

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Přírodovědecká fakulta**

**Reprodukční biologie *Achillea millefolium* agg.
a *Achillea ptarmica* v lučních a lemových
společenstvech**

Diplomová práce

Bc. Pavla Tomšová

Školitelka: RNDr. Jana Jersáková, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Zdeněk Janovský

České Budějovice 2013

Tomšová P., 2013: Reprodukční biologie *Achillea millefolium* agg. a *Achillea ptarmica* v lučních a lemových společenstvech. [Reproduction of *Achillea millefolium* agg. and *Achillea ptarmica* in meadows and verges] - 49 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Annotation:

Several changes in land use during the last 50 years of 20th century had a significant impact on the composition of traditional meadows. The abundance of many plant species typical for traditionally managed meadows has declined. But some of these species have found a refuge in habitats such as field margins and road verges. The aim of this study was to describe how the reproduction success of two related *Achillea* species *A. millefolium* agg. and *A. ptarmica* depends on (i) the particular habitat in which they grow (meadow/verge); (ii) the abundance of pollinators in the study site; and (iii) timing of flowering within the season. Moreover, the longevity of individual flowers of the two taxa has been studied in order to assess the width of the time frame the reproduction takes place in. These objectives were achieved by means of measuring plant total seed production and germination as proxies of reproductive success both in meadow and verge populations at the beginning, peak and end of the flowering season of the two species in 2012. The plants were chosen at plots, where concurrently a pollinator survey has been conducted as the part of the broader project. The durations of the male and female phases of individual flowers have been studied in separate experiments.

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracoval/a samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 26. 4. 2013.

Pavla Tomšová

Poděkování:

Na tomto místě bych ráda poděkovala své školitelce a svému konzultantovi za odborné vedení a pomoc, bez které by tato práce nemohla vzniknout. Ráda bych také poděkovala Petrovi Kouteckému za pomoc při cytometrických analýzách. Dále Anežce Pavlíkové za poskytnutí kamerových dat a Stanislavovi Vosolsobě za poskytnutí fotografie. Dík patří také všem, kteří se aktivně účastnili projektu Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze zaměřenému na roli opylovačů (především pestřenek) v kulturní krajině, a tím přispěli k získání dat z terénu. Všem děkuji za trpělivost a podporu.

Obsah

1	Úvod	2
1.1	Studované druhy rodu <i>Achillea</i> sp.....	5
1.2	Květní ekologie řebříčků	7
2	Cíle práce	9
3	Metodika	10
3.1	Opylovači v kulturní krajině – zasazení DP do celého projektu	10
3.2	Studované území	10
3.3	Řebříčky ve studovaném území.....	11
3.4	Sběr dat.....	12
3.4.1	Produkce semen a klíčící pokus	12
3.4.2	Cytometrie	14
3.4.3	Uvolňování pylu v průběhu dne	19
3.4.4	Receptivita blizen	20
3.5	Zpracování výsledků.....	21
3.5.1	Produkce semen a klíčící pokus	21
3.5.2	Uvolňování pylu	23
3.5.3	Receptivita blizen	23
4	Výsledky	24
4.1	Produkce semen a klíčící pokus	24
4.2	Uvolňování pylu	31
4.3	Receptivita blizen	31
5	Diskuze	36
6	Závěr	41
7	Seznam použité literatury	42
8	Příloha	46
8.1	Dílčí výsledky path analysis	46
8.2	Dílčí výsledky produkce pylu a receptivity blizen	48

1 Úvod

Ve druhé polovině 19. století začalo v České republice docházet k výrazným změnám v zemědělství a v obhospodařování krajiny. Do té doby tradiční zemědělské praktiky byly potlačeny a začalo docházet ke scelování pozemků, rozorávání mezí a likvidaci remízků. Pomocí těžké techniky docházelo i k upravování reliéfu krajiny. Byla tak vytvořena obrovská plocha zemědělské půdy a tradičně obhospodařované travní porosty postupně mizely z naší krajiny (Černá et al. 2007). Díky těmto intenzivním praktikám se v zemědělské krajině snižovala početnost spousty druhů rostlin a živočichů (Blomqvist et al. 2006, Öckinger & Smith 2003, Osgathorpe et al. 2012).

V posledních dvaceti letech je patrná snaha o zlepšení. Po vstupu České republiky do Evropské unie přijala ČR mimo jiné i celoevropská Agroenvironmentální opatření (dále jen AEO), která se snaží podporovat hospodaření v zemědělské krajině, které je v souladu s ochranou přírody a zlepšováním životního prostředí. Do plnění AEO se může dobrovolně přihlásit kdokoli, ale musí následně plnit stanovené podmínky programu po dobu pěti let (Černá et al. 2007). Termín pěti let je stanoven proto, že AEO jsou prvotně zaměřeny na rostlinné druhy (Humbert et al. 2012), a proto se neprojeví hned následující sezonu. Z hlediska polopřirozených biotopů AEO rozlišují louky a pastviny a v jejich rámci několik dílčích variant. Z pohledu zaměření mé diplomové práce jsou důležitá pravidla dotací pro mezofilní a vlhkomilné louky (dále MVL), která zahrnují tři varianty, hnojené MVL, nehnojené MVL a MVL s neposečenými pásy. Termíny sečí jsou pro všechny varianty stejné, a to ve stanovených termínech uvedených v registru půdních bloků LPIS (Land Parcel Identificatin System): první seč do 31.7. (pro pastviny), do 30.6. (pro louky) nebo od 15. 7. do 31. 8. (pro horské louky), druhá seč do 31.10. (Černá et al. 2007).

Snaha AEO o zlepšení stavu krajiny má však i svá negativa. Zemědělci musí striktně dodržovat termíny sečí, aby mohli žádat o vyplacení dotací. V České republice stále přetrvává trend, kdy zemědělskou půdu obhospodařuje malé množství velkých vlastníků (firmy, družstva). Zemědělci přizpůsobují termíny sečí nejen počasí ale také ekonomickým faktorům. Převládá tak snaha o posekání co největší plochy v co nejkratším čase, aby se snížily náklady na práci a na přejezdy techniky. Tím se stane, že je většina luk v daném území posekána přibližně ve stejnou dobu. Plošné seče snižují potravní nabídku pro hmyz a stroje mohou také usmrtit množství individuí (Humbert et al. 2012). V důsledky plošných sečí nemohou mnohé druhy rostlin odplodit a diverzita druhů postupně klesá. Proto se

původní, dosud druhově bohatá luční společenstva stala nejen v Čechách ale i v celé Evropě předmětem ochrany (Kiviniemi & Eriksson 1999, Norderhaug 2000).

Za zbytkové populace, které se podobají původním lučním společenstvům, lze v našich podmínkách považovat okraje luk, polí, lesů, cest a silnic, příkopy, meze, remízky, břehy vodních toků a vodních ploch (dále pod souhrnným názvem lemy). Tyto biotopy jsou většinou liniového charakteru. Vznikaly nejčastěji v souvislosti se zintenzivňováním obhospodařování krajiny a souvisejícím budováním silnic a cest, podél nichž se lemy postupně utvářely, a poskytly tak náhradní biotopy druhům z mizejících luk (Norderhaug et al. 2000). Mnohé lemy jsou v čase poměrně stabilní, např. ve Švédsku bylo možné datovat některé lemy dokonce až do přelomu 17. a 18. století (Cousins & Eriksson 2001). Ačkoliv jsou lemové biotopy důležitými prvky v krajině, neexistuje pro ně v Čechách organizovaný management, narozdíl od jiných evropských zemí jako jsou např. Švédsko (Kiviniemi & Eriksson 1999), Velká Británie (Parr & Way 1988), Holandsko (Raemakers et al. 2001, Sýkora et al. 2002). Jediným organizovaným managementem u nás je sečení okrajů silnic v průběhu léta kvůli bezpečnosti silničního provozu, podobně jako ve Švédsku (Kiviniemi & Eriksson 1999). V některých oblastech se lemy u polí sečou po dokončení sklizně, lemy polních cest se sečou nepravidelně, a to většinou v případě, že už vegetace zasahuje příliš do cesty.

Zvýšená pozornost je v posledních letech lemovým společenstvům věnována proto, že řada studií poukazuje na skutečnost, že se v nich často zachovalo druhové složení původních lučních společenstev (Cousins & Eriksson 2001, Smart et al. 2006, Koyanagi et al. 2012), mimo jiné proto, že lemová společenstva nebyla podrobena tak výrazné intenzifikaci zemědělství (Blomqvist et al. 2003, Koyanagi et al. 2012). Lemy tak mohou sloužit jako refugia pro ubývající druhy rostlin typické pro původní luční společenstva (Kiviniemi & Eriksson 1999, Blomqvist et al. 2003, Smart et al. 2006, Jacot et al. 2012). Klasická luční společenstva lemy však plně nahradit nemohou, protože mají jinou historii a jiné stanovištní podmínky než louky (Norderhaug et al. 2000). Mohou však, za předpokladu že budou udržovány a řádně obhospodařovány, sloužit jako zdroje diaspor pro obnovení tradičních lučních společenstev (Cousins & Eriksson 2001, Auestad et al. 2010, Koyanagi et al. 2012). Takto udržované lemy mohou následně sloužit jako biokoridory tvořící síť mezi ostatními lemy, loukami a fragmenty původních luk, pomocí které mohou opylovači mezi jednotlivými prvky migrovat.

Dnešní krajina se skládá z mnoha velkých souvislých lesních či zemědělských ploch. Rozloha lemů je v tomto prostředí malá. Lemy jsou v krajině často izolované obklopené

rozsáhlými biotopy nevhodnými pro distribuci semen, což může představovat problém při jejich využití lemů jako zdroje diaspor (Blomqvist et al. 2003). Rostlinné druhy žijící v malých izolovaných populacích, ať už se jedná o lemy nebo o malé fragmenty původních luk, jsou vystaveny riziku Alleeho efektu, především pokud se jedná o zdroje pylu (Ågren 1996). Omezené zdroje pylu v malých populacích vedou ke snížené tvorbě semen (Ågren 1996, Steffan-Dewenter & Tscharntke 1999). Následně dochází k poklesu potenciálu rostliny rozšířit se dále do okolí. Rostliny se sice mohou rozmnožovat i klonálně, ale to pouze v rámci daného (typicky malého) fragmentu. Klonální rozmnožování může také vést ke snižování diverzity. Druhy, které se klonálně rozmnožují velmi dobře, mohou v kompetici vykonkurovat ty, které nemají klonální růst tak rychlý. Z některých dnes běžných druhů by se tak mohly stát druhy ohrožené (Blomqvist et al. 2003).

Z výše uvedeného vyplývá význam pohlavního rozmnožování a následné tvorby semen pro udržení diverzity rostlin v kulturní krajině. Pohlavní rozmnožování většiny zájmových druhů rostlin je však závislé na přítomnosti opylovačů, především hmyzu (Steffan-Dewenter & Tscharntke 1999). Rostliny zase slouží hmyzu jako úkryt, zdroj potravy (pyl, nektar) či prostředí pro rozmnožování. Opylovači si v krajině vybírají louky hlavně podle toho, jak velká je na nich hustota květů preferovaného druhu rostliny (Weiner et al. 2011). Čím je hustota květů větší, tím déle se opylovač v porostu zdrží a navštíví více květů (Hegland & Boeke 2006). Dalším faktorem, který ovlivňuje výběr, je diverzita rostlin na ploše (Lázaro & Totland 2010). A v neposlední řadě ovlivňují výběr samotné rostliny. Ty s velkými a nápadnými květy, květenstvími přilákají více opylovačů (Andersson 1991, Celedón-Neghme 2007). Pokud je na květech, květenstvích dostatek potravy (pyl, nektar), tak se na nich opylovač i déle zdrží (Andersson 1991).

Jestliže se však v důsledku intenzivního hospodaření v kulturní krajině zmenšují původní biotopy a ubývá druhů rostlin, dochází tak následně i k úbytku druhů hmyzu (Franzén & Nilsson 2008, Öckinger et al. 2012, Osgathorpe et al. 2012). Plošné seče luk tak ovlivňují i hustotu a spektrum opylovačů v krajině (Weiner et al. 2011). Opylovači se v době seči musí stahovat do jiných, náhradních, rostlinných biotopů, kde se stále nachází vegetace poskytující potravu a úkryt (Franzén & Nilsson 2008, Hopwood 2008). Těmito biotopy jsou především právě lemy, které tedy mohou sloužit jako refugia nejen pro rostliny, ale i pro opylovače. Lemy by měly být v blízkosti všech intenzivně obhospodařovaných luk, aby byly hmyzu dobře dostupné (Flick et al. 2012). Některé druhy opylovačů, jako například samotářské včely, nejsou schopny migrace na velkou vzdálenost, protože si staví hnízda, do kterých se musí vracet, a nedostanou se tak do vzdálenějších lemů (Jauker et al. 2009).

Pestřenky jsou příkladem opylovačů schopných uletět velké vzdálenosti (až několik set metrů; Jauker et al. 2009), ale jen v otevřené krajině. Husté lesní porosty pro ně představují velkou migrační bariéru (Öckinger et al. 2012), i když lesní průseky mohou tuto bariéru zmírnit (Berg et al. 2011). Tyto rozdíly v mobilitě opylovačů ve vztahu ke struktuře krajiny tak vedou k odlišným poměrům jednotlivých skupin opylovačů na loukách a v izolovaných lemech (Jauker et al. 2009).

Spektrum opylovačů se v průběhu času v krajině mění (Weiner et al. 2011). Pro rostliny, jejichž reprodukční biologie je na přítomnosti opylovačů závislá, je tedy důležité, kdy v sezoně vykvetou (Tsaliki & Diekmann 2011), kdy produkují nejvíce pylu a kdy mají nejvíce receptivní blizny.

Zatímco většina studií zabývajících se dopady různých typů stanovišť a dostupnosti opylovačů se soustředí na druhy vzácné nebo jinak výjimečné (např. Ågren 1996, Jersáková et al. 2010, Johnson 2000), dopadům na běžné druhy se věnovalo mnohem méně pozornosti. Přitom reakce běžných druhů nám přinášejí v mnoha ohledech cennější informace, protože popisují situace běžné v kulturní krajině, umožňují detekovat působení i slabších efektů (díky snazšímu sběru velkého množství dat) a v neposlední řadě díky dostatečnému množství datových bodů mohou poskytovat vypovídající obrázek o relativních vlivech různých skupin faktorů (typ stanoviště, načasování v rámci sezóny, početnost opylovačů, druh rostliny atd.). Jako modelové druhy jsem si z výše jmenovaného důvodu vybrala řebříčky, a to konkrétně běžně se vyskytující *Achillea ptarmica* a *A. millefolium* agg., jejichž reprodukční biologii jsem zkoumala ve více méně typické české kulturní krajině středních Čech.

1.1 Studované druhy rodu *Achillea* sp.

Rod *Achillea* sp. z čeledi Asteraceae zahrnuje asi 130 druhů rostlin s centrem rozšíření v jihovýchodní Evropě a jihozápadní Asii. Všechny jsou vytrvalé allogamní byliny, jejichž fylogenetická struktura je poměrně složitá, a to především díky vysoké míře hybridizace a vzniku taxonů polyploidizací (Guo et al. 2004). Zkoumané druhy *Achillea millefolium* agg. a *Achillea ptarmica* si jsou v rámci rodu fylogeneticky poměrně vzdálené (tady asi ten odkaz na stromeček?). *A. millefolium* agg. je poměrně rozsáhlý polyploidní komplex, jehož zástupci mezi sebou snadno hybridizují (Allison 2002, Guo et al. 2004). Naproti tomu sekce *Ptarmica* se dělí do dvou dobře odlišených skupin. Na vlhkomilné rostliny podsekce *Ptarmica* s.s. s rozšířením na severní polokouli a na horské druhy

podsekce *Anthemoideae* (Guo et al. 2004). Na území ČR se k *A. ptarmica* s.s. nevyskytují žádné další blízké příbuzné druhy.

V České republice zahrnuje *Achillea millefolium* agg. 7 druhů (Kubát et al. 2002), z nichž obecně hojně a v zájmovém území potenciálně se vyskytující jsou *A. millefolium* s. str. ($2n = 54$), *A. pratensis* ($2n = 36$) a *A. collina* ($2n = 36$) (Kubát et al. 2002). Tyto druhy agregátu se nejčastěji vyskytují na dvou typech stanoviště, na mezofilních loukách a pastvinách a na ruderálních stanovištích (Chytrý 2007). Na mezofilních loukách a pastvinách rostou především na suchých až mírně vlhkých loukách svazu Arrhenatherion. Dále je můžeme hojně nalézt na pastvinách svazu Cynosurion, ale pouze tam, kde nejsou zatíženy nadměrným sešlapem. Na mokřích loukách svazů Calthion, Molinion, Deschampsion caespitosae se příliš nevyskytují, pokud ano je to na místech, která nejsou tolik zaplavovaná a kde je hladina podzemní vody nižší. Druhým typem společenstev, kde se tyto tři nejhojnější druhy vyskytují ve větší míře, jsou ruderální stanoviště s přesahem na suché trávníky (Bromion) a do subhalofilní vegetace (Juncion gerardii). Často je můžeme najít na okrajích polí, cest a silnic, na opuštěných polích a na celé řadě antropogenních stanovišť (třídy Stelarietea mediae a především Artemisieteae vulgaris). Některé méně hojně druhy *A. millefolium* agg. se mohou vyskytovat i na skalkách a v subalpínské vysokobylinné vegetaci. Druh *Achillea ptarmica* se roztroušeně vyskytuje ve svazu Calthion. Více ho můžeme nalézt tam, kde je oceaničtější klima (Chytrý 2007). Po opuštění těchto mokřích luk, začíná druh ustupovat Chytrý (2007).

