

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE
FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ
KATEDRA EKOLOGIE

Reprodukční ekologie vybraných zástupců rodu *Pulsatilla* Mill.

Reproduction ecology of selected species of genus *Pulsatilla* Mill.

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: Doc. RNDr. Michal Hejčman, Ph.D. et Ph.D.

Konzultant diplomové práce: Mgr. Petr Karlík

Diplomant: Bc. Petr Jiras

2011

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně, pod vedením Doc. RNDr. Michala Hejcmana, Ph.D. et Ph.D. a Mgr. Petra Karlíka. Při jejím zpracování jsem použil všechnu citovanou literaturu.

V Praze dne 29. 4. 2011

.....

Poděkování

Děkuji zejména svému konzultantovi Mgr. Petru Karlíkovi a vedoucímu diplomové práce Doc. RNDr. Michalovi Hejčmanovi, Ph.D. et Ph.D za pomoc, inspiraci, cenné rady, opravy a trpělivost při vedení této práce.

Dále patří můj velký dík Dr. Marcele Skuhravé (Praha) za velkou pomoc s výzkumem a zpracováním části diplomové práce týkající se hmyzu vyvíjejícího se v souplodích nažek koniklece lučního českého; Mgr. et Ing. Michaelae Češkové, Ph.D a Ing. Janu Vítámvásovi Ph.D. z České zemědělské univerzity v Praze za ochotnou pomoc v laboratoři; Prof. RNDr. Rudolfu Rozkošnému, DrSc. z Masarykovy univerzity v Brně a RNDr. Vladimíru Zemanovi z Univerzity Hradec Králové za pomoc s determinací některých druhů hmyzu a Bc. Martině Bochenkové z České zemědělské univerzity v Praze zejména za pomoc v terénu.

Zvlášť vděčný jsem svým rodičům za zázemí a všemožnou podporu při zpracovávání této práce a svému bratrově s manželkou a ostatním přátelům za jejich osobní podporu.

Abstrakt

Rod koniklec zahrnuje převážně chráněné, v posledních desetiletích značně ustupující druhy rostlin, vázané zejména na xerothermní lokality. Příčinou jejich mizení je zejména nedostatečný management, hlavně absence tradiční pastvy na jejich lokalitách. Cíli této práce bylo zjistit, zda úbytek konikleců není zapříčiněn i dvěma jinými faktory: negativním vlivem atmosférickou depozicí zvýšeného množství dostupného dusíku v půdě na jejich klíčení a výrazným snížením jejich generativní reprodukce kvůli poškození nažek přečísperzními predátory.

Vliv dusíku na klíčení konikleců byl zjišťován pomocí laboratorního pokusu u pět a půl měsíce starých nažek koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*) a koniklece velkokvětého (*Pulsatilla grandis*), kultivovaných v Petriho miskách. Jako zdroj dusíku byl použit dusičnan amonný v šesti koncentracích. Dále byl zjišťován i vliv odstranění chlupatého přívěsku z nažek na jejich klíčení. Během následné kultivace byla odečítána jejich klíčivost a napadení houbami.

Na základě pokusu bylo zjištěno, že dusičnan amonný má signifikantní vliv na snížení klíčivosti obou druhů konikleců pouze při nejvyšší koncentraci ($4240 \text{ mg. N/l}^{-1}$), jinak byl jeho vliv zanedbatelný. Signifikantní vliv úpravy nažek (odstranění chlupatého přívěsku) na jejich klíčení byl zjištěn pouze u koniklece velkokvětého. Houby, které se objevily při kultivaci nažek, patrně neměly výrazný vliv na jejich klíčení. Infekce semenáčků houbami má ale zásadní vliv pro jejich přežívání v v raných stádiích vývoje rostlin.

Vzhledem k tomu, že výrazný vliv na snížení klíčivosti konikleců byl zaznamenán pouze u nejvyšší koncentrace dusičnanu amonného, je pravděpodobné, že vlivem atmosférické depozice zvýšené množství přístupného dusíku v půdě nemá vliv na klíčení zkoumaných druhů konikleců.

Jako pokračování této studie byl následně zkoumán vliv dusíku na přežívání semenáčků zkoumaných druhů konikleců (Bochenková 2011).

Výskyt a ekologie přečísperzních predátorů koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*) byla zjišťována na šesti lokalitách ve středních Čechách (PP Na horách, PP Pitkovická stráň, PP Trubínský vrch, PP Nad mlýnem, v lomu u PP Baba a v PR Prokopské údolí).

Na základě tohoto výzkumu byly zjištěny tři druhy hmyzu vyvíjející se v zrajících souplodích konikleců: bejlmorka koniklecová (*Dasineura pulsatillae*) z čeledi

bejlomorkovitých (Cecidomyiidae) a dosud nepopsaný druh pravděpodobně z čeledi květilkovitých (Anthomyiidae) (oba druhy řád Diptera) a třásněnka truběnka travní (*Haplothrips aculeatus*) (řád Thysanoptera). Všechny druhy byly nalezeny pouze v PP Na horách a v PP Pitkovická stráň, kromě květilky (Anthomyiidae sp.), která byla nalezena pouze v PP Na horách. Larvy bejlomorky koniklecové (*Dasineura pulsatillae*) a nymfy a dospělci truběnky travní (*Haplothrips aculeatus*) škodí sáním na nažkách a plodním lůžku v souplodích konikleců, zatímco larvy květilky (Anthomyiidae sp.) přímo ničí semena uvnitř nažek.

Ačkoliv v PP Na horách byl zjištěn silnější výskyt obou druhů hmyzu z řádu dvoukřídlých, není jimi populace koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*) vzhledem ke své velikosti na této lokalitě ohrožena.

Klíčová slova:

Pulsatilla pratensis, *Pulsatilla grandis*, dusík, klíčení semen, předdisperzní predátoři, *Dasineura pulsatillae*, Cecidomyiidae, Anthomyiidae, Thysanoptera

Abstract

Genus *Pulsatilla* includes predominantly protected in the past decades, significantly retreating plant species, linked in particular to xerotherm sites. The reason for their disappearance is especially inadequate management, especially the lack of traditional grazing on their sites. The objectives of this study was to determine whether the loss of *Pulsatilla* is caused as well as by two other factors: the negative influence of atmospheric deposition of increased amount of available nitrogen in the soil for their germination and significant reduction of their generative reproduction due to damage to achenes predispersal-predators.

Impact of nitrogen on germination of *Pulsatilla* was studied using a laboratory experiment at five and a half months old achenes *Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica* and *Pulsatilla grandis*, cultivated in Petri dishes. Ammonium nitrate in six concentrations was used as a source of nitrogen. Effect of the removal hairy appendage from achenes on their germination was also studied. During the subsequent cultivation was monitored their germination and infection by fungi.

It had been found that ammonium nitrate had a significant impact on reducing germination of both *Pulsatilla* species only at the highest concentration (4240 mg. N/l-1), otherwise its effect was negligible. Significant influence arrangement of achenes (removal hairy appendage) for their germination was observed only in pasque flower. Fungi, which occurred during the cultivation of achenes, apparently had not a dramatic impact on their germination. But infection of seedlings by fungi, has a major impact on their survival in early stages of plant development.

It is likely that due to atmospheric deposition of increased amounts of accessible nitrogen in the soil does not affect the germination of studied *Pulsatilla* species, because a significant effect on reducing *Pulsatilla* germination was observed only at the highest concentration of ammonium nitrate.

It was subsequently investigated, as a continuation of this study, the effect of nitrogen on the survival of seedlings studied species *Pulsatilla* (Bochenková 2011).

Occurrence and ecology of predispersal predators *Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica* was measured at six locations in Central Bohemia (Natural Monument Na horách, Natural Monument Pitkovická stráň, Natural Monument Trubínský vrch, Natural Monument Nad mlýnem, in the quarry by Natural Monument Baba and in the Nature Reserve Prokopské údolí).

There were identified three types of insects emerging in the maturing etaerios based on this Pulsatilla research: Dasineura pulsatillae from the family Cecidomyiidae and still blank type probably from the family Anthomyiidae (both belonging to order Diptera) and Haplothrips aculeatus (order Thysanoptera).

All species were found only in the Natural Monument Na horách and Natural Monument Pitkovická stráň, except Anthomyiidae sp., which was found only in the Natural Monument Na horách. Larvae Dasineura pulsatillae and nymphs and adults of Haplothrips aculeatus harm by sucking on achene and fertile bed in etaerios Pulsatilla , while larvae Anthomyiidae sp. Directly destroy the seeds within the achenes .

The population *Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica* is not threatened on this site because of its size although in the Natural Monument Na horách was found a stronger presence of both species of insects of the order Diptera.

Key words:

Pulsatilla pratensis, *Pulsatilla grandis*, nitrogen, germination of seeds, pre-disperzal predators, *Dasineura pulsatillae*, Cecidomyiidae, Anthomyiidae, Thysanoptera

Obsah

1. Úvod a cíle práce	12
2. Literární rešerše	14
2.1. Charakteristika rodu koniklec (<i>Pulsatilla</i> Mill.)	14
2.1.1. Popis rodu	14
2.1.2. Ekologie	14
2.1.3. Rozmnožování	15
2.1.4. Škůdci	16
2.1.5. Využití	16
2.1.6. Ohrožení a ochrana	16
2.2. Podrobný popis zkoumaných druhů	17
2.2.1. Koniklec luční český (<i>Pulsatilla pratensis</i> subsp. <i>bohemica</i> Skalický)	17
2.2.2. Koniklec velkokvětý (<i>Pulsatilla grandis</i> Wenderoth)	18
2.2.3. Ohrožení a ochrana konikleců v České republice	19
2.3. Klíčení semen	21
2.3.1. Průběh klíčení	21
2.3.2. Faktory ovlivňující klíčení semen	22
2.3.2.1. Faktory působící na semena v době jejich zrání	22
2.3.2.2. Faktory působící na semena v době po jejich uzrání	22
2.3.2.3. Faktory působící na semena při jejich klíčení	23
2.3.3. Dormance semen	25
2.3.4. Patologie semen	26
2.4. Vliv dusíku na klíčení rostlin	27
2.4.1. Význam dusíku pro rostliny	27
2.4.2. Vliv zvýšeného množství půdního dusíku na rostliny a rostlinná společenstva	27
2.4.3. Atmosférická depozice dusíku	28
2.4.3.1. Vliv atmosférické depozice dusíku na suché trávníky	29
2.4.4. Vliv dusíku na klíčení rostlin	30
2.5. Předdisperzní predátoři semen rostlin	31
2.5.1. Vybrané skupiny předdisperzních predátorů	31
2.5.1.1. Bejlmorky (Cecidomyiidae)	31
2.5.1.2. Květilky (Anthomyiidae)	32
2.5.1.3. Třásnokřídli (Thysanoptera)	33
3. Metodika	34

