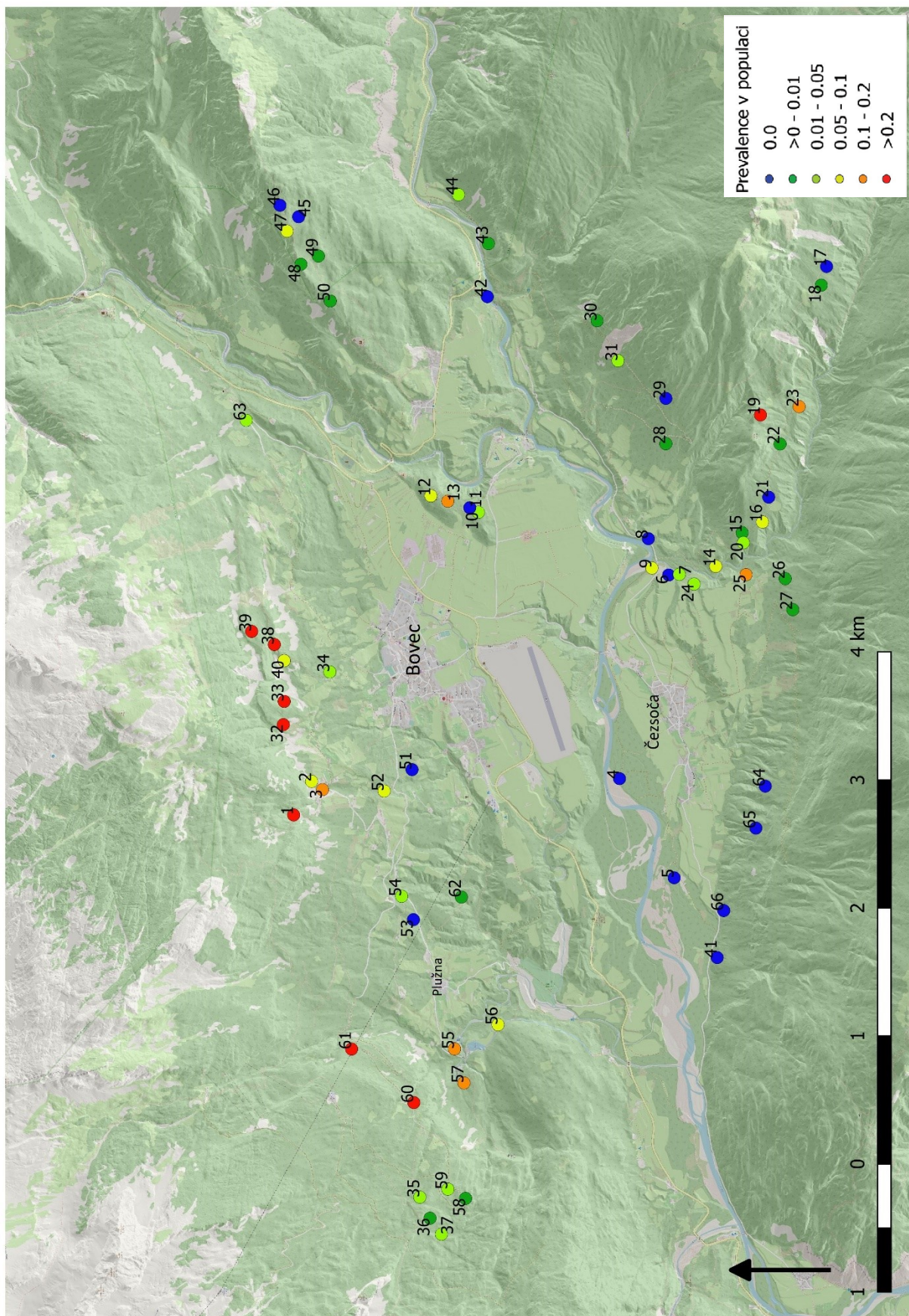


Obr. 2: Poloha studované oblasti.

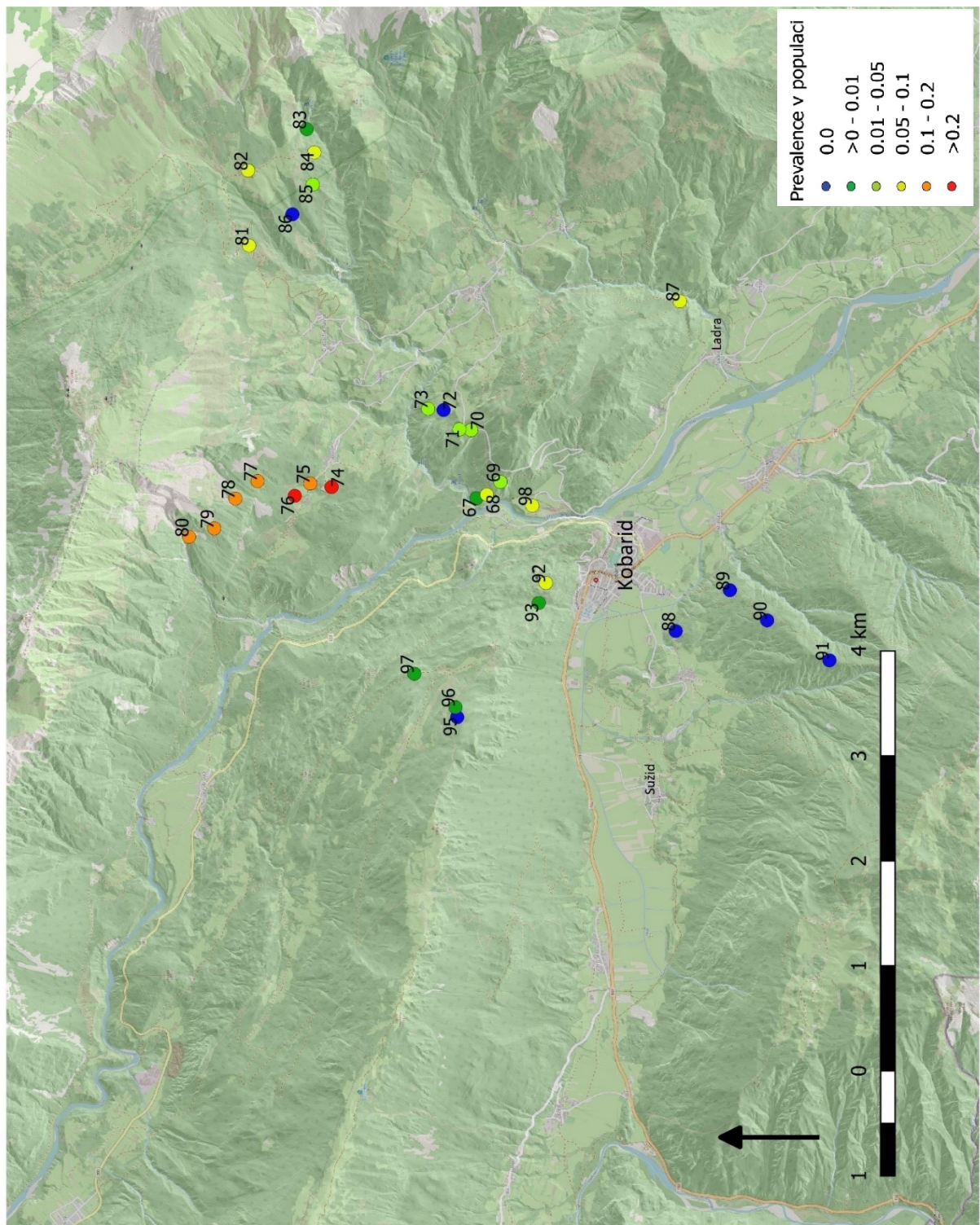


Obr.3: Pohled na SV část studovaného území. V pravé dolní části fotografie se nachází město Bovec, Foto: Autor.

Vegetační pokryv ve studované oblasti tvoří především extenzivně hospodářsky využívané listnaté lesy. Plošně nejvíce zastoupenou vegetací jsou bučiny svazu *Aremonio-Fagion* (Dakskobler 2015a) vyvinuté na svazích všech orientací s výjimkou exponovaných stanovišť jižních a západních svahů, kde je střídá vegetace svazu *Fraxino orni-Ostryion* (Dakskobler 2015b). Tyto xerothermní lesy dominované druhy *Ostrya carpinifolia*, *Fraxinus ornus* s častou příměsí *Sorbus aria* se vyskytují na velmi mělkých půdách typu rendzina na vápencovém a dolomitovém podkladu. Jejich poměrně výrazné současné zastoupení v oblasti je z velké části podmíněno dřívější lidskou činností. V okolí vodních toků jsou přítomny lesy svazu *Alnion incanae a Salicion albae* (Dakskobler et al. 2004). Na hlubších půdách, spojených především s přítomností flyše, se v nižších nadmořských výškách vyskytují fragmenty lesů svazu *Erythronio-Carpinion* (Čušin 2002). Ve všech těchto vegetačních jednotkách je *V. minor* dosti hojně zastoupený druh, jeho výskyt zde sahá přibližně do nadmořské výšky 1150 m n.m. Pravidelně se vyskytuje i v porostech *Corylus avellana* vzniklých spontánní sukcesí na opuštěných políčkách (osobní pozorování).



Obr. 4: Poloha studovaných populací v okolí města Bovec. Podkladová mapa: Open street map.



Obr. 5: Poloha studovaných populací v okolí města Kobarid. Podkladová mapa: Open street map.

2.3 Sběr dat a vzorků

Ve studovaném území jsem vybral 97 populací *V. minor* tak, aby byly zastoupeny různé vegetační typy, orientace ke světovým stranám, geologické podklady a svažitosti terénu. Ve většině případů na výběr populace nemělo vliv, zdali je populace nakažená nebo zdravá. Výjimkou byly nakažené populace v oblastech, kde převládaly populace zdravé a naopak. Výběr konkrétních lokalit byl do značné míry omezen přístupností horského terénu, ale snažil jsem se víceméně rovnoměrně pokrýt studovanou oblast. Populace byla pro účely sběru dat definována jako kontinuální porost *V. minor*, který je nějakou bariérou, jakou je např. lesní cesta, vodní tok, bezlesí nebo suť, či pásem lesní vegetace bez *V. minor* širokým alespoň 15 m oddělen od jiné populace. U všech populací byla odhadnuta jejich plocha, průměrná svažitost terénu a podíl půdního povrchu pokrytého kamenem, dále určena orientace ke světovým stranám a dominantní dřevina stromového patra.

V centrální části každé populace jsem pořídil jednu hemisférickou fotografii (180°) zápoje stromového patra s fotoaparátem umístěným ve výšce 1 m na povrchu. Na tomto místě jsem rovněž zaznamenal souřadnice pomocí turistické GPS navigace. V každé populaci jsem vytyčil odečítací čtverce o ploše 1 m² (2, 4 (ve většině případů), 5, nebo 6 čtverců podle velikosti a členitosti populace). První čtverec byl umístěn v těsné blízkosti místa pořízení hemisférické fotografie, další čtverce byly pak umístěny do náhodné vzdálenosti od tohoto místa tak, aby osy směřující od prvního čtverce ke čtvercům ostatním dělily pomyslný kruh na úhlově stejně velké výseče. Pokud do náhodné vzdálenosti umístěný čtverec padnul do místa bez porostu *V. minor*, či do místa maloplošně výrazně odlišného, byl posunut do nejbližšího místa nevykazujícího výraznou anomálii. V každém čtverci jsem spočítal počet symptomatických a zdravých lodyh (vystoupavých a plazivých dohromady) a v rozích změřil hloubku půdního profilu pomocí pedologické sondýrky o délce 60 cm. Pokud byl půdní profil hlubší než 60 cm, neměl jsem možnost určit jeho hloubku a zaznamenal jsem pro něj hloubku 60 cm. Z každé populace jsem odebral jeden směsný půdní vzorek z horizontu A. Pokud jsem při odečítání čtverců nezaznamenal přítomnost symptomatických lodyh v populaci, populaci jsem po dokončení sběru dat podrobněji prohledal se snahou najít případné nakažené rostliny, pokud jsem je ani při tomto prohledání nenalezl, byla tato populace zaznamenána jako zdravá.



Obr. 6: Odečítací čtverec o velikosti 1 x 1 m. Foto: Autor.



Obr. 7: Fotoaparát s objektivem typu rybí oko 8 mm ve výšce 1 m nad povrchem. Foto: Autor.

2.4 Zpracování dat a vzorků

Celkový počet lodyh v populaci jsem spočítal jako součin průměrné density lodyh zjištěných z odečítacích čtverců a odhadnuté plochy populace ponížené o plochu pokrytou balvany a v případě, že byla v populaci větší plocha bez porostu *V. minor*, pak i o tuto plochu. Prevalenci jsem definoval jako podíl celkového počtu symptomatických lodyh v odečítacích čtvercích, ku celkovému počtu všech lodyh v odečítacích čtvercích. U populací, kde jsem symptomatické lodyhy nezaznamenal v odečítacích čtvercích, ale byly v populaci roztroušeně přítomny, jsem prevalenci spočítal jako podíl všech nakažených rostlin, ku celkovému počtu lodyh v populaci.

Z půdních vzorků jsem změřil pH ve vodném roztoku podle metodiky Suchara (2007). Hemisférické fotografie jsem zpracoval v programu Gap Light Analyser ver. 2.0 (Frazer et al. 1999). Byla pro ně spočítána průměrná přímá, difúzní a celková radiace pro období od 15. 3. do 15. 10., s nastavením příslušné zeměpisné šířky a defaultní hodnotou všech nastavitelných parametrů.