Oba studované druhy jsou vytrvalé, polykarpické, oddenkaté byliny (Slavík 2004). Kořeny *A. millefolium* agg. jsou silnější blízko půdního povrchu, na ně navazují kořeny jemnější, které pronikají hlouběji do půdy (Eriksson 2001) a vykazují selektivní růst k místům, kde je větší koncentrace živin (Jansen 2005). Proto také může tento druh obývat chudší a sušší biotopy. Přílišné zaplavení *A. millefolium* agg. netoleruje (Vervuren 2003). Může například dojít k tlení kořenové soustavy (Jansen 2005). *A. ptarmica* je naopak druh, jehož kořeny selektivitu ve směru vyšší koncentrace živin nevykazují a který lépe toleruje zaplavení, proto ho můžeme nalézt na vlhčích místech, kde je díky dostatku vody tok živin v půdě vyšší a kde jsou živiny rozloženy rovnoměrněji (Jansen 2005). Dostupnost vody a živin ovlivňuje celou řadu vlastností rostlin, například jejich morfologii. Lambrecht a Dawson (2007) poukazují na fakt, že na vlhčích stanovištích mají rostliny větší listy a i větší květenství.

Semena rodu *Achillea* sp. jsou nažky. U *A. ptarmica* dosahují velikosti 2 mm na délku a 1 mm na šířku, u *A. millefolium* jsou menší, kolem 1 mm délky a 0,5 mm šířky

(Slavík 2004). Semena *A. millefolium* agg. klíčí velmi dobře na vlhkém substrátu při vyšších teplotách (okolo 20°C), při střídání temné a světelné periody a střídání teplot (Oomes & Elbese 1976, Zhang et al. 1996, Robocker 1977). Nejvhodnější podmínky pro klíčení *A. ptarmica* se zatím netestovaly.

Kromě standardních asimilátů produkují rostliny rodu *Achillea* sp. i sekundární metabolity (Saeidnia 2011), jedná se především o flavonoidní látky (Ivancheva 2002). Ivancheva (2002) provedla srovnání obsahových látek *A. millefolium* agg. a *A. ptarmica*. Z jejích výsledků vyplývá, že tyto druhy produkují stejné sekundární metabolity. Rozdíl je především v tom v jakém množství. *A. millefolium* agg. obsahuje větší množství quercetinu, chrysosphenolu-D, artementinu, jejichž obsah v rostlině se v rámci agregátu také může lišit. *A. ptarmica* obsahuje více luteolinu, 3-methylbetuletolu a centaauridinu.

S obsahovými látkami také souvisí obrana před herbivory. Jedním z druhů napadajících listy *A. millefolium* agg. je mandelinka *Galeruca tanacetii*. Velké množství larev může začátkem vegetační sezony výrazně poškodit ještě malé rostliny *A. millefolium*. Listy řebříčku se pak živí i dospělí jedinci *Galeruca tanacetii* (Obermaier & Zwölfer 1999). Rostliny *A. millefolium* agg. napadají i semenožraví herbivoři. Množství semenožravých herbivorů závisí na počtu úborů a jejich velikosti. Rostliny s proporčně menšími květy i celými koncovými květenstvími byly napadány méně (Fenner et al. 2002).

U druhu *Achillea ptarmica* byla v roce 2002 zjištěna arbuskulární mykorrhiza (Eriksen et al. 2002). U druhu *Achillea millefolium* byla zkoumána už dříve a prokázalo se, že mu tato symbióza napomáhá k efektivnějšímu šíření (Eriksson 2001). Ne všechny houby pomáhají rostlinám v příjmu živin. V Polsku byla v roce 2004 nalezena houba *Schizothyrium ptarmicae*, která parazituje na listech *Achillea ptarmica* (Adamska 2004).

1.2 Květní ekologie řebříčků

Květenství obou zkoumaných druhů řebříčků jsou chocholíky složené z úborů. Úbory *Achillea millefolium* agg. jsou drobné, uspořádané v chocholičnaté latě. Okrajových jazykovitých květů je zpravidla 5 s lingulou bílou až sytě růžovou (Slavík et al. 2004). Úbory *Achillea ptarmica* mají v průměru 12 - 17 mm a jsou uspořádány v chocholičnaté latě po 5 - 36. Okrajové květy mají lingulu bílou a zpravidla jich je 8 - 13. Řebříčky jsou autoinkompatibilní rostliny (Andersson 1991).

Díky výše zmíněným vlastnostem disponují řebříčky relativně velkou plochou k lákání opylovačů. Mezi klasické návštěvníky květů zkoumaných druhů patří pestřenky,

keré se řebříčkovým pylem živí a při té příležitosti rostliny i opylují (Fründ 2010, Andersson 1991). Andersson (1991) ve svém experimentu prokázal, že opylovači častěji navštěvují rostliny s větším počtem úborů. Tento poznatek se shoduje například s experimentem, který byl proveden na rostlině *Madia sativa*, taktéž z čeledi Asteraceae (Celedón-Neghme 2007). Také počet jednotlivých úborů, které opylovač na těchto rostlinách navštíví, stoupá se vzrůstající velikostí květenství. Vysoká návštěvnost květů však měla i lehce nepříznivý vliv na opylení. Hmyz totiž během svého pohybu na květech narazí i na receptivní blizny a může z nich buď odstranit kompatibilní pylová zrna (z jiné rostliny) a nebo na ně přenést pyl z rostliny mateřské (Andersson 1991, Celedón-Neghme 2007).

Ve výše zmíněných experimentech ještě Andersson (1991, 1999) zjistil, že velikost květenství u *A. ptarmica* ovlivňuje také z velké části produkci pylu. Rostliny s menší plochou květenství byly o 50% méně navštěvovány, a tudíž pravděpodobně měly i nižší samčí složku fitness spojenou s přenosem pylu na opylovačích na jiné jedince. Samičí funkce květu (tvorba vajíčka) nebyla v tak velké míře ovlivněna. Ačkoli není tvorba samičích reprodukčních orgánů ovlivněna velikostí úboru, ne ve všech květech *A. ptarmica* se vyvinou životaschopná semena (Andersson 1993). Každý květ tohoto druhu (stejně jako u celé čeledi Asteraceae) má pouze jeden semeník, který nese jediné vajíčko, v průběhu opylovacího procesu a dalšího vývoje semene dochází u *A. ptarmica* k relativně vysoké abortivitě semen (Andersson 1993). Andersson (1993) zajímalo, zda je aborce semen u *A. ptarmica* selektivní. Vycházel z předpokladu, že spousta rostlin vytváří mnohem více vaječných buněk než kolik jich pak dozraje v životaschopná semena. Pokud by aborce byla nenáhodná, pak by to poukazovalo na schopnost druhu selektivně vybrat semena vyšší kvality. Andersson (1993) však zjistil, že aborce semen u *A. ptarmica* je spíše řízena geneticky a nezakládá se na kvalitě dozrávajícího semene.

Doba kvetení *A. millefolium* agg trvá od června do října, u *Achillea ptarmica* se uvádí doba kvetení od června do září (Kubát et al. 2002). *A. millefolium* agg. je dlouhodobní druh. Na dlouhém dni vytváří rostlina více květenství a je celkově vyšší (Zhang 1996). Jednotlivé květy *Achillea millefolium* agg. rozkvétají postupně během celé vegetační sezóny až do prvních sněhových přeháněk (Johnston & Pickering 2006). Fenologie kvetení tohoto agregátu je závislá na nadmořské výšce a na typu společenstva, ve kterém se jedinec nachází. Ve vyšších nadmořských výškách je doba kvetení řebříčku kratší než v nižších polohách a větší květenství tvoří na antropogenních stanovištích (Johnston & Pickering 2006).

2 Cíle práce

Ve své diplomové práci jsem se zaměřila na to, jak závisí reprodukční biologie dvou druhů řebříčku (*Achillea millefolium* agg., *Achillea ptarmica*) na jejich stanovišti výskytu v kulturní krajině (lem/louka) a na početnosti opylovačů, vyskytujících se na bodě v době jejich kvetení. Kromě vlastního načasování kvetení je pro rostliny podstatná i délka jeho trvání, a to jednak z pohledu postupného rozkvétání květenství, tak i délce trvání samčí a samičí fáze kvetení jednotlivých květů. Problematicke průběhu kvetení u *A. millefolium* agg. a *A. ptarmica* jsem se věnovala v další části diplomové práce.

Soustředila jsem se na tyto konkrétní otázky:

- 1) Liší se reprodukční úspěšnost řebříčků v závislosti na typu populace (luční × lemová) a na načasování kvetení v rámci sezony (začátek × vrchol × konec)?
- 2) Jak se liší reprodukční biologie jednotlivých druhů řebříčků *A. millefolium* a *A. ptarmica* na stejných typech stanoviště (luční a lemová)?
- 3) Jak dlouho probíhá vlastní kvetení u *A. millefolium* a *A. ptarmica*?

K zodpovězení prvních dvou otázek jsem provedla měření rostlin v terénu. Měřila jsem výšku rostlin a velikost jejich květenství. Následně jsem provedla klíčící pokus. Za indikátory určující reprodukční úspěšnosti jsem považovala celkovou produkci semen a jejich klíčivost. Ke zjištění hustoty opylovačů v krajině jsem využila data z projektu Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze, který je zaměřen na roli opylovačů (především pestřenek) v kulturní krajině, jehož je diplomová práce součástí.

K zodpovězení třetí otázky jsem provedla terénní pozorování, kdy jsem zjišťovala, jak dlouho rostliny uvolňují pyl a jak dlouho mají receptivní blizny. Uvolňování pylu jsem pozorovala pomocí lupy přímo na rostlinách. Receptivitu blizen jsem zkoumala pomocí roztoku indikujícího peroxidázovou aktivitu.

3 Metodika

3.1 Opylovači v kulturní krajině – zasazení DP do celého projektu

Moje diplomová práce je součástí projektu Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze, který je zaměřen na roli opylovačů (především pestřenek) v kulturní krajině. Využila jsem data o hmyzu získaná v rámci daného projektu k vyhodnocení reprodukční úspěšnost rostlin v závislosti na hustotě opylovačů.

Sběr dat o početnostech opylovačů a vytyčení mnou zkoumaných bodů proběhl během léta 2012, a to ve dnech 13.7. - 18.7., 27.7. - 1.8. a 13.8. - 26. 8. Tyto termíny přibližně pokrývají začátek, vrchol a konec kvetení obou studovaných druhů v období mezi sečí a otavou v daném území. Na začátku každého týdne se na studovaném území nejprve vytyčilo cca 30-40 krajinných bodů, kde se zkoumané druhy vyskytovaly v louce a v lemu. Jednotlivé body byly vzdáleny nejméně 30 m od sebe a vyskytovalo se na nich nejméně 5 právě kvetoucích jedinců jednoho ze zkoumaných druhů v okruhu do 3 m od samotného bodu.

Na všech vytyčených bodech bylo ve stejné době prováděno smýkání hmyzu, na kterém jsem se také podílela. Na každém bodě se smýkalo 5 minut a jednotlivé body se obcházely několikrát denně (všechny body byly smýkány v rozdílných denních dobách alespoň 5×). Zpracování dat ze smýkání potom provedli spolupracující studenti z Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze. Já jsem z těchto dat využila informace o početnosti pestřenek, které představují klíčové opylovače řebříčků (tabulka 1). To bylo zjištěno z dalšího paralelního pokusu v rámci projektu, kdy byly jedinci obou druhů řebříčků natáčeni na kameru a jejich opylovači identifikováni. Tato data zpracovávala Anežka Pavlíková z katedry zoologie PřF JČU.

3.2 Studované území

Výzkum probíhal ve spíše extenzivní zemědělské krajině na jihozápadním Kutnohorsku 7 km na východ od Uhlířských Janovic na území o rozloze přibližně 1,5 × 3 km v okolí obcí Žandov, Pivnisko, Krsovice a Vernýřov. I když se zde zachovala cenná rostlinná a živočišná společenstva, zkoumané lokality nespádají pod žádné chráněné území, a proto na nich lze dobře sledovat, jaký vliv má lidská činnost na vzhled místní krajiny. Pro účely výzkumu byla vybrána rostlinná společenstva luk a jejich lemů, kde se vyskytovaly jak silné tak i málo početné populace řebříčků obecného a bertrámu.

Dílčí pokusy zkoumající receptivitu blizen a uvolňování pylu během dne jsem provedla na jedné z lokalit v rámci území na louce K Handrkovu nedaleko obce Vernýřov (N 49.8466, E 15.1498; WGS 1984).

3.3 Řebříčky ve studovaném území

Z agregátu *Achillea millefolium* se v zájmovém území pravděpodobně nachází *A. millefolium* s. str. ($2n = 54$), *A. pratensis* ($2n = 36$) a *A. collina* ($2n = 36$) (viz. kapitola 3.4.2). *Achillea millefolium* agg. se v zájmovém území vyskytuje jak v loukách náležejících do svazu Arrhetherion, tak i na vlhčích loukách s vegetací přechodnou ke svazu Clathion, a to zejména na místech pravidelně narušovaných disturbancemi (rytím prasat). Zároveň se vyskytuje ve všech typech lemů, kromě nejvlhčích lemů s *Lythrum salicaria*, které nebyly studovány. *Achillea ptarmica* se nachází spíše na vlhčích loukách a centrum jejího rozšíření je zde ve svazu Calthion, popř. na loukách vykazujících tendence ke svazu Molinion. V lemech se však v území vyskytuje i v sušších porostech. Překryv druhů a jejich stanovišť je ve zkoumaném území je velký a lze odhadnout, že přibližně 70 % zkoumaných bodů by mohlo potenciálně hostit oba druhy (často tomu i tak bylo ve skutečnosti).

Nejčastější opylovače v zájmovém území představují pestřenky (Diptera: Syrphidae). Jejich podíl se pohybuje okolo tří čtvrtin všech zaznamenaných opylovačů. Ve spektru pestřenek spíše převažují menší druhy, pouze ke konci doby kvetení se více uplatňují velké pestřenky z rodu *Eristalis*. Tyto informace byly získány z pokusů prováděných a vyhodnocovaných Anežkou Pavlíkovou (viz kapitola 3.1). Vzhledem k převažujícímu zastoupení pestřenek (a jejich stabilnímu podílu v průběhu sezóny) jsem se dále soustředila právě na ně jako na opylovače obou druhů řebříčků.

Tabulka 1: Tabulka znázorňující měnící se spektrum opylovačů jednotlivých druhů řebříčků v jednotlivých fázích sezony. Podíl pestřenek - podíl z celkového počtu opylovačů, kteří rostlinu navštívili (uveden v závorce pod procenty); AM - *Achillea millefolium* agg.; AP - *Achillea ptarmica*; nejčastější druhy - procenta představují podíl z celkového počtu pestřenek. Data pocházejí z kamerových experimentů Anežky Pavlíkové z roku 2011 ze stejného území.

fáze sezóny	AM		AP	
	podíl pestřenek	nejčastější druhy	podíl pestřenek	nejčastější druhy
13.7. - 18.7.	75 % (187)	<i>Syritta pipiens</i> (28 %) <i>Episyrphus baltheatus</i> (18 %) <i>Sphaerophoria scripta</i> (14 %) <i>Syrphus</i> sp. + <i>Parasyrphus</i> sp. (10 %) <i>Eristalis</i> sp. (9 %)	83 % (228)	<i>Episyrphus baltheatus</i> (40 %) <i>Syritta pipiens</i> (19 %) <i>Sphaerophoria scripta</i> (14 %) <i>Syrphus</i> sp. + <i>Parasyrphus</i> sp. (9 %)
27.7. - 1.8.	71 % (90)	<i>Sphaerophoria scripta</i> (28 %) <i>Syritta pipiens</i> (28 %) <i>Eristalis</i> sp. (20 %) <i>Syrphus</i> sp. + <i>Parasyrphus</i> sp. (9 %)	63 % (73)	<i>Syrphus</i> sp. + <i>Parasyrphus</i> sp. (47 %) <i>Syritta pipiens</i> (20 %) <i>Sphaerophoria scripta</i> (17 %) <i>Episyrphus baltheatus</i> (7 %)
13.8. - 26.8.	74 % (65)	<i>Eristalis</i> sp. (54 %) <i>Syritta pipiens</i> (21 %) <i>Sphaerophoria scripta</i> (13 %)	71 % (108)	<i>Eristalis</i> sp. (37 %) <i>Sphaerophoria scripta</i> (30 %) <i>Syritta pipiens</i> (22 %)

3.4 Sběr dat

3.4.1 Produkce semen a klíčící pokus

Na každém krajinném bodě jsem nejprve označila 5-7 rostlin zájmového druhu, které byly v plném květu v době probíhajícího smýkání hmyzu. Po skončení smýkacího pokusu jsem pravidelně body obcházela a pokud byly označené rostliny zralé, sebrala jsem z nich úbory na klíčící pokus. Z každého bodu jsem vybrala maximálně 5 zralých rostlin. U každé z nich jsem změřila její velikost, spočetla, kolik má úborů, a uvedla datum sběru. Od takto změřených rostlin jsem odebrala 15 (pro *A. millefolium*) či 5 (pro *A. ptarmica*) úborů do papírových sáčků. Počet vytyčených bodů a počet bodů, ze kterých se mi podařilo získat semena na klíčící pokus je znázorněn v Tabulce 2. Počty vytyčených bodů a počty bodů, ze kterých byly nakonec sebrány rostliny na klíčící pokus, se liší. Je tomu tak proto, že některé

body byly zničeny (traktor, kosení, silná bouře) dříve než byly rostliny zralé natolik, abych z nich mohla odebrat úbory na klíčící pokus.