3.1. Pokusy s klíčením koniklece lučního českého (<i>Pulsatilla pratensis</i> subsp. <i>bohemica</i>) a koniklece velkokvětého (<i>Pulsatilla grandis</i>)	34
3.1.1. Použitá semena	34
3.1.2. Úprava nažek	34
3.1.3. Založení pokusů (společná charakteristika)	35
3.1.4. Laboratorní podmínky	35
3.1.5. Vyhodnocování pokusů	35
3.1.6. Pokus I.: Vliv dostupného dusíku na klíčení nažek koniklece lučního českého a koniklece velkokvětého	35
3.1.6.1. Použitý zdroj dusíku	35
3.1.6.2. Založení pokusů	36
3.1.6.3. Statistické vyhodnocení pokusů	38
3.1.7. Pokus II.: Klíčivost nedokonale vyvinutých a poškozených nažek	38
3.1.8. Pokus III.: Klíčivost nažek koniklece lučního českého (<i>Pulsatilla pratensis</i> subsp. <i>bohemica</i>) poškozených neznámým druhem květilky (<i>Anthomyiidae</i> sp.)	38
3.2. Bejlmorka koniklecová (<i>Dasineura pulsatillae</i>) a další druhy hmyzu vyvíjející se v souplodích koniklece lučního českého (<i>Pulsatilla pratensis</i> subsp. <i>bohemica</i>) ve středních Čechách	39
3.2.1. Zkoumané lokality	40
4. Výsledky	44
4.1. Pokus I.: Vliv dostupného dusíku na klíčení nažek koniklece lučního českého a koniklece velkokvětého	44
4.1.1. Klíčivost nažek a jejich napadení houbami u studovaných druhů konikleců	44
4.1.2. Vliv jednotlivých faktorů a jejich interakce na konečnou klíčivost a napadení nažek houbami	47
4.1.2.1. Klíčivost	47
4.1.2.2. Napadení nažek houbami	48
4.1.3. Vliv jednotlivých faktorů a jejich interakce na průběh klíčení	52
4.1.3.1. Koniklec luční český	52
4.1.3.2. Koniklec velkokvětý	52
4.1.4. Vliv délky suchého skladování nažek koniklece velkokvětého na jejich klíčivost a napadení houbami	56
4.2. Pokus II.: Klíčivost nedokonale vyvinutých a poškozených nažek	58

4.3. Pokus III.: Klíčivost nažek koniklece lučního českého (<i>Pulsatilla pratensis</i> subsp. <i>bohemica</i>) poškozených neznámým druhem květilky (<i>Anthomyiidae</i> sp.)	58
4.4. Bejlmorka koniklecová (<i>Dasineura pulsatillae</i>) a další druhy hmyzu vyvíjející se v souplodích koniklece lučního českého (<i>Pulsatilla pratensis</i> subsp. <i>bohemica</i>) ve středních Čechách	58
4.4.1. Bejlmorka koniklecová (<i>Dasineura pulsatillae</i>) (Diptera: Cecidomyiidae)	59
4.4.2. Květilka (Diptera: Anthomyiidae)	61
4.4.3. Truběnka travní (<i>Haplothrips aculeatus</i>) (Thysanoptera: Phlaeothripidae)	63
4.4.4. Fenologie kvetení a zrání koniklece lučního českého (<i>Pulsatilla pratensis</i> subsp. <i>bohemica</i>) v PP Na horách	64
4.4.5. Klíčivost nažek koniklece lučního českého (<i>Pulsatilla pratensis</i> subsp. <i>bohemica</i>) z území PP Na horách	64
5. Diskuze	64
5.1. Pokus I. Vliv dostupného dusíku na klíčení nažek koniklece lučního českého a koniklece velkokvětého	65
5.1.1. Klíčivost nažek a jejich napadení houbami u studovaných druhů konikleců	65
5.1.2. Vliv jednotlivých faktorů a jejich interakce na konečnou klíčivost a napadení houbami	66
5.1.2.1. klíčivost	66
5.1.2.2. Napadení nažek houbami	68
5.1.3. Vliv délky suchého skladování nažek koniklece velkokvětého na jejich klíčivost a napadení houbami	70
5.2. Pokus II.: Klíčivost nedokonale vyvinutých a poškozených nažek	70
5.3. Pokus III.: Klíčivost nažek koniklece lučního českého (<i>Pulsatilla pratensis</i> subsp. <i>bohemica</i>) poškozených neznámým druhem květilky (<i>Anthomyiidae</i> sp.)	71
5.4. Bejlmorka koniklecová (<i>Dasineura pulsatillae</i>) a další druhy hmyzu vyvíjející se v souplodích koniklece lučního českého (<i>Pulsatilla pratensis</i> subsp. <i>bohemica</i>) ve středních Čechách	71
5.4.1. Výskyt a ekologie sledovaných druhů	71
5.4.2. Míra ovlivnění hostitelských rostlin	73
5.4.3. Faktory limitující sledované hmyzí parazity	74
6. Závěr	75

Seznam příloh

Příloha č. 1.

1. Úvod a cíle práce

Tato diplomová práce se zabývá dvěma oblastmi reprodukční ekologie konikleců (*Pulsatilla* Mill). První část práce zkoumá vliv dostupného dusíku na klíčení nažek druhů koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*) a koniklece velkokvětého (*Pulsatilla grandis*). Druhá část práce se věnuje bejlomorci koniklecové (*Dasineura pulsatillae*) a dalším druhům hmyzu vyvíjejícím se v souplodích koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*)*.

Názvy taxonů konikleců použité v této práci jsou sjednoceny podle Skalického (Skalický 1988a) a syntaxony podle Moravce (Moravec 1995). Regionálně fytogeografické členění je uvedeno podle Skalického (Skalický 1988b).

Klíčení rostlin a následný vývoj semenáčků jsou kritické fáze v životě rostlin. Vliv dusíku na klíčení rostlin zatím zdaleka není prozkoumanou problematikou. Z dosavadních studií (např. Hilhorst et Karssen 1988, Vincent et Roberts 1977, Lugo Lugo 1955, Mandák et Pyšek 2001 a Bungard et al. 1997) je patrné, že dusík má různý vliv na klíčení různých druhů rostlin. Jeho pozitivní vliv na klíčení rostlin byl prokázán například u řady plevelů (Vincent et Roberts 1977), negativní např. u květáku, brukve, zelí, jetelovin, dalších plodin (Vaněk et al. 2002) a u druhu *Vanilla planifolia* (Lugo Lugo 1955) a u některých rostlin, například lebedy rozkladité (*Atriplex sagittata*) (Mandák et Pyšek 2001) a ovsu hluchého (*Avena fatua*) (Hilton 1983) byl zjištěn jeho pozitivní vliv na klíčení při nízkých a negativní při vysokých koncentracích. Princip, jakým dusík ovlivňuje klíčení rostlin zatím není moc jasný (Koller 1972).

Vzhledem k negativnímu vlivu dusíku na klíčení některých druhů rostlin tak přichází otázka, zda antropogenně zvýšené množství atmosférické depozice dusíku v posledních desetiletích (Bobbink et al. 2002) nemůže mít vliv na ústup vzácných druhů rostlin i tímto způsobem. Překvapivě jsou ale studie zabývající se tímto tématem velice výjimečné (např. Roem et al. 2002 a Foster et Gross 1998).

Koniklece jsou rostliny zejména výslunných stanovišť, s limitujícím obsahem dusíku (Kubíková 2005) a s klesající početností v posledních desetiletích (např. Podhajská et Čerovský 1999, Hensen et al. 2005 a Pfeifer et al. 2002). Ta je patrně způsobená zejména

* Výsledky této druhé části diplomové práce byly publikovány v odborném článku ve sborníku *Bohemia centralis* 30: 251-264 (Jiras et al. 2010). V předkládané diplomové práci je použit text článku, který je doplněn o některé podrobnější a upřesňující informace.

ukončením pastvy a prevencí lesních požárů na jejich lokalitách (např. Kalliovirta et al. 2006 a Astrom et Stridh 2003).

Prvním cílem této práce bylo zjistit, zda ústup konikleců nemůže mít na svědomí i negativní vliv antropogenně zvýšeného množství půdního dusíku na jejich klíčení.

Předdisperzní predátoři semen z třídy hmyzu, neboli hmyz parazitující na semenech rostlin před jejich rozšířením se z mateřské rostliny (Hulme et Benkman 2002), netvoří vzhledem k velikosti třídy hmyzu dobře prozkoumanou skupinu a to zejména z hlediska jejich rozšíření, ekologie a škodlivosti. Tyto druhy využívají bohaté zásoby živin v semenech k vlastní výživě. Rostliny se proti nim často brání fyzikálními (např. ostnami, tvrdým endospermem) anebo chemickými prostředky (látkami toxickými pro predátora anebo inhibujícími stravitelnost semen) (Herrera et Pellmyr 2002). Mezi předdisperzní predátory semen patří zejména zástupci řádů brouci (*Coleoptera*), ploštice (*Hemiptera*), blanokřídlí (*Hymenoptera*) a motýli (*Lepidoptera*) (Hulme et Benkman 2002).

Informace o předdisperzních predátorech konikleců se objevují pouze sporadicky (např. (Skuhrová 1975, Jonsson et al. 1991 a Bjorn et Torbjorn 1996) a zmiňují výskyt larev čeledí vrtalkovití (*Agromyzidae*) a bejlomorkovití (*Cecidomyiidae*) na různých druzích konikleců. Vzhledem k možné vysoké predaci nažek konikleců některými druhy hmyzu (viz. Jonsson et al. 1991) by bylo vhodné zjistit, zda nemají významný vliv na snížení generativní reprodukce a tím i početnosti konikleců.

Druhým cílem této práce proto bylo zjistit druhy, výskyt a škodlivost předdisperzních predátorů koniklece na vybraných lokalitách ve středních Čechách.

2. Literární rešerše

2.1. Charakteristika rodu koniklec (*Pulsatilla* Mill.)

2.1.1. Popis rodu

Rod koniklec zahrnuje asi 30 druhů s rozšířením převážně v mírném a mírně teplém pásmu severní polokoule (Skalický 1988a). Způsobem života jsou koniklece hemikryptofyty (rostliny s obnovovacími pupeny u povrchu země). Jsou to vytrvalé, desítky let žijící rostliny (Wildeman et Steeves 1982) s vícehlavým oddenkem s pupeny obalenými šupinami (Skalický 1988a). Starší rostliny tak vytváří trsy (Wildeman et Steeves 1982). Kořen konikleců je kulový (Wells & Barling 1971). Koniklece mají složené (výjimečně alespoň členěné) listy v počtu 1-12, nacházející se v přízemní růžici. Stonek konikleců s listenovitým útvarem obvykle složeným ze třech listenů (brakteol) nese pouze jeden květ s většinou šesti korunovitě zbarvenými okvětními lístky (Skalický 1988a). Květy konikleců jsou entomogamní, obvykle oboupohlavné a protogynní (Wells & Barling 1971). Obvykle obsahují 50-150 tyčinek a 30-100 pestíků (Jonsson et al. 1991). Vnější tyčinky většiny druhů jsou přeměněny ve staminodiální nektaria (Skalický 1988a). Během, ale i po kvetení, trvajícím obvykle 4-6 týdnů, se květní stonek prodlužuje (Kratochwil 1988). Plody konikleců jsou nažky s 3-4 centimetry dlouhým chlupatým přívěskem, vzniklým prodloužením čnělky (Jonsson et al. 1991). Koniklece se rozšiřují anemochorií, epizoochorií (Janczewski 1889) a (nebo) autochorií (Anonymus 2006). Detailní morfologii konikleců se zabývá např. Lénárt (1913).