Kvůli poměrně vysokému počtu druhů dřevin zaznamenaných v různých populacích jako dominanta stromového patra, jsem pro analýzy druhy dřevin sloučeny do tří skupiny. Teplomilné lesy dominované druhy *Fraxinus ornus* a *Ostrya carpinifolia* byly zařazeny do skupiny *Ostrya* (OT), Lesy s dominantním druhem *Fagus sylvatica* do skupiny buk (BK) a lesy a křoviny ostatních vegetačních typů dominované jinými druhy dřevin do skupiny ostatní listnaté a smíšené (OL).

2.5 Dálkový průzkum země

Vrstvu výškového mapování terénu LIDAR v prostorovém rozlišení 1 m jsem získal ze slovinského geoportálu (<http://gis.arso.gov.si>). Jednotlivé mapovací dlaždice byly v programu R ver. 3.3.3 (R Core Team 2007) zpracovány na rastrový objekt pomocí balíčků raster (Hijmans 2019) a rgdal (Bivand et al. 2018). Ze stejného zdroje jsem získal vrstvu výškového mapování vegetace v prostorovém rozlišení 1 m. Jednotlivé dlaždice byly zpracovány na rastrovou vrstvu výšky vegetace v programu R ver. 3.3.3 pomocí balíčků rlas (Roussel & De Boissieu 2018) raster a rgdal. Výška zápoje stromového patra byla vypočítána pomocí nástroje Zonal statistics v programu QGIS, v kruhové ploše o poloměru 6 m, kdy středem plochy byly souřadnice populace získané pomocí GPS navigace v terénu.

Z vrstvy digitálního modelu terénu se sníženým rozlišením na 3 m (kvůli výpočetní kapacitě), byl v programu SAGA GIS ver. 2.3.2 (Conrad et al. 2015) spočítán Diurnal Anisotropic Heating Index (DAHI) (Rovnice 1) (Boehner & Antonic 2009). Při výpočtu byla použita defaultní hodnota $amax$ 202,5°.

$$DAHI = \cos(amax - a) * \arctan(b)$$

Rovnice 1.: Diurnal Anisotropic Heating Index (DAHI), $amax$ – orientace s nejvyšší dopadající sumou slunečního záření, a – orientace plochy pro kterou index zjišťujeme, b – svažitost plochy, pro kterou index zjišťujeme.

Multispektrální družicový snímek pro studovanou oblast z družice Sentinel 2 ze dne 27. 8. 2016 jsem získal z <https://scihub.copernicus.eu/dhus/#/home>. V programu SNAP ver. 6.0 byla jednotlivá spektra družicové fotografie vyškálována na rozlišení 10 x 10 m. V programu QGIS ver. 2.18.12 (QGIS Development Team 2016) jsem s použitím vyškálovaných spekter z družicového snímku pomocí nástroje Raster calculator spočítal NDVI index (Rovnice 2).

$$NDVI = \frac{NIR - RED}{NIR + RED}$$

Rovnice 2: Normalizovaný diferenční vegetační index (NDVI). NIR – Odrazivost u blízké infračervené části spektra, RED – Odrazivost v červené části viditelného spektra.

Pomocí nástroje Tasseled cap transformation byly v programu QGIS ver. 2.18.21 pomocí SAGA tool box spočítán Vegetation Wetness Index (VWI) (Rovnice 3).

$$VWI = 0.1509(TM2) + 0.1973(TM3) + 0.3279(TM4) + 0.3406(TM8) - 0,7112(TM11) - 0.4572(TM12)$$

Rovnice 3: Vegetation Wetness Index (VWI). TM1-TM12 – Odrazivost příslušných spektrálních pásem multispektrálního družicového snímku družice SENTINEL 2. rovnice dle: <https://www.indexdatabase.de/db/i-single.php?id=93>.

2.6 Statistické analýzy

U všech vysvětlujících proměnných jsem provedl základní explorační analýzu a u vysvětlujících proměnných, které měly výrazně šikmé rozdělení, jsem vzhledem k povaze následných testů provedl logaritmickou transformaci. Pro zjištění závislostí mezi jednotlivými prediktory jsem vytvořil korelační matice. V programu CANOCO 5 (ter Braak & Šmilauer 2017) jsem udělal PCA analýzu dále používaných vysvětlujících proměnných (netransformovaných). K nim byl pasivně promítnut směr prevalence a pozice nakažených a zdravých populací, a dále třech skupin stanovišť podle rozlišované skupiny dominantní dřeviny.

Incidence rzi jsem vyhodnocoval pomocí zobecněného lineárního modelu s binomickým rozdělení (logistickou regresí), s kanonickou spojovací funkcí logit. Vliv jednotlivých prediktorů proti nulovému modelu jsem testoval pro pomocí χ^2 testu. Minimální adekvátní model jsem vytvořil pomocí postupného výběru vysvětlujících proměnných. Vysvětlující proměnné hloubka půdy, celková ozářenost, velikost populace a pokryvnost kamene byly logaritmicky transformovány.

Závislost mezi prevalencí a vlastnostmi populací a prostředí jsem vyhodnocoval lineárním modelem se smíšenými efekty. Pro výpočet byly použity data pouze z těch populací, ve kterých byla přítomna rez (73 populací). Prediktory byly na dvou prostorových škálách, pro

počet lodyh v odečítacím čtverci pro průměrnou hloubku půdy jsem měl k dispozici 301 pozorování (od 2 do 6 v každé populaci). Pro zbývající prediktory jedno pozorování na populaci (73). Sestavil jsem dva modely, kde závislou proměnnou byla odmocněná prevalence v odečítacím čtverci. V prvním modelu byly použity prediktory měřené na stanovišti a sice: celkový počet lodyh v odečítacím čtverci (lokální densita (log)), hloubka půdy (log), celková ozáření (log), populační velikost (log), svažitost terénu a nadmořská výška. Interakce byla v modelu použita jen mezi lokální densitou a zbylými prediktory. Jako náhodný faktor bylo použito číslo populace. Druhý model jsem sestavil z lokální density, jako prediktoru na úrovni odečítacího čtverce a prediktorů získaných z dálkového průzkumu: Vegetation Wetness Index (VWI), medián výšky porostu a Diurnal Anisotropic Heating Index (DAHI), v modelu nebyly použity žádné interakce a náhodným faktorem bylo číslo populace. Tyto dva modely byly sestrojeny pomocí *REML estimation* v balíčku *lme4* (Bates et al. 2015), a dále testovány pomocí balíčku *lmerTest* (Kuznetsova et al. 2017) anova F testem se Satterthwaitovou aproximací počtů stupňů volnosti s použitím sumy čtverců III. typu. Všechny statistické analýzy byly provedeny v programu Rstudio 3.4.3 (R Core Team 2007).

3. Výsledky

3.1 Charakteristika populací a vlastnosti prostředí

Zkoumané populace druhu *Vinca minor* se nacházely v nadmořské výšce 230 až 1140 m n. m. Plocha těchto populací byla od 20 m² po 5 ha. Hustota lodyh na 1 m² se pohybovala od 28 po 668 na úrovni populace a od 15 po 770 na úrovni odečítacího čtverce. Velikost populace vyjádřená počtem lodyh byla přibližně od 7400 po 12 x 10⁶. Průměrná svažitost terénu stanoviště byla od 0 do 40°, kamenitost na povrchu půdy od 0 do 50 %. Průměrná hloubka půdy na stanoviště byla od 3,7 cm po 60 cm. Měřená půdní reakce z vodného roztoku byla od 4,3 po 7,95. Celková ozáření ve výšce 1 m nad povrchem byla na stanovišti od 0,61 po 23,04 mol m⁻² d⁻¹. Medián výšky stromového zápoje vypočítaný z výškové vrstvy mapování zemského povrchu LIDAR, byl od 3,1 po 29,4 m. Vegetation Wetness Index (VWI) dosahoval hodnot od -878 po 355 a Diurnal Anisotropic Heating Index (DAHI) od -0,55 po 0,63 viz tab. č 1.

Dominantní dřevinou stromového patra byly: *Fagus sylvatica* u 41 populací, *Ostrya carpinifolia* u 18 populací, *Corylus avellana* u 10 populací, *Carpinus betulus*, *Tilia cordata*

u 8 populací, *Fraxinus excelsior* u 5 populací, *Acer platanoides*, *Quercus robur* u 2 populací a *Pinus sylvestris*, *Picea abies*, *Ulmus* sp. u 1 populace.

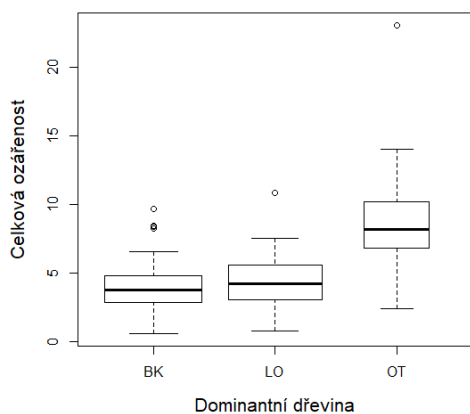
Tabulka 1: Numerické charakteristiky environmentálních proměnných.

Environmentální proměnná	Průměr	Medián	Min.	Max.
Nadmořská výška (m)	600	540	230	1140
Plocha populace (ar)	50.27	24	0.2	500
Densita lodyh na m ²	230	219	28	668
Populační velikost	961000	471000	7425	12135000
Svažitost (°)	20	20	0	40
Kamenitost (%)	7.6	5	0	50
pH	6	6	4.3	7.95
Hloubka půdy	23.3	20.2	3.7	(>) 60
Celková ozářenost	5.14	4.53	0.62	23
Medián výšky porostu	13.1	12.5	3.1	29.5
DAHI	0.069	0.063	-0.55	0.63
VWI	-65.74	-42.72	-878	355

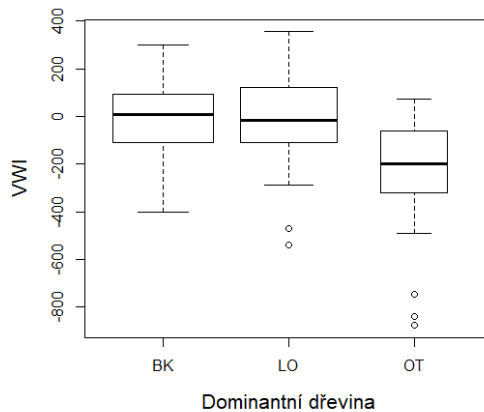
3.2 Vlastnosti prostředí a populací podle skupin dominantní dřeviny

Rozlišované tři vegetační skupiny, charakterizované dominantní dřevinou stromového patra, se odlišují v některých vlastnostech prostředí měřených přímo na stanovišti, anebo získaných pomocí dálkového průzkumu. Xerothermní lesy dominované druhy *Ostrya carpinifolia* a *Fraxinus ornus* (OT) v porovnání s ostatními dvěma skupinami (BK a LO), rostou na stanovištích s výrazně mělčí půdou (graf 3), s větším podílem kamenů na povrchu půdy (graf 10 př.), dosahují nižší výšky stromového patra (graf 4) a propouští více světla do podrostu (graf 1), čemuž odpovídá i nižší hodnota Vegetation Wetness Index (VWI) (graf 2). Stanoviště ostatních listnatých a smíšených lesů (LO) se oproti bučinám (BK) odlišují především absencí výskytu ve vyšší nadmořské výšce (graf 12 př.), výskytem ve spíše rovinnatém reliéfu (výjimkou jsou suťové lesy) (graf 11 př.) a větší hloubkou půdního profilu (graf 3). Zároveň na nich dosahuje *V. minor* nejvyšších populačních densit (graf 13 př.).

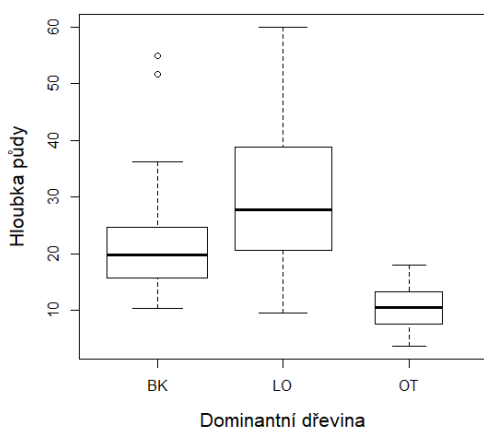
Bučiny se od ostatních dvou skupin výrazněji odlišují vyšší výškou stromového patra (graf 4) A nižší populační densitou *V. minor*. U pH, velikosti populace a Diurnal Anisotropic Heating Index (DAHI) (graf 14–16 př.) nejsou výrazné rozdíly mezi vegetačními skupinami.



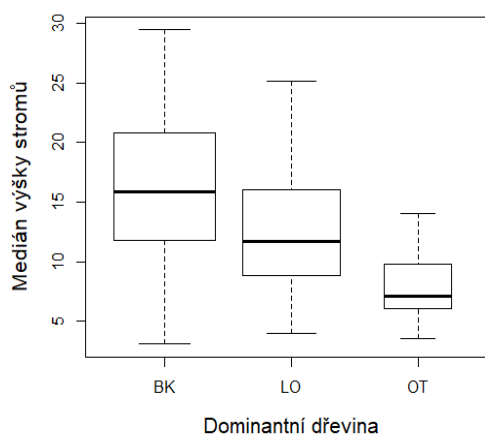
Graf 1: Celková ozářenost stanoviště ($\text{mol m}^{-2} \text{d}^{-1}$) podle skupiny dominantní dřeviny.