Tabulka 2: Datum, typ a počet vytyčených krajinných bodů a počet bodů, ze kterých byly sebrány rostliny na klíčící pokus. Typy: AMP - *A. millefolium* v lemu, AML - *A. millefolium* v louce, APP - *A. ptarmica* v lemu, APL - *A. ptarmica* v louce

datum vytyčení	AMP		AML		APP		APL	
	vytyčeno	klíčeno	vytyčeno	klíčeno	vytyčeno	klíčeno	vytyčeno	klíčeno
13.7.	17	13	20	20	23	21	-	-
27.7.	11	10	13	10	15	13	6	4
13.8.	8	5	13	6	10	9	11	4
celkem	36	28	46	36	48	43	17	8

Před založením klíčícího pokusu jsem pro každou sebranou rostlinu zvlášť spočítala průměrný počet semen na jeden úbor. Celý obsah sáčku jsem nejprve vysypala a spočetla semena, která vypadla samovolně. Počet vypadlých semen jsem vydělila počtem úborů, které jsem nasbírala do papírového sáčku. Tak jsem zjistila, kolik semen vypadlo průměrně na jeden úbor. Poté jsem důkladně rozebrala jeden úbor po druhém, dokud jsem nedosáhla počtu 50 semen. Načatý úbor jsem vždy dopočítala. Vždy jsem spočítala alespoň dva úbory (týká se zejména *A. ptarmica*, u *A. millefolium* byly počty rozebraných úborů vždy vyšší). Počet takto získaných semen jsem vydělila počtem rozebraných úborů. K tomuto číslu jsem pak připočetla, kolik semen vypadlo průměrně na jeden úbor, a získala jsem tak celkový počet semen na jeden úbor. Tímto číslem jsem pak vynásobila celkový počet úborů získaný z měření rostlin v terénu a získala jsem odhad celkové produkce semen, kterou byla rostlina schopna vyprodukovat. Postup lze shrnout v následujícím vzorci:

$$O = (V/P + S/N) \times U$$

O - odhad celkové produkce semen

V - počet semen, která v pytlíku vypadla samovolně

P - počet úborů v pytlíku

S - počet semen z rozebraných úborů

N - počet rozebraných úborů

U - celkový počet úborů získaný z měření rostlin v terénu

Poté jsem od každé rostliny umístila pokud možno 50 semen (v některých případech se i při použití všech odebraných úborů nepodařilo získat tento počet) na navlhčený filtrační papír do Petriho misky. Misky se semeny jsem umístila do klimaboxu, ten jsem nastavila na teplotu 20°C a světelný režim 14/10 hodin. Misky jsem pravidelně zalévala a týdně odečítala počty vyklíčených semenáčků. Po pěti týdnech jsem odečítání misek skončila, protože už neklíčila žádná další semena. Klíčivost semen jsem odečítala jako podíl semen, která byla schopná vyklíčit ku celkovému počtu semen na Petriho misce.

3.4.2 Cytometrie

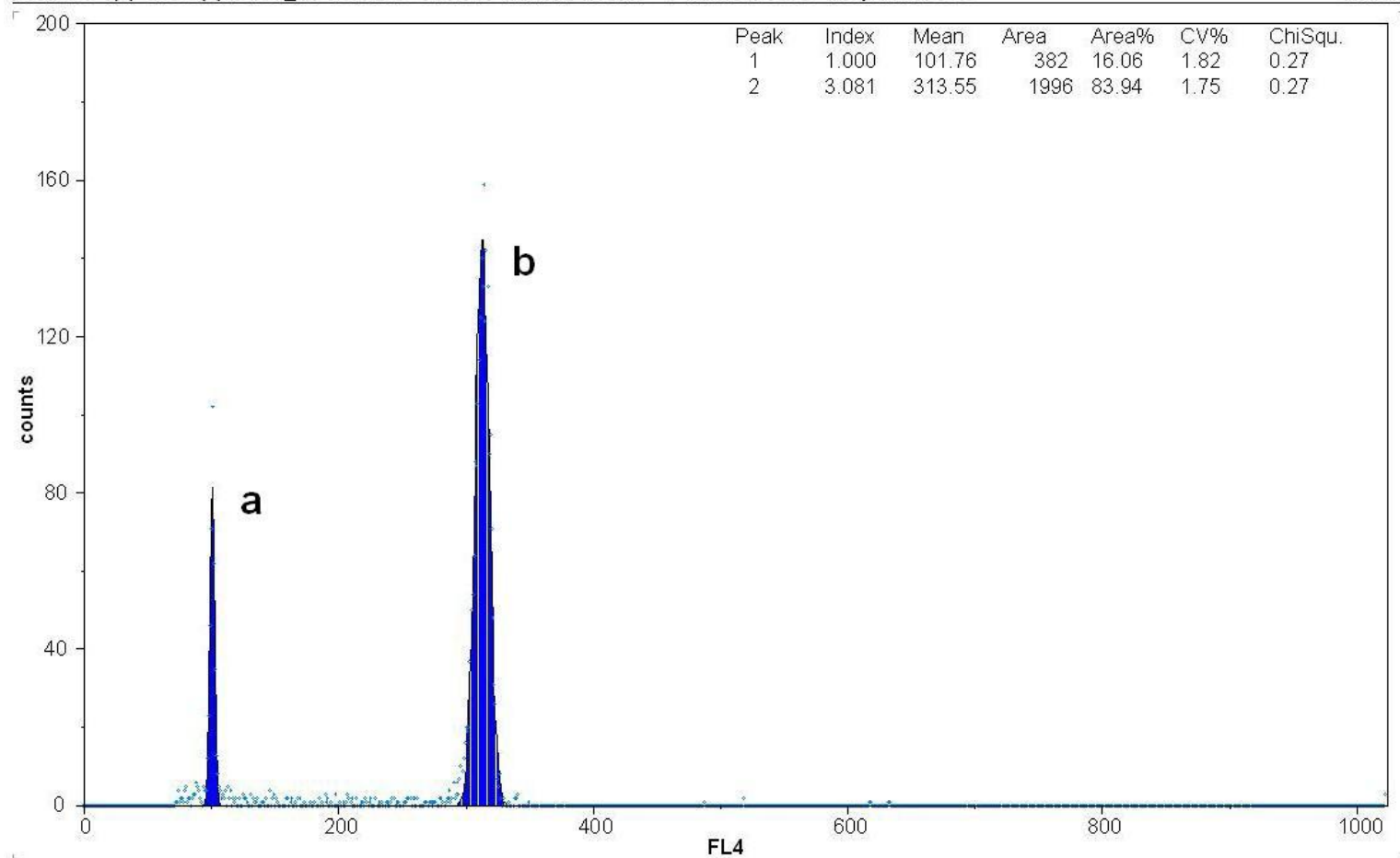
Na konci srpna 2012 jsem odebrala rovnoměrně z celého zkoumaného území sto vzorků řebříčku obecného a metodou průtokové cytometrie zjistila, jaké druhy z této skupiny se v území vyskytují. Analýza ukázala, že se na lokalitě nachází tetraploidní *Achillea pratensis*, hexaploidní *Achillea millefolium* s.s. a dokonce i jejich pentaploidní hybrid. Musela jsem tedy zohlednit, že by se od sebe v reprodukční úspěšnosti mohly lišit nejen druhy *A. millefolium* agg. a *A. ptarmica*, ale i jednotlivé cytotypy v rámci *A. millefolium* agg. navzájem.

Dodatečně jsem tedy analyzovala pomocí průtokové cytometrie semenáčky *A. millefolium* a podle výsledků se pokusila stanovit ploidiu mateřské rostliny. Pokud pocházely semenáčky ze stejného bodu, pak jsem analyzovala dvě misky najednou, přičemž z každé misky jsem vzala 3 semenáčky. Pokud se na cytometru ukázalo více píků než dva, tak jsem semenáčky z každé misky analyzovala zvlášť. Postup vlastní analýzy jsem prováděla podle standardního protokolu (Doležel et al. 2007), který jsem přizpůsobila povaze mnou studovaného materiálu. Z misky jsem v takovém případě použila semenáčků pět. Jako standard pro vzájemné srovnávání vzorků a odečítání jejich ploidií jsem použila listy *Bellis perennis*. Semenáčky spolu s přiměřeným množstvím standardu (asi polovina množství vzorku) jsem přenesla na plastovou Petriho misku a přidala 400 µl roztoku Otto I. Vzorek spolu se standardem jsem rozsekala žiletkou, abych uvolnila jádra pro analýzu. Suspenzi jsem pak přes nylonový filtr přefiltrovala do zkumavky. K takto připravenému vzorku jsem přidala 800 µl roztoku Otto II a barvivo DAPI ve finální koncentraci 4 mg/ml, 2-merkptoethanol 2 µl/ml. Poté jsem nechala vzorek cca 10 minut odstát. Po uplynutí této doby byl vzorek za odborné pomoci dr. Petra Kouteckého (kat. botaniky, PřF JČU) analyzován na průtokovém cytometru Partec PA II s rtuťovou výbojkou HBO 100 jako zdrojem světla (výrobce Partec, Münster, Německo).

Data z průtokového cytometru jsem vyhodnocovala v programu FloMax, verze 2.60 (Quantum Analysis GmbH, 2009). Na výsledném histogramu každého vzorku se vždy v levé části nacházel pík pro standard (*Bellis perennis*) a v pravé potom jeden či více píků pro *A. millefolium* agg. Pokud od sebe byly všechny píky dobře rozeznatelné, mohla jsem odečíst hodnoty jejich vrcholů za pomoci funkce Find peaks v programu FloMax, která hledá polohy maxim i modeluje další parametry píků (Obr. 1). Z grafů jsem odečetla hodnoty maxim všech píků a jejich plochy odpovídající počtu naměřených částic. Následně jsem odečetla poměr průměru píku *A. millefolium* vůči píku standardu. Pokud od sebe byly hranice jednotlivých píků špatně rozeznatelné, pak nebylo možné data proložit Gaussovy křivky a musela jsem polohu píků odečíst ručně pomocí funkce Gating (Obr. 2). Výsledky se potom objevily pod histogramem ve stejné struktuře jako při použití automatické funkce. Opět jsem odečetla hodnoty maxim píků a jejich plochy odpovídající počtu naměřených částic. Následně jsem odečetla poměr píků *A. millefolium* vůči standardu a to tak, že jsem zjistila poměr hodnot maxim píků.

Obr. 1: Příklad automaticky namodelované polohy píků ve vzorku z bodu 266 (**a** - pík standardu *Bellis perennis*, **b** - pík *Achillea millefolium*, **Peak** - pořadové číslo píku, **Index** - poměr průměru píku vůči prvnímu píku, **Mean** - průměr namodelovaného píku, **Area** - plocha namodelovaného píku (odpovídá počtu částic)).

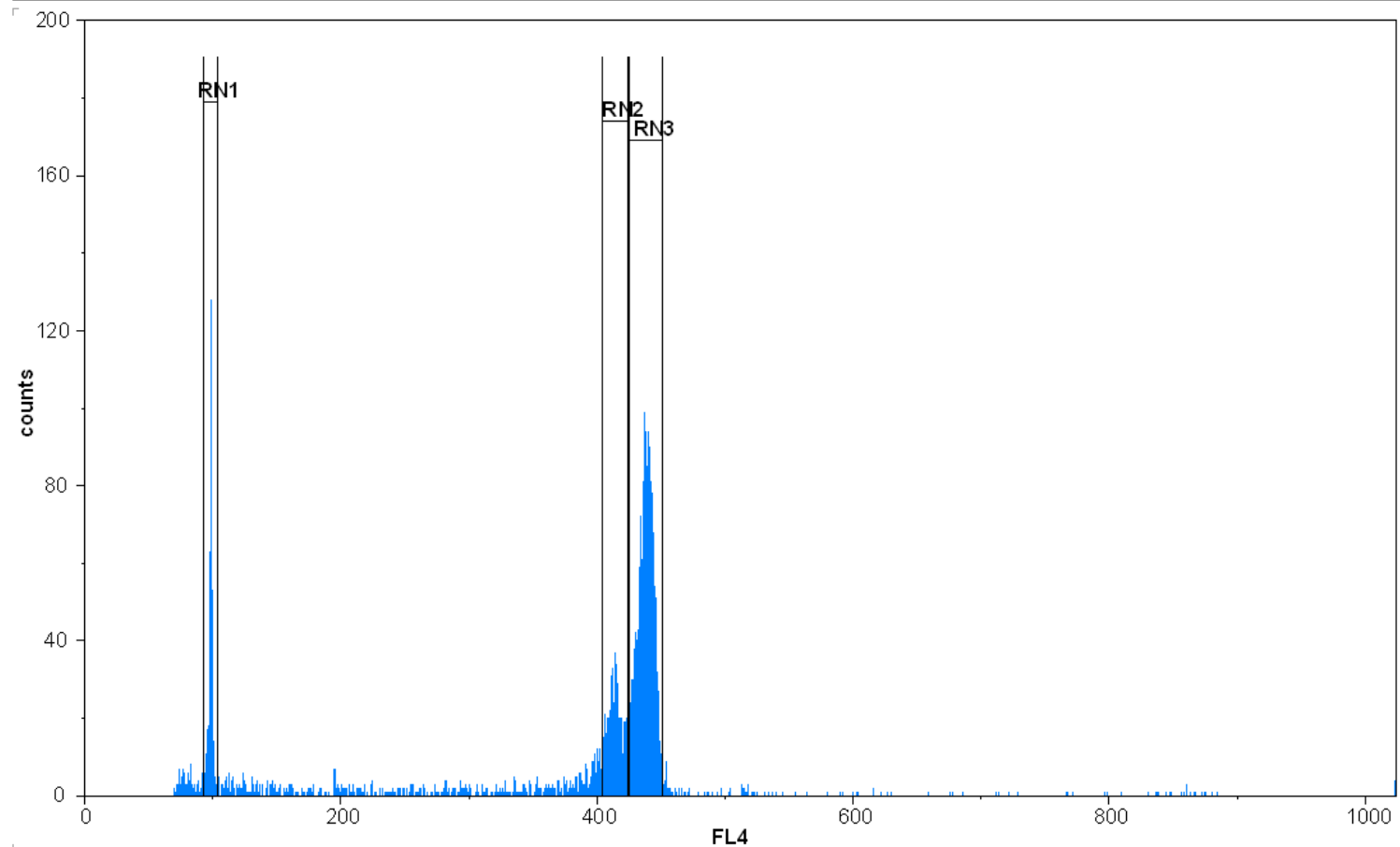
File: 266-4(3)+266-5(3)+B100_4x Date: 18-01-2013 Time: 14:50:17 Particles: 3000 Acq.-Time: 86 s partec PAS



Obr. 2: Příklad ručně namodelované polohy píků ve vzorku z bodu 12 (**RN1** - standard *Bellis perennis*, **RN2, RN3** - píky *Achillea millefolium*, **Count** - počet částic, **Mean-x** - průměr modelovaného píku)

File: 12-4(5)+B100_6x-aneupl Date: 09-01-2013 Time: 13:34:58 Particles: 5000 Acq.-Time: 187 s

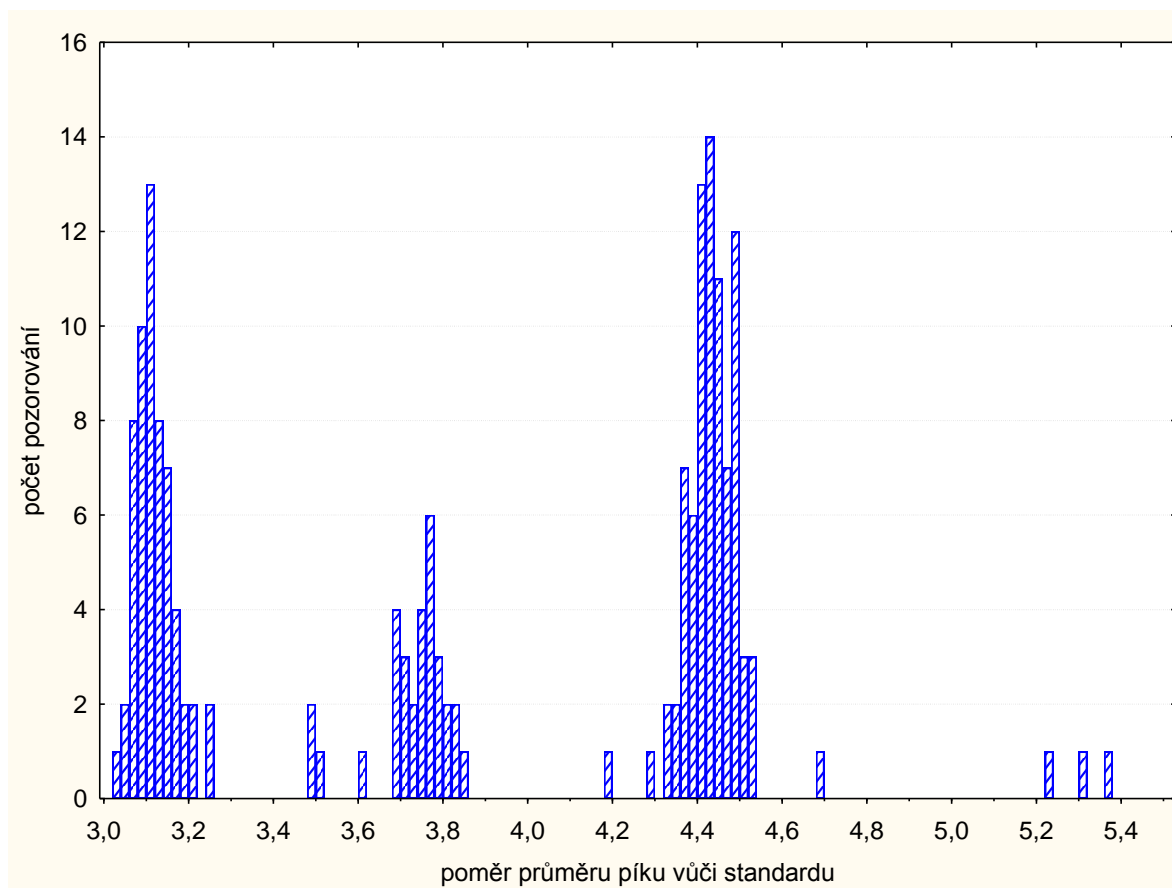
partec PAS



Region	Gate	Ungated	Count	Count/ml	%Gated	Mean-x	CV-x%	Mean-y	CV-y%
RN1	<None>	321	321	-	6.42	98.97	1.64	-	-
RN2	<None>	441	441	-	8.82	414.48	1.24	-	-
RN3	<None>	1406	1406	-	28.12	438.55	1.30	-	-