2.1.2. Ekologie

Podle Brickella et al. (1993) jsou koniklece rostliny vyžadující plné slunce a propustnou úrodnou půdu bohatou na humus. Tento popis ale nevystihuje úplně všechny druhy rodu koniklec: např. koniklec jarní pravý (*Pulsatilla vernalis* var. *vernalis*) roste často v borech, březových lesících a na okrajích lesů (Skalický 1988a).

Některé druhy konikleců jsou vysokohorské, např. koniklec jarní alpský *P. vernalis* var. *alpestris* a koniklec bílý (*Pulsatilla scherfelii*) (Skalický 1988a), ale většina druhů žije v nižších až středních (do 700 m. n. m.) nadmořských výškách.

Koniklece jsou svou morfologií přizpůsobeny pastevním podmínkám (nejsou snadno spásatelné herbivory). Přesto bývají poměrně často spásány a to i přesto, že obsahují jedovatý anemonin (Wells et Barling 1971). Koniklec otevřený (*P. patens*) je pravděpodobně adaptován na periodické lesní požáry, které se v minulosti v severních evropských lesích vyskytovaly (Kalamees et al. 2005). U koniklece německého (*P.*

vulgaris) byla zjištěna odolnost vůči sečení (i třikrát ročně) a každoročnímu vypalování (v únoru, nebo březnu). Jeho pupeny jsou před ohněm chráněny pravděpodobně vlasovitými pupenovými šupinami (Wells et Barling 1971). Řada druhů konikleců je značně závislá na mykorrhize (Moora et al. 2004). O alelopatických účincích roztoků z rostlin některých druhů konikleců se zmiňují například Bang et al. (2005) a Piao et al. (2007).

Ekologií konikleců se dále zabývaly např. Kratochwil (1988), Wennström et Ericson (1991), Muller (1997), Florová (2009) a Huang et al. (2002). Populační ekologií konikleců se zabývaly např. Röder et Kiehl (2006) a Swaczyna (2010).

2.1.3. Rozmnožování

Vegetativní rozmnožování formou zřídkavého rozdělení větších trsů je známo u některých druhů (Rysina 1981, Wells et Barling 1971). Koniklec slovenský *Pulsatilla slavica* je možné rozmnožovat pomocí kořenových řízků (Lhotská et Moravcová 1989).

Generativní rozmnožování řady druhů konikleců je často málo úspěšné kvůli nízké vzházivosti v přirozených biotopech (např. koniklec německý (*Pulsatilla vulgaris*) (Wells et Barling 1971)). Z každého květu koniklece vzniká souplodí minimálně několika desítek nažek, rozšiřujících se anemochorií, epizoochorií (Janczewski 1889) nebo autochorií (Anonymus 2006), popřípadě jejich kombinacemi. Nažky konikleců jsou vybaveny několik centimetrů dlouhým přívěskem vznikajícím z čnělky, sloužícím k jejich rozšiřování (Skalický 1988a). Obsahují jedno, několik milimetrů dlouhé semeno, které je téměř celé vyplněné endospermem. V něm se v blízkosti přívěsku nachází malé embryo (Wells & Barling 1971).

Koniklece jsou rostliny s morfologickou dormancí (k dovyvinutí embrya dochází za vhodných podmínek až po uzrání nažek) (Lhotská et Moravcová 1989) a epigeickým klíčením (Wells & Barling 1971). Nažky některých druhů klíčí ihned po uzrání, načež postupně životnost ztrácí (v různé míře snížená klíčivost následující vegetační období) (Wells & Barling 1971, Lhotská et Moravcová 1989). Koniklece tak vytváří pouze dočasnou semennou banku (Partzsch 2009). Výjimkou je například koniklec *Pulsatilla ludoviciana*, kterého nažky vykazovaly po dvou letech pouze malé snížení klíčivosti (nažky skladovány při 5 °C a relativní vzdušné vlhkosti 35-40%) (Sayers et Ward 1966). Průběh klíčení je u řady druhů relativně pomalý (Sayers et Ward 1966, Lhotská et Moravcová 1989, Wells & Barling 1971).

Generativním rozmnožováním konikleců se kromě již zmíněných autorů zabývaly např. Partzsch (2009), Niitots (2007), Laitinen (2008), Kaligarič et al. (2006) a Bock et Peterson (1975). Rozmnožováním konikleců v in vitro podmínkách se zabývaly např. Pišová (2005), Danova et al. (2009) a Klavina et al. (2004).

2.1.4. Škůdci

Koniklece jsou hostiteli řady škůdců z různých skupin organizmů: Z hmyzích škůdců se jedná například o bejlmorku koniklecovou (*Dasineura pulsatillae*, Diptera), neznámý druh květilky (*Anthomyiidae* sp., Diptera), truběnkou travní (*Haplothrips aculeatus*, Thysanoptera) (Jiras et al. 2010) a řadu druhů z čeledi vrtalkovití (*Agromyzidae*) (Pakalniškis 2004). Z hub se na koniklecích vyskytuje rez *Puccinia pulsatillae* (Wennström et Ericson 1991). Z větších herbivorů a parazitů se jedná například o šneky, králíky a ovce, kteří žerou listy konikleců bez ohledu na přítomný jedovatý anemonin a o rostlinu kokotici povázku (*Cuscuta epithymum*) (Wells & Barling 1971).

2.1.5. Využití konikleců

Koniklece byly jako léčivé rostliny využívány už od dob Římanů a to proti horečce (Anonymus Sine dat). Od té doby byly objeveny další léčivé účinky konikleců: pomáhají například při bolestivých onemocněních mužských i ženských rozmnožovacích orgánů, při bolestech hlavy, nespavosti (Jahodář Sine dat), žaludečních a střevních problémech, při astmatu a při kožních problémech (Anonymus Sine dat). Významnými obsahovými látkami konikleců jsou flavonoidy, saponiny a silice (Jahodář Sine dat).

Kromě tohoto účelu bývají koniklece pro svůj dekorativní vzhled pěstovány na zahrádkách a alpínech (např. Čeřovský (1999)).

2.1.6. Ohrožení a ochrana

Většina druhů konikleců je v mnoha státech chráněná. V posledních desetiletích dochází v Evropě k zeslabování a mizení lokalit řady druhů konikleců (např. koniklec otevřený: Česká republika (Podhajská et Čeřovský 1999); koniklec německý: Německo (Hensen et al. 2005), Rakousko (Essl 2005) Švýcarsko (Pfeifer et al. 2002) a koniklec jarní: Polsko, východní Rakousko, Česká Republika (Ronikier 2002), Švédsko (Astrom et Stridh 2003)). Proto bylo v hodně státech započato studium jejich ekologie. Studium vhodného managementu pro lokality s koniklecí se tak zabývaly např. Kaligarič et al. (2006), Roder

et Kiehl (2008), Kalliovirta et al. (2006), Kalamees et al. (2005) a Essl (2005) a studiem populační genetiky konikleců např. Hensen et al. (2005) a Ronikier (2002).

Jako hlavní příčiny úbytku různých druhů konikleců jsou uváděny zejména ukončení pastvy dobytka a účinná prevence lesních požárů (Kalliovirta et al. 2006), které vedou k zarůstání lokalit s konikleci okolní vegetací (Astrom et Stridh 2003, Essl 2005, Winkler et al. 1999) a moderní lesnické hospodaření a těžba dřeva (Kalliovirta et al. 2006, Pilt et Kukk 2002). Dále má na koniklece negativní vliv atmosférický spad živin, hnojení, splachování živin z okolních polí, stavba domů a cest (Essl 2005) a vyrýpávání rostlin do zahrádek (Nowak 1997).

Naopak pro udržení a zvýšení početnosti konikleců mnozí autoři uvádějí potřebu disturbancí (např. Winkler et al. 1999). Jedná se zejména o tradiční sečení (Essl 2005), požáry a těžbu dřeva (Pilt et Kukk 2002), které zabrání bujení okolní vegetace (Kalliovirta et al. 2006), vytvoří v ní plošky pro vzcházení semenáčků (Kaligaric et al. 2006) a upraví tloušťku vrstev mechu a opadu (Kalamees et al. 2005).

2.2. Podrobný popis zkoumaných druhů

2.2.1. Koniklec luční český (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica* Skalický)

Koniklec luční český je jediným poddruhem koniklece lučního vyskytujícím se v České republice.

Stonek koniklece lučního českého je za květu cca 8-15 cm dlouhý, v horní části nící; za plodu je dlouhý průměrně 22 cm a vzpřímený. Listy jsou nepřezimující, v počtu 3-5 v přízemní růžici. V době květu jsou většinou již dobře vyvinuté. Čepel listů většinou s lístky a lístečky netvoří jednu rovinu, je 1-2 x lichozpeřená s 3-5 jařmy s lístky, popř. lístečky 1-2 x peřenosečnými. Na každé čepeli je 100-200 čárkovitých až podlouhlých cca 1-3 mm širokých úkrojků, většinou náhle zúžených do špičky. Srostlý listenovitý útvar na stonku má 14-31 úkrojků širokých průměrně 1,6 mm (šířka listenových a listových úkrojků je téměř shodná). Květy koniklece lučního českého jsou ± malé, většinou válcovité, při dokvétání až zvonkovité, tmavě fialové, vzácněji karmínové, výjimečně i jiného zbarvení, nící. Okvětní lístky jsou eliptické, na vrcholu zřetelně, nebo alespoň mírně ven ohnuté. Čnělky jsou zpravidla sytě fialové, chlupaté, ale na konci většinou lysé, přímé, nebo vzácněji mírně zakřivené. Nažky jsou zpravidla 4,0-4,5 cm dlouhé. Kvete v březnu až květnu (Skalický 1988a).

Ekologie a cenologie

Koniklec luční český se vyskytuje v xerothermních travinných porostech, na skalách, v lesních okrajích a vzácně na písčinách a ve světlých lesích. Půdy, na nichž se vyskytuje, jsou suché nebo vysychavé, většinou mělké, minerální (hlavně kamenité a písčité), na vápnitém i silikátovém podkladu. Nejčastěji roste v rostlinných společenstvech svazu *Koelerio-Phleion phleoidis* a řádu *Festucetalia valesiacae*, kde je diagnostickým druhem, ale také ve společenstvech třídy *Sedo-Scleranthetea* a vzácněji ve společenstvech svazů *Quercion pubescenti-petraeae*, *Erico-Pinion* a *Geranion sanguinei* (Skalický 1988a).