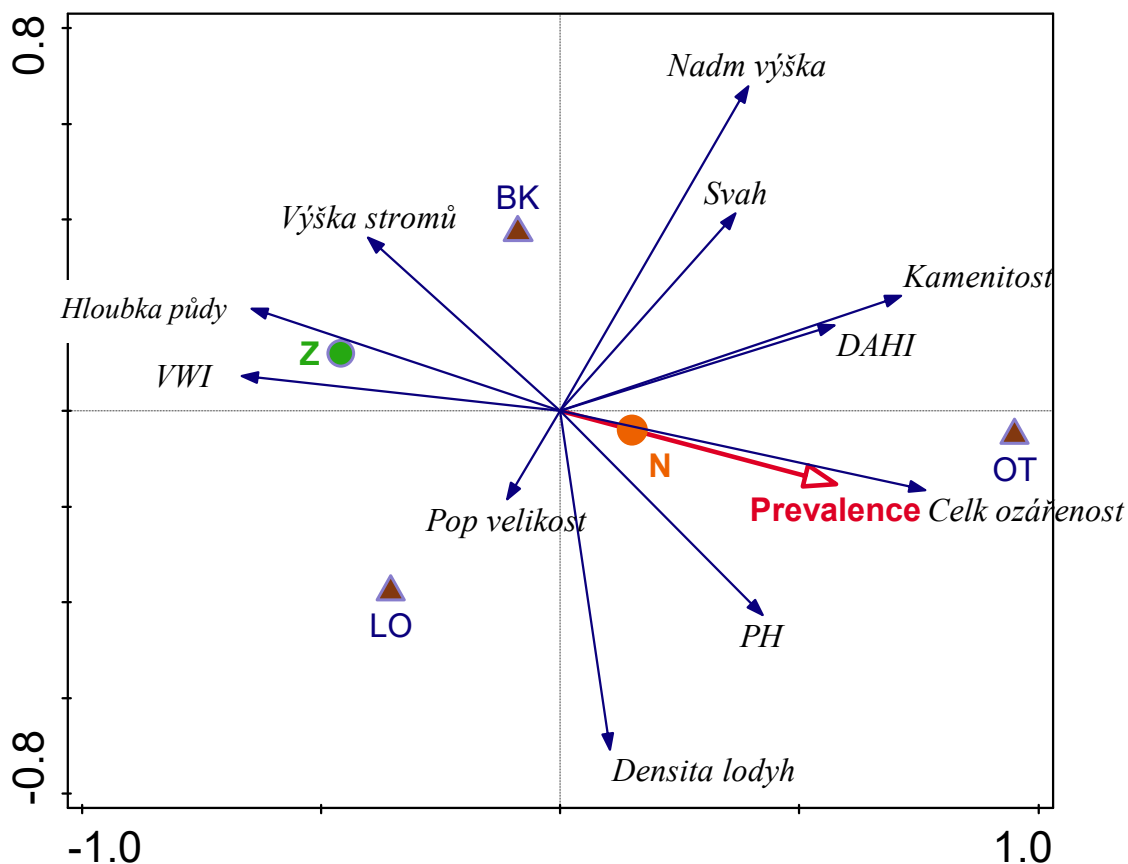
Graf 2: Vegetation Wetness Index (VWI) podle skupiny dominantní dřeviny.



Graf 3: Hloubka půdního profilu (cm) podle skupiny dominantní dřeviny.



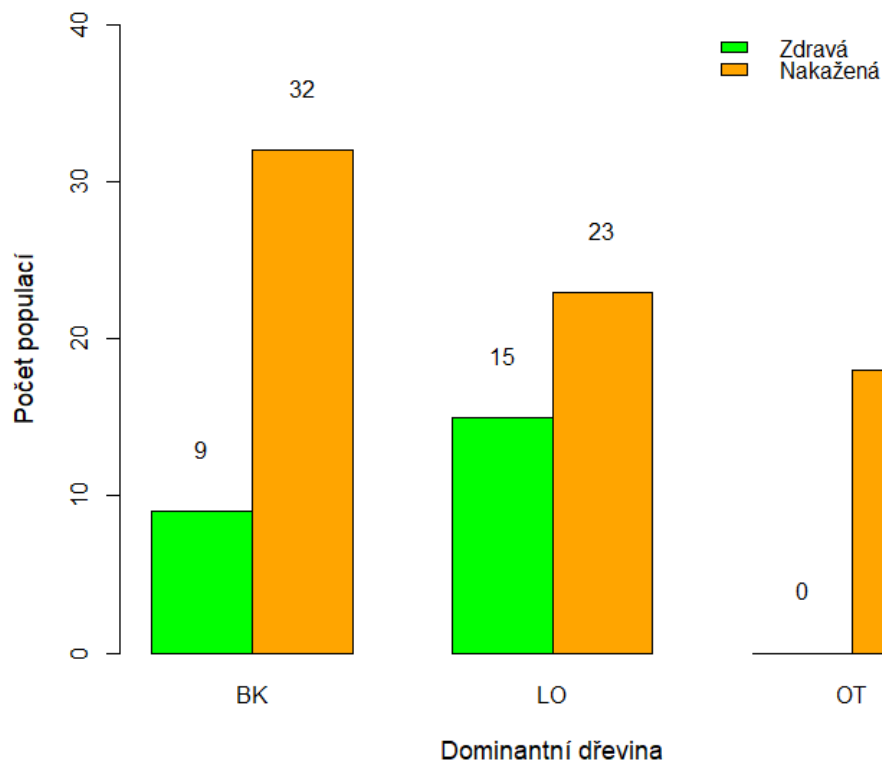
Graf 4: Medián výšky stromů (m) na stanovišti získaný z LIDAR podle skupiny dominantní dřeviny.



Graf 5: PCA analýza dále používaných vysvětlujících proměnných. VWI – Vegetation Wetness Index, DAHI – Diurnal Anisotropic Heating Index, Z – zdravé populace, N – nakažené populace. BK – bučiny, OT – xerothermní lesy s *Ostrya carpinifolia*, OL – Ostatní listnaté a smíšené lesy. Variabilita vysvětlená první osou: 26,7 %, druhou osou: 15 %.

3.3 Incidence rzi

Z celkového počtu 97 vybraných populací jsem symptomatické lodyhy našel v 73 populacích. Prostorové rozmístění těchto 97 populací viz obr. 4 a 5 a mapová příloha. V xerothermních světlých lesích (OT) se mi během terénního průzkumu nepodařilo najít jedinou nenakaženou populaci. Nejvíce zdravých populací jsem našel v lesích a křovinách dominovaných ostatními druhy dřevin (OL), konkrétně druhy *Corylus colurna*, *Fraxinus excelsior*, *Acer pseudoplatanus*, *Tilia sp.*, *Quercus petraea*, *Carpinus betulus*, *Pinus sylvestris* a *Picea abies*. Počty zkoumaných nakažených a zdravých populací podle skupiny dominantní dřeviny jsou uvedeny v grafu č 6.



Graf 6: Počty vybraných nakažených a zdravých populací podle skupiny dominantních dřevin. BK: lesy s dominancí *Fagus sylvatica*, LO: ostatní listnaté a smíšené lesy, OT: lesy dominované druhy *Ostrya carpinifolia* a *Fraxinus ornus*.

3.4 Incidence rzi, faktory prostředí a vlastnosti populací

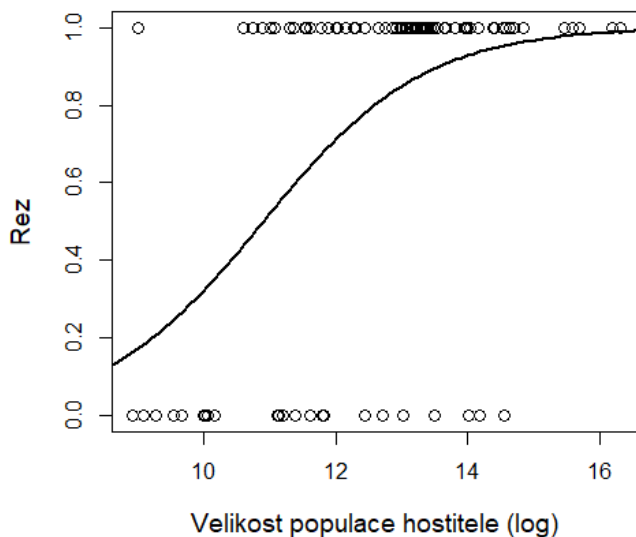
Z měřených a z dálkového průzkumu odvozených faktorů prostředí se jako nejlepší nezávisle na sobě testované prediktory výskytu rzi jevíly: velikost populace vysvětlující 22.6 % variability (graf 7, tab. 2), hloubka půdy vysvětlující 18.4 % variability, kamenitost na povrchu půdy vysvětlující 13.7 % variability a Celková ozářenost stanoviště s 11.7 % vysvětlené variability. Výsledky zbylých prediktorů s ohledem na desetinásobné postupné testování nepovažují za signifikantní (tab. 2). Při sestrojení minimálního adekvátního modelu postupnou regresí tento model zahrnoval velikost populace, kamenitost na povrchu půdy a Vegetation Wetness Index viz tab. 3. Minimální adekvátní model vysvětlil 38.6 % variability nulového modelu.

Tabulka 2: Faktory prostředí nezávisle na sobě postupně testované v lineárním modelu s binomickým rozdělením. VWI: Vegetation Wetness Index, DAHI: Diurnal Anisotropic Heating Index. Vliv prom.: jestli se zvyšující se hodnotou dané proměnné roste (+) nebo klesá (-) pravděpodobnost výskytu rzi.

Environmentální proměnná	Df	Deviance	AIC	LRT	p (χ^2 test)	Vliv prom.
Nulový model		108.54	110.54			
Svažitost	1	104.942	108.942	3.5983	0.058	+
log(Hloubka půdy)	1	88.51	92.51	20.0299	0.000008	-
pH	1	107.827	111.827	0.7131	0.40	-
Nadmořská výška	1	107.406	111.406	1.1346	0.29	-
Medián výšky stromů	1	108.5	112.5	0.0404	0.84	-
VWI	1	103.72	107.72	4.8202	0.03	-
Průměrná densita lodyh	1	99.72	103.72	8.81	0.03	+
DAHI	1	103.673	107.673	4.8676	0.03	+
log(Celková ozářenost)	1	95.802	99.802	12.7382	0.0004	+
log(Pop. velikost)	1	84.003	88.003	24.5371	0.000001	+
log(Kamenitost +1)	1	93.642	97.642	14.8987	0.0001	+

Tab. 3: Minimální adekvátní model postupné regrese zobecněného lineárního modelu s binomickým rozdělením. VWI - Vegetation Wetness Index vypočítaný ze satelitního snímku. AIC Nulového modelu 110.54, AIC Minimálního adekvátního modelu: 74.6.

Environmentální proměnná	Df	Deviance	Resid. Df	Resid. Dev.	p (χ^2 test)
log(Pop. velikost)	1	24.5371	95	84.003	0.000001
log(Kamenitost +1)	1	12.4651	94	71.538	0.0004
VWI	1	4.9423	93	66.596	0.026



Graf 7: Logistická regrese incidence rzi v závislosti na velikosti hostitelské populace.

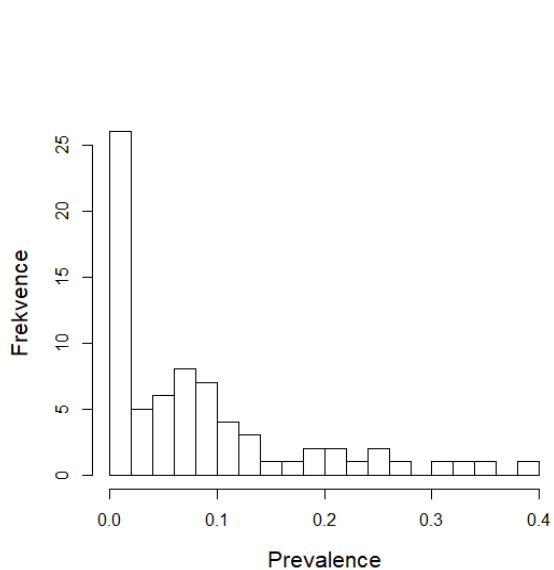
Prediktory s jejichž rostoucí hodnotou se významně zvyšovala pravděpodobnost výskytu rzi byly kromě velikosti populace (graf 7), která není silně korelovaná se žádným z dalších prediktorů (tab. 4), vlastnosti prostředí charakterizující světelné poměry na stanovišti (Celková ozáření) a prediktory charakterizující půdní podmínky: hloubka půdy a kamenitost na povrchu půdy, které jsou spolu poměrně silně korelované ($r = -0,52$). S rostoucí kamenitostí a klesající hloubkou půdy rostla pravděpodobnost, že bude v populaci přítomná rez. Výskyt rzi nebyl významně spojen se svažností, nadmořskou výškou, densitou lodyh a výškou stromového patra. Nevýznamná byla i jeho predikce pomocí Vegetation Wetness Index (VWI) a Diurnal Anisotropic Heating Index (DAHI) (tab. 2).

Tabulka 4: Korelační matice vlastností populací a prostředí používaných v analýzách incidence a prevalence rzi.