Z výsledných poměrů všech píků *A. millefolium* vůči standardu jsem v programu Statistica vytvořila histogram četností (Obr. 3). Z histogramu jsem pro jednotlivé ploidie řebříčku určila spodní a horní hranici poměru průměru píku *A. millefolium* vůči standardu. Pro tetraploidy (*Achillea pratensis*) jsem určila hranici poměru od 3,02 po 3,22, pro pentaploidy (hybridi *Achillea pratensis* a *Achillea millefolium* s.str.) od 3,68 po 3,86 a pro hexaploidy (*Achillea millefolium* s.str.) od 4,32 po 4,54. Poměry, které nebyly v žádném ze zmíněných intervalů, jsem považovala za aneuploidní jedince. Poté jsem ke každému píku ve vzorku přiřadila příslušnou ploidiu *A. millefolium* a zpětně jsem se snažila odhadnout ploidiu mateřské rostliny. Pokud byly vzorky čistě hexaploidní či tetraploidní, pak jsem předpokládala, že mateřská rostlina, z níž pocházela semena, byla stejné ploidie jako semenáčky. Vzorky s čistými pentaploidy (19 vzorků) jsem z dalších analýz vyřadila, protože nebylo možné určit ploidiu mateřské rostliny. Vzorky, v nichž se na histogramu objevilo více píků než jeden, jsem posuzovala podle velikosti jednotlivých píků a podle počtu částic, které jednotlivé píky tvořily. Ploidii mateřské rostliny, ze které pocházel vzorek, jsem určila podle píku, který byl v histogramu jasně vyšší a který byl tvořen alespoň dvojnásobným počtem částic než další pík. Vzorky, v nichž byly jednotlivé píky stejně velké, jsem opět vyřadila, protože nebylo možné přesně určit ploidiu mateřské rostliny.

Obr. 3: Histogram četností poměrů průměru píku *A. millefolium* vůči standardu (*Bellis perennis*)



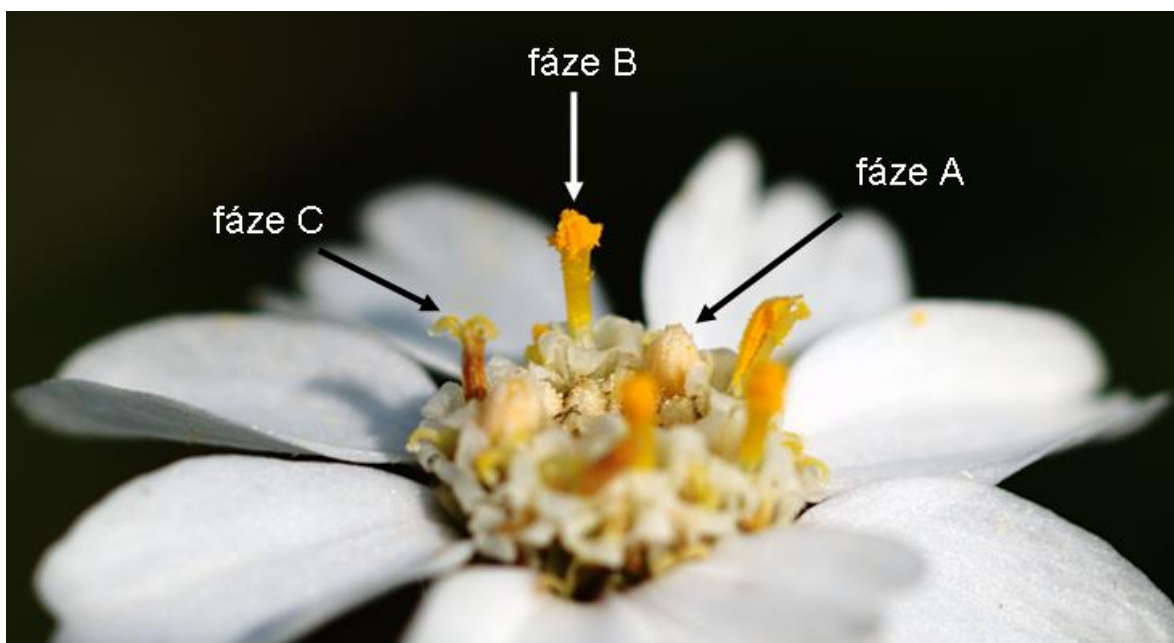
3.4.3 Uvolňování pylu v průběhu dne

Sběr dat jsem provedla během předposledního týdne v srpnu 2011. Nejprve jsem na lokalitě K Handrkovu vybrala a označila od každého druhu řebříčku 40 kvetoucích rostlin. Na lodyhách *A. ptarmica* jsem pro účely pozorování označila jeden úbor, protože jsou velké s velkým množstvím květů. U *A. millefolium* jsem označila skupinu úborů (cca. 30), abych získala dostatečný počet blizen.

Proces uvolňování pylu jsem rozdělila do tří fází: fáze A - rané stadium, kdy je květ ještě zavřený, ale pod korunními lístky je patrný základ tyčinek (žlutá skvrna), fáze B - stadium, kdy je květ v plném rozkvětu a vyčnívá z něj sloupec tyčinek uvolňujících pyl (tmavě žlutá až oranžová barva), fáze C - všechn pyl už je vyprášen a v květu se objevuje blizna (světle žlutá barva). Všechny fáze jsou znázorněny na obrázku 4.

Všechny označené rostliny jsem během dne několikrát obešla a pomocí lupy sledovala kolik květů je v jaké fázi uvolňování pylu. Fáze, počet květů a čas, kdy jsem květ pozorovala, jsem zapsala. Rostliny jsem sledovala po dva dny.

Obr. 4: Fáze uvolňování pylu u *Achillea ptarmica*. Proces je shodný s *Achillea millefolium*. Fotografie byla pořízena 16.8. 2012 na lokalitě K Handrkovu, autor: Stanislav Vosolsobě.



3.4.4 Receptivita blizen

Pro určení receptivity blizen jsem použila roztok z papírků Peroxtesmo KO (výrobce Bang Co., Brno), které indikují peroxidázovou aktivitu. Receptivní blizny se v roztoku zbarví modře. Roztok jsem připravila tak, že jsem do malé zkumavky vložila dva papírky Peroxtesmo a nechala je macerovat ve 2 ml destilované vody.

Sběr dat jsem uskutečnila 20. 8.-23. 8. 2012. Na lokalitě K Handrkovu jsem si označila 30 rostlin *A. ptarmica*. Na každé rostlině jsem vybrala jeden velký úbor, který se nacházel v časně fázi rozkvétání. Pokud už byly v úboru přítomny nějaké blizny, vytrhala jsem je pinzetou. Poté jsem celou rostlinu zakryla, aby se na nově vyrostlé blizny nedostal žádný pyl. Dále jsem si označila 15 rostlin *A. millefolium* a na každé jsem vybrala skupinu úborů, které se nacházely v časně fázi rozkvétání. Opět jsem pinzetou vytrhala blizny a celou rostlinu zakryla. Květy řebříčků rozkvétají v úborech od kraje ke středu a každý den vytvoří rostlina skupinu nových blizen. Nechala jsem rostliny dva dny zakryté, protože jsem potřebovala srovnat receptivitu různě starých blizen.

Blizny z okrajových květů u *A. millefolium* jsem považovala za starší než ty z květů blíže ke středu. Receptivitu blizen jsem zkoumala až třetí a čtvrtý den po zakrytí rostliny, tj. blizny byly v samičí fázi jeden resp. dva dny. Třetí den od zakrytí jsem u *A. millefolium*

vytrhla nejméně 5 blizen z okrajových a 5 blizen ze středových květů, tyto umístila do kapky připraveného roztoku na podložní sklíčko a nechala minimálně 5 minut působit. Poté jsem zaznamenala počet zbarvených blizen. Po odebrání blizen jsem rostliny opět zakryla a měření zopakovala následující den, t.j. s dva resp. tři dny starými bliznami. U *A. millefolium* jsem blizny sbírala ze souboru úborů, protože má malé úbory, v nichž obvykle rozkvétá každý den jen jeden květ.

U druhu *A. ptarmica* jsou kruhy květů lépe patrné, proto jsem třetí den vytrhávala blizny po jednotlivých kruzích. Blizny z nejkrajnějšího kruhu jsem považovala za tři dny staré, z kruhu nejbližší ke středu za jeden den staré a z kruhu mezi nimi za dva dny staré. Je však možné, že může rozkvétat i více kruhů najednou. Blizny jsem opět umístila do kapky připraveného roztoku na podložní sklíčko a nechala jsem roztok minimálně 5 minut působit. Poté jsem zaznamenala počet zbarvených blizen.

3.5 Zpracování výsledků

3.5.1 Produkce semen a klíčící pokus

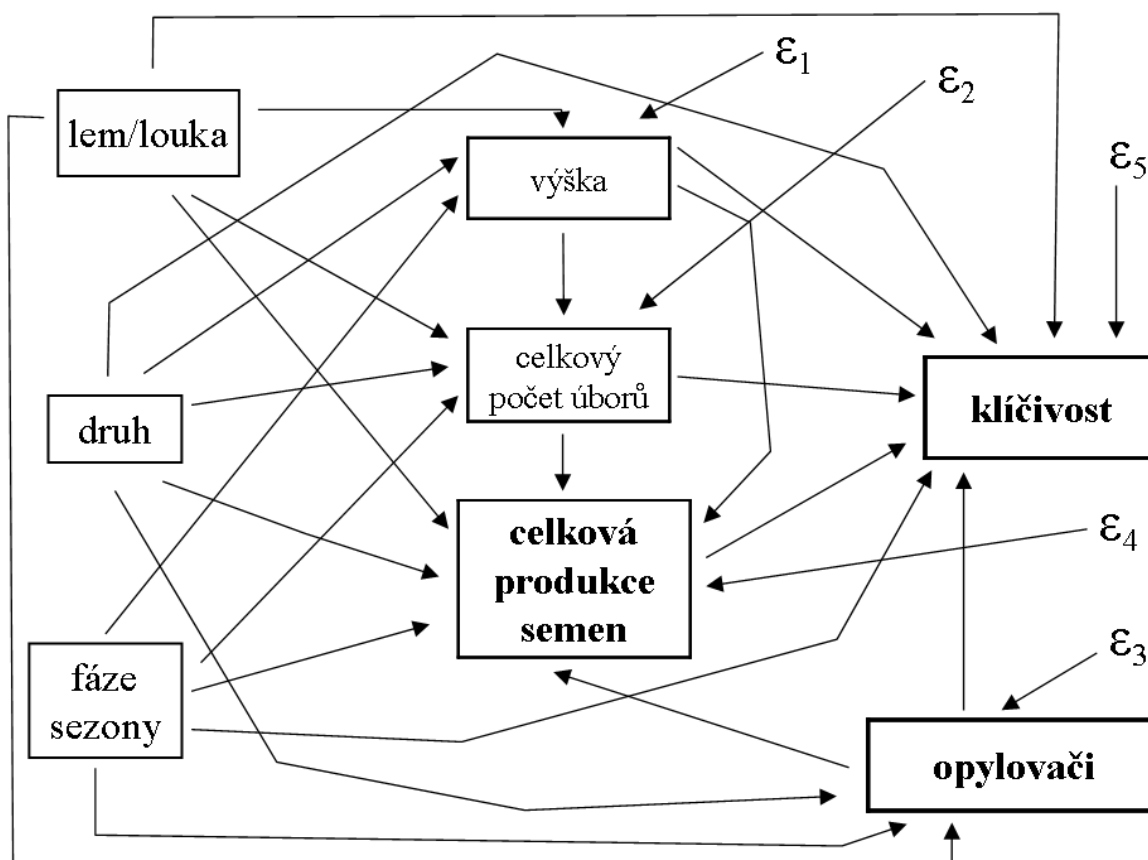
Za proměnné určující reprodukční úspěšnost řebříčků jsem považovala celkový počet semen, která je rostlina schopna vyprodukovat, a jejich klíčivost. Klíčivost jsem považovala za vlastnost reprezentující genetickou kvalitu semen.

Jako faktory ovlivňující celkový počet semen a jejich kvalitu jsem považovala stanoviště, kde rostlina žila (louka/lem), druh rostliny (*A. ptarmica*/*A. millefolium*/*A. pratensis*) a dobu, kdy kvetla (fáze sezóny). Za kovariáty jsem pak považovala proměnné související s vitalitou rostlin a např. jejich zásobením živinami, tj. výšku rostliny a celkový počet úborů, které byla rostlina schopná vyprodukovat. Dalším faktorem je abundance opylovačů na bodech, kde byly rostliny sebrány. Vzhledem k tomu, že údaje o početnosti opylovačů byly vztažené k hladině bodu, zprůměrovala jsem všechny informace o rostlinách z jednoho bodu, abych zabránila pseudoreplikaci. Dále tedy všechny proměnné týkající se rostlin odpovídají průměru na rostlinu na bodě. Počet opylovačů na bodě představuje průměrný počet opylovačů nachytaných za jeden pětiminutový odchyťový interval na daném bodě.

Většina uvažovaných faktorů může ovlivňovat kromě závislých proměnných celkové produkce semen a klíčivosti i sebe navzájem. Pro výpočet velikosti jednotlivých vlivů na zkoumané proměnné (celkový počet semen, klíčivost) jsem proto použila sérii lineárních regresí, tedy tzv. path-analysis. Schéma, podle něhož jsem postupovala ve své úvaze je na

obr. 5. První regresí jsem zjišťovala vliv stanoviště a druhu na výšku rostliny, druhou regresí vliv stanoviště, druhu a výšky rostliny na celkový počet úborů. Poté jsem provedla dílčí regresí, která vyhodnocovala vliv stanoviště, druhu a data smýkání na počet opylovačů na bodě. Další regresí jsem zjišťovala vliv stanoviště, druhu, výšky rostliny, celkového počtu úborů a počtu opylovačů na bodě na celkový počet semen. Poslední regresí jsem vyhodnocovala vliv stanoviště, druhu, výšky rostliny, celkového počtu úborů, počtu opylovačů na bodě a celkového počtu semen na klíčivost. S identitou druhů řebříčků jsem zacházela tak, že jsem do modelu za sebe zařadila dva členy. První kódoval rozdíl *A. ptarmica* × *A. millefolium* agg., druhý rozlišoval všechny tři druhy. Toto seřazení obou faktorů (model používá sumu čtverců typu I) vede k analogickému výsledku jako, kdybych analyzovala matici kontrastů (tj. první faktor testuje rozdíl *A. ptarmica* × *A. millefolium* agg., druhý pak pouze rozdíl mezi druhy v rámci *A. millefolium* agg.).

Obr. 5: Schéma path analysis. Šípkami jsou znázorněné všechny možné vlivy jednotlivých proměnných. Tučně jsou zvýrazněné zkoumané proměnné, ϵ značí chybové členy.



Nejprve jsem z výsledků regresí odečetla přímé vlivy stanoviště, druhu a data smýkání na vysvětlované proměnné (celkový počet semen, klíčivost, počet opylovačů). Nepřímá působení těchto prediktorů (přes výšku a počet úborů) jsem dopočítávala přes vysvětlené variability dotčených dílčích regresí. Celkový vliv daného faktoru na zkoumanou proměnnou jsem získala součtem přímého a všech nepřímých vlivů na tuto proměnnou.

3.5.2 Uvolňování pylu

Při zpracování dat z experimentu zabývajícího se postupným uvolňováním pylu rostlinami během dne, jsem uvažovala, jak je podíl květů ve fázi B (uvolňujících pyl) z celkového počtu ten den otevřených květů závislý na denní době. Jako prediktor jsem použila denní dobu, pro niž jsem zahrнула do modelu jak lineární, tak i kvadratický člen. Ve výsledném modelu pro *A. ptarmica* nebyl zjištěn nadměrný rozptyl („overdispersion“), tudíž jsem ho nemusela dále upravovat. Pro výpočet jsem použila zobecněný lineární model (GLM), binomické rodiny s logitovou spojovací funkcí. V případě *A. millefolium* jsem detekovala nadměrný rozptyl („overdispersion“), proto jsem pro konečné zpracování dat použila kvazibinomický model. Data jsem zpracovávala v programu R 2.12.1 v základní instalaci. Rozdíl mezi jednotlivými dny jsem nezkoumala, protože jsem na takovou analýzu neměla dostatek potřebných dat.