Rozšíření

Celkové rozšíření koniklece lučního českého zahrnuje východní část Německa (NDR), Polsko, Českou a Slovenskou republiku, Rakousko a Maďarsko. V České republice se vyskytuje ve dvou areálech – české, která zahrnuje severní, střední a východní Čechy a moravské, kterou tvoří jižní Morava. Zde roste v planárním až suprakolinním stupni, s těžištěm v termofytiku a přilehlém mezofytiku (Skalický 1988a).

Celkové rozšíření koniklece lučního (*Pulsatilla pratensis* (L.) Mill.) zahrnuje severní, střední a východní Evropu, kde se vyskytuje ve čtyřech poddruzích: v subsp. *pratensis*, která je rozšířená v pobaltské oblasti, v subsp. *bohémica* Skalický ve střední Evropě, v subsp. *hungarica* (Soó) Soó v Maďarsku a na jižním Slovensku a v subsp. *ucrainica* Ugr. v Ukrajině a středním Povolží (Skalický 1988a).

2.2.2. Koniklec velkokvětý (*Pulsatilla grandis* Wenderoth)

U nás se vyskytuje pouze v subsp. *grandis*. Celá rostlina koniklece velkokvětého je bělavě nebo rezavě chlupatá. Stonek (včetně květní stopky) je v době květu 2–12 cm a za plodu 13–40 cm dlouhý. V době květu ještě nemá vyvinuté listy, zachovány jsou pouze zbytky loňských uschlých listů. 2–5 přízemních listů se vyvíjí až po odkvětu. V populacích se ale často vyskytují i rostliny pozdně kvetoucí, nebo rostliny reflorescentní, které mají vytvořeny listy současně s květy (f. *coaetanea* Schur, f. *serotina* Beck). Čepel listů je 2–4 × peřenosečná, nebo 1–2 x lichozpeřená, s listky, popř. lístečky 1–2 x peřenosečnými. Na každém listu je 30–80 často výrazně prodloužených, průměrně 3,0 mm širokých úkrojků. Srostlý listenovitý útvar na stonku má 10 – 25 úkrojků cca 1 mm širokých; vždy užších než listové úkrojky. Květy jsou stále vzpřímené, zvonkovité až nálevkovité, bledě fialové. Čnělky jsou na konci ± rovné, nažky jsou obvykle 4,5 – 5,0 cm dlouhé. Kvete v březnu až květnu. (Skalický 1988a).

Ekologie a cenologie

Koniklec velkokvětý se vyskytuje na výslunných stepních loučkách na mělké i hlubší půdě, skalních stepích, v travnatých suchých okrajích lesů, výjimečně i na světlinách v lesích a v keřnatých porostech, opuštěných vinicích a ovocných sadech. Roste především na vápnatých nebo i jiných živných podkladech, ale i na biotických žulách a žulorulách, granodioritech a syenodioritech, výjimečně na serpentinitech. Půdy na kterých se vyskytuje jsou písčito-hlinité až slítné, někdy skeletovité, mírně kyselé až mírně alkalické. Roste se v společenstvech svazů *Festucion valesiaca* (diagnostický druh), *Seslerio-Festucion glaucae*, *Alyso-Festucion pallentis*, *Alyso alyssoidis-Sedion albi*, *Geranion sanguinei*, *Prunion fruticosae* a v Bílých Karpatech ve svazu *Bromion erecti* (Skalický 1988a).

Rozšíření

Koniklec velkokvětý se vyskytuje v Německu (okolí Mnichova), Rakousku, České republice (Morava), na jižním Slovensku, v severním Maďarsku a v severní Jugoslávii. V České republice roste pouze na Moravě, zejména v kolinním, vzácně v suprakolinním stupni. Těžištěm jeho výskytu je Panonské termofytikum. V Čechách byl pouze vysazen v Českém krasu (Skalický 1988a).

Subsp. *polonica* (Błocki) Aichele et Schwegler se vyskytuje v Polsku, Rumunsku a na Ukrajině a subsp. *velezensis* (Beck) Winkler v Jugoslávii (Skalický 1988a).

2.2.3. Ohrožení a ochrana konikleců v České republice

V České republice se vyskytuje šest druhů konikleců, z nichž téměř všechny jsou zákonem chráněny (tabulka 1.). Lokality některých druhů jsou chráněny i územní ochranou (např. koniklec otevřený: PP Holý vrch, PP Krásná Lípa, PP Humnický vrch a další (Podhajská et Čerovský 1999)).

Tabulka 1. Druhy konikleců rostoucí v České Republice a jejich ohroženost.

Druh	Kategorie ohroženosti
koniklec německý* (<i>Pulsatilla vulgaris</i>)	
koniklec otevřený (<i>Pulsatilla patens</i>)	C1, §1, ČK, EU2, BERN
koniklec luční český (<i>Pulsatilla pratensis</i> subsp. <i>bohemica</i>)	C2, §2

koniklec alpský bílý (<i>Pulsatilla alpina</i> subsp. <i>austriaca</i>)		C3, §3
koniklec jarní (<i>Pulsatilla vernalis</i>)	var. <i>vernalis</i> pravý	C1, §1, ČK
	var. <i>alpestris</i> alpský	
koniklec velkokvětý (<i>Pulsatilla grandis</i>)		C2, §2, (EU), BERN

Pozn.:

*U nás nepůvodní druh

C1 Kriticky ohrožené taxony (IUCN: critically endangered = CR)

C2 Silně ohrožené (IUCN: endangered = EN)

IUCN – Mezinárodní unie pro ochranu přírody a přírodních zdrojů

§ - taxony chráněné dle vyhlášky MŽP 395/1992 Sb.: § 1 – kriticky ohrožené, § 2 – silně ohrožené,

§3 – ohrožené

EU – taxony uvedené ve Směrnici Rady evropských společenství č. 92/43/EEC/1992:EU2 – příloha II.,

EU4 – příloha IV., **EU5** – příloha V., [EU] – návrh

BERN – taxony uvedené v Bernské úmluvě ve znění z roku 1998, část A, příloha I.

(Procházka et al. 2001)

Důvodem ochrany konikleců je zřídkaost rostlinných společenstev s jejich výskytem a poslední desítky let klesající tendence jejich početnosti.

O výrazném poklesu početnosti konikleců nebo jejich lokalit na našem území se zmiňují např. Skalický (1988a), Bylinský et Žlebčík (2009), Podhajská et Čerovský (1999) a Čerovský (1999). Jako příčiny jejich vymírání jsou udávány potlačování invazními bylinami (především travami) a sukcese, které se rozvíjejí vlivem ukončení tradičního obhospodařování jejich stanovišť (pastva, kosení) a také vlivem celkové eutrofizace přírodního prostředí (hnojení v okolí, sloučeniny dusíku z imisí) (Podhajská et Čerovský 1999); vápnění, poškozování rostlin zvířaty a odběr živých rostlin zahrádkáři (Čerovský 1999). U malých populací konikleců se mohou vyskytnout také tzv. problémy malých populací, například inbrední deprese, genetický drift (Briggs et Walters 2001) a vyšší riziko vyhynutí celé populace v případě silné nahodilé disturbance.

Z těchto důvodů jsou koniklece a některé jejich lokality předmětem různých ochrannářských opatření. Jedná se například o soustavný monitoring populací koniklece otevřeného a management jeho biotopů na několika lokalitách (potřebné je zejména rozvolňování drnových porostů a odstraňování náletu dřevin) (Podhajská et Čerovský 1999), uchovávání nážek koniklece alpského bílého (*P. alpina* subsp. *austriaca*) ve Správě Krkonošského národního parku a v Genové bance Výzkumného ústavu rostlinné výroby v Ruzyni (Zahradníková 2004), posilování některých populací rostlinami vypěstovanými *ex situ* (koniklec otevřený (Podhajská et Čerovský 1999), koniklec jarní

alpínský (Čeřovský 1999)), anebo o výzkum klasických ale i in vitro metod množení konikleců ve Výzkumném ústavu krajinného a okrasného zahradnictví (Píšová 2005). Výzkumem konikleců (koniklece slovenského (*Pulsatilla slavica*)) se u nás zabývaly také například Lhotská et Moravcová (1989) z Botanického ústavu Akademie věd Československé republiky.

2.3. Klíčení semen

Klíčení semen je proces těsně spojený se semeny – speciálními reprodukčními orgány zajišťujícími semenným rostlinám úspěšné rozšíření v čase a prostoru. Semeno jako disperzní jednotka je vybaveno vši potřebnou strukturní a fyziologickou výbavou, kterou potřebuje ke svému úkolu. Obsahuje zárodek nové rostliny (embryo) chráněný svými obaly a velkou zásobu živin, potřebnou do doby, než se z mladé rostlinky stane plně soběstačný autotrofní organizmus (Bewley et Black 1983).

Z fyziologického hlediska je klíčení obnovení metabolické aktivity semene vedoucí k prodlužování buněk radikuly a hypokotylu embrya (Šebánek 1998).

Požadavky semen k jejich klíčení jsou značně rozdílné u různých druhů rostlin (Baskin et Baskin 2001). Často jsou vysoce specifické a někdy se liší i u semen v rámci jednoho plodu (Koller 1972).

Důležitost klíčení semen je pro člověka známá už odpradávná: zmiňuje se o něm například již řecký Theophrastus (372-287 před Kristem) (Evenari 1980-1981) a je často zmiňováno v Bibli. Pěstování mnoha plodin, včetně obilnin a luskovin, které tvoří hlavní potravní zdroje, totiž závisí právě na něm (Bewley et Black 1983).

2.3.1. Průběh klíčení

Semenům bez endogenní dormance stačí ke klíčení zbobtnání ve vodě, pokud jsou splněny další vnější podmínky klíčení (teplota, obsah kyslíku a u některých druhů i intenzita světla). Příjmem vody semenem je narušen klid semen (dormance) související s odvodněním cytoplazmy buněk. Následuje pronikavé zvýšení intenzity zpočátku anaerobního dýchání, aktivace enzymatických systémů, stupňování hormonální aktivity a mobilizace zásobních látek semen a jejich translokace do zárodku. Dochází k růstu kořínku (radikuly) embrya, který zpočátku roste pouze prodlužováním buněk vytvořených v embryu. K viditelnému projevu klíčení semene pak dochází prorazením jeho osemení (testy) radikulou (Šebánek 1998).

2.3.2. Faktory ovlivňující klíčení semen

Klíčení semen je značně rozdílné mezi různými skupinami a druhy rostlin (Baskin et Baskin 2001) a bývá ovlivněno celou řadou faktorů už od doby jejich vzniku (Koller 1972). Faktory ovlivňující klíčení semen lze rozdělit na faktory působící na semena v době jejich zrání, v době po jejich uzrání a na faktory působící na semena přímo při jejich klíčení (Koller 1972).

Kromě těchto faktorů má na klíčení semen vliv i jejich mateřská rostlina. Zde záleží na její výživě, jejím stáří a na pozici semene v rámci květenství, květu nebo plodu (Šebánek 1998).