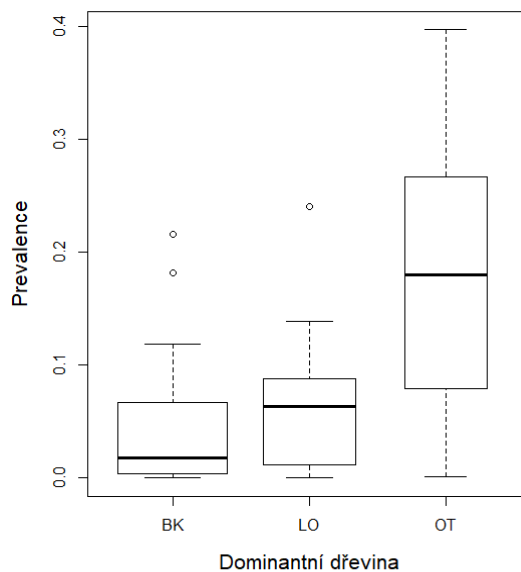
	Svažitost	log(hloubka půdy)	pH	Nadmořská výška	Medián výšky stromů	VWI	DAHI	log(Celk. ozářenost)	log(Pop. velikost)	log(Kamenitost +1)
Svažitost	1	-0.25	0.2	0.26	0.04	-0.14	0.12	0.05	0.06	0.34
log(Hloubka půdy)	-0.25	1	-0.4	-0.09	0.27	0.4	-0.16	-0.43	-0.22	-0.52
pH	0.2	-0.4	1	-0.19	-0.17	-0.25	0.13	0.23	-0.06	0.1
Nadmořská výška	0.26	-0.09	-0.19	1	0.01	-0.08	0.41	0.25	0.06	0.46
Medián výšky stromů	0.04	0.27	-0.17	0.01	1	0.19	-0.15	-0.24	0.23	-0.06
VWI	-0.14	0.4	-0.25	-0.08	0.19	1	-0.26	-0.41	0.11	-0.28
DAHI	0.12	-0.16	0.13	0.41	-0.15	-0.26	1	0.5	0.04	0.36
log(Celk.ozář.)	0.05	-0.43	0.23	0.25	-0.24	-0.41	0.5	1	0.23	0.42
log(Pop. velikost)	0.06	-0.22	-0.06	0.06	0.23	0.11	0.04	0.23	1	0.11
log(Kamenitost+1)	0.34	-0.52	0.1	0.46	-0.06	-0.28	0.36	0.42	0.11	1

3.5 Prevalence rzi

U 73 nakažených populací, se prevalence pohybovala v rozmezí od $0,1 \times 10^{-7}$ po 0,40, průměrná prevalence byla 0,083, medián 0,054. U 20 populací byla pozorovaná prevalence nižší než 0,01, tedy méně než 1 % nakažených lodyh. Pouze u 5 populací prevalence přesáhla 0,25 (graf 8). Jednoznačně nejvyšší byla průměrná prevalence v xerothermních lesích dominovaných druhy *Ostrya carpinifolia* a *Fraxinus ornus* (OT), a to 0,18. V lesích s dominantním bukem lesním (BK) byla průměrná prevalence 0,04 a v lesích dominovaných ostatními druhy dřevin (LO) 0,064 (graf č. 9).



Graf 8: Histogram prevalence u 73 populací s přítomností rzi.



Graf 9: Prevalence podle skupiny dominantní dřeviny u 73 populací s přítomností rzi.

Prevalence rzi v populacích na úrovni odečítacích čtverců stoupala s celkovou densitou lodyh ($p = 0,0004$), s celkovou ozářeností stanoviště ($p = 0,0002$) a signifikantně vycházela i interakce lokální density a velikosti populace ($p = 0,014$), prevalence tedy spolu s lokální densitou narůstala rychleji ve větších populacích. Prevalence rzi nebyla významně spojená s velikostí populace ani s hloubkou půdy v odečítacím čtverci, nadmořskou výškou a svažitostí terénu (tab. 5).

Tab. 5. Zobecněný lineární model se smíšenými efekty: Vztah prevalence a environmentálních proměnných. Náhodný faktor: populace. AIC: -208,25.

Environmentální proměnná	Sum Sq	Df	Den Df	F hodnota	p (F test)
log(Lokální densita)	0.183	1	288.33	12.95	0.0004
log(Hloubka půdy)	0.036	1	285.52	2.57	0.1102
Svažitost	0.042	1	67.34	2.99	0.0883
Nadmořská výška	0.016	1	65.59	1.12	0.2942
Velikost populace	0.006	1	69.43	0.44	0.5077
log(Celková ozářenost)	0.214	1	75.28	15.18	0.0002
Lok. densita : Hl. půdy	0.019	1	280.88	1.35	0.2468
Lok. densita : Svažitost	0.021	1	286.20	1.48	0.2243
Lok. densita : Nadm. výška	0.033	1	288.98	2.34	0.1274
Lok. densita : Velikost pop.	0.086	1	283.40	6.08	0.0143
Lok. densita : Celk. ozářenost	0.013	1	287.74	0.89	0.3463

Z faktorů prostředí získaných pomocí dálkového průzkumu země vycházel jako nejlepší prediktor prevalence rzi Vegetation Wetness index ($p = 0,00007$), spolu s ním v modelu vyšel jako významný prediktor i medián výšky porostu ($p = 0,009$). Jako nevýznamný prediktor se v tomto modelu jevil Diurnal Anisotropic Heating Index (DAHI) ($p = 0,22$) viz tab. 6.

Tab. 6. Zobecněný lineární model se smíšenými efekty: Vztah prevalence a environmentálních proměnných, získaných pomocí dálkového průzkumu země. VWI – vegetation Wetness Index, DAHI – Diurnal Anisotropic Heating Index. Náhodný faktor: populace. AIC: -272,41.

Environmentální proměnná	Sum Sq	NumDF	DenDF	F value	p (F test)
log(Lokální densita)	0.22	1	295.96	15.66	0.00009
VWI	0.25	1	70.19	18.00	0.00007
Medián výšky porostu	0.10	1	70.35	7.22	0.009
DAHI	0.02	1	68.27	1.54	0.22

4. Diskuse

V oblasti jižních Julských Alp se rez *Puccinia cribrata* vyskytuje velmi hojně, napadá hostitele *Vinca minor* ve všech vegetačních typech, na celém výškovém gradientu výskytu. Jako nejvýznamnější prediktory výskytu a prevalence rzi se ukazují stanovištní charakteristiky popisující světelné poměry a hloubku půdy na stanovišti. S ubývajícím množstvím světla pronikajícího do interiéru porostu a rostoucí hloubkou půdního profilu, klesá pravděpodobnost výskytu rzi a v tmavších porostech dosahuje rez i nižších prevalencí. Charakteristiky stanoviště na přechodu od světlých exponovaných stanovišť po hustě zapojené lesy nejlépe vystihuje Vegetation Wetness Index, vypočítaný z multispektrální satelitní fotografie. Z populačních charakteristik byla očekávaně nejvýznamnějším prediktorem výskytu rzi populační velikost. Prevalence byla nezávislá na populační velikosti, ale zvyšovala se s počtem lodyh v odečítacím čtverci.

4.1 Vlastnosti populací a incidence a prevalence rzi

Rostoucí incidence choroby s velikostí populace je obecně pozorovaný jev napříč terénními studii (Burdon et al. 1995, Abbate & Antonovics 2014, Jousimo et al. 2014). Ve větší populaci je logicky větší šance na stochastické uchycení spory patogenu a u populací již nakažených je menší šance na meziroční vymření patogenu. V případě této terénní studie je vymezení populace poměrně problematickým článkem. Některé mnou vymezené rozsáhlé populace mají mezi svými okraji mnohem větší vzdálenost, než jaká je v některých případech odděluje od jiné populace. V částech některých rozsáhlejších populací tak může být významnější genový tok mezi populacemi než v rámci odlehlých částí téže populace, a to jak u hostitele, tak u patogenu. Dochází tak spíše k podhodnocení vlivu velikosti populace na incidenci rzi, neboť mnohé menší populace vylišené v oblastech s hojnou přítomností *V. minor*, by šlo chápat jako jednu velkou populaci. Poměrně velké množství malých zdravých populací, které jsem v terénu potkával, svědčí o tom, že přenos spor patogenu na vzdálenosti v řádech desítek až stovek metrů není v oblasti zřejmě příliš efektivní. Z 12 nejmenších populací (velikost cca 7400 až 25000 lodyh) byla nakažená pouze jediná.

Poměrně malý vliv populační density na incidenci rzi naznačuje, že nižší populační densita nemá zřejmě celkově výrazný vliv na přítomnost patogenu v populaci hostitele. Výjimkou by mohly být velmi řídké populace, u kterých by nízká populační hustota mohla výrazněji limitovat přežívání patogenu. U 7 populací s nejmenší populační densitou (nižší než 70

lodyh na 1 m²) jsem nepozoroval žádné symptomatické lodyhy. Nízká hustota populací může být způsobena nevýhodnými podmínkami pro růst *V. minor*. A lze se domnívat, že takto oslabené rostliny mohou představovat jen velmi málo atraktivního hostitele pro biotrofní patogen. Zároveň populační densita na úrovni odečítacího čtverce se však jeví jako jeden z nejvýznamnějších faktorů ovlivňujících prevalenci. Tento pozitivní vliv hustoty na prevalenci byl pozorován u mnohých patosystémů a stojí za ním především efektivnější přenos spor v hustších populacích hostitele (Burdon & Chilvers 1982). Vztah prevalence a populační density na úrovni populace byl v případě mnou studovaného patosystému spíše unimodální, především kvůli tomu, že se densita lodyh u silně nakažených populací z xerothermních lesů (skupina OT) pohybovala okolo střední hodnoty průměrné populační density. Přestože se populační density mezi xerothermními lesy (OT) a skupinou ostatních lesů (LO) výrazně nelišily, působily v terénu populace ze skupiny LO často mnohem hustším dojmem kvůli výrazně větším rozměrům lodyh, kterých *V. minor* dosahuje na bohatších stanovištích v porovnání se stanovišti xerothermními. Průměrná celková hustota lodyh byla v nakažených populacích 249 lodyh na m², zatímco v populacích zdravých 174. Do jisté míry je tento rozdíl ovlivněn tím, že dochází ke zmnožení počtu symptomatických lodyh vyrůstajících z jednoho nodu v porovnání s lodyhami zdravými, nicméně toto zmnožení není příliš výrazné a vzhledem k průměrné prevalenci u nakažených populací 7,7 %, je potřeba příčinu tohoto rozdílu hledat spíše jinde.

4.2 Charakteristiky prostředí a incidence a prevalence rzi

Již od počátku terénního průzkumu se jasně ukazoval trend častého výskytu rzi s vysokou prevalencí v řídkých xerothermních lesích a křovinách. Vliv světelných poměrů na stanovišti byl v některých terénních studiích zaznamenán jako významný prediktor výskytu patogenů např. (Jarosz & Burdon 1988, Fowler & Clay 1995, Jousimo et al. 2014, Garcia-Guzman et al. 2016). Pozitivní vliv zastínění na rozvoj choroby je popisován především u listových patogenů, které představují i významnou skupinu škůdců hospodářských plodin a jejich interakce s prostředím jsou tak dobře popsány. U patosystému *V. minor* – *P. cribrata* je v tomto ohledu limitující absence znalosti procesu, jakým dochází k nakažení hostitele, respektive kterým orgánem a v jaké fenologické fázi, proniká patogen do hostitele. Ale i v případě, že by k penetraci haustorií rzi docházelo ve vrstvě opadanky, například u rašících lodyh, může hrát otevřenost zápoje na tento proces poměrně významnou roli. V přírodních

podmínkách je totiž otevřenost zápoje spojená s dalšími mikroklimatologickými faktory, především s teplotou, vlhkostí a rychlostí větru (Chen et al. 1999). Ve světlých lesích, na většinou k jihu orientovaných svazích, lze předpokládat rychlejší prohřívání povrchu půdy, což by mohlo mít za následek rychlejší klíčení spor v porovnání s lesy s hustším zápojem stromového patra. Jednotlivé druhy rzí se odlišují v teplotním rozmezí, v jakém jsou jejich teliospory schopné klíčit, ale obecně se optimální teploty zřejmě mohou pohybovat kolem 16 až 20 °C (Anikster 1986). Pro *V. minor* je významné období, kdy na jaře ještě nejsou olistěné stromy, v tu dobu se odehrává asi nejrychlejší přírůst nových lodyh. Právě nově rašící lodyhy, se slabými buněčnými stěnami a nevyvinutou silnou voskovou vrstvou na povrchu, mohou představovat slabé místo v obraně před patogenem. Navíc je počátek jara obdobím, kdy mohou být výrazné rozdíly v teplotě vrchní vrstvy půdy podle orientace ke světovým stranám a svažitosti. Nakažení rostliny rzí ve fázi, kdy rašící lodyhy prorůstají vrchní vrstvou půdy, bylo pozorováno např. u patosystému *Puccini podophylli* – *Podophyllum peltatum* (Parker 1988). Pokud by tomu bylo podobně i *V. minor*, pak by zřejmě klíčení spor mohlo probíhat ještě v době kdy nejsou stromy olistěné. V takovém případě by ale měla být významnější spíše expozice lokality, spojená s dopadajícím množstvím slunečního záření než zápoj stromového patra, který je před olistěním relativně zanedbatelný. Jistou izolační roli omezující klíčení spor by mohla hrát i vrstva opadanky, která bývá podstatně silnější v bučinách, než v xerothermních lesích svazu *Fraxino-Ostryion*. Další lokálně významný faktor se zdál být i zápoj bylinného patra; pokud bylo dostatečně husté a vysoké na to, aby zastínilo rostliny *V. minor*, nepozoroval jsem většinou žádné nakažené rostliny, ale tento údaj jsem systematicky nesbíral a takto vyvinuté bylinné patro bylo jen na jednotkách procent z celkového počtu populací.