3.5.3 Receptivita blizen

V experimentu, který se věnoval receptivitě blizen, jsem zkoumala, jak závisí podíl receptivních blizen na jejich stáří. U *A. millefolium* jsem stáří blizny mohla vyjádřit ve dnech, zatímco u *A. ptarmica* jsem uvažovala relativní stáří vyjádřené pořadím kruhu. Data jsem rovněž zpracovávala v programu R 2.12.1. Na zpracování dat jsem použila zobecněný lineární model binomické rodiny, s logitovou spojovací funkcí. V datech jsem detekovala nadměrný rozptyl („overdispersion“), proto jsem pro konečné zpracování dat použila kvazibinomický model (Crawley 2007). Dále jsem vytvořila minimální adekvátní model, ve kterém jsem jako prediktory použila den sběru blizny a pozici blizny na rostlině. Pomocí koeficientů modelové rovnice jsem potom zkonstruovala výsledný graf a z něj odečetla přibližnou dobu, po které přestávají být blizny řebříčků receptivní. Jako hranici, kdy jsem už blizny považovala za převážně nereceptivní, jsem arbitrárně stanovila 0,2 (tedy 20 % blizen ještě receptivních).

4 Výsledky

4.1 Produkce semen a klíčící pokus

Pro výpočet reprodukční úspěšnosti dvou druhů rodu *Achillea* sp. jsem použila data ze 115 bodů z celkově vytyčených 147 (tabulka 2). Průtokovou cytometrií jsem analyzovala 203 vzorků (misek se semenáčky) *Achillea millefolium*. U 19 vzorků jsem nebyla schopná určit ploidii mateřské rostliny. Tyto vzorky jsem z další analýzy vyřadila. Ze zbylých 184 vzorků bylo 65 tetraploidních (*Achillea pratensis*) a 119 hexaploidních (*Achillea millefolium* s.str.). Rozdíly ve všech studovaných závislých proměnných mezi jednotlivými ploidiemi *A. millefolium* agg. vyšly nesignifikantní, proto má ve výsledném schématu proměnná druh pouze dvě hladiny a to *A. millefolium* agg. a *A. ptarmica* (obr. 6).

Průměrná výška rostlin *A. millefolium* agg. v lemu se pohybovala kolem 50 cm, rostliny *A. ptarmica* dosahovaly průměrné výšky až 75 cm. Průměrná výška obou druhů v louce většinou nepřesáhla 40 cm. Průměrný počet úborů a s tím související produkce semen byly u obou druhů v lemu větší než na louce. Průměrná klíčivost *A. millefolium* agg. se pohybovala okolo 50%, u *A. ptarmica* byla o něco nižší, okolo 40%. Tabulky 3 a 4 shrnují průměrné vlastnosti zkoumaných rostlin v jednotlivých fázích sezony.

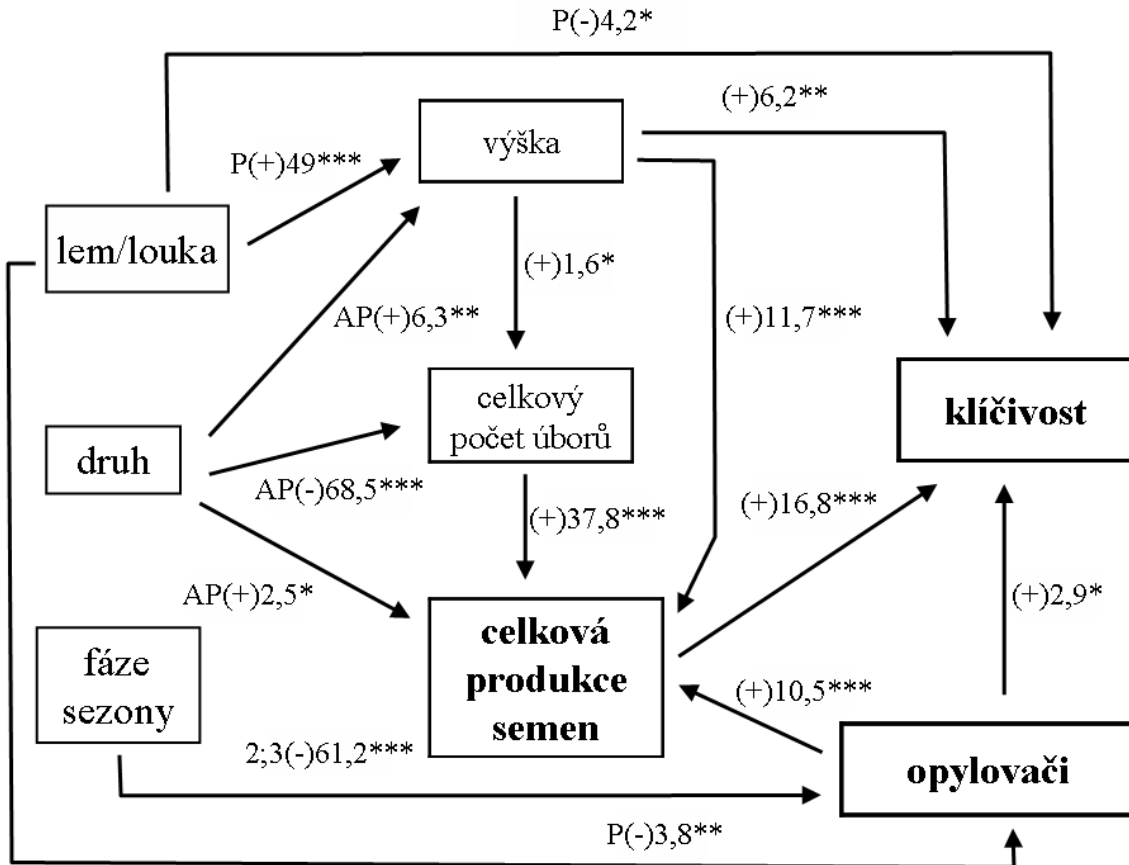
Tabulka 3: Tabulka shrnující průměrné vlastnosti *Achillea millefolium* agg. v jednotlivých fázích sezony. L - louka, P - lem, n = počet analyzovaných rostlin

fáze sezony	13.7.-18.7.		27.7.-1.8.		13.8.-26.8.	
	L (n=75)	P (n=54)	L (n=12)	P (n=17)	L (n=19)	P (n=7)
průměrná výška (cm)	32,33 ± 0,96	58,28 ± 3,43	32,97 ± 2,23	51,86 ± 3,51	43,36 ± 1,31	51,72 ± 5,61
průměrný počet úborů	52,29 ± 2,52	115,90 ± 7,56	39,41 ± 8,53	115,97 ± 15,15	33,10 ± 4,01	72,67 ± 15,42
průměrný počet semen	520,10 ± 39,13	868,29 ± 93,62	220,45 ± 65,52	757,9 ± 118,52	200,89 ± 22,01	522,79 ± 107,35
průměrná klíčivost (%)	49,72 ± 1,42	51,32 ± 2,35	53,31 ± 1,55	52,50 ± 1,77	61,28 ± 1,71	53,94 ± 1,33

Tabulka 4: Tabulka shrnující průměrné vlastnosti *Achillea ptarmica* v jednotlivých fázích sezony. L - louka, P - lem

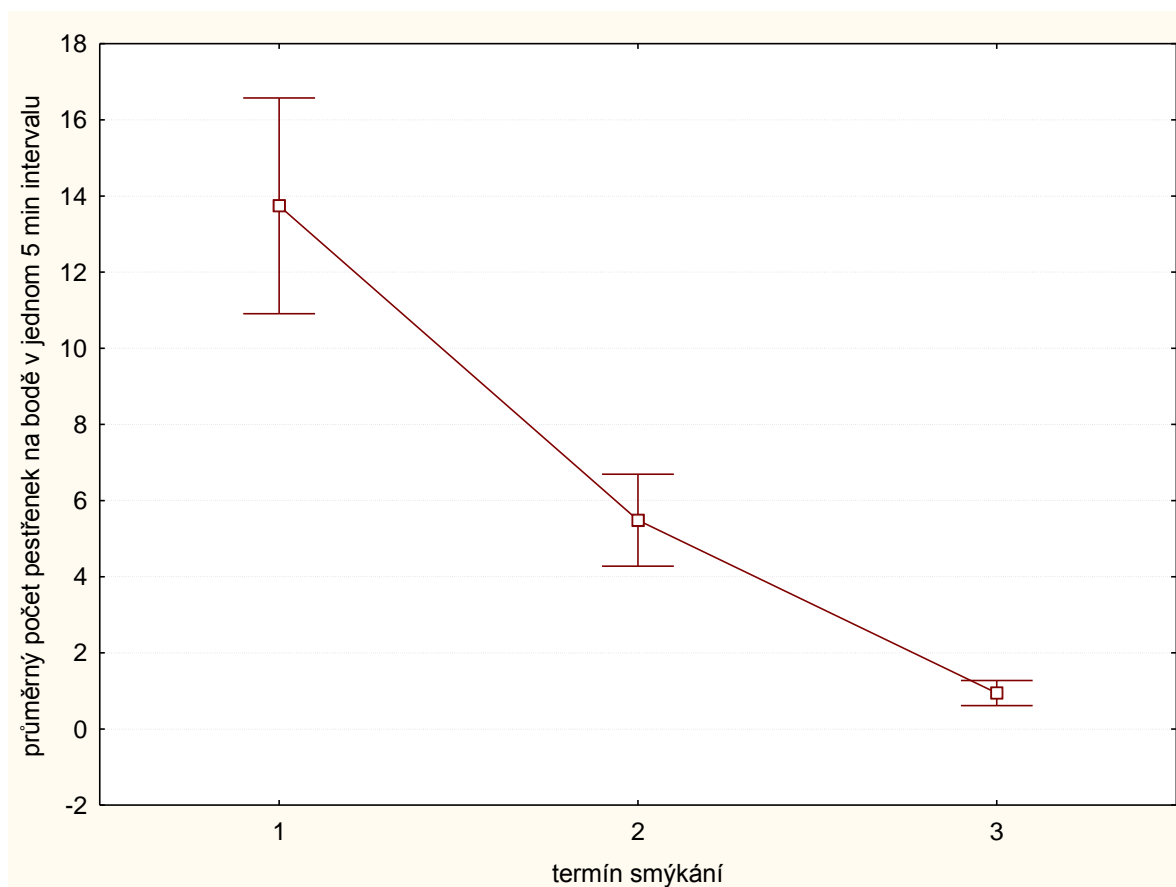
fáze sezony	13.7.-18.7.		27.7.-1.8.		13.8.-26.8.	
	L (n=0)	P (n=101)	L (n=10)	P (n=62)	L (n=10)	P (n=29)
průměrná výška (cm)	-	75,39 ± 1,41	35,30 ± 2,67	74,76 ± 1,61	34,18 ± 2,28	62,56 ± 3,00
průměrný počet úborů	-	27,80 ± 2,21	10,04 ± 2,66	28,54 ± 1,94	6,01 ± 0,59	18,62 ± 1,72
průměrný počet semen	-	778,43 ± 90,25	121,10 ± 33,13	598,38 ± 58,23	113,42 ± 18,44	372,90 ± 69,91
průměrná klíčivost (%)	-	41,23 ± 1,32	49,21 ± 5,03	49,56 ± 1,37	43,71 ± 6,90	42,47 ± 4,54

Obr. 6: Výsledné schéma path analysis znázorňující signifikantní vlivy na proměnné včetně procent vysvětlené variability (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$). Tučně jsou zvýrazněné zájmové proměnné. (P - lem; AP - *A. ptarmica*; 2,3 - druhý a třetí termín smýkání; (+),(-) - směr vlivu P, AP a 2,3 na vysvětlované proměnné).



Typ stanoviště (louka/lem) má přímý vliv na výšku rostliny, rostliny rostoucí v lemu jsou vyšší. V louce jsou sice rostliny nižší, ale lépe zde klíčí. Do lemových společenstev létá méně opylovačů než na louku. Druh rostliny má přímý vliv pouze na výšku rostlin, na celkový počet úborů a v malé míře také na celkovou produkci semen. Rostliny *Achillea ptarmica* jsou obecně o něco vyšší než rostliny *Achillea millefolium* agg., ale mají zřetelně nižší počet úborů. I přesto vyprodukují celkově rostliny *A. ptarmica* více semen, protože jsou jejich úbory mnohem větší (tvořeny více květy) než rostliny *A. millefolium*. Datum smýkání má velký přímý vliv na počet opylovačů. Nejvíce opylovačů bylo nachytáno během první série terénních experimentů, tj. 13.7. - 18.7. 2012. Během druhé série experimentů 27.7. - 1.8. 2012 opylovačů ubylo a ve třetí sérii 13.8. - 26. 8. 2012 jich bylo zaznamenáno nejméně (Obr. 7).

Obr. 7: Graf znázorňující průměrný počet pestřenek nachytných na bodech během jednoho pětiminutového intervalu v závislosti na termínu, kdy probíhalo smýkání v roce 2012 (1 - 13.7. až 18.7.; 2 - 27.7. až 1.8.; 3 - 13.8. až 26.8.)



Hodnoty pro výpočet všech nepřímých a následně celkových vlivů na zkoumané proměnné (celkovou produkci semen, klíčivost a počet opylovačů) jsem získala z dílčích regresí. Nepočítala jsem ale s procenty vysvětlené variability nýbrž s podílem, který jsem až následně převedla zpět na procenta (Tabulky 3 a 4).

Tabulka 3: Výpočet nepřímých vlivů zkoumaných faktorů (stanoviště, druh, fáze sezony) na celkovou produkci semen.

faktor	cesta	vysvětlená variabilita	efekt
stanoviště	stanoviště→výška	0,0573	lem (+)
	stanoviště→výška→počet úborů	0,0030	lem (+)
	stanoviště→opylovači	0,0040	lem (-)
druh	druh→výška	0,0074	AP (+)
	druh→výška→počet úborů	0,0004	AP (+)
	druh→počet úborů	0,2589	AP (-)
fáze sezony	fáze sezony→opylovači	0,0643	2,3 (-)

Tabulka 4: Výpočet nepřímých vlivů zkoumaných faktorů (stanoviště, druh, fáze sezony) na klíčivost

faktor	cesta	vysvětlená variabilita	efekt
stanoviště	stanoviště→výška	0,0304	lem (+)
	stanoviště→výška→celková produkce semen	0,0096	lem (+)
	stanoviště→výška→počet úborů→celková produkce semen	0,0005	lem (+)
	stanoviště→opylovači	0,0011	lem (-)
	stanoviště→opylovači→celková produkce semen	0,0007	lem (-)
druh	druh→výška	0,0039	AP (+)
	druh→výška→celková produkce semen	0,0012	AP (+)
	druh→výška→počet úborů→celková produkce semen	0,0001	AP (+)
	druh→počet úborů→celková produkce semen	0,0418	AP (-)
	druh→celková produkce semen	0,0042	AP (+)
fáze sezony	fáze sezony→opylovači	0,0178	2,3 (-)
	fáze sezony→opylovači→celková produkce semen	0,0154	2,3 (-)
opylovači	opylovači→celková produkce semen	0,0176	(+)

Celkovou hodnotu vysvětlené variability v datech (celkovém počtu semen, klíčivosti a počtu opylovačů) pomocí vysvětlujících proměnných (stanoviště, druhu a fáze sezony, kdy probíhalo smýkání) jsem zaznamenala do výsledných tabulek 5, 6 a 7.

Tabulka 5: Tabulka znázorňující přímé, nepřímé a celkové vlivy vysvětlujících proměnných (lem, druh, fáze sezony) na množství opylovačů na bodě. Vlivy jsou v tabulce zapsané v procentech variability, kterou v datech vysvětlují. Směr vlivu stanoviště je vztažen na lem, směr vlivu druhu na *A. ptarmica*, směr vlivu fáze sezony na 2. a 3. termín smýkání. Směr vlivu louky, *A. millefolium* a první fáze sezony je opačný. Celkový vliv je součtem absolutních hodnot všech dílčích vlivů.

	vliv				celkem
	přímý kladný	přímý záporný	nepřímý kladný	nepřímý záporný	
stanoviště	-	3,80%	-	-	3,80%
druh	-	-	-	-	-
fáze sezony	-	61,20%	-	-	61,20%

Tabulka 6: Tabulka znázorňující přímé, nepřímé a celkové vlivy vysvětlujících proměnných (lem, druh, fáze sezony) na celkovou produkci semen. Vlivy jsou v tabulce zapsané v procentech variability, kterou v datech vysvětlují. Směr vlivu stanoviště je vztažen na lem, směr vlivu druhu na *A. ptarmica*, směr vlivu fáze sezony na 2. a 3. termín. Směr vlivu louky, *A. millefolium* a první fáze sezony je opačný. Celkový vliv je součtem absolutních hodnot všech dílčích vlivů.