2.3.2.1. Faktory působící na semena v době jejich zrání

Z těchto faktorů byl u několika druhů rostlin prokázán vliv fotoperiody (Evenari et al. 1966, Lona 1947) a vliv teplotního režimu (Von Abrams et Hand 1956).

2.3.2.2. Faktory působící na semena v době po jejich uzrání

Skladování

Skladování semen v suchých podmínkách má obvykle vliv na snížení jejich nároků pro klíčení. Tito změny jsou způsobeny změnami semenných obalů, změnami v embryu, anebo změnami v jeho bezprostředním chemickém prostředí, které vyústí v jeho zvýšený potenciál klíčit. Specifické požadavky semen pro jejich klíčení mohou být také značně sníženy odstraněním, změkčením, prorazením, nebo propíchnutím testy (nebo jiného obalu) (Koller 1972).

Rozšiřovací mechanismus

Z rozšiřovacích mechanismů rostlin, které mají vliv na klíčení semen, se jedná například o důkladné mechanismy, které semenům některých druhů (např. druhy rodů (*Erodium*) pumpava a (*Avena*) oves) umožňují být umístěné v jednotné hloubce pod povrchem půdy, kde je pravděpodobně optimální mikroprostředí pro vývoj semenáčků. Hloubka „pohřbení“ semen v půdě má totiž kritický význam pro uchycení semenáčků (Koller 1972).

Teplota

Bylo prokázáno, že teplota má při suchém i při vlhkém skladování semen vliv na snížení jejich dormance. Jedná se zejména o vlivy nízkých (blízko, anebo i pod bodem

mrazu) a vysokých teplot. Vliv vysokých teplot (větších 40°C) byl prokázán např. u řady druhů rodu sléz (*Malva*) (Ruge & Liedtke 1951).

Sluneční záření

Je známo, že semena senzitivní na světlo začínají tuto senzitivitu rychle získávat až po začátku bobtnání vodou (Koller 1972). To, že i suchá semena mohou být citlivá na světlo, ale prokázali například Evenari & Neumann (1953). Senzitivu na světlo můžou také semena v určitých případech ztratit (Kincaid 1935).

Vztahy s vodou

Jeden z nejběžnějších environmentálních faktorů, které působí na zralá semena a mají vliv na jejich následné požadavky ke klíčení, je atmosférická vlhkost.

Suché skladování je obecně efektivní pro zvyšování klíčivosti semen (Koller 1972). Jeho vliv na snížení dormance semen je znám například u *Xanthium pennsylvanicum* (Wareing et Foda 1957) a pšenice (*Triticum* sp.) (Wellington 1956).

2.3.2.3. Faktory působící na semena při jejich klíčení

Nejvýznamnější faktory působící na semena při jejich klíčení jsou popsány níže. Při klíčení semen se většinou uplatňují kombinace těchto faktorů, přičemž důležitou roli hraje čas a fáze klíčení semene (Koller 1972).

Teplota

Teplota může mít a obvykle má značný vliv na kinetické aspekty klíčení – například na konečnou klíčivost.

Pro každý druh rostliny je možné stanovit maximální a minimální teplotu, při které jeho semena můžou klíčit. Konstatní teploty se však v přírodě nevyskytují. Řada druhů rostlin tak klíčí nejlépe při určitém režimu dvou střídajících se teplot. Existují i druhy rostlin, jejichž klíčení je řízeno střídáním období s nízkými teplotami (téměř u bodu mrazu) a období s vyššími teplotami (Koller 1972).

Světlo

Světlo má vliv na klíčení semen některých druhů rostlin svou přítomností nebo absencí (druhy kladně a záporně fotoblastické – stimulace a inhibice klíčení), délkou svého působení (druhy krátkodenní a dlouhodenní) a svým spektrálním složením. Z tohoto

hlediska klíčení semen v zásadě ovlivňuje červená a modrá oblast viditelného záření. Při klíčení regulovaném fytochromem (červená oblast záření) platí, že klíčení je závislé na přítomnosti jeho aktivní formy – Pfr. Poměr Pfr/P_{ox} podmiňující klíčení je však výrazně druhově rozdílný (Šebánek 1998).

Voda

Voda je nezbytná pro zbobtnání semen, jež předchází jejich klíčení. Její množství k zbobtnání semen je druhově specifické (Šebánek 1998), ale pro další vývoj semenáčků je potřebné i její soustavné doplňování (Koller 1972). Příjem vody semenem zpočátku nezávisí na životních pochodech a zvyšuje se se vzestupem teploty. Závislost příjmu vody na osmotickém tlaku roztoku, v němž semena bobtnají je nepřímá (Šebánek 1998).

Voda může také často zvyšovat míru a rychlost klíčení semen – například vyluhováním látek inhibiční povahy ze semen a navozením biochemických procesů které předcházejí vlastnímu klíčení (Šebánek 1998).

Kyslík

Energie potřebná ke klíčení semen se získává při oxidační fosforylaci. Kyslíky je proto nezbytný pro klíčení většiny semen. Výjimkou jsou pouze bažinné rostliny (např. rýže), jejichž semena mohou klíčit téměř bez kyslíku. Využívají totiž energii glykolýzy, k jejímuž průběhu není kyslík potřebný. Požadavky semen na kyslík musí být respektovány při setí semen (menší semena sít mělčeji než větší a v těžších půdách mělčeji než v lehkých) (Šebánek 1998).

Chemické prostředí

Klíčení semen může být ovlivněno řadou látek vyskytujících se v kapalně anebo plynné fázi půdy (Koller 1972).

Většina iontů vyskytujících se v půdním roztoku patrně nemá žádný specifický regulační účinek na klíčení semen. Výjimkou je pouze nitratový (NO_3^-) a vápníkový (Ca^{2+}) iont. Z organických látek je například ke klíčení semen některých rodů parazitických rostlin (*Striga* a zaráza (*Orobanch*)) potřebná přítomnost exudátů z živých kořenů určité skupiny druhů rostlin (ne pouze hostitelských) (Koller 1972).

Komparativní studie Bibbeyho (1948) ukázaly, že u některých skupin druhů rostlin může mít složení vzduchu životní význam pro jejich semena.

2.3.3. Dormance semen

Přestože podmínky prostředí pro klíčení semen mohou být ideální, semena řady druhů rostlin i tak nezačnou klíčit. Důvodem je přítomnost určitého bloku v semeni (nebo v rozšiřovací jednotce), který musí být nejdříve překonán anebo odstraněn aby mohlo dojít ke klíčení. Taková semena se označují jako dormantní (Bewley et Black 1994).

U semen mnoha druhů se vyskytuje také sekundární dormance. Jedná se o dormanci, která nastává poté, co jsou semena vystavena podmínkám nevhodným pro jejich klíčení; například nízkým (zima), anebo vysokým (léto) teplotám (Bewley et Black 1994).

Dormance umožňuje semenům rozšíření v čase, prostoru (například semena s dormancí závislou na světle vyklíčí pouze v malé hloubce v půdě, anebo jenom na otevřených místech bez konkurence ostatních rostlin), nebo například jako ochrana proti vyklíčení před zimním obdobím (Bewley et Black 1994).

K překonání dormance musí být semena vystavena určitým podmínkám vnějšího prostředí, anebo v některých případech musí podstoupit určité metabolické změny (Bewley et Black 1994).

Typy dormance jsou stručně charakterizovány níže. Přitom se různých druhů může vyskytovat i několik typů dormance současně (Bewley et Black 1994).

Nevyvinutost embrya

K tomuto typu dormance náleží ty druhy rostlin, jejichž embrya tvoří pouze shluk nediferencovaných buněk, k jejichž diferenciaci dochází až za příhodných podmínek (např. druh *Ilex opaca* (Ives 1923)) a ty druhy, jejichž embryo v době disperze může být diferencované, ale po zbobtnání vodou roste nejdříve do větší velikosti a až poté dochází ke klíčení semene (např. druhy rodu jasan (*Fraxinus*) (Steinbauer 1937)) (Villiers 1972).

Mechanická pevnost povrchových vrstev

Ačkoliv hodně autorů zmiňuje mechanický odpor vůči růstu embrya jako jeden z typů dormance semen, ve skutečnosti je to pravda pravděpodobně jen ve výjimečných případech (Villiers 1972). Například u zástupců rodu růže (*Rosa*) se zdá, že dormance není způsobena jenom silným endokarpem. Byl u nich totiž prokázán výskyt růstových inhibitorů (Jackson et Blundell 1965).

Nepropustnost povrchových vrstev pro vodu

Tento typ dormance se jeví jako jeden z nejjednodušších a nejefektivnějších (Villiers 1972). Hlavní překážkou prostupnosti vody do semene je vrstva palisádového sklerenchymu, která je součástí osemení (testy). To je typické například pro čeled' bobovitých (*Fabaceae*), slézovitých (*Malvaceae*) a svlačcovitých (*Convolvulaceae*). K narušení palisádového sklerenchymu dochází v přirozených podmínkách činností mikroorganismů (Šebánek 1998).

Nepropustnost povrchových vrstev pro plyny

U některých druhů jsou vnější vrstvy semene anebo plodu nepropustné pro kyslík a oxid uhličitý, takže embryo nemůže růst. Pro plyny nepropustné osemení mají například zástupci rodu jasan (*Fraxinus*), zatímco u druhů rodu slunečnice (*Helianthus*) může klíčení nažek bránit nepropustný perikarp (vnější vrstva oplodí) (Šebánek 1998).

Vysoký obsah inhibičních látek v semenech a plodech a hormonální regulace klíčení

Přirozené inhibiční látky jsou často obsaženy v dužninách plodů, jako například u rajčete (*Lycopersicon esculentum*), kde zabraňují předčasnému klíčení semen. Vyskytují se ale i v suchých plodech (např. petžele (*Petroselinum*), kmínu (*Carum*) a řepy (*Beta*)), přičemž vyšší klíčivosti je dosaženo po vyplavení těchto látek vodou (Šebánek 1998).

Při studiu úlohy fytohormonů při regulaci klíčení bylo zjištěno, že kyselina abscisová má vliv na zavedení dormance v průběhu zrání semen a že gibereliny jsou nezbytné pro klíčení (Šebánek 1998).

2.3.4. Patologie semen

Semena, která jsou sami o sobě disperzními jednotkami rostlin, slouží často i jako přenašeči zejména rostlinných patogenů. K těmto patogenům patří houby, bakterie, viry, semenné rostliny a hlístice. Jedná se o obligátní parazity jako jsou sněti a viry, endofytické houby nejasné role, fakultativní typy (jako jsou houby rodu *Fusarium* a bakterie) a saprofyty, které jsou na semenech běžné (rod *Botrytis*) (Baker 1972).

Do, nebo na povrch semen se tyto patogeny dostávají z půdy, vzduchu, kousků rostlinného materiálu (Procházková 2007), rostlin, plodů, anebo jiných semen (Baker 1972). Přenášeny jsou uvnitř nebo vně semene a poškozují semena samotná, semenáčky, anebo dospělé rostliny (Baker 1972).

Patologický vliv na semena mají dále jejich různá mechanická poškození, genetické vady, nevhodné podmínky prostředí, nedostatek živin mateřské rostliny a jejich poškození hmyzem (Baker 1972).