Pro přímou charakteristiku teploty na stanovišti nemám žádná data, mohu vycházet pouze z expozice a nadmořské výšky. Rzá se běžně vyskytovala až k výškové hranici rozšíření *V. minor*, která je v této oblasti přibližně mezi 1050 až 1150 m n. m, kde lze již očekávat o několik stupňů nižší průměrnou roční teplotu. Očekával bych větší vliv nadmořské výšky na patogen, ale pro srovnání neexistuje moc studií, které by sledovaly výskyt patogenu na gradientu nadmořské výšky. U květní sněti uvádí Abbate et Antonovics (2014) výrazný vliv nadmořské výšky, ale životní cyklus květních snětí se v některých aspektech dost liší od rzí. Dalším případem, kdy byl pozorován vliv nadmořské výšky na přítomnost patogenu u přirozeného patosystému, byl spojen s absencí sekundárního hostitele v určitých nadmořských výškách (Smith & Hoffman 2001), tedy se situací, která není srovnatelná se

rzi *P. cribrata*. Teplota bývá uváděna jako jeden z hlavních faktorů limitující geografické rozšíření patogenů (Colhoun 1973). Výrazný úbytek nálezů *P. cribrata* s přibývajícím severní šířkou by sice mohl naznačovat, že tomu tak i v případě tohoto patosystému. Ale je potřeba vzít v potaz, že výskyty na sever od Alp jsou mnohem mladší a zřejmě pouze druhotného charakteru, druh *V. minor* se zde nevyskytuje tak často a do vyšších severních šířek v okolí baltského moře byl pravděpodobně introdukován teprve v posledních staletích. Absence rzi tak zde může být dána jednoduše tím, že se sem nestihla rozšířit. Výskyty rzi až téměř k hranici výškového rozšíření *V. minor* v Julských Alpách nasvědčují spíše tomu, že teplota zřejmě nebude limitující pro rozšíření ve střední Evropě, minimálně ne v nížinách. Přibývajícím počtem nálezů rzi ve střední Evropě by sice mohl korespondovat se změnami klimatu v posledních dekáдах, ale zrovna tak s rostoucím turismem do oblasti Jižních Alp, větší povědomostí o patogenních organismech a lepšímu sdílení nálezových dat. Například při převozu rostliny z cíle turistické destinaci, může být choroba snadno zavlečena na velmi vzdálené území. Takto se například objevila rez *Puccinia. vinceae* na rostlinách *Vinca major* přivezených z Madeiry na experimentální zahradě na ČZU v Praze. Tyto rostliny jsem následně přenesl k sobě domů na zahrádku a i po třech letech, několikerém přesazení a změnách stanoviště se u nich choroba stále objevuje.

Vliv vlhkosti prostředí na klíčení spor nepovažuji v případě tohoto patosystému za příliš významný faktor. Výrazně nakažené skupiny rostlin jsem v terénu nacházel jak na téměř úplně otevřených stanovištích s jižní orientací, tak v těsné blízkosti divočících vodních toků, rozstříkujících do okolí vodní mlhu. Vzhledem k vysokému ročnímu úhrnu srážek, bez období výraznějšího srážkového minima asi nelze předpokládat, že by v této oblasti mohlo pravidelně nastávat dlouhotrvající sucho, ovlivňující klíčení spor patogenu. Otázkou, zdali by tento faktor nebyl významnější v oblastech srážkového stínu, jako například ve Walliském údolí, kde se *P. cribrata* rovněž vyskytuje (Bergamini et al. 2011). Leccos naznačuje, že obrat tohoto patosystému je poměrně pomalý, a pokud dochází k meziročnímu přežívání patogenu v hostitelských rostlinách, tak pro úspěšné šíření patogenu by zřejmě dostačovalo i jedno příznivé období pro klíčení spor jednou za několik let a patogen by byl schopen přežít i v pro něj ne zcela příznivých podmínkách. Ale *V. minor* jako rostlina preferující oceánické klima a spíše stinná stanoviště, pravděpodobně nedokáže přirozeně růst na takových stanovištích, kde by vlhkost významně limitovala životaschopnost rzi.

S otevřeností zápoje je spojen další faktor s potenciálem ovlivňovat prevalenci patogenu, a to proudění vzduchu. U exponovaných stanovišť s členitým terénem, lze očekávat, že alespoň lokálně bude rychlost větru při povrchu země vyšší než v hustěji zapojených lesních porostech. *P. cribrata* sice nevytváří spory uzpůsobené pro šíření větrem, ale zřejmě i teliospory, s rozměry cca 50 x 30 μm (Scholler 1992) mohou být po vypadnutí z télií na rubu listů symptomatických lodyh transportovány na určitou vzdálenost větrem, podobně jako z teliospor klíčící bazidiospory. Z abiotických vektorů spor rzi může být významná i voda, ta může transportovat spory na krátkou vzdálenost při rozstříku dopadajících dešťových kapek, nebo po svahu se stékající dešťovou vodou (Malloch & Blackwell 1992). Za poměrně významné vektory spor, především pro transport na vzdálenosti v řádu desítek až stovek metrů, považuji větší obratlovce. Při pohybu v nakažené populaci se zralými sporami, jsem brzy na obuvi pozoroval černý poprašek z teliospor rzi. V oblasti je stále k vidění pastva ovcí a koz v mozaice pastvin a řídkých lesíků v okolí sídel. Po lesích se roztroušeně vyskytující salaše a pastýřské boudy nasvědčují tomu, že se zde dříve poměrně hojně páslo i ve větších vzdálenostech od sídel. Hojný výskyt xerothermních lesů s *Ostrya carpinifolia* a *Fraxinus ornus* je v této oblasti zapříčiněn především historicky dlouhodobým využíváním lesů k pastvě domácích zvířat, především koz. Tyto lesy tak představují degradační stádium teplomilných bučin sv. *Ostryo-Fagetum* (Dakskobler 2015b). Je tedy možné, že vysoké prevalence rzi v těchto xerothermních lesích jsou do jisté míry artefaktem dřívější pastvy hospodářských zvířat, která mohla efektivně rozšiřovat spory a zároveň udržovat rozvolněný zápoj jak keřového, tak stromového patra.

V přírodních podmínkách se samozřejmě vliv klimatických a světelných podmínek na stanovišti nedá dobře oddělit od vlivu podmínek edafických. Na hlubších, živinami lépe zásobených půdách se vytváří většinou vyšší a hustěji zapojené stromové patro. Hluboké půdy se navíc mnohdy vytváří na spíše chráněných stanovištích, jakými jsou např. báze svahů. Lze předpokládat, že na úživnějších stanovištích s hlubšími půdami, budou i rostliny *V. minor* lépe zásobené živinami. Právě zásobení rostlin živinami může hrát velmi významnou roli při jejich obraně před patogeny, jak dokládají mnohé experimentální studie provedené především na hospodářsky významných rostlinách (Colhoun 1973, Amtmann et al. 2008, Dordas 2008). S tímto vědomím jsem v červnu 2018 sesbíral směsné vzorky biomasy vystoupavých nenakažených lodyh *V. minor* v 6 populacích ve studované oblasti a v nakažené populaci v Českém krase. Z vysušené biomasy listů byl stanoven obsah C, N, P, K, Ca, Si, Mn (tab. 7 př.). Výsledky z pouze 7 vzorků je nutno brát se značnou rezervou,

ukazují však, že mezi populacemi existují poměrně výrazné rozdíly v obsahu některých prvků. S tím, že rostliny z xerothermních stanovišť s velmi mělkou půdou (vzorek 1A), mohou zřejmě obsahovat nižší množství některých biogenních prvků, především dusíku, fosforu a draslíku. Pro zjištění vlivu zásobení rostlin *V. minor* živinami na resistenci vůči patogenu by byl nutný manipulativní experiment, ale myslím si, že může jít o velmi významný faktor. Častější výskyt rzi v populacích rostoucích na mělkých kamenitých rendzinách, kde rostliny dosahují relativně malé biomasy nadzemních lodyh, by napovídal negativnímu vlivu nedostatku základních živin na resistenci rostlin *V. minor*. Z přímo měřených půdních chemických vlastností mám k dispozici pouze půdní pH, které se však ukazuje jako zcela nevýznamný prediktor výskytu a prevalence rzi, přestože rozsah hodnot od 4,3 po 7,95 pokrývá poměrně široký gradient. U poměrně velké části půdních vzorků však bylo pH měřeno převážně z organického půdního horizontu, kvůli absenci vyvinuté minerální půdy.

4.3 Dálkový průzkum

Jako nejlepší prediktor prevalence rzi, se z nástrojů dálkového průzkumu země jevil Vegetation Wetness Index (VWI), a dále medián výšky stromového patra. Tyto charakteristiky prostředí se však v případě této studie ukazují jako nepoužitelné pro incidenci rzi. Jako nevýznamný pro incidenci i prevalenci se jeví Diurnal Anisotropic Heating Index (DAHI), který reprezentuje množství přímé dopadající sluneční radiace na jednotku plochy. Prostřednictvím tohoto indexu se ukazuje na nevýznamnost svazitosti a orientace stanoviště ku světovým stranám. Pro šíření a přežívání rzi v populaci je tedy možná důležitější, jak mikroklimatické podmínky ovlivňuje a utváří stromové patro než to, jak jsou dány georeliéfem. Zde je však důležité podotknout, že struktura, hustota a složení stromového patra jsou nutně spojené s edafickými podmínkami a historií managementu stanoviště a jejich vliv není možné jednoznačně odlišit. K vyhodnocení vlivu georeliéfu jsem se pokoušel sestavit SAGA Wetness Index, založený na modelu terénu. Nepodařilo se mi ho ale nastavit tak, abych byl spokojen s výsledným terénním modelem. Problematická pro jeho úspěšné sestavení byla veliká členitost mikroreliefu – roztroušené velké balvany a skalní výchozy, a dále délka svahů mnohdy přesahující 1 km. Ani u dalších terénních indexů vytvořených z digitálního modelu terénu pomocí SAGA Terrain Analysis, jako je například Wind Exposition Index, Distance To Chanel Network nebo Negative Openess, u kterých bylo relevantní a priori předpokládat spojení s mikroklimatickými faktory s potenciálem

ovlivňovat projevy patogenu, jsem při prvotní exploraci nepozoroval žádný významný vztah k prevalenci nebo incidenci, a dále jsem s nimi již v analýzách nepracoval.

Daleko lépe použitelné se pro účely charakterizování stanovištních charakteristik s potenciálem ovlivňovat výskyt patogenu jevíly některé výstupy dálkového průzkumu země spojené především se strukturou stromového a případně keřového patra. Různé vegetační indexy založené na multispektrálních satelitních snímcích jsou běžně používány ke klasifikaci druhového složení, či odhadu nadzemní biomasy (Roy & Ravan 1996, Puletti et al. 2017). Významně vyšší prevalence v porostech dosahujících nižších hodnot VWI je očekávatelným výsledkem, neboť hodnoty tohoto indexu vrůstají s hustotou zápoje stromového patra, výčetní tloušťkou a dalšími dendrometrickými veličinami charakterizujícími větší nadzemní dendromasu (Hansen et al. 2001). To dokládá i poměrně výrazná korelace mezi VWI a změřenou celkovou ozářeností stanoviště (Tab.4). Poněkud překvapující byl v tomto směru výsledek NDVI, u kterého jsem nepozoroval významný vztah k měřeným charakteristikám prostředí a k prevalenci, proto jsem s ním dále v analýzách již nepracoval. Značný podíl na špatné použitelnosti NDVI může mít i velký podíl prudkých severních svahů v oblasti. Na rozdíl od tasseled cap transformace, která je z velké části založená na infračerveném spektru (Rovnice 3), je NDVI podstatně více závislé na viditelné části spektra (Rovnice 2) a prudké severní svahy, které byly na satelitní fotografii zastíněné tak vytvářely nesmyslné hodnoty NDVI, které zde dosahovaly hodnot bližším bezlesí než zapojené bučiny. Stejně tak na svazích s jižní expozicí nebyl v NDVI významný rozdíl mezi bučinami a xerothermními lesy s *Ostrya carpinifolia* a *Fraxinus ornus*. Z výstupů tasseled cap transformace (brightness, greenness a wetness) se po první exploraci dat jevil Wetness Index (VWI), proto jsem dále pracoval už jen s tímto indexem.

Široké uplatnění pro zjištění dendrometrických charakteristik stromového patra má rovněž digitální model terénu získaný pomocí technologie LIDAR. V této práci používám pouze medián výšky stromů, který v modelu prevalence dobře doplňuje Vegetation Wetness Index, s nímž není výrazně korelovaný (Tab. 4). Nicméně dostupná surová data umožňují i sofistikovanější využití modelu terénu pro stanovení např. hustoty zápoje stromového patra (Stojanova et al. 2010). Případně by šlo uvažovat nad spojením například s Diurnal Anisotropic Heating Index pro odhadnutí množství sluneční radiace dopadajícího ve vegetační sezoně do prostoru bylinného patra.

Poměrně překvapivé je, že žádná z použitých veličin získaných z dálkového průzkumu se nejeví jako dobrý prediktor incidence rzi, přestože mohou poměrně dobře zastupovat světelné podmínky na stanovišti a skrze nadzemní biomasu do jisté míry i úživnost stanoviště. Ukazuje se zde podobně jako u vlastností prostředí měřených přímo na stanovišti, že procesy ovlivňující incidenci a prevalenci choroby mohou mít odlišnou povahu. Například hemisférické fotografie poskytují přesnější obraz světelných podmínek na stanovišti, kombinující v sobě nejen zápoj stromového patra ale i orientaci expozici stanovišti. Obdobně hloubka půda zřejmě lépe charakterizuje úživnost stanoviště pro byliny lépe než vegetační index stromového patra, nebo jeho výška.