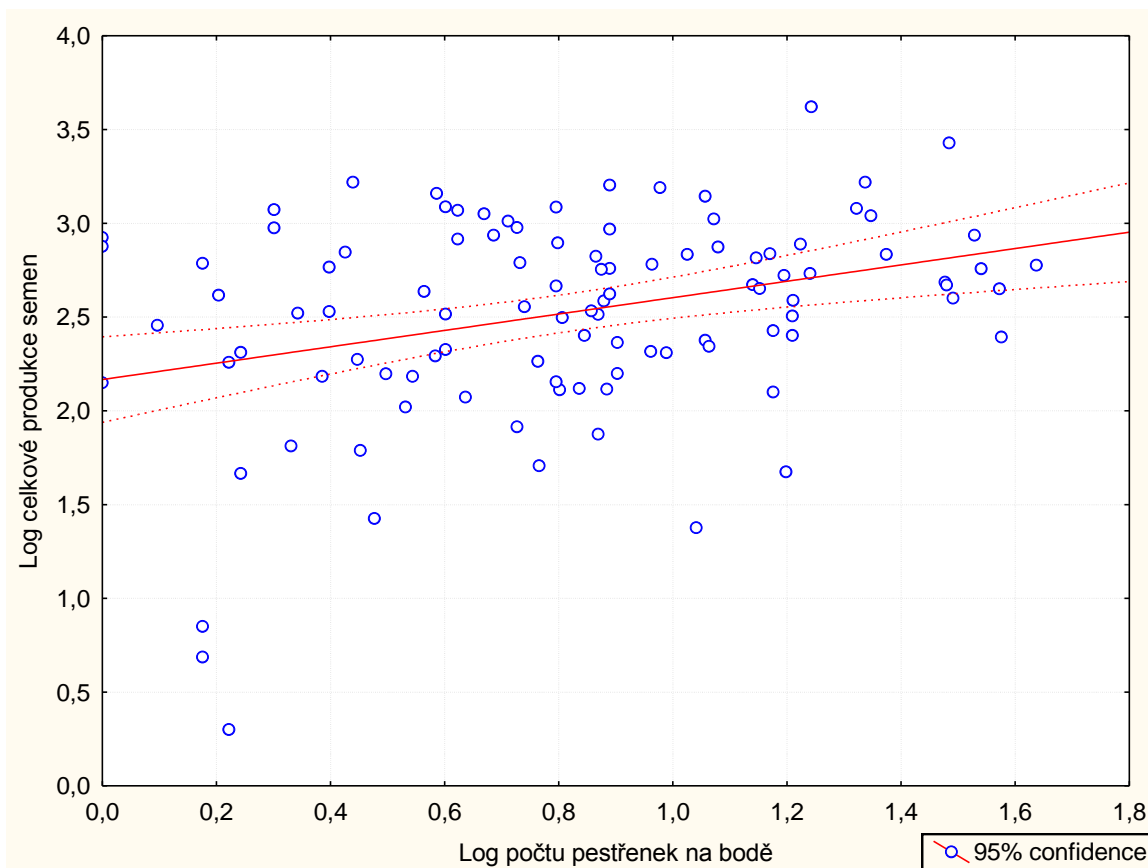
	vliv				celkem
	přímý kladný	přímý záporný	nepřímý kladný	nepřímý záporný	
stanoviště	-	-	6,03%	0,40%	6,43%
druh	2,50%	-	0,78%	25,89%	29,17%
terén	-	-	-	6,43%	6,43%
opylovači	10,50%	-	-	-	10,50%

Tabulka 7: Tabulka znázorňující přímé, nepřímé a celkové vlivy vysvětlujících proměnných (lem, druh, fáze sezony) na klíčivost. Vlivy jsou v tabulce zapsané v procentech variability, kterou v datech vysvětlují. Směr vlivu stanoviště je vztažen na lem, směr vlivu druhu na *A. ptarmica*, směr vlivu fáze sezony na 2. a 3. termín. Směr vlivu louky, *A. millefolium* a první fáze sezony je opačný. Celkový vliv je součtem absolutních hodnot všech dílčích vlivů.

	vliv				celkem
	přímý kladný	přímý záporný	nepřímý kladný	nepřímý záporný	
stanoviště	-	4,20%	4,05%	0,18%	8,43%
druh	-	-	0,52%	4,18%	4,70%
fáze sezony	-	-	-	3,32%	3,32%
opylovači	2,90%	-	1,76%	-	4,66%

Z tabulky 6 je patrné, že množství opylovačů na jednotlivých bodech mělo vliv na celkovou produkci semen zkoumaných druhů rostlin. Čím větší byla na bodě hustota opylovačů, tím více semen byly rostliny schopny vyprodukovat (obr 8).

Obr. 8: Graf závislosti celkové produkce semen studovaných druhů (*A. millefolium* agg., *A. ptarmica*) na počtu pestřenek nachytaných na bodě. Plná čára značí křivku závislosti, přerušovaná značí 95% konfidenční interval této křivky.



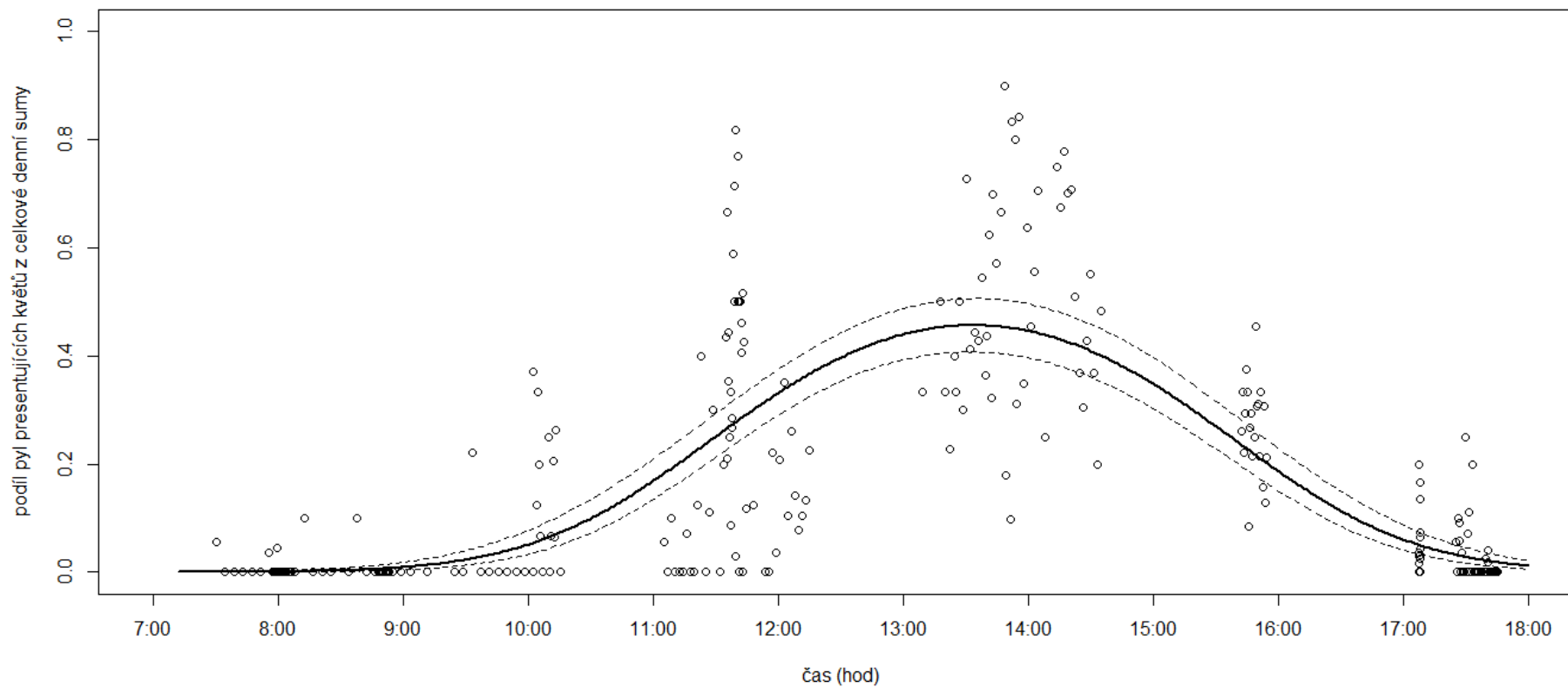
4.2 Uvolňování pylu

Oba zkoumané druhy rodu *Achillea* sp. mají úbory složené z mnoha jazykovitých květů. Každý den vykvete určitá kohorta těchto květů, tento proces může rostlina opakovat v průběhu celé vegetační sezony několikrát. Nejprve se v květech objeví tyčinky, které uvolní pyl a následně pak blizny. Jak *Achillea millefolium* tak *Achillea ptarmica* se v průběhu procesu postupného uvolňování pylu během dne neliší. Rostliny začnou otevírat květy z příslušné denní kohorty již časně ráno, kolem sedmé hodiny, a proces trvá až do večera, do šesté hodiny večerní. Rostliny *A. millefolium* byly v uvolňování pylu nejaktivnější mezi 11. a 16. hodinou (obr. 8). Rostliny *A. ptarmica* uvolňovaly nejvíce pylu mezi 10:00 a 15:30 (obr. 9). Maximum podílu pyl uvolňujících květů z celkové denní kohorty u *A. millefolium* byl zaznamenán ve 13:30 (obr. 8), u *A. ptarmica* to bylo cca o hodinu dříve (Obr. 9).

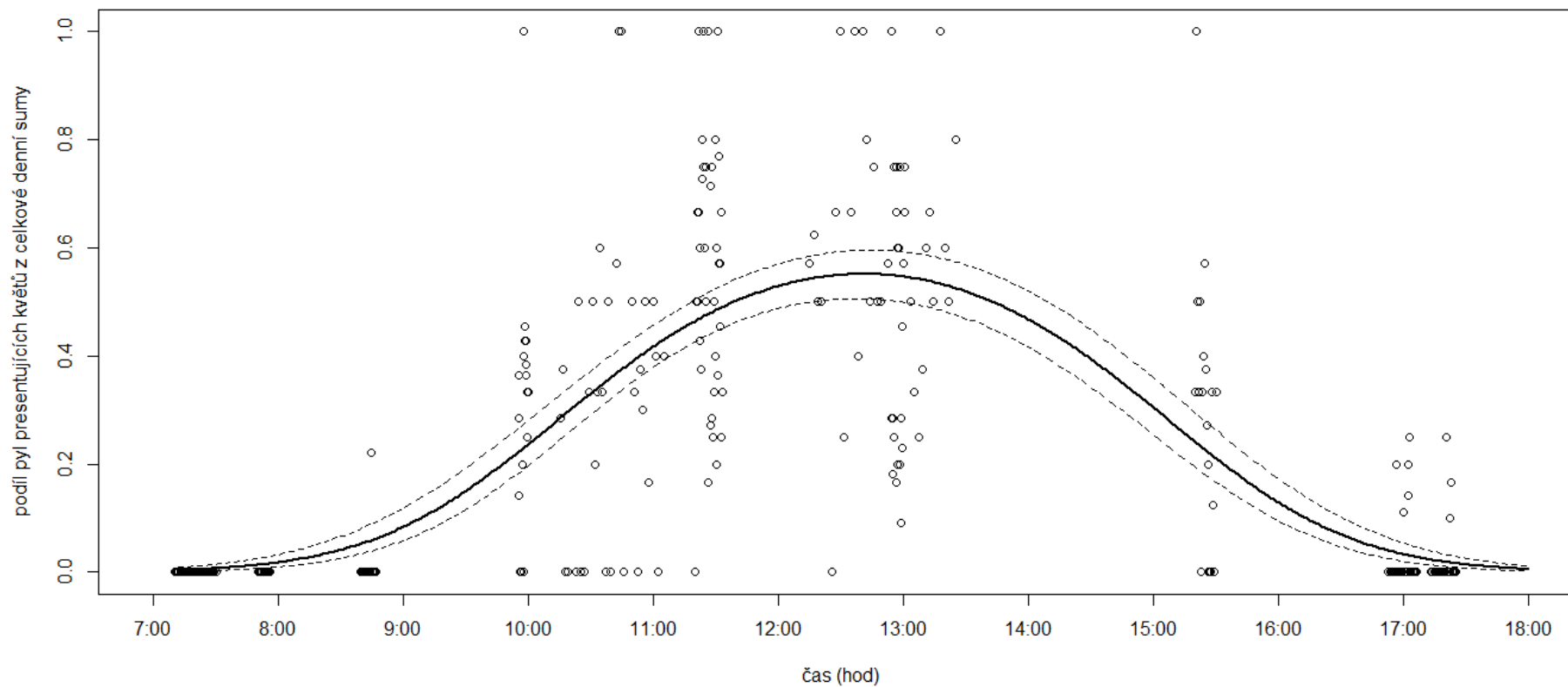
4.3 Receptivita blizen

Blizny se u rodu *Achillea* sp. objevují vždy na konci dne v kohortě květů, která ten den rozkvetla. Blizny, narozdíl od tyčinek, mohou pak v květu setrvat několik dní než uschnou, ale ne všechny jsou v průběhu svého života receptivní. Přičemž jejich receptivita dále klesá s jejich stářím (obr. 10 a 11). U *Achillea millefolium* je nejvíce blizen receptivních první den, tzn. den následující po jejich objevení se v květu. Z blizen, které jsou tři dny staré, je aktivních už pouze necelých 20 % (obr. 10). Květy *Achillea ptarmica* vyrůstají v kruzích směrem od kraje. Protože oproti původnímu předpokladu zřejmě může vykvést i více kruhů v jeden den, vztáhla jsem stáří blizen na relativní stáří kruhu. Z obrázku 11 je patrné, že u *A. ptarmica* klesá podíl receptivních blizen pod 20 % již u druhého nejmladšího kruhu dne jejich stáří.

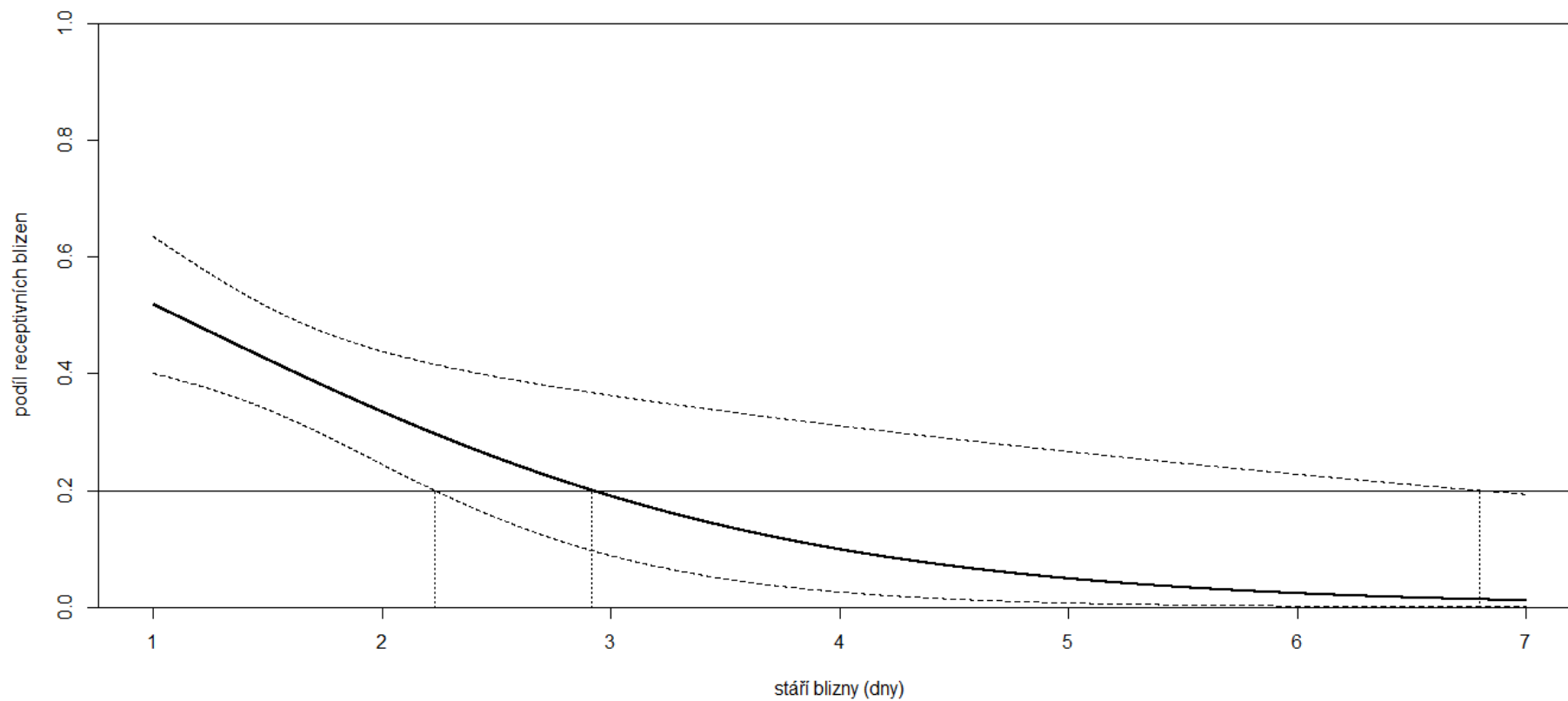
Obr. 8: Graf znázorňující podíl pyl prezentujících květů *Achillea millefolium* z celkové denní sumy v závislosti na denní době. Plná čára značí křivku regresní závislosti, přerušovaná značí 95% konfidenční interval této křivky, $p < 0,001$.