2.4. Vliv dusíku na klíčení rostlin

2.4.1. Význam dusíku pro rostliny

Dusík patří mezi makroelementy, prvky základního významu pro strukturu i život organismů (Květ 1994). Je jednou z nejvýznamnějších živin rostlin (Vaněk et al. 2002) a jedním z limitujících faktorů rostlinných společenstev (Kubíková 2005). Rostliny jej přijímají zejména v anorganických formách, ve formě dusičnanové (NO_3^-) a amonné (NH_4^+) a část rostlin (hmyzožravé, cizopasně, rostliny využívající molekulový atmosférický dusík (N_2) pomocí symbiotických bakterií čeledi *Rhizobiaceae* a některé další rostliny), je schopna jej přijímat i ve formě organických dusíkatých látek (Vodrážka 2002).

Celkový obsah dusíku v půdách je velmi rozdílný a kolísá nejčastěji od 0,05-0,5 % (Ivanič et al. 1984). Většinu jeho množství tvoří těžce chemicky a mikrobiologicky rozložitelné sloučeniny (Richter 2007), přičemž minerální dusík (NH_4^+ , NO_3^- a NO_2^- ionty), který je přijímatelný rostlinami, tvoří pouze 1-2 % (Ivanič et al. 1984). Většina tohoto dusíku je ale přijímaná mikroorganismy (Vodrážka 2002).

Dusík v půdě je součástí složitěho koloběhu dusíku, jehož klíčivou složkou jsou půdní mikroorganismy (Vodrážka 2002). Zdrojem půdního dusíku jsou molekuly N_2 vyskytující se v atmosféře, k jejichž přeměně na formy dusíku přijatelné rostlinami dochází zejména při elektrických výbojích při bouřkách a volné a symbiotické mikrobiální fixaci vzdušného dusíku; rostlinná a živočišná bílkovinná látka (Richter 2007); atmosférická depozice dusíku; zvětrávání hornin a výroba průmyslových hnojiv (Moldan 1979). Naopak k uvolňování dusíku z půdy dochází zejména mikrobiální činností při denitrifikaci a vyplavováním dusíku z půdy (Richter 2007).

2.4.2. Vliv zvýšeného množství půdního dusíku na rostliny a rostlinná společenstva

Zvýšené množství půdního dusíku má přímý a nepřímý vliv na rostliny a rostlinná společenstva.

Přímý vliv nadbytku půdního dusíku na rostliny závisí na druhu rostliny a její růstové fázi. Některé rostliny jsou na nadbytek dusíku velmi citlivé již při vzcházení (ze zemědělských plodin např. kvěťák, brukev, zelí, salát, řepa a jeteloviny). Nadbytek dusíku

v pozdějších fázích růstu způsobuje růst zejména vegetativních orgánů rostlin, jeho hromadění v minerální formě v rostlinách a při výrazném nadbytku poškození okrajů listů (toxický vliv dusíku nahromaděného na okrajích listů). V této fázi k poškození dusíkem dochází ale pouze výjimečně i v zemědělských provozech (Vaněk et al. 2002). Kromě toho může mít dusík při atmosférické depozici i přímý vliv na nadzemní části rostlin (Bobbink et al. 2002).

Nepřímý vliv nadbytku dusíku v ekosystémech na rostliny je velice komplexní. Má totiž vliv na různé skupiny organismů, jejich vzájemné vztahy a na půdní procesy. Jedná se například o vytlačení řady druhů rostlin z oligo a mezotrofních stanovišť rychle rostoucími nitrofilními druhy rostlin, půdní acidifikaci a zvýšenou citlivost rostlin k stresům nebo disturbancím (Bobbink et al. 2002).

Vliv zvýšeného množství půdního dusíku navíc interaguje s dalšími negativními jevy v rostlinných společenstvech způsobenými člověkem (např. s depozicí iontů a sloučenin síry (Roem et al. 2002)).

2.4.3. Atmosférická depozice dusíku

Vliv zvýšeného množství půdního dusíku na rostliny a rostlinná společenstva začal být více studován od druhé poloviny dvacátého století, kdy vlivem lidské činnosti (intenzivní zemědělství, spalování fosilních paliv v dopravě a průmyslu) došlo k velkému zvýšení emisí NH_3 a NO_x a k následně zvýšené atmosférické depozici dusíku (Bobbink et al. 2002). Ta tak následně činila 20-60 $\text{kg N ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$ v nelesních ekosystémech západní Evropy a 20-100 $\text{kg N ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$ v lesních ekosystémech Evropy oproti odhadovaným 1-3 $\text{kg N ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$ na začátku 20. století (Galloway 1995). Její hodnota v České republice v roce 1998 činila 11,6 $\text{kg N ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$ (Anonymus 1998). K zvyšování množství půdního dusíku v krajině dále dochází i vlivem splachů živin z polí do okolních ekosystémů (např. Essl (2005)).

Významným negativem zvýšené atmosférické depozice dusíku je její výskyt v mnoha přirozených a polopřirozených ekosystémech. Její převážně negativní vliv byl prokázán u řady lesních, nelesních, bažinných, slatinných, sladkovodních a mořských ekosystémů (Bobbink et al. 2002).

Kvůli výrazně negativnímu vlivu atmosférické depozice dusíku na různá rostlinná společenstva začaly být stanovovány její kritické zátěže pro různé ekosystémy (Bobbink et al. 2002) i rostlinné druhy (např. 14 $\text{kg N ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$ pro borovici lesní (*Pinus sylvestris*) ve Skotsku (De Vries et al. 2003)).

Na území České republiky probíhá soustavné sledování atmosférické depozice dusíku pomocí sítě meteorologických stanic (Anonymus 1998). K podrobnějšímu sledování atmosférické depozice u nás dochází například v Krkonošském národním parku a v CHKO Jizerské hory (Hošek et al. 2007).

2.4.3.1. Vliv atmosférické depozice dusíku na suché trávníky

Suché trávníky jsou málo produktivní ekosystémy s omezeným množstvím živin a velkým počtem vzácných a ohrožených druhů rostlin. Většina jejich společenstev je závislá na pastvě. Ta má vliv na konkurenční vztahy mezi druhy, volné prostory pro generativní obnovu, odstraňování přebytečné biomasy a zabraňování sukcese společenstev (Kubíková 2005).

Z vlivů atmosférické depozice na suché trávníky je znám například vysoký vzrůst pokryvnosti válečkou prapořitou (*Brachypodium pinnatum*) v německých vápenatých trávnících na přelomu 80. a 90. let minulého století, ačkoliv management těchto společenstev (podzimní sečení porostů) se od poloviny 60. let minulého století nezměnil (Bobbink et Willems 1987). Vliv zvýšeného množství dusíku v půdě na vzrůst pokryvnosti válečkou, ale i na silné snížení druhové bohatosti společenstva kvůli změnám ve vertikální struktuře porostu, byl následně prokázán experimentálně (Bobbink et al 1988, Bobbink 1991).

Atmosférická depozice dusíku se pravděpodobně spolu s obdobím značně deštivých letních měsíců podílela i na invazi ovsíku vyvýšeného (*Arrhenatherum elatius*) na suchých stepních trávnících v České republice ke konci 80. let minulého století (Kubíková et al. 2007).

U suchých druhově bohatých trávníků se smilkou tuhou (*Nardus stricta*) je zase znám ústup vzácných druhů ještě předtím, než vysoce a hustě rostoucí trávy ovládnou jejich společenstva (Bobbink et al. 1996). Tento ústup je způsoben jejich extrémní citlivostí k okyselení a akumulaci amonného dusíku (Roelofs et al. 1996). Kvůli tomu byla pro tyto trávníky navržena kritická už 10-15 kg N ha⁻¹. rok⁻¹ (Bobbink et al. 1996).

Kritická zátěž depozice atmosférického dusíku je pro suché trávníky odhadována na 15-25 kg ha⁻¹. rok⁻¹ (EKL 2005). V případě vyšší depozice ale mohou být problémy s odebráním potřebného množství dusíku z ekosystému, protože vyplavování dusíku z půdy, stejně tak jako jeho denitrifikace, je v těchto ekosystémech nízká. Jako nejúčinnější se tak jeví kosení s odnosem sena, kterým je možné ze suchomilných trávníků svazu Bromion (seč 1 × ročně) odstranit 17-22 kg N ha⁻¹. rok⁻¹ (Bobbink et al. 1998).

2.4.4. Vliv dusíku na klíčení rostlin

Ačkoliv studie zabývající se vlivem atmosférické depozice dusíku na konkurenční vztahy v rostlinných společenstvech jsou časté (např. Bobbink et al (1988) a Xiangwei et al. (2011)), její vliv na klíčení semen, kritickou fází života rostlin, bývá zkoumán jen velice ojediněle (viz. níže).

Studie zabývající se vlivem dusíkatých látek na klíčení semen rostlin se objevují pouze sporadicky a sledují různé cíle. Jedná se zejména o práce zaměřené na na svých stanovištích úspěšné, plevelné nebo invazní druhy (Monaco et al. 2003, Kennedy et al. 1980, Bungard et al. 1997 a Mandák et Pyšek 2001) a na klíčení ekologicky vyhraněných druhů rostlin (Cohn et al. 1983, Lugo Lugo 1955 a Butola et Badola 2004). Dále se jedná například o práce zabývající se vztahy mezi parazitickými rostlinami a jejich rostlinnými hostiteli (Westwood et Foy 1999, Cechin et Press 1993) a vlivem atmosférické depozice dusíku na klíčení rostlin (Roem et al. 2002, Foster et Gross 1998).

Většina studií zabývajících se touto problematikou je založena na laboratorních experimentech zjišťujících přímý vliv dusíkatých látek na klíčení rostlin, přičemž terénní studie, které zjišťují celkový vliv dusíku na klíčení rostlin, jsou výjimkou (např. Roem et al. 2002, Foster et Gross 1998).

Podle Kollera (1972) mají z většiny iontů vyskytujících se v půdním roztoku vliv na klíčení semen pouze iont nitrátový (NO_3^-) a vápníkový (Ca^{2+}). Podle studií Luga Luga (1955) a Bungarda et al. (1996) je ale patrné, že i amonný iont (NH_4^+) má vliv na klíčení přinejmenším některých druhů rostlin. Dle Bungarda et al. (1996) je dokonce možné, že pouze přítomnost dusíku jako prvku v různých sloučeninách může mít vliv na klíčení řady druhů rostlin.

Vliv na klíčení rostlin byl prokázán u řady dusíkatých látek, např. N_2 (Kennedy et al. 1980), KNO_3 , NH_4NO_3 , NH_4Cl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, $\text{CS}(\text{NH}_2)_2$ (Bungard et al. 1996) a močoviny (Lugo Lugo 1955).