Výsledky dálkového průzkumu tak ukazují na poměrně problematickou použitelnost pro predikci incidence patogenu. Ukazuje se, že by bylo spíše možné predikovat ohroženost *V. minor* na stanovišti potažmo potenciální prevalenci než výskyt patogenu. Navíc 73 populací s přítomností patogenu je poměrně málo na predikční model prevalence. Dalším problémem je ukazující se poměrně jasná binarita stanovišť ve smyslu xerothermní (skupina OT) versus zbylé. Zatímco při použití všech stanovišť vysvětlí model s použitím výstupů dálkového průzkumu zhruba 35 % variability (tab. 6) po odstranění xerothermních stanovišť poklesla vysvětlená variabilita na cca 10 %. To představuje problém pro případnou predikci prevalence patogenu pro valnou většinu lesů v dané oblasti.

Přestože sběr dat probíhal na poměrně rozsáhlém území, s opakovaným výskytem jednotlivých vegetačních jednotek, nelze samozřejmě opomenout vliv geneticky podmíněné resistance hostitelských rostlin a virulence patogenu, které mohou výrazně ovlivňovat demografii patogenu (Burdon & Laine 2019). Ze 12 studovaných populací (6 zdravých a 6 nakažených) jsem na jaře 2017 sesbíral vzorky rostlin pro pěstování v zahradních podmínkách a inokulum (lodyhy se zralými teliemi) pro zahradní inokulační pokus. Jako poměrně problematické se ukázalo pěstování *V. minor* v květináčích, kdy se rostliny nepodařilo namnožit do dostatečného počtu pro inokulační pokus. A rovněž při pokusném klíčení teliospor na kultivačním mediu v klimaboxu, rok po jejich sběru v terénu, jsem nepozoroval žádné v bazidia klíčící spory, což je vylučovalo z použití při inokulačních pokusech. Po dvou letech pěstování v zahradě v Praze na Albertově, se u několika rostlin objevily symptomatické lodyhy, přitom všechny rostliny, které jsem v terénu odebíral byly asymptomatické. Zdá se tedy, že může být problematický i odběr zdravých rostlin z nakažených populací. Je možné, že se rostliny nakazily ze spor přinesených spolu se

substrátem, do nichž byly pro převoz ze Slovinska zasazeny, ale nelze vyloučit ani asymptomatické přežívání patogenu v rostlině po dobu několika let.

5. Závěr

Cílem této práce bylo zhodnocení vlivu podmínek prostředí a demografických charakteristik hostitelských populací na výskyt patogenu v patosystému *Vinca minor* – *Puccinia cribrata*. Podle předpokladů, umožnilo území jižních Julských Alp sledování tohoto patosystému na pestré škále ekologicky odlišných lesních a křovinných biotopů. Zároveň zde bylo možné nalézt i velmi demograficky rozdílné hostitelské populace, lišící se velikostí a hustotou. Cíl pokrýt co možná největší terénní variabilitu výskytu *V. minor* se mi podařilo, myslím, úspěšně splnit, byť jsem plánoval dosáhnout vyššího počtu ovzorkovaných populací.

V terénu sebraná data ukazují na výrazný vliv stanovištních podmínek na incidenci i prevalenci patogenu v hostitelských populacích, s jasným trendem přibývajících výskytu patogenu na gradientu od stinných lesů na hlubokých půdách po xerothermní exponovaná stanoviště. Myslím si, že proměnné sbírané na stanovišti byly vhodně vybrány, s ohledem na dostatečnou rychlost sběru dat a finanční nenáročnost výzkumu. Především hemisférické fotografie a hloubku půdního profilu považují za vhodné proměnné charakterizující pozici stanoviště na výše zmíněném gradientu. Omezením terénní studie je obecně problematické oddělení vlivu jednotlivých zjišťovaných proměnných, které bývají mezi sebou významně korelované. Nejinak je tomu i u této práce. Mikroklimatické charakteristiky spoluutvářené strukturou stromového patra do značné míry korelují s edafickou charakteristikou stanoviště. Poněkud limitující je rovněž absence znalosti živinových poměrů na stanovištích, pro kterou by ale bylo komplikované až neproveditelné odebrání relevantních a navzájem porovnatelných půdní vzorků na často nevyvinutých půdách. A rozbor biomasy hostitelských rostlin jsou finančně poměrně nákladné.

Bohužel se mi nepodařilo naplnit jeden z původních cílů práce, a to spojit terénní výsledky s inokulačním pokusem v kontrolovaných podmínkách, na pěstovaných rostlinách odebraných ze studovaných populací. Tyto výsledky by byly velmi cenné pro odhalení případné korelace mezi původním prostředím a resistencí, či pro opodstatnění současného zanedbávání tématu resistance rostlin v této práci. To se nabízí jako jeden z cílů další práce,

na tomto zatím jen minimálně prostudovaném patosystému. Ale výsledky a zkušenosti z prvotních pokusů a z pěstování hostitelské rostliny ukazují na poměrně problematické experimentování s tímto patosystémem. Pro další experimentální inokulace by bylo velmi důležité nejprve zjistit, kterou částí rostliny proniká patogen do hostitele a zdali dochází k prorůstání mycelia plazivými lodyhami hostitele.

Výstupy dálkového průzkumu země, které jsem vytvářel za účelem vyhodnocení možnosti predikce výskytu patogenu, poměrně dobře odráží charakteristiky stromového patra měřené přímo na stanovišti. Ale jejich možnosti pro predikci prevalence, a především pak výskytu patogenu jsou poměrně omezené. Z dat, která mám v současnosti k dispozici, by zřejmě bylo možné na základě Vegetation Wetness Index stanovit dvě kategorie lesa a predikovat lokality s potenciálně vysokou prevalencí (obecně všechny xerothermní lesy, křoviny a paseky) a nízkou prevalencí (všechny zbývající lesní porosty). Podrobnější predikce při takto korelovaných prediktorech a počtu pozorování, které mám k dispozici, by zřejmě měla jen malou statistickou významnost.

Výsledky této studie rozšiřují zatím stále velmi sporé znalosti o vlivu prostředí na výskyt patogenů v přirozených populacích hostitelských rostlin. Zajímavé jsou především výrazně častějším výskytem patogenu na sušších, více osluněných stanovištích s horšími edafickými podmínkami, což v kontextu patosystémů se studovanou ekologií představuje poměrně ojedinělý výsledek. Zároveň se odkrývají možnosti dalšího výzkumu tohoto patosystému. Potenciál spatřuji především v experimentech s kontrolovanými podmínkami, které by pomohly objasnit, které faktory přímo ovlivňují projevy patogenu. Ať už by šlo o manipulování světla a vlhkosti či živin. Nabízí se i experimentální nakažování rostlin přímo v terénu, či transplantační pokusy mezi jednotlivými populacemi, které by mohly pomoci lépe oddělit vliv prostředí a genetických faktorů. A v neposlední řadě by mohlo být zajímavé, zaměřit se na výskyt patogenu na jiné prostorové škále, a to jak podrobnější, kde by se mohl sledovat vliv mikroreliefu, půdních vlastností či světelných podmínek, tak na podstatně větších prostorových škálách. Kde by mohlo být otázkou, zdali se v jiných geografických oblastech chová tento patosystém ve vztahu k prostředí obdobně jako v Julských Alpách.

Literatura

- Abbate J. L. & Antonovics J. (2014a): Elevational disease distribution in a natural plant – pathogen system : insights from changes across host populations and climate. 1126–1136.
- Abbate J. L. & Antonovics J. (2014b): Elevational disease distribution in a natural plant– pathogen system: insights from changes across host populations and climate. – *Oikos* 123: 1126–1136.
- Agrios G. (2005): *Plant Pathology*. – Academic Press.
- Allan E., Ruijven J. V., Crawley M. J., Allan E., Ruijven J. V., & Crawley M. J. (2010): Foliar fungal pathogens and grassland biodiversity. – *Ecology* 91: 2572–2582.
- Amtmann A., Troufflard S., & Armengaud P. (2008): The effect of potassium nutrition on pest and disease resistance in plants. – *Physiologia Plantarum*.
- Anikster Y. (1986): Teliospore Germination in Some Rust Fungi. – *Phytopathology* 76: 1026–1030.
- Antonovics J. (2004): Long-Term Study of a Plant-Pathogene Metapopulation in: *Ecology, Genetics and Evolution of metapopulations*, Hanski I., Gaggiotti O. E. (eds.). In *Ecology, Genetics and Evolution of metapopulations*, – Academic Press.
- Austin C. N., Grove G. G., Meyers J. M., & Wilcox W. F. (2011): Powdery Mildew Severity as a Function of Canopy Density: Associated Impacts on Sunlight Penetration and Spray Coverage. – *Am. J. Enol. Vitic.* 62 (1): 23–31.
- Bates D., Maechler M., Bolker B., & Walker S. (2015): Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. – *Journal of Statistical software* 67: 1–48.
- Bedimo J. A. M., Njiayouom I., Bieysse D., Nkeng M. N., Cilas C., & Nottéghem J. L. (2008): Effect of Shade on Arabica Coffee Berry Disease Development : Toward an Agroforestry System to Reduce Disease Impact. – *Phytopathology* 98: 1320–1325.
- Bergamini A., Obrist M. K., & Nobis M. (2011): Der artenreichste Quadratkilometer der Schweiz ? Der Tag der Artenvielfalt 2010 in Mörel-Filet (VS). – *Bull. Murithienne* 128: 7–42.
- Bivand R., Keitt T., & Rowlingson B. (2018): rgdal: Bindings for the “Geospatial” Data Abstraction Library. R package version 1.3-6. <https://CRAN.R-project.org/package=rgdal>.
- Boehner J. & Antonic O. (2009): Land-surface parameters specific to topo-climatology. In: Hengl, T., & Reuter, H. (Eds.): *Geomorphometry - Concepts, Software, Applications*. *Developments in Soil Science* 33: 195–226.
- Braak C. J. F. ter & Šmilauer P. (2017): Canoco 5, Windows release (5.10) Software for multivariate data exploration, testing, and summarization.
- Burdon J. J. (1991): Fungal pathogens as selective forces in plant populations and communities. – *Aust. J. Ecol.* 16: 423–432.

- Burdon J. J. & Chilvers G. A. (1982): Host density as a factor in plant disease ecology. – *Ann. Rev. Phytopathol.* 20: 143–166.
- Burdon J. J., Ericson L., & Muller W. J. (1995): Temporal and Spatial Changes in a Metapopulation of the Rust Pathogen *Triphragmium Ulmariae* and its Host, *Filipendula Ulmaria*. – *Journal of Ecology* 83: 979–989.
- Burdon J. J. & Laine A.-L. (2019): *Evolutionary Dynamics of Plant – Pathogen Interactions*. – Cambridge University Press.
- Chen J., Saunders S. C., Crow T. R., Naiman R. J., Brosofske K. D., Mroz G. D., Brookshire B. L., & Franklin J. F. (1999): Microclimate in Forest Microclimate and Ecosystem Ecology Landscape the effects of different management regimes. – *BioScience* 49 (4): 288–297
- Cheng C., Gao X., Feng B., Sheen J., Shan L., & He P. (2013): Plant immune response to pathogen differs with changing temperatures. – *Nat. Commun.* 4:2530 doi: 10.1038/ncomms3530.
- Cohen Y., Levi, Y., & Eyal H. (1978) Sporogenesis of some fungal plant pathogens under intermittent light condition. – *Can. Jour. of Bot.* 56 (20): 2538–2543.
- Colhoun J. (1973): Effects of environmental factors on plant disease. – *Annu Rev Phytopathol* 343–362.
- Conrad O., Bechtel B., Bock M., Dietrich H., Fisher E., Gerlitz L., Wehberg J., Wichmann V., & Böhner J. (2015): System for Automated Geoscientific Analyses (SAGA) v. 2.1.4. – *Geosci. Model Dev.* 1991–2007.
- Čušin B. (2002): Pionirski gozdovi belega gabra (*Carici albae-Carpinetum betuli* ass. nova) na holocenskih terasah Nadiže. – *Hacquetia* 1: 91–107.
- Dakskobler I. (2015a): Phytodocoiological analysis of montane beech forests on steep shady slopes on mixed geological bedrock in western Slovenia. – *Folia Biologica et Geobiologica* 56 (1): 5–104.
- Dakskobler I. (2015b): Phytosociological description of *Ostrya carpiniifolia* and *Fraxinus ornus* communities in the Julian Alps and in the northern part of the Dinaric Alps (NW and W Slovenia, NE Italy). – *Hacquetia* 14 (2): 175–247.
- Dakskobler I., Šilc U., & Čušin B. (2004): Riverine forests in the upper Soča valley (the Julian Alps, western Slovenia). – *Hacquetia* 3 (2): 51–80.
- Danihelka J., Chrtek J., & Kaplan Z. (2012): Checklist of vascular plants of the Czech Republic. – *Preslia* 84 (3): 647–811.
- Darcy A. J. & Burkart M. C. (2002): Allelopathic potential of *Vinca minor*, an invasive exotic plant in west Michigan forests. – *Bios* 73: 127–132.
- Datnoff L. E., Elmer W. H., & Huber D. M. (2007): *Mineral nutrition and plant disease*. – APS Press.