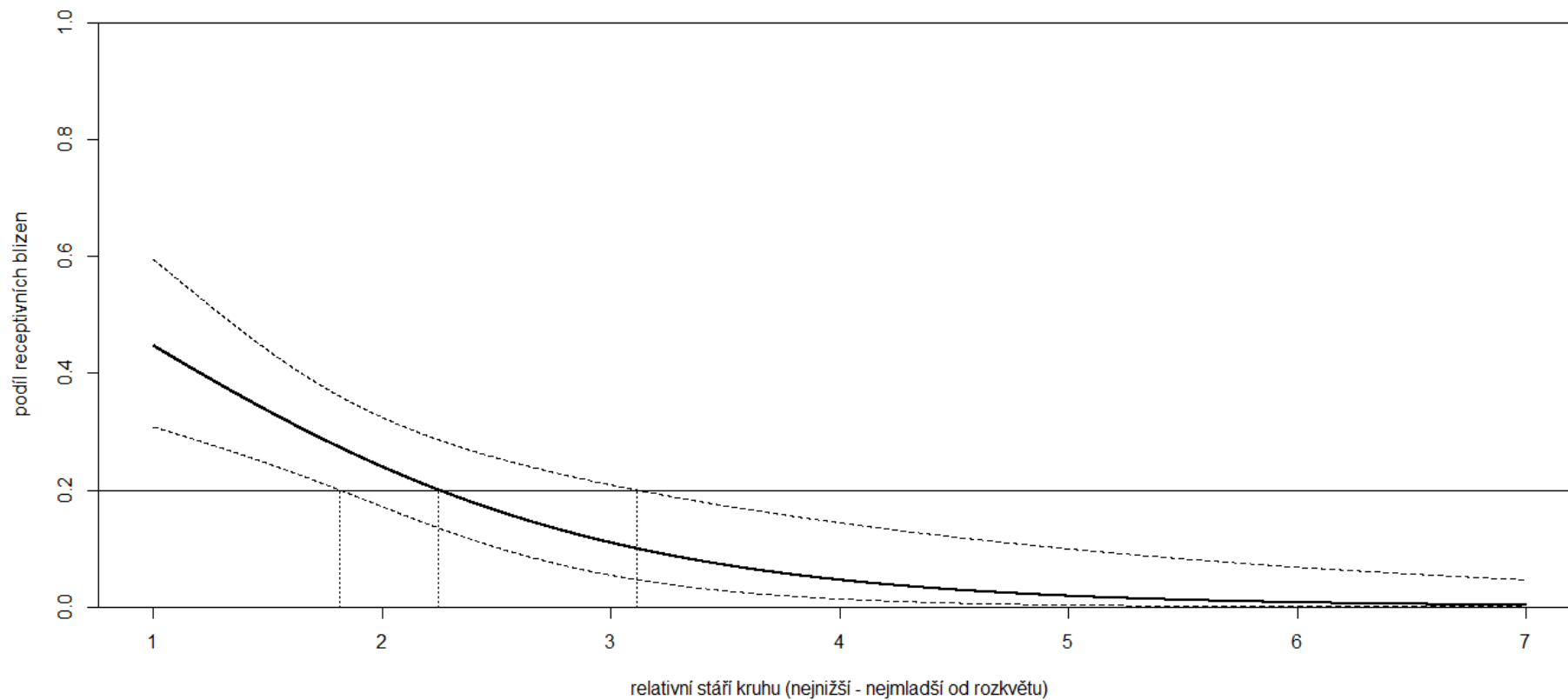
Obr. 9: Graf znázorňující podíl pyl prezentujících květů *Achillea ptarmica* z celkové denní sumy v závislosti na denní době. Plná čára značí křivku regresní závislosti, přerušovaná značí 95% konfidenční interval této křivky, $p < 0,001$.



Obr. 10: Podíl receptivních blizen ze všech zkoumaných u *Achillea millefolium* v závislosti na jejich stáří. Plná čára značí křivku regresní závislosti, přerušovaná značí 95% konfidenční interval této křivky, $p = 0,007$.



Obr. 11: Podíl receptivních blizen ze všech zkoumaných u *Achillea ptarmica* v závislosti na relativním stáří kruhu. Plná čára značí křivku regresní závislosti, přerušovaná značí 95% konfidenční interval této křivky $p < 0,001$.



5 Diskuze

Z výsledků experimentů věnovaných studiu reprodukční úspěšnosti dvou druhů řebříčků v kulturní krajině vyplývá, že jednotlivé ploidie *Achillea millefolium* agg. se mezi sebou v celkové produkci semen a v klíčivosti neliší. Rostliny *Achillea millefolium* agg. vyprodukují průměrně větší množství semen než rostliny *A. ptarmica*. Typ stanoviště výrazně ovlivnil průměrnou výšku rostlin a s ní spojenou velikost květenství a produkce semen. Počet opylovačů na bodě měl pozitivní vliv na celkovou produkci semen studovaných druhů. Množství vyprodukovaných semen odráželo jejich kvalitu (klíčivost). Počet opylovačů v krajině výrazně závisel na fázi sezony. Nejvíce pestřenek bylo zaznamenáno na počátku kvetení řebříčků, tj. od 13.7. do 18.7.

Díličí experimenty věnované fenologii kvetení řebříčků ukázaly, že řebříčky uvolňují pyl z jednoho květu právě jeden den. K uvolňování dochází v průběhu celého dne, s maximem denního podílu pyl prezentujících květů okolo 13. hodiny. Z kohorty blizen, které se navečer v květech objevily, byl největší počet aktivní hned následující den. Během následujících dnů podíl receptivních blizen zřejmě rychle klesá a už třetí den se pohybuje někde okolo 20 %.

Rozdíly mezi jednotlivými druhy řebříčků

Na studovaném území je *Achillea millefolium* agg. zastoupen třemi ploidie, tetraploidní *Achillea pratensis*, hexaploidní *Achillea millefolium* s. str. a jejich pentaploidním hybridem. Cytometrické analýzy ukázaly, že se *A. millefolium* s. str. na studovaném území nachází hojněji než ostatní ploidie. Nicméně, co se týče celkové produkce semen a jejich kvality, nebyl mezi jednotlivými ploidie významný rozdíl. Pokud jde tedy o reprodukční úspěšnost, jsou na tom všichni zástupci *A. millefolium* zhruba stejně. Zřejmě je tomu tak proto, že opylovači mezi jednotlivými ploidie nedělají rozdíl a distribuují pyl bez ohledu na ploidii rostliny. K podobným závěrům došli i Jersáková et al. (2010) u *Gymnadenia conopsea* agg. Husband et al. (2000) však u *Epilobium angustifolium* pozoroval, že opylovači preferovali jeden cytotyp před druhým. Lišila se i doba, kterou na květech opylovači strávili. Preferovanější tetraploid oproti diploidovi vytvářel v průměru více květů, byl tak pro opylovače atraktivnější. Vliv velikosti květenství pozoroval u řebříčků i Andersson (1991). Vzhledem k tomu, že oba druhy z agregátu *Achillea millefolium* se velice zcela překrývají záleží spíše na individuálních vlastnostech rostliny a na jejich umístění v krajině (Steffan-Dewenter & Tschardt 1999, Jauker et al. 2009). Naopak

rostliny *Achillea ptarmica* dosahovaly v průměru většího vzrůstu než *A. millefolium* agg., rozdíl byl patrný především v lemových společenstvech. Vyšší rostliny vytvořily větší množství úborů.

Výška rostliny pozitivně ovlivnila i celkovou produkci semenu obou studovaných druhů, což se shoduje s výsledky studie, kterou provedl Allison (2002) na *Achillea millefolium*. Zjistil, že mateřská rostlina, která měla dostatečný přísun živin a dostatek světla, dosáhla většího vzrůstu a následně produkovala více semen. Stejně výsledky můžeme pozorovat na rostlinách z lemů ve studovaném území, což může být způsobeno větším množstvím dostupných živin díky spíše výjimečnému odvážení biomasy ze stanoviště a absenci první seče jako faktoru limitujícího růst.

Vyšší množství vyprodukovaných semen u větších rostlin zřejmě není pouze funkcí jejich větší velikosti a rezerv, ale nejspíše také vyšší navštěvovanosti opylovači. Andersson (1991) na rostlinách *A. ptarmica* zjistil, že rostliny s menší plochou květenství (méně dílčích úborů) byly až o 50 % méně navštěvovány hmyzem. Čím více semen byla rostlina schopna vyprodukovat, tím měla lepší klíčivost.

Celkovou produkci semen mohou kromě opylovačů ovlivnit i larvy některých druhů hmyzu, které se živí semeny rostlin (Fenner et al. 2002), protože jsou bohatá na živiny, avšak četnost jejich výskytu v mých datech byla spíše nízká (pouze 8 úborů z o něco více než 1000), a tak mohu vliv predisperzních predátorů semen považovat spíše za okrajový.

Rozdíly mezi loukami a lemy

Rostliny rostoucí v lemech se ve studovaném území z hlediska kvality semen od těch rostoucích na louce neliší. Ačkoliv byla celková početnost opylovačů v lemech o něco nižší než na louce (tabulka 4), po sečtení všech přímých a nepřímých vlivů (tabulka 5) je patrné, že rostliny rostoucí v lemech produkují celkově více semen než rostliny na louce. Fakt, že jsou lemy loukám podobné a že v nich rostliny tvoří více semen, podporuje hypotézu, že mohou sloužit jako refugia pro rostliny lučních společenstev (Kiviniemi & Eriksson 1999, Blomqvist et al. 2003, Smart et al. 2006, Jacot et al. 2012) a také jako zdroje diaspor pro jejich obnovení (Cousins & Eriksson 2001, Auestad et al. 2010, Koyanagi et al. 2012).

Ve studovaném území se k tomu přidává velký překryv druhového složení rostlin lemů a luk (Kmecová 2012). Lemy tak v mém případě mohou plnit i roli zdroje diaspor pro opětovnou rekolonizaci některých druhově ochuzených luk v území. Podstatné bylo také zjištění, že početnosti pestřenek jsou v lemech a na loukách srovnatelné, což naznačuje srovnatelnou pravděpodobnost opylení rostlin v lemech a na loukách a rovněž to zvyšuje

pravděpodobnost genového toku mezi jednotlivými populacemi. S rostoucími hustotami pestřenek roste i pravděpodobnost výskytu jedinců, kteří přenesou pyl mezi jednotlivými populacemi.

Vliv opylovačů

Jednu z klíčových proměnných určujících reprodukční úspěšnost řebříčků ve studovaném systému (celkovou produkci semen) však nejvíce ovlivnila hustota opylovačů (tabulka 5). K podobným závěrům došli i Steffan-Dewenter a Tschardtke (1999), když zkoumali vliv množství opylovačů na produkci semen u *Sinapis arvensis* a *Raphanus sativus*. U obou druhů poklesl se snižující se návštěvností rostlin opylovači i počet semen. Steffan-Dewenter a Tschardtke však gradient dostupnosti opylovačů vytvářeli umístováním pokusných rostlin do relativně velkých vzdáleností od polopřirozených lokalit v intenzivně zemědělsky využívané krajině. Mnou získané výsledky ukazují, že podobné procesy působí i v situaci, kdy izolovanost i mých nejdlejších lokalit je řádově nižší a kdy i na lokalitách s nejnižší hustotou u opylovačů se vyskytuje jeden opylovač na bodě v průběhu libovolných pěti minut (až na 3 výjimky) s cca 65% pravděpodobností, což je pořád poměrně vysoká hodnota. Závislost hustoty opylovačů na produkci semen prokázali i Tsaliki a Diekmann (2011) u dvou druhů rodu *Genista*. Po sečtení přímých i nepřímých vlivů je patrné, že množství opylovačů má pozitivní vliv i na kvalitu semen měřenou jako klíčivost (tabulka 6).

Vliv fáze sezony

Hustotu pestřenek v krajině, nejvíce ovlivnila fáze sezony. Aktivita v sezoně se sice v rámci jednotlivých druhů pestřenek mírně liší (tabulka 1), ale v celkovém součtu se s přibližujícím se koncem sezony celkový počet pestřenek snižoval. Nejvíce jich bylo nachytáno v termínu od 13.7. do 18.7., průměrně 14 kusů na bod. V termínu od 27.7. do 1.8. už to bylo pouze průměrně 6 individuí na bod a od 13.8. do 26.8. už byla na bodě chycena průměrně jedna pestřenka (obr. 7). Pro rostliny, které se nalézají ve studovaném území a jejichž hlavní skupinou opylovačů jsou pestřenky, je podle mých pozorování nejvhodnější doba pro kvetení někdy v polovině července.

Počtem pestřenek se měnily poměrně razantně v rozmezí cca 10-14 dnů a dopady této změny na reprodukční úspěšnost řebříčků byly poměrně velké. Posuny v začátku kvetení způsobené např. sečí ve fenologicky nevhodnou dobu (např. kvůli agroenvironmentálním dotacím) se mohou zcela bez potíží pohybovat ve srovnatelném řádu. Tyto výsledky

naznačují, že potenciální vlivy managementu na reprodukční úspěšnost rostlin mohou být i v řádu jedné sezóny mnohem větší, než se obvykle předpokládá (Konvička et al. 2005).

Fenologie kvetení řebříčků

Řebříčky jsou schopny zakládat nová květenství v průběhu celé vegetační sezony (Johnston & Pickering 2006). I jednotlivé květy v rámci jednoho úboru rozkvétají postupně. Každý den bez ohledu na počasí vykvete jedna kohorta květů. Květy *Achillea ptarmica* rozkvétají v rámci jednotlivých úborů v kruzích od kraje ke středu. Pokud jsou úbory velké, může rozkvétat i více kruhů najednou. V drobnějších úborech *Achillea millefolium* agg. rozkvétá 1-5 květů v jednom úboru, opět záleží na velikosti úborů. Krátká životnost jednotlivých květů (1 den samčí fáze a 2-3 dny samičí fáze) je u řebříčků kompenzována postupným zakládáním květů. Ne všechny květy jsou nakonec opyleny, jelikož aktivita opylovačů narozdíl od rostlin závisí i na počasí (Tsaliki & Diekmann 2011, McCall & Primack 1992). Řebříčky si tak mohou dovolit vytvořit více květů než na kolik semen mají živiny a rozložit své šance na opylení do delšího časového úseku. *Achillea ptarmica* má v lučních společenstev nástup kvetení později než *A. millefolium* (tabulka 1) a také později dozrává. Většina lučních populací *A. ptarmica* tak ještě v době kosení luk na počátku září neměla dozralá semena. Rostliny byly posekány dříve než stačily odplodit, což by mohlo vést k omezení pohlavní regenerace populací a jejich kolonizačního potenciálu. Prodloužení vegetační sezony (pozdější seč) podobným způsobem pozitivně ovlivnilo délku kvetení a velikost populace například u *Knautia arvensis* (Franzén & Nilsson 2008). I dlouhá doba kvetení však může navzdory posunutí seči snížit reprodukční úspěšnost, protože se s přibližujícím se koncem sezony snižuje počet opylovačů v krajině (obr. 7).

Rostliny uvolňují pyl postupně během celého dne. Maximum pylu prezentujících květů je kolem 13. hodiny. Z terénních experimentů, které probíhaly současně s mými, se zjistilo, že v tuto denní dobu nejvíce aktivují i pestřenky (Gruberová et al., nepublikovaná data). Tím, že jsou řebříčky schopné kvést celou vegetační sezonu, mají větší šanci na opylení na rozdíl od rostlin, které mají omezenou dobu kvetení (Tsaliki & Diekmann 2011).

Některé další limitace mé studie

Klíčivost jsem zkoumala pouze v laboratorních podmínkách, tudíž mi experiment podal informaci o procentu semen, která jsou schopna vyklíčit pouze za určitých podmínek (dostatek vody, světla, slabá konkurence). V přirozených přírodních podmínkách však tato situace bude odlišná. Procento vyklíčených semen bude podstatně nižší, protože v přírodních

podmínkách má na úspěšnost vyklíčení (a tedy následně i na reprodukční úspěšnost rostlin) vliv několik faktorů. Jedním z nich je dostupnost vhodných ploch pro klíčení, např. řídká vegetace (Kiviniemi & Eriksson 1999, Auestad et al. 2009). I když se semenu podaří vyklíčit, není zaručené, že semenáček přežije. Semenáčky totiž mají větší úmrtnost než samotná semena (Auestad et al. 2010), opět záleží na kompetici s okolní vegetací jak nad zemí tak v půdě (Allison 2002). Dalším krokem ve zkoumání reprodukční úspěšnosti řebříčků v kulturní krajině by měl být výsevový pokus, který by ukázal, zda je zjištěný efekt (čím víc semen tím lépe klíčí) významný i v přírodních podmínkách.

Lázaro a Totland (2010) a Weiner et al. (2011) ukázali, že na množství opylovačů v krajině má vliv hustota i druhové složení rostlinných společenstev. Tento faktor jsem v rámci diplomové práce nezohlednila. Vycházela jsem z toho, že je studované území poměrně malé rozlohy, zabírá okruh max. 3 km od centra území, a krajina je otevřená, takže lze předpokládat, že vliv okolních porostů (bohatství jimi nabízených zdrojů, nebo neprostupnosti např. v podobě lesa) na konkrétní plochu bude spíše minimální, mimo jiné proto, že pestřenky jsou schopny v otevřené krajině uletět velkou vzdálenost (Jauker et al. 2009). Další důležitou otázkou, již jsem se v rámci mé studie nezabývala je vliv velikosti populace řebříčků na početnost opylovačů, popř. interakce této početnosti s klonální diverzitou (a souvisejícím množstvím potenciálních rozmnožovacích partnerů) v populaci. na rozdíl od rostlin, které mají omezenou dobu kvetení (Tsailiki & Diekmann 2011).