Vliv dusíkatých látek na klíčení rostlin je různý. U některých druhů rostlin můžou zlepšovat klíčivost (Bewley et Black 1982), anebo měnit požadavky semen na světlo (Hilhorst et Karssen 1988). Koller (1972) uvádí, že některé jejich soli mají vliv na klíčení zejména kladně fotoblastických druhů rostlin. Jejich pozitivní vliv na klíčení byl prokázán u semen hodně druhů plevelů (Vincent et Roberts 1977). Naopak výrazně negativní vliv dusíku už při nižších koncentracích (225 mg N/l) byl prokázán u druhu *Vanilla planifolia* (Lugo Lugo 1955). U ruderálního druhu lebedy rozkladité (*Atriplex sagittata*) měl použitý

dusičnan draselný (KNO₃) vliv na snížení klíčivosti až při vysoké koncentraci dusíku (1401 mg N/l) (Mandák et Pyšek 2001). Dále podle Andrewse et al. (1991) a Riby et al. (2002) modifikace v půdním dusíku neovlivňují klíčení semen mnoha druhů trav a širokolistých plevelných druhů rostlin. Cohn et al. (1983) upozorňuje na rozdílný vliv různých dusíkatých látek na různé druhy rostlin a na vliv pH na účinnost dusíkatých látek.

2.5. Předdisperzní predátoři semen rostlin

Rostliny jsou již téměř 350 milionů let potravou zhruba poloviny všech druhů hmyzu. Na každou rostlinu tak připadají v průměru zhruba 2 hmyzí herbivoři (Anonymus 2007), kteří jsou často specializovaní pouze na jejich určitou část.

Semena jsou pro svůj vysoký obsah živin důležitým zdrojem potravy mnoha druhů živočichů (Herrera et Pellmyr 2002). Ti je napadají ještě na mateřské rostlině (předdisperzní predátoři), anebo až po jejich rozšíření (podisperzní predátoři) (Hulme et Benkman 2002). Proto se je rostliny snaží mnoha způsoby před nimi chránit. Jedná se zejména o fyzikální (např. ostny, tvrdý endosperm) anebo chemické prostředky (látky toxické pro predátora anebo inhibující stravitelnost semen) (Herrera et Pellmyr 2002).

Předdisperzní predátoři semen rostlin jsou živočiši, kteří napadají semena, zatímco jsou stále na mateřské rostlině. Jedná se většinou o druhy specializované na určitý druh, anebo skupinu rostlin, svým životním cyklem překrývající produkci semen daného druhu rostliny. Z tohoto hlediska se tedy většinou jedná o druhy s krátkým životním cyklem, jako jsou zástupci hmyzu. Z této třídy patří mezi předdisperzní predátory zejména zástupci řádů brouci (*Coleoptera*), ploštice (*Hemiptera*), blanokřídlí (*Hymenoptera*) a motýli (*Lepidoptera*). Kromě hmyzu se ale jedná například i o ptáky a malé savce (Hulme et Benkman 2002).

Ačkoliv předdisperzní i podisperzní predace semen může být extrémně vysoká, většinou bývá vyšší podisperzní predace (Hulme et Benkman 2002). Vliv predátorů semen na početnost populace dané rostliny může záviset na tom, zda je druh na dané lokalitě limitován semeny anebo biotopem. Pokud je limitován biotopem, vyšší produkce semen se neprojeví vyšším množstvím semenáčků (Maron et Simms 1997).

2.5.1. Vybrané skupiny předdisperzních predátorů

2.5.1.1. Bejlomorky (*Cecidomyiidae*)

Bejlomorky (*Cecidomyiidae*) jsou drobný dvoukřídlý hmyz dosahující velikosti 0,5 - 8 mm, s dlouhými tykadly (Skuhravá et Skuhravý 1960, 1992, Skuhravá 1986, Harris 1994).

Od ostatních čeledí dvoukřídlých se v larválním stádiu liší zejména přítomností zvláštního orgánu, zvaného česky prsní bodec (latinsky *spatula sternalis*), který je vyvinut na břišní straně prvního hrudního článku ve tvaru podélné ztlustliny pokožky tmavého zbarvení. Tvar spatuly je důležitý diagnostický znak umožňující určit jednotlivé druhy bejlomorek v larválním stádiu. Larvy bejlomorek si pomocí spatuly sternalis prorážejí otvor ve stěně háčky, jímž pak háčku opouštějí. Spatula rovněž umožňuje larvám pohyb v háčkách nebo rostlinných orgánech. Dospělé bejlomoreky žijí velmi krátkou dobu, od několika hodin do několika dnů. Většina larev bejlomorek je fytofágní a tvoří háčky na různých orgánech rostlin nebo se vyvíjí v rostlinách, aniž by tvořily háčky. Larvy některých druhů žijí v květních pupenech, květech nebo květních úborech a poškození těchto orgánů není při povrchním pozorování vůbec zřetelné. Řada druhů bejlomorek působí vážné škody na kulturních rostlinách v zemědělství a na stromech a keřích v lesnictví (Darvas et al. 2000, Skuhrová et Roques 2000, Skuhrový 1991, Skuhrový et Skuhrová 1998, Skuhrový et al. 1993). Menší část bejlomorek je mykofágní. Jejich larvy se vyvíjejí v houbách nebo v koloniích některých houbových organismů. Malá skupina bejlomorek je dravá. Jejich larvy napadají roztoče, mšice, červce a jiné drobné členovce a živí se vysáváním tělních tekutin. Některé z těchto druhů se používají v biologickém boji proti škůdcům (Skuhrová et al. 1984). V Evropě se vyskytuje 1800 druhů a je to kontinent s nejvyšším počtem druhů bejlomorek na světě (Skuhrová et Skuhrový 2010). Ve fauně bejlomorek Evropy je 23 nepůvodních druhů, které k nám byly zavlečeny z jiných kontinentů (Skuhrová et al. 2010, Mlíkovský et Stýblo 2006). Z nich nejvýznamnější je bejlomoreka akátová (*Obolodiplosis robiniae*), původem ze Severní Ameriky, jejíž larvy tvoří háčky na okrajích listových úkrojků trnovníku akátu (*Robinia pseudoacacia*) (Skuhrová et al. 2007). V České republice je v současné době známo 560 druhů bejlomorek (Skuhrová 2009). Z nich 64 druhů patří k ohroženým a jsou uvedeny v Červeném seznamu ohrožených druhů České republiky (Farkač et al. 2005).

2.5.1.2. Květilky (Anthomyiidae)

Květilky (Anthomyiidae) jsou drobné mouchy velmi podobné zástupcům blízké příbuzné čeledi mouchovitých (Muscidae). Od této a ostatních skupin se liší absencí štětín na meronu (hypopleuře) a prodlouženou anální žilkou na křídlech. Larvy květilky jsou většinou fytofágní, některé druhy poškozují kulturní rostliny a jsou považovány za škůdce (Gregor et Rozkošný 1977), některé jsou ale mykofágní a saprofágní (Komzáková 2006). Larvy květilky mají v přední části těla vyvinutou výraznou cefalo-faryngeální strukturu,

významnou pro určování druhů (Suwa et Darvas 1998). Z České republiky je známo 235 druhů této čeledi (Komzáková 2006).

2.5.1.3. Třásnokřídli (Thysanoptera)

Třásnokřídli (Thysanoptera) jsou drobný hmyz lišící se od ostatních skupin hmyzu asymetrickým ústním ústrojím (pravé kusadlo je zakrnělé) a křídly (pokud jsou přítomna) s třásněmi na okraji, složenými z dlouhých řasinek. Zástupci třásnokřídlych jsou většinou fytofágní, některé druhy škodí v zemědělství, a část jsou predátoři (Pelikán 1957, Pelikán 1977). Z České republiky je známo kolem 280 druhů tohoto řádu (Pelikán 2005).

3. Metodika

3.1. Pokusy s klíčením koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*) a koniklece velkokvětého (*Pulsatilla grandis*)

3.1.1. Použitá semena

Ke klíčovacím pokusům byly použity nažky dvou našich nejběžnějších konikleců: koniklece lučního českého a velkokvětého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica* a *P. grandis*) viz. tabulka 1. Nažky byly nasbírány v plné zralosti, v roce 2009 (nažky koniklece lučního (*Pulsatilla pratensis*) 10. června) a skladovány v papírových sáčcích při pokojové teplotě a vlhkosti. Pro hlavní klíčovací pokusy (I. a II. klíčovací pokus) byly použity pouze dobře vyvinutá a zdravá semena.

Tabulka 2. Charakteristika nažek použitých ke klíčovacím pokusům.

Použité nažky	Koniklec luční český (<i>Pulsatilla pratensis</i> subsp. <i>bohemica</i>)	Koniklec velkokvětý (<i>Pulsatilla grandis</i>)
Lokalita	PP Na horách* (Středočeský kraj), 420 – 455 m. n. m. (Karlík 2005)	PR Kamenný vrch (Jihomoravský kraj, Brno), kolem 386 m. n. m. (zdroj: www.mapy.cz)
Datum sběru	2009 (10. června)	2009
Popis nažek	O dost větší podíl nedokonale vyvinutých nažek než u <i>P. grandis</i> a asi 25 – 30 % semen poškozených pravděpodobně nějakým druhem květilky (<i>Anthomyiidae</i> sp.). Nažky jsou poškozeny pravděpodobně také sáním třásněnky truběnký travní (<i>Haplothrips aculeatus</i>) a vzácné bejlomorky koniklecové <i>Dasineura pulsatillae</i> , kteří se také vyskytují v přírodní památce Na horách (více viz. kapitola a Jiras et al. (2010))	Dobře vyvinuté, velmi malý podíl nedokonale vyvinutých nažek

3.1.2. Úprava nažek

V některých klíčovacích pokusech byla též testována klíčivost nažek bez chlupatého přívěsku. Ten byl z nažek odstraněn ručně odštípnutím a to těsně u semene (max. + 2 mm).

3.1.3. Založení pokusů (společná charakteristika)

Pokusy byly založeny za sterilních podmínek (s použitím flowboxu a sterilních pomůcek a materiálů, např. filtračního papíru a Petriho misek). Nažky obou druhů konikleců byly umístěny do Petriho misek o průměru 10 cm a se 3 vrstvami filtračního papíru. Poté bylo do každé z misek aplikováno 5 ml určitého roztoku nebo destilované vody (příslušné roztoky byly aplikovány pouze při založení pokusů).

Během pokusů byla do misek podle potřeby doplňována destilovaná voda. Dokud to bylo možné (aby nedošlo k poškození nažek nedostatkem vody), byly zalévány všechny misky daného klíčícího pokusu současně.

3.1.4. Laboratorní podmínky

Pokusy probíhaly v laboratoři Katedry dendrologie a šlechtění lesních dřevin, nacházející se v suterénu Fakulty lesnické a dřevařské (Česká zemědělská univerzita), při teplotě 22 ± 2 °C (v létě zhruba 24 ± 2 °C) a světelném režimu 16/8 hodin (světlo/tma; osvětlení neonovými zářivkami).

3.1.5. Vyhodnocování pokusů

U každé nažky v každé misce byla v určitých termínech zjišťována klíčivost a napadení houbami:

Za klíčící byla považována ta nažka, u které bylo vidět klíček (včetně odumřelých klíčích nažek, u kterých klíček později nebyl patrný).