- Decaestecker E. & Leuven K. U. (2018): Red Queen Dynamics. in Fath B. [ed.], Encyclopedia of Ecology 2nd Edition. – Elsevier Inc.
- Del Ponte E. M., Godoy C. V., Li X. & Yang X. B. (2006): Predicting severity of Asian soybean rust epidemics with empirical rainfall models. – *Phytopathology* 96: 797–803.
- Dinoor A. & Eshed N. (1984): The Role and Importance of Pathogens in Natural Plant Communities. – *Annu. Rev. Phytopathol.* 22: 443–466.
- Dordas C. (2008): Role of Nutrients in Controlling Plant Diseases in Sustainable Agriculture : A Review Role of Nutrients in Controlling Plant Diseases in Sustainable Agriculture : A Review.
- Ericson L., Müller W. J., & Burdon J. J. (2017): 28-Year Temporal Sequence of Epidemic Dynamics in a Natural Rust–Host Plant Metapopulation. – *J. Ecol.* 105: 701–713.
- Fowler N. L. & Clay K. (1995): Environmental Heterogeneity , Fungal Parasitism and the Demography of the Grass *Stipa leucotricha*. – *Oecologia* 103: 55–62.
- Fowler N. L. & Clay K. (1995): Fungal Parasitism and the Demography of the Grass *Stipa leucotricha*. – *Oecologia* 103: 55–62.
- Frazer G. W., Canham C. D., & Lertzman K. P. (1999): Gap Light Analyzer (GLA), Version 2.0: Imaging software to extract canopy structure and gap light transmission indices from true-colour fisheye photographs, users manual and program documentation. Copyright © 1999: Simon Fraser University, Burnaby, British Columbia, and the Institute of Ecosystem Studies, Millbrook, New York.
- Garcia-Guzman G., Trejo I., Acosta-Calixto I., & Sanchez-Coronado M. E. (2016): Environmental factors associated with disease incidence in plant species from a Mexican seasonal tropical dry forest. – *J. Torrey Bot. Soc.* 143: 254–264.
- Hansen M. J., Franklin S. E., Woudsma C. & M. Peterson (2001): Forest Structure Classification in the North Columbia Mountains Using the Landsat TM Tasseled Cap Wetness Component. – *Canadian Journal of Remote Sensing*, 27 (1): 20–32.
- Hart H. (1926): Factors affecting the development of Flax rust, *Melampsorela lini* (Pers.). – *Phytopathology* 16 (3):185–205.
- Hijmans R. J. (2019): raster: Geographic Data Analysis and Modeling. R package version 2.8-19. <https://CRAN.R-project.org/package=raster>.
- Hlásná Čepková P., Karlík P., Viehmannová I., Müllerová V., Šmejda L., & Hejcman M. (2016): Genetic and leaf-trait variability of *Vinca minor* at ancient and recent localities in Central Europe. – *Biochem. Syst. Ecol.* 64: 22–30.
- Huber D. M. & Haneklaus S. (2007): Managing Nutrition to Control Plant Disease. – *Landbauforschung Völkenrode* 4 (57): 313–322.

- Huber D. M. & Wilhelm N. S. (1988): The Role of Manganese in Resistance to Plant Diseases. In: Graham R.D., Hannam R.J., Uren N.C. (eds). In *Manganese in Soils and Plants*, – Springer, Dordrecht.
- Ichihara Y. & Yamaji K. (2009): Effect of Light Conditions on the Resistance of Current-year *Fagus Crenata* Seedlings Against Fungal Pathogens Causing Damping-off in a Natural Beech Forest : Fungus Isolation and Histological and Chemical Resistance. – *J. Chem. Ecol.* 35: 1077–1085.
- Jarosz A. A. M. & Burdon J. J. (1988): The Effect of Small-Scale Environmental Changes on Disease Incidence and Severity in a Natural Plant-Pathogen Interaction. 75: 278–281.
- Jousimo J., Tack A. J. M., Ovaskainen O., Mononen T., Susi H., Tollenaere C., & Laine A.-L. (2014): Ecological and evolutionary effects of fragmentation on infectious disease dynamics. – *Science* 344: 1289–1293.
- Klenke F. & Scholler M. (2015): *Pflanzenparasitische Kleinpilze*. – Springer Spektrum.
- Kuščer D., Grad K., Nosan A., & Ogorelec B. (1974): Geology of the Soča valley between Bovec and Kobarid. – *Geologija* 17: 425–476.
- Kuznetsova A., Brockhoff P. B., & Christensen R. H. B. (2017): lmerTest Package: Tests in Linear Mixed Effects Models. – *Journal of Statistical software* 83: 1–26.
- Laine A. L. (2008): Temperature-mediated patterns of local adaptation in a natural plant – pathogen metapopulation. – *Ecology Letters* 11: 327–337.
- Laine A. L. & Hanski I. (2006): Large-scale spatial dynamics of a specialist plant pathogen in a fragmented landscape. – *J. Ecol.* 94: 217–226.
- Lutz M., Bauer R., Begerow D., & Oberwinkler F. (2004): Tuberculina-Helicobasidium : Host Specificity of the Tuberculina-Stage Reveals Unexpected Diversity within the Group. – *Mycologia* 96: 1316–1329.
- Magarey R. D., Sutton T. B. & Thayer C. L. (2005): A Simple Generic Infection Model for Foliar Fungal Plant Pathogens. – *Phytopathology* 95 (1): 92–100.
- Malloch D. & Blackwell M. (1992): Dispersal of fungal diaspores. in G. C. Carroll and D. T. Wicklow [eds.], *The fungal community: its organization and role in the ecosystem*. – Marcel Dekker, Ney York.
- Meusel H., Jäger E., Weinert E., & Rauschert S. (1978): *Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora Band II, Karten*. Jena.
- Möller S. (2015): *Populationsgenetik und Phylogeographie des Archäophyten und Kulturreliktzeigers Vinca minor L. (Apocynaceae)* [Manuskript] Kassel.
- Monegato G., Ravazzi C., Culiberg M., Pini R., Bavec M., Calderoni G., Je J. & Perego R. (2015): Sedimentary evolution and persistence of open forests between the south-eastern Alpine fringe and the Northern Dinarides during the Last Glacial Maximum. – *Paleogeography, Paleoclimatology, Paleoecology* 436: 23–40.

- Moulen Bedimo J. A. Bieysse D., Nyassé S., Nottéghen J. L. & Cilas C. (2010): Role of rainfall in the development of coffee berry disease in *Coffea arabica* caused by *Colletotrichum kahawae*, in Cameroon. – *Plant Pathology* 59: 324–329.
- Narváez D. F., Jurick II W. M., Marois J. J. & Wright D. L. (2010): Effects of Surface Wetness Periods on Development of Soybean Rust Under Field Conditions. – *Plant Disease* 94 (2): 258–264.
- Parker M. A. (1988): Genetic Uniformity and Disease Resistance in a Clonal Plant. – *The American Naturalist* 132: 538–549.
- Paulson G. A. & Schoeneweiss Dd. (1971): Epidemiology of Stem Blight of *Vinca minor* Incited by *Phoma exigua* var. *exigua*. – *Phytopathology* 61: 959–963.
- Prange W. (1996): Das Kleine Immergrün (*Vinca minor* L.) in Westdeutschland – eine Kulturreliktpflanze aus römischer Zeit. – *Schr. Naturwiss. Ver. Schlesw.-Holst.* 66: 71–96.
- Puletti N. Chianucci F. Castaldi C. (2017): Use of Sentinel-2 for forest classification in Mediterranean environments. – *Ann. Silv. Res.* 42: 1–7.
- QGIS Development Team (2016): QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://qgis.osgeo.org>.
- R Core Team. (2007): R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Roberts M. R., & Paul N. D. (2006): Seduced by the dark side : integrating molecular and ecological perspectives on the influence of light on plant defence against pests and pathogens. – *New Phytologist* 170: 677–699.
- Roderick H. W. & Thomas B. J. (1997): Infection of ryegrass by three rust fungi (*Puccinia coronata*, *P. graminis* and *P. loliina*) and some effects of temperature on the establishment of the disease and sporulation. – *Plant Pathology* 46: 751–761.
- Roussel J.-R. & De Boissieu F. (2018): rlas: Read and Write “las” and “laz” Binary File Formats Used for Remote Sensing Data. R package version 1.2.9. <https://CRAN.R-project.org/package=rlas>.
- Roy P. S. & Ravan S. A. (1996): Biomass estimation using satellite remote sensing data - An investigation on possible approaches for natural forest. – *J. Biosc.* 21 (4): 535–561.
- Scholler M. (1992): *Puccinia cribrata* und *Tranzschelia discolor* in Mecklenburg-Vorpommern gefunden. 58: 129–134.
- Smilanick J. L., Hoffmann J. A., & Royer M. H. (1985): Effect of Temperature, pH, Light, and Desiccation on Teliospore Germination of *Tilletia indica*. – *Phytopathology* 75: 1428–1431.

- Smith J. P. & Hoffman J. T. (2001): Site and stand characteristics related to white pine blister rust in high-elevation forests of southern Idaho and western Wyoming. – West. North Am. Nat. 61: 409–416.
- Stojanova, D., Panov, P., Gjorgjioski, V., Kobler, A., & Džeroski, S. (2010): Estimating vegetation height and canopy cover from remotely sensed data with machine learning. – Ecological Informatics 5(4): 256–266.
- Strengbom J., Englund G., & Ericson L. (2006): Experimental scale and precipitation modify effects of nitrogen addition on a plant pathogen. – Journal of Ecology 94: 227–233.
- Suchara I. (2007): Praktikum vybraných ekologických metod. – Karolinum, Praha.
- Tessman D. J., Dianese J. C., Miranda A. C. & Castro L. H. R. (2001): Epidemiology of a Neotropical rust (*Puccinia psidii*): periodical analysis of the temporal progress in a perennial host (*Syzygium jambos*). – Plant Pathology 50: 725–731.
- Urban Z. & Marková J. (2009): Catalogue of rust fungi of the Czech and Slovak Republics. – Karolinum.
- Verma P., Khan S. A., Mathur A. K., Shanker K., & Kalra A. (2014): Fungal endophytes enhanced the growth and production kinetics of *Vinca minor* hairy roots and cell suspensions grown in bioreactor. – Plant Cell Tissue Organ Cult. 118: 257–268.

Online zdroje

Geologická mapa Slovinska 1 : 100000 (WMS link) <http://pektolit.geo-zs.si/cgi-bin/ogk100-geozs?>

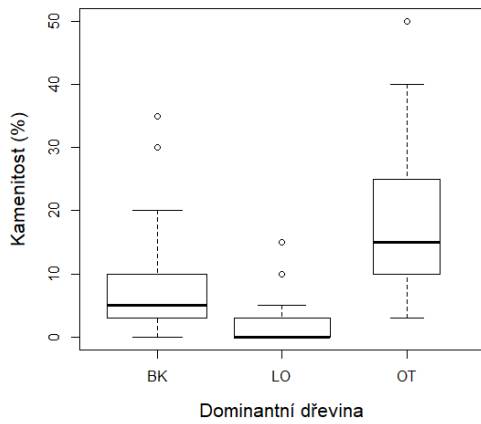
https://meteo.arso.gov.si/uploads/probase/www/climate/table/sl/by_location/bovec/climate-normals_81-10_Bovec.pdf cit. 8. 7. 2019.

http://gis.arso.gov.si/evode/profile.aspx?id=atlas_voda_Lidar@Arso Data stahována v průběhu února a března 2019.

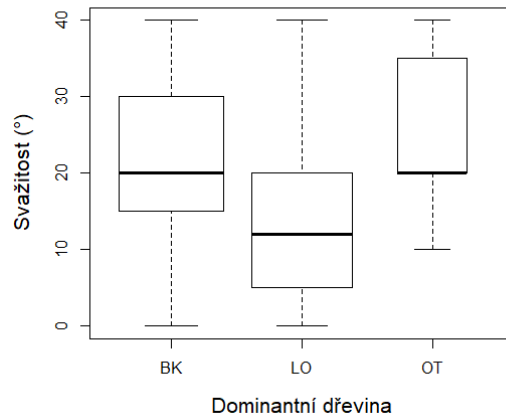
<https://www.indexdatabase.de/db/i-single.php?id=93> cit. 17. 7. 2019.

<https://www.invasiveplantatlas.org/subject.html?sub=3081> cit. 6. 8. 2019.

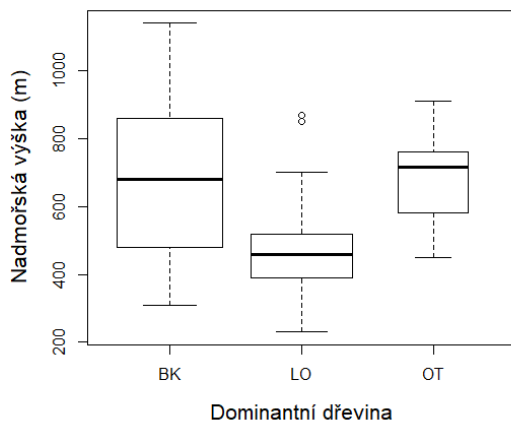
Přílohy



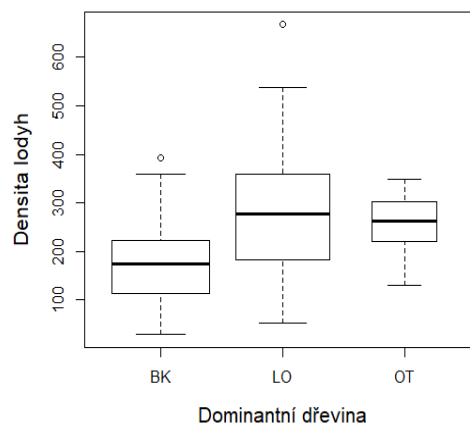
Graf 10: Kamenitost na povrchu půdy (%) podle skupiny dominantní dřeviny.



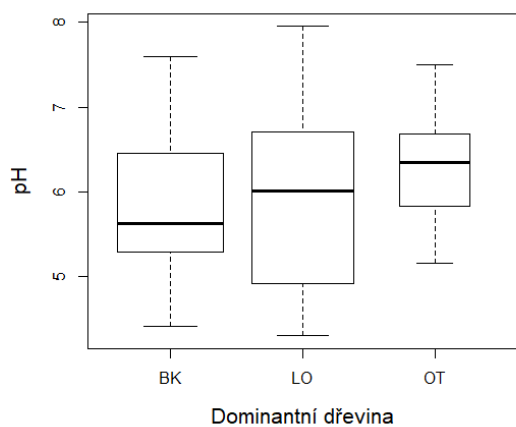
Graf 11: Průměrná svažitost terénu na stanovišti (°) podle skupiny dominantní dřeviny.