6 Závěr

Reprodukční úspěšnost *Achillea millefolium* agg a *Achillea ptarmica* v krajině byla nejvíce ovlivněna počtem opylovačů (pestrének). Jejich početnost potom z největší části závisela na fázi sezóny, kdy rostliny kvetly. Z pohledu rostlin dřívější kvetení přinášelo větší reprodukční úspěch díky vyšší četnosti opylovačů. Množství vyprodukovaných semen a jejich kvalita (klíčivost) jsou spolu pozitivně korelovány. I když byla celková početnost opylovačů v lemech o něco nižší než na louce, produkovaly rostliny v lemech celkově více semen než rostliny na louce díky větší velikosti rostlin. Lemy tak mohou ve studovaném území plnit roli zdroje diaspor pro obnovu některých druhově chudších luk.

Významná role opylovačů potažmo fáze sezóny naznačují, že posuny ve fenologii způsobené nejrůznějšími faktory (např. mikroklima jednotlivých stanovišť, ale také i načasování první seče na loukách) mohou mít nečekaně velké dopady na reprodukční úspěšnost běžných rostlin. Strategie řebříčků v podobě postupného rozkvétání a rozkládání šance na opylení do většího počtu dnů má svá omezení, a to zejména v podobě poměrně omezené životnosti jednotlivých květů (v kombinaci s velikostí květenství).

7 Seznam použité literatury

- Adamska I (2004) Schizothirioma ptarmicae (Helotiales, Ascomycota), rare european fungus newly found in Poland. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 73: 57-59
- Ågren J (1996) Population size, pollinator limitation, and seed set in the self-incompatible herb *Lythrum salicaria*. *Ecology* 77: 1779-1790
- Allison VJ (2002) Nutrients, arbuscular mycorrhizas and competition interacts to influence seed production and germination success in *Achillea millefolium*. *Functional Ecology* 16: 742-749
- Andersson S (1991) Floral display and pollination success in *Achillea ptarmica* (Asteraceae). *Holarctic Ecology* 14: 186-191
- Andersson S (1993) The potential for selective seed maturation in *Achillea ptarmica* (Asteraceae). *Oikos* 66: 36-42
- Andersson S (1999) The cost of floral attractants in *Achillea ptarmica* (Asteraceae): Evidence from a ray removal experiment. *Plant biology* 1: 569-572
- Auestad I, Rydgren K, Jongejans E, de Kroon H (2010) *Pimpinella saxifraga* is maintained in road verges by mosaic management. *Biological Conservation* 143: 899-907
- Berg Å, Ahrné K, Öckinger E, Svensson R, Söderström B (2011) Butterfly distribution and abundance is affected by variation in the Swedish forest-farmland landscape. *Biological Conservation* 144: 2819-2831
- Blomqvist MM, Vos P, Klinkhamer PGL, ter Keurs WJ (2003) Declining plant species richness of grassland ditch banks-a problem of colonisation or extinction? *Biological Conservation* 109: 931-406
- Celedón-Neghme C, Gonzáles WL, Gianoli E (2007) Cost and benefits of attractive floral traits in the annual species *Madia sativa* (Asteraceae). *Evolutionary Ecology* 21: 247-257
- Chytrý M, editor (2007) vegetace České republiky 1. Travinná a keříčková vegetace [Vegetation of the Czech Republic. Vol. 1 - Grassland and heathland vegetation]. 1. vydání ed. Praha, Česká republika: Academia, 528 p.
- Cousins SAO, Eriksson O (2001) Plant species occurrences in a rural hemiboreal landscape: effects of remnant habitats, site history, topography and soil. *Ecography* 24: 461-469
- Crawley MJ (2007) The R book. Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd. 948 p

- Černá M, Fišer B, Potočiarová E, Vejvodová A (2007): Agroenvironmentální opatření České republiky 2007-2013. Ministerstvo životního prostředí ve spolupráci s Agenturou ochrany přírody a krajiny ČR a Ministerstvem zemědělství
- Doležel J, Greilhuber J, Suda J (2007) Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. *Nature Protocols* 2: 2233-2244
- Eriksson A (2001) Arbuscular mycorrhiza in relation to management history, soil nutrients and plant species diversity. *Plant Ecology* 155: 129-137
- Fenner M, Cresswell JE, Hurley RA, Baldwin T (2002) Relationship between capitulum size and pre-dispersal seed predation by insect larvae in common Asteraceae. *Oecologia* 130: 72-77
- Flick T, Feagan S, Fahrig L (2012) Effects of landscape structure on butterfly species richness and abundance in agricultural landscape in eastern Ontario, Canada. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 156: 123-133
- Franzén M, Nilsson SG (2008) How can we preserve and restore species richness of pollinating insects on agricultural land? *Ecography* 31: 698-708
- Guo Y-P, Ehrendorfer F, Samuel R (2004) Phylogeny and systematics of *Achillea* (Asteraceae-Anthemideae) inferred from nrITS and Plastid trnL-F DNA sequences. *Taxon* 53: 657-672
- Hegland SJ, Boeke L (2006) Relationship between the density and diversity of floral resources and flower visitor activity in a temperate grassland community. *Ecological Entomology* 31: 532-538
- Hopwood JL (2008) The contribution of roadside grassland restorations to native bee conservation. *Biological Conservation* 141: 2632-2640
- Humbert J-Y, Ghazoul J, Richner N, Walter T (2012) Uncut grass refuges mitigate the impact of mechanical meadow harvesting on orthopterans. *Biological Conservation* 152: 96-101
- Husband BC (2000) Constraints on polyploid evolution: a test of the minority cytotype exclusion principle. *Proceedings of the Royal Society London* 267: 217-223
- Ivancheva S, Thomas-Barberan F, Tsvetkova R (2002) Comparative analysis of flavonoids in *Achillea* sp. sect. *millefolium* and sect. *ptarmica*. *Tome* 55: 43-46
- Jacot K, Eggenschwiler L, Beerli C, Bosshard A, Suter M (2012) Significance of different types of meadow edges for plant diversity in the Swiss Alps. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 153: 75-81

- Jauker F, Diekötter T, Schwarzbach F, Wolters V (2009) Pollinator dispersal in an agricultural matrix: opposing responses of wild bees and hoverflies to landscape structure and distance from main habitat. *Landscape Ecology* 24: 547- 555
- Jersáková J, Castro S, Sonk N, Milchreit K, Schödelbauerová I, Tolasch T, Dötterl S (2010) Absence of pollinator-mediated premating barriers in mixed-ploidy populations of *Gymnadenia conopsea* s.l. (Orchidaceae). *Evolutionary Ecology* 24: 1199-1218
- Johnston FM, Pickering CM (2006) Phenology of the environmental weed *Achillea millefolium* (Asteraceae) along altitudinal and disturbance gradients in the Snowy Mountains, Australia. *Nordic Journal of Botany* 24: 148-160
- Kiviniemi K, Eriksson O (1999) Dispersal, recruitment and site occupancy of grassland plants in fragmented habitats. *Oikos* 86: 241-253
- Kmecová K (2012) Co kvete, když nekvete louky? Sezónní proměnlivost vegetace lemů a její význam pro opylovače a diverzitu rostlin kulturní krajiny. Středoškolská odborná činnost. Gymnázium a střední odborná škola pedagogická, Pontassievská 3, Znojmo
- Konvička M., Beneš J., Čížek L., 2005: Ohoržený hmyz nelesních stanovišť: ochrana a management, Sagittaria
- Koyanagi T, Kusumoto Y, Yamamoto S, Takeuchi K (2012) Potential roles of small linear habitat fragments in satoyama landscapes for conservation of grassland plant species. *Urban Ecosystems* 15: 893-909
- Kubát K, Hrouda L, Chrtěk J, Kaplan Z, Kirschner J, Štěpánek J (eds) (2002) Klíč ke květeně České republiky, Academia, Praha - 928 p
- Lambrecht SC, Dawson TE (2007) Correlated variation of floral and leaf traits along a moisture availability gradient. *Oecologia* 151: 574-583
- Lázaro A, Totland O (2010) Local floral composition and the behaviour of pollinators: attraction to and foraging within experimental patches. *Ecological Entomology* 35: 652-661
- McCall C, Primack RB (1992) Influence of flower characteristics, weather, time of day, and season on insect visitation rates in three plant communities. *American Journal of Botany* 79: 434-442
- Norderhaug A, Ihse M, Pedersen O (2000) Biotope patterns and abundance of meadow plant species in a Norwegian rural landscape. *Landscape Ecology* 15: 201-218
- Obermaier E, Zwölfer H (1999) Plant quality or quantity? Host exploitation strategies in three Chrysomelidae species associated with Asteraceae host plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 92: 165-177

- Öckinger E, Lindborg R, Sjödin NE, Bommarco R (2012) landscape matrix modifies richness of plants and insects in grassland fragments. *Ecography* 35: 259-267
- Öckinger E, Smith HG (2007) Semi-natural grasslands as population sources for pollinating insects in agricultural landscapes. *Journal of Applied Ecology* 44: 50-59
- Oomes MJM, Elberse WT (1976) Germination of six grassland herbs in microsites with different water control. *Journal of Ecology* 64: 745-755
- Osgathorpe LM, Park K, Goulson D (2012) The use of off-farm habitats by foraging bumblebees in agricultural landscapes: implications for conservation management. *Aphidologie* 43: 113-127
- Parr TW, Way JM (1988) Management of roadside vegetation: the long-term effects of cutting. *Journal of Applied Ecology* 25: 1073-1087
- Raemakers IP, Schaffers AP, Sýkora KV, Heijerman T (2001) The importance of plant communities in road verges as a habitat for insects. *Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology*, New Amsterdam 12: 101-106
- Robocker WC (1977) Germination of seeds of common yarrow (*Achillea millefolium*) and its herbicidal control. *Weed Science* 25: 456-459
- Slavík B, Štěpánková J editoři (2004) Květena České republiky 7. Praha, Česká republika: Academia. 767 p.
- Smart SM, Marrs RH, Le Duc MG, Thompson K, Bunce RGH, Firbank LG, Rossall MJ (2006) Spatial relationship between intensive land cover and residual plant species diversity in temperate farmed landscapes. *Journal of Applied Ecology* 46: 1128-1137
- Steffan-Dewenter I, Tscharrntke T (1999) Effects of habitat isolation on pollinator communities and seed set. *Oecologia* 121: 432-440
- Sýkora KV, Kalwij JM, Keizer P-J (2002) Phytosociological and floristic evaluation of a 15-year ecological management of roadside verges in the Netherlands. *Preslia, Praha* 74: 421-436
- Vervuren PJA, Blom CWPM, de Kroon H (2003) Extreme flooding events on the Rhine and the survival and distribution of riparian plant species. *Journal of Ecology* 91: 135-146
- Weiner CN, Werner M, Linsenmair KE, Blüthgen N (2011) Land use intensity in grasslands: Changes in biodiversity, species composition and specialisation in flower visitor networks. *Basic and Applied Ecology* 12: 292-299
- Zhang D, Armitage AM, Affolter JM, Dirr MA (1996) Environmental control of flowering and growth of *Achillea millefolium* L. 'Summer Pastels'. *HortScience* 3: 364

8 Příloha

8.1 Dílčí výsledky path analysis

Jak závisí výška rostlin na typu stanoviště, na druhu a na fázi sezony

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
lem	1	24628,7	24628,7	109,2583	< 2.2e-16	***
druh	2	3189,5	1594,7	7,0745	0,001349	**
teren	2	384,3	192,2	0,8525	0,429501	
Residuals	98	22090,9	225,4			

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	33,6329	3,479	9,667	6,38E-16 ***
lemP	25,8133	3,5566	7,258	9,37E-11 ***
druhptarmica	13,548	3,6281	3,734	0,000316 ***
druhT	0,7554	4,3427	0,174	0,862272
teren2	-2,8962	3,5086	-0,825	0,41112
teren3	-4,8303	3,9383	-1,226	0,222952

Jak závisí celková produkce semen na výšce rostliny, typu stanoviště, na druhu a na fázi sezony

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
vyska	1	1,493	1,493	5,4507	0,02162	*
lem	1	0,136	0,136	0,4972	0,48242	
druh	2	64,395	32,197	117,5719	< 2e-16	***
teren	2	1,408	0,704	2,571	0,08167	.
Residuals	97	26,564	0,274			

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	3,128006	0,169491	18,455	<2,00E-16 ***
vyska	0,021774	0,003521	6,184	1,48E-08 ***
lemP	0,318257	0,153712	2,07	0,0411 *
druhptarmica	-1,89556	0,135154	-14,025	<2,00E-16 ***
druhT	-0,24452	0,151387	-1,615	0,1095
teren2	-0,02503	0,122718	-0,204	0,8388
teren3	-0,30381	0,138319	-2,196	0,0304 *

Jak závisí počet opylovačů na bodě na typu stanoviště, na druhu rostliny a na fázi sezony

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
lem	1	3,36	3,3603	10,7151	0,001469	**
druh	2	0,4	0,1998	0,6373	0,530917	
teren	2	54,372	27,1861	86,69	< 2,20E-16	
Residuals	98	30,733	0,3136			

	Estimate	Std.	Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	2,6177	0,1298	20,173	<2,00E-16	***
lemP	-0,4784	0,1327	-3,606	0,00049	***
druhptarmica	0,239	0,1353	1,766	0,08046	.
druhT	0,1919	0,162	1,185	0,23905	
teren2	-0,7003	0,1309	-5,351	5,75E-07	***
teren3	-1,9273	0,1469	-13,121	<2,00E-16	***

Jak závisí celková produkce semen na počtu pestřenek na bodě, celkovém počtu úborů, výšce rostliny, typu stanoviště, druhu rostliny a fázi sezony

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
log(pestrenky + 1)	1	16,943	16,943	26,8471	1,23E-06 ***
log(ubory)	1	60,815	60,815	96,3615	4,08E-16 ***
vyska	1	18,803	18,803	29,794	3,82E-07 ***
lem	1	0,419	0,419	0,6647	0,41695
druh	2	3,962	1,981	3,1386	0,04787 *
teren	2	0,158	0,079	0,1252	0,88242
Residuals	95	59,956	0,631		

	Estimate	Std.	Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	0,73951	0,636445	1,162	0,2482	
log(pestrenky +1)	0,228779	0,144278	1,586	0,1161	
log(ubory)	1,081266	0,154544	6,997	3,67E-10 ***	
vyska	0,01275	0,006316	2,019	0,0463 *	
lemP	-0,3698	0,253226	-1,46	0,1475	
druhptarmica	0,898525	0,360378	2,493	0,0144 *	
druhT	0,088241	0,234818	0,376	0,7079	
teren2	-0,10312	0,21116	-0,488	0,6264	
teren3	-0,12502	0,347037	-0,36	0,7195	

Jak závisí klíčivost na celková produkci semen, počtu pestřenek na bodě, celkovém počtu úborů, výšce rostliny, typu stanoviště, druhu rostliny a fázi sezony

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
log(totsem)	1	0,36222	0,36222	24,7291	2,96E-06 ***
log(pestrenky + 1) 1		0,06273	0,06273	4,2824	0,041253 *
log(ubory)	1	0,00378	0,00378	0,2582	0,61257
vyska	1	0,13433	0,13433	9,1707	0,003174 **
lem	1	0,08964	0,08964	6,1199	0,015161 *
druh	2	0,04246	0,02123	1,4493	0,239923
teren	2	0,08671	0,04336	2,96	0,056666 .
Residuals	94	1,37687	0,01465		

	Estimate	Std.	Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	0,234657	0,097646	2,403	0,0182	*
log(totsem)	0,076431	0,01563	4,89	4,15E-06	***
log(pestrenky+1)	-0,01233	0,022269	-0,554	0,581	
log(ubory)	-0,0368	0,028982	-1,27	0,2073	
vyska	0,000331	0,000983	0,337	0,7371	
lemP	-0,05976	0,039008	-1,532	0,1289	
druhptarmica	-0,11215	0,05667	-1,979	0,0507	.
druhT	-0,03883	0,0358	-1,085	0,2808	
teren2	0,076847	0,03221	2,386	0,019	*
teren3	0,090626	0,052906	1,713	0,09	.

8.2 Dílčí výsledky produkce pylu a receptivity blizen

Uvolňování pylu u *Achillea millefolium* agg.

	Df	Deviance	Resid.	Df	Resid. Dev	F	Pr(>F)
NULL	283	2181,12					
cas	1	51,33	282	2129,79	13,403	3,00E-04	***
l(cas^2)	1	1351,03	281	778,76	352,745	<2e-16	***

	Estimate	Std.	Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	-40,039	3,125	-12,81	<2e-16	***
cas	141,166	11,09	12,73	<2e-16	***
l(cas^2)	-124,973	9,708	-12,87	<2e-16	***

Uvolňování pylu u *Achillea ptarmica*

	Df	Deviance	Resid.	Df	Resid. Dev	Pr(>Chi)
NULL	290	719,06				
cas	1	2,42	289	716,64	0,1196	
l(cas^2)	1	444,19	288	272,45	<2e-16	***

	Estimate	Std.	Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	-30,58	2,187	-13,98	<2e-16	***
cas	116,564	8,244	14,14	<2e-16	***
l(cas^2)	-110,335	7,646	-14,43	<2e-16	***

Receptivita blizen *Achillea millefolium* agg.

	Df	Deviance	Resid. Df	Resid. Dev	Df	F	Pr(>F)
NULL			59	109,577			
den	1	10,5726	58	99,004	7,8351	0,006981	**
pozice	1	9,2679	57	89,736	6,8682	0,011228	*

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	0,1045	0,4818	0,217	0,829
den	-0,7626	0,2802	-2,722	0,00859 **
poziceS	0,7333	0,2836	2,586	0,01229 *

Receptivita blizen *Achillea ptarmica*

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	0,7297	0,5295	1,378	0,171905
kruh3	-0,9419	0,2706	-3,481	0,000803 ***