Za nažku napadenou houbami byla považována ta nažka, která již byla z velké části své plochy, anebo už dost hustě, obrostlá houbou (v závislosti na druhu houby).

3.1.6. Pokus I.: Vliv dostupného dusíku na klíčení nažek koniklece lučního českého a koniklece velkokvětého

3.1.6.1. Použitý zdroj dusíku

Jako zdroj dusíku byl použit granulovaný dusičnan amonný, (ledek amonný) NH_4NO_3 , s obsahem 35% dusíku. Obsahuje polovinu dusíku ve formě nitrátové (NO_3^-) a polovinu ve formě amonné (NH_4^+). Je značně hygroskopický, ve vodě dobře rozpustný a fyziologicky neutrální. Používá se k hnojení polních plodin a k výrobě dalších dusíkatých hnojiv (Hlušek 2004).

3.1.6.2. Založení pokusů

V rámci Pokusu I. byly provedeny dva klíčící pokusy při kterých byl zjišťován vliv různých koncentrací ledku na klíčení obou druhů konikleců (viz. níže). II. klíčící pokus byl proveden za účelem doplnění výsledků I. klíčícího pokusu.

Pro oba klíčící pokusy byly použity podle pohledu zdravé vyvinuté nažky. Při zakládání pokusů bylo do každé Petriho misky aplikováno 5 ml roztoku určitého množství ledku s destilovanou vodou, nebo pouze destilovaná voda (kontrolní varianta). Několik hodin po založení pokusů byly celé nažky (s neutřženými přívěsky) ještě jednou přimáčknuty k filtračnímu papíru, kvůli jejich odlepení se od něj díky pohybům zapříčiněným hygrokopicky aktivním přívěskem.

I. klíčící pokus

Byl založen 19. 11. 2009 (přibližně 5,5 měsíce od sběru nažek). Byl při něm testován vliv 6 různých koncentrací ledku (viz. Tabulka 2.) a úpravy nažek na klíčivost. Pro pokus byl použit faktoriální design (Lepš 1996) s pěti opakováními pro každou variantu. Celkem se tedy jednalo o 120 misek: 6 koncentrací ledku × 2 typy úpravy nažek × 2 druhy konikleců × 5 opakování. V každé Petriho misce bylo kultivováno 50 nažek. Dny, ve kterých byl prováděn odečet klíčivosti a napadení nažek houbami jsou uvedeny v Tabulce 3.

Tabulka 3. Koncentrace ledku použité v I. klíčícím pokusu. (Jedná se vždy o pětinovou koncentraci vzhledem k předchozí).

Číslo koncentrace	6	5	4	3	2	1
mg. NH ₄ NO ₃ /l ⁻¹	12111	2422	484	97	19	0
mg. N/l ⁻¹	4239	848	170	34	6,8	0

Pozn.: Hodnoty použitých koncentrací jsou odvozeny od podobných pokusů (Mandák & Pyšek 2001, Lugo Lugo 1955). Jako základní koncentrace byla pro lepší představu zvolena koncentrace dusíku, která odpovídá jeho množství ve 100 kg ledku amonného s vápencem (běžné hnojivo, 27 % N), přepočtenému na plochu Petriho misky, v 5 ml roztoku s destilovanou vodou (analogie s dávkou tohoto hnojiva 100 kg/ha při hnojení travních porostů).

Tabulka 4. Dny, ve kterých byl prováděn odečet klíčivosti a napadení nažek houbami (I. klíčící pokus).

datum odečtu (listopad a prosinec 2009)	30	1	3	4	7	8	13	14	19	20
den od začátku klíčení	12	13	15	16	19	20	25	26	31	32
druh koniklece*	ppb	pg	ppb	pg	ppb	pg	ppb	pg	ppb	pg

Pozn.: * ppb = koniklec luční český (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*), pg = koniklec velkokvětý (*Pulsatilla grandis*). Odečty byly z časového hlediska prováděny pro každý druh koniklece zvlášť.

II. klíčící pokus

Byl založen 30. 3. 2010 (přibližně 9,5 měsíce od sběru nažek) pro doplnění výsledků I. klíčícího pokusu a pro zjištění klíčivosti nažek obou druhů po delší době skladování. Byl při něm testován vliv 3 různých koncentrací ledku (viz. Tabulka 4.) a úpravy nažek na klíčivost a napadení nažek houbami.

Pro pokus byl u nažek koniklece velkokvětého (*Pulsatilla grandis*) použit faktoriální design (Lepš 1996) s pěti opakováními pro každou variantu. Celkem se tedy jednalo o 30 misek: 3 koncentrace ledku × 2 typy úpravy semen × 1 druh koniklece × 5 opakování. V každé Petriho misce bylo kultivováno 50 nažek.

U nažek koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*) byl také použit faktoriální design, ale pouze s jedním opakováním a s menším množstvím nažek v Petriho miskách (kvůli nedostatku nažek). Celkem se tedy jednalo o 6 misek. Počty použitých nažek v jednotlivých Petriho miskách jsou uvedeny v Tabulce 5.

Dny, ve kterých byl prováděn odečet klíčivosti a napadení nažek obou druhů konikleců houbami, jsou uvedeny v Tabulce 6. Byla snaha odečítat data v podobných termínech jako u I. klíčícího pokusu, aby mohly být vzájemně srovnávány a vyhodnocovány výsledky obou klíčících pokusů.

Tabulka 5. Koncentrace ledku použité v II. klíčícím pokusu.

Číslo koncentrace	2	1	0
mg. $\text{NH}_4\text{NO}_3/\text{l}^{-1}$	7267	1453	0
mg. N/l^{-1}	2543	509	0
Vztah ke koncentracím z I. klíčícího pokusu (vyjadřuje její číslo koncentrace)*	5,5	4,5	1

* Byly tedy použity koncentrace ledku odpovídající mezikoncentraci mezi 5 a 6, a 4 a 5 koncentrací z I. klíčícího pokusu. Dále byla použita ještě kontrolní varianta (pouze destilovaná voda).

Tabulka 6. Počty použitých nažek v jednotlivých Petriho miskách v II. klíčícím pokusu.

Číslo koncentrace	2		1		0	
Úprava nažek*	s p.	bez p.	s p.	bez p.	s p.	bez p.
Počty nažek v Petriho miskách	20	20	20	20	8	8

* Úprava nažek: s p. = neupravené nažky - s přívěskem, bez p. = nažky s utrženým přívěskem

Tabulka 7. Dny, ve kterých byl prováděn odečet klíčivosti a napadení nažek houbami (II. klíčící pokus). Srovnáno s I. klíčícím pokusem.

datum odečtu (duben 2010)	10	10	13	13	18	18	23	23	29	29
den od začátku klíčení (II. klíčící pokus)	11	11	14	14	19	19	24	24	30	30
den od začátku klíčení (I. klíčící pokus)	12	13	15	16	19	20	25	26	31	32
druh koniklece*	ppb	pg	ppb	pg	ppb	pg	ppb	pg	ppb	pg

Pozn.: * ppb = koniklec luční český (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*), pg = koniklec velkokvětý (*Pulsatilla grandis*).

3.1.6.3. Statistické vyhodnocení pokusů

Pro statistické vyhodnocení vlivu dostupného dusíku a úpravy nažek na klíčivost a napadení nažek obou zkoumaných druhů konikleců houbami, byla použita pouze data z I. klíčícího pokusu. Důvodem bylo použití posledního zbytku pravděpodobně částečně narušených, málo klíčících a hodně houbami napadených nažek koniklece lučního českého v II. klíčícím pokusu. Data klíčivosti a napadení nažek koniklece velkokvětého v II. klíčícím pokuse byly použity zejména pro vyhodnocení vlivu suchého skladování na vitalitu a jejich napadení houbami.

Pro testování rozdílů mezi konečnými klíčivostmi byla použita dvoucestná analýza variance (faktoriální ANOVA) (podobně jako např. u Mandáka et Pyška (2001)) a mnohonásobné porovnání pomocí Tukeyho testu. Jako kategoriální proměnné byly u dvoucestné analýzy variance použity faktory koncentrace ledku a úprava nažek. Pouze pro testování rozdílů mezi klíčivostí a napadením nažek obou studovaných druhů konikleců houbami byla použita trojcestná analýza variance (použité faktory: druh koniklece, koncentrace ledku a typ úpravy nažek). Průběh klíčení byl vyhodnocován pomocí analýzy variance pro opakovaná měření (v programu Statistica[™] nazvané Repeated measures ANOVA).

Všechny testy byly provedeny v programu Statistica[™] (Statsoft 2010) na 5 % hladině významnosti. Ke zpracování a vyhodnocení dat byl též použit program Microsoft Office Excel 2007.

3.1.7. Pokus II.: Klíčivost nedokonale vyvinutých a poškozených nažek

Pro její zjištění bylo kultivováno 30 nedokonale vyvinutých a poškozených celých nažek, (nejednalo se pouze o sterilní zakrnělé nažky popisované Wellsem et Barlingem (1958)), z každého druhu koniklece ve dvou Petriho miskách s destilovanou vodou. Pokus byl založen 30. 3. 2010 (přibližně 9,5 měsíce od sběru nažek). Odečet klíčivosti a napadení nažek houbami byl prováděn ve stejné dny jako u II. klíčícího pokusu u Pokusu I.

3.1.8. Pokus III.: Klíčivost nažek koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*) poškozených neznámým druhem květilky (*Anthomyiidae* sp.)

Pro její zjištění bylo kultivováno 20 nažek s přívěskem a 20 nažek bez přívěsku, poškozených larvami neznámého druhu květilky (*Anthomyiidae* sp.), ve dvou Petriho miskách s destilovanou vodou. Pokus byl založen 30. 3. 2010 (přibližně 9,5 měsíce od

sběru nažek). Odečet klíčivosti a napadení nažek houbami byl prováděn ve stejné dny jako u II. klíčícího pokusu u Pokusu I.

3.2. Bejlmorka koniklecová (*Dasineura pulsatillae*) a další druhy hmyzu vyvíjející se v souplodích koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*) ve středních Čechách

Na podzim roku 2009 byly připravovány nažky koniklece *P. pratensis* subsp. *bohemica*, pocházející z přírodní památky Na horách, k pokusu zjišťujícím klíčivost nažek tohoto druhu. Ten byl součástí studie zjišťující vliv dostupného dusíku na klíčení vybraných zástupců rodu koniklece (*Pulsatilla*), která je součástí této diplomové práce. Přitom bylo zjištěno, že část nažek je poškozena tehdy neznámým druhem hmyzu.

V roce 2010 byl proto na šesti lokalitách ve středních Čechách proveden průzkum výskytu škodlivých činitelů v souplodích k. lučního českého (*P. pratensis* subsp. *bohemica*). Lokality byly vybrány zejména s ohledem na různorodost biotopů a velikost populací konikleců. Jednalo se o následující lokality: lom u PR Baba a PP Nad mlýnem v Dolní