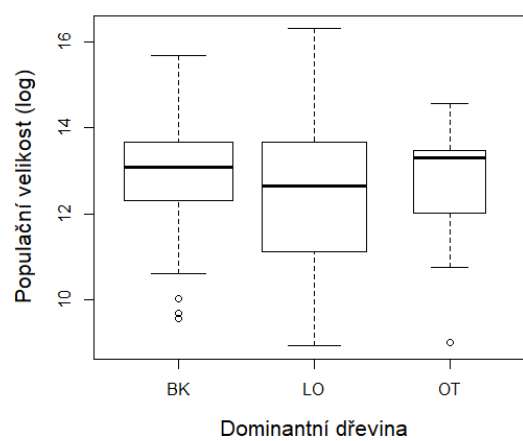
Graf 12: Nadmořská výška (m) podle skupiny dominantní dřeviny.



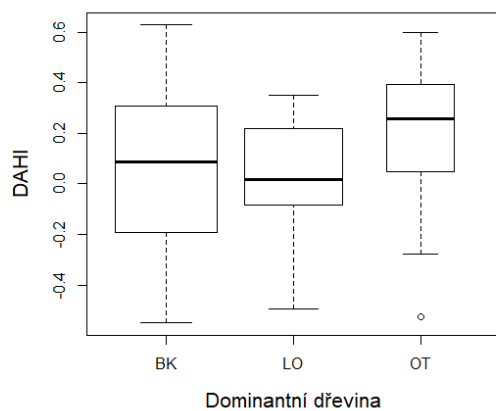
Graf 13: Densita lodyh (ks na 1 m²) podle skupiny dominantní dřeviny.



Graf 14: pH z vodního roztoku substrátu na stanovišti podle skupiny dominantní dřeviny.



Graf 15: Populační velikost (počet lodyh) (přirozené logaritmus) podle skupiny dominantní dřeviny.



Graf 16: Diurnal Anisotropic Heating Index (DAHI) podél skupiny dominantní dřeviny.

Tab. 7: Obsah prvků v sušině listů ze 7 směsných vzorků z vybraných populací *V. minor*. Popis populací viz tab. 8. Obsah prvků byl stanoven v Analytické laboratoři BÚ AV ČR, v.v.i. v Průhonicích, podle metodiky uvedené v Text. příloze 1. Zelenou barvou jsou zvýrazněné nenakažené populace, oranžovou silně nakažená populace a béžovou slabě nakažené populace (prevalence nižší než 10 %) Všechny populace krom vzorku 3K se nacházely ve studovaném území ve Slovinsku. Vzorek 3K pochází z Českého krasu.

Kód vzorku	N %	C %	Ca mg/1000g	K mg/1000g	Mn mg/1000g	Si mg/1000g	P mg/1000g
66	3.77	50.45	9077.92	24417.46	27.85	2481.06	2239.76
1A	2.29	50.39	9142.28	17539.75	26.10	2292.71	1790.54
98	3.49	50.09	7177.32	24599.95	42.91	2168.16	2795.08
52	3.10	52.75	7929.19	24357.55	35.16	1529.44	2401.72
3K	2.55	50.16	9636.55	30891.85	38.43	3186.31	3122.32
72	3.73	49.96	7865.17	27351.94	46.23	1742.79	2568.77
9	2.73	50.65	5417.29	22348.97	25.14	1843.19	1638.77

Tab. 8: Souřadnice a popis populací uvedených v tabulce 7, z nichž byly sebrány vzorky na chemickou analýzu sušiny listů.

Kód	popis	Souřadnice WGS 84
66	Populace 66 - Čezsoča, Suťový les, zdravá	46.31653N, 13.52576E
1A	Bovec, xerothermí les, jižní svah, silně nakažená	46.34271N, 13.53842E
98	Populce 98 - Kobarid, habřina, nakažená	46.25249N, 13.58708E
52	Populace 52 -Bovec, Ostrya, Corylus, nakažená	46.33947N, 13.54034E
3K	Český kras, poblíž Bubovic, staré smetiště, nakažená	49.97060N, 14.15444E
72	Populace 72 - Kobarid, Deluviální půda, jasan, habr, lípa, zdravá	46.26017N, 13.59877E
9	Populace 9 - Čezsoča, u řeky, smrk, líska, mírně nakažená	46.32114N, 13.56215E

Text. příloha 1: Metodika stanovení obsahu prvků v sušině listů, uvedených v tab.7 zdroj: Analytická laboratoř BÚ AVČR, v.v.i. Průhonice.

Metodika elementární analýzy N C:

Vysušený vzorek rostlinné biomasy, zhomogenizovaný a umletý na velikost částic < 0,1mm, se navažuje do cínových nádobek specializovaných pro použitý přístroj (navážka 10-30 mg, podle předpokládaných obsahů prvků) a automatickým dávkovačem se aplikuje do spalovací trubice analyzátoru FLASH 2000 Thermo Scientific. Zde se vzorek spálí v proudu čistého kyslíku při teplotě 1000°C, v přítomnosti oxidu chromitého jako katalyzátoru. Vzniklé oxidy uhlíku a dusíku jsou po průchodu spalovací trubicí vedeny redukční trubicí (800°C, náplň Cu) do sušící kolony, kde se oddělí vlhkost. Dále plyny putují přes separační kolonu do vodivostního detektoru, kde je stanovován obsah uhlíku a dusíku. Pro vyhodnocení signálu se používá software EagerSmart fy Thermo Fisher Scientific. Jako nosný plyn slouží helium.

Literatura:

Instalation Manual NA 2500 Elemental Analyzers CE Instruments, 1998

I. Monar : Mikrochimica Acta, 1972, p. 784, Analyseautomat zur simultanen Mikrobestimmung von C, H und N.

F. Ehrenberger, S.Gorbach: Methoden der organischen Elementar- und Spurenanalyse, Verlag Chemie, Weinheim, 1973.

Stanovení celkového obsahu prvků v biomase:

Vzorek rostlinné biomasy (umletý na velikost částic pod 0,1 mm) je po vysušení při 60 °C mineralizován na mokré cestě (při navážce cca 0,5g: 4ml konc. HNO₃ p.a. a 2 ml 30% H₂O₂ p.a.) v mikrovlonné mineralizační jednotce Milestone Standard 1200. Pro stanovení křemíku je provedena nová mineralizace (při navážce cca 0,1 g: 7 ml 65% HNO₃ p.a., 1 ml 40% HF p.a. a 1 ml 30% H₂O₂ p.a.).

Po vakuové filtraci se stanovení fosforu provádí fotometrickou metodou podle Olsena založenou na reakci fosforečnanů s molybdenanem amonným při použití reakční směsi s kyselinou sírovou, kyselinou askorbovou a vinanem antimonylo-draselným. Absorbance vzniklého modrého zbarvení je měřena UV-vis spektrofometrem UV-400 Unicam při 630 nm.

Obsah vápníku se stanovuje ze stejného mineralizátu metodou absorpční atomové spektrometrie v prostředí kyseliny sírové a chloridu lantanitého pro eliminaci vlivu fosforečnanů a síranů. Obsah draslíku, manganu a křemíku je stanovován metodou AAS spektrometrie z původního mineralizátu.

K analýzám v oblasti atomové spektrometrie je používán AAS Spektrometer ContrAA 700 firmy Analytik Jena, v režimu plamene C₂H₂-vzduch, pro vápník a křemík v režimu plamene C₂H₂-N₂O.

Literatura:

Kolektiv autorů: Analýza rostlinného materiálu, Jednotné pracovní postupy, ÚKZÚZ Brno, 2014

Přehled vyzkoušených mikrovlnných tlakových rozkladů na zařízení Milestone, Chromspec s.r.o., 1994

Methods in Plant Ecology, ed. Moore P.D. Chaoman S.B., Oxford, 1986

Aspect CS software pro AA spektrometr s kontinuálním zdrojem, Analytik Jena, 2007

Provozní příručka pro AA spektrometr s kontinuálním zdrojem, Analytik Jena, 2005

Tab.9: Seznam populací, ve kterých probíhal sběr dat.

Číslo	Latitude	Longitude	Rez	Prevalence	Plocha populace (ar)
1	46.34643	13.53700	ANO	0.266	40
2	46.34517	13.54041	ANO	0.080	60
3	46.34442	13.53957	ANO	0.143	0.5
4	46.32364	13.54068	NE	0.000	0.5
5	46.31982	13.53063	NE	0.000	24
6	46.32020	13.56134	NE	0.000	4
7	46.31945	13.56140	ANO	0.028	66
8	46.32162	13.56502	NE	0.000	48
9	46.32137	13.56205	ANO	0.077	25
10	46.33351	13.56769	ANO	0.011	1
11	46.33412	13.56816	NE	0.000	0.6
12	46.33684	13.56937	ANO	0.063	300
13	46.33565	13.56883	ANO	0.116	300
14	46.31691	13.56222	ANO	0.054	50
15	46.31506	13.56562	NE	0.000	32
16	46.31364	13.56671	ANO	0.093	15
17	46.30915	13.59263	NE	0.000	3
18	46.30952	13.59073	NE	0.000	160
19	46.31378	13.57757	ANO	0.216	56
20	46.31497	13.56461	ANO	0.049	24
21	46.31320	13.56923	NE	0.000	16
22	46.31241	13.57462	ANO	0.004	20
23	46.31107	13.57842	ANO	0.139	25
24	46.31843	13.56042	ANO	0.030	25
25	46.31479	13.56137	ANO	0.118	60
26	46.31204	13.56097	ANO	0.005	500
27	46.31152	13.55782	ANO	0.005	500

28	46.32040	13.57465	ANO	0.002	150
29	46.32040	13.57925	NE	0.000	80
30	46.32521	13.58713	NE	0.000	56
31	46.32375	13.58307	ANO	0.018	56
32	46.34715	13.54616	ANO	0.311	9
33	46.34709	13.54852	ANO	0.397	8
34	46.34390	13.55151	ANO	0.012	20
35	46.33761	13.49824	ANO	0.010	60
36	46.33689	13.49611	NE	0.000	65
37	46.33609	13.49449	ANO	0.040	25
38	46.34778	13.55429	ANO	0.213	18
39	46.34937	13.55562	ANO	0.341	100
40	46.34709	13.55265	ANO	0.068	9
41	46.31681	13.52254	NE	0.000	40
42	46.33289	13.58956	NE	0.000	2
43	46.33281	13.59494	NE	0.000	95
44	46.33490	13.59991	ANO	0.016	250
45	46.34608	13.59766	NE	0.000	8
46	46.34739	13.59883	NE	0.000	100
47	46.34690	13.59621	ANO	0.088	30
48	46.34592	13.59285	ANO	0.002	25
49	46.34470	13.59368	ANO	0.005	16
50	46.34387	13.58913	ANO	0.003	14
51	46.33815	13.54160	NE	0.000	3
52	46.34010	13.53943	ANO	0.089	40
53	46.33805	13.52639	NE	0.000	0.2
54	46.33888	13.52875	ANO	0.027	9
55	46.33519	13.51328	ANO	0.134	15
56	46.33214	13.51573	ANO	0.072	18
57	46.33452	13.50982	ANO	0.102	28
58	46.33441	13.49812	ANO	0.006	12
59	46.33565	13.49905	ANO	0.035	24
60	46.33803	13.50783	ANO	0.244	60
61	46.34238	13.51326	ANO	0.221	32
62	46.33470	13.52867	ANO	0.006	6
63	46.34975	13.57702	ANO	0.023	6
64	46.31344	13.53992	NE	0.000	5
65	46.31410	13.53567	NE	0.000	140
66	46.31635	13.52730	NE	0.000	1
67	46.25719	13.58842	ANO	0.003	3
68	46.25632	13.58886	ANO	0.088	6
69	46.25518	13.59044	ANO	0.045	5
70	46.25763	13.59684	ANO	0.011	9
71	46.25861	13.59694	ANO	0.047	15
72	46.25994	13.59931	NE	0.000	1
73	46.26123	13.59947	ANO	0.048	2

74	46.26932	13.58982	ANO	0.328	24
75	46.27110	13.59025	ANO	0.126	24
76	46.27240	13.58872	ANO	0.240	66
77	46.27551	13.59054	ANO	0.182	4
78	46.27737	13.58838	ANO	0.195	36
79	46.27914	13.58471	ANO	0.112	16
80	46.28125	13.58366	ANO	0.165	24
81	46.27623	13.61962	ANO	0.083	24
82	46.27631	13.62889	ANO	0.062	100
83	46.27140	13.63399	ANO	0.002	3
84	46.27076	13.63111	ANO	0.072	36
85	46.27089	13.62715	ANO	0.017	25
86	46.27260	13.62347	NE	0.000	1.5
87	46.24015	13.61274	ANO	0.083	24
88	46.24050	13.57203	NE	0.000	2
89	46.23596	13.57707	NE	0.000	90
90	46.23284	13.57335	NE	0.000	5
91	46.22762	13.56842	NE	0.000	6
92	46.25138	13.57797	ANO	0.087	225
93	46.25197	13.57550	ANO	0.003	7
95	46.25880	13.56140	NE	0.000	48
96	46.25895	13.56264	ANO	0.004	4
97	46.26239	13.56676	ANO	0.003	10
98	46.25251	13.58752	ANO	0.072	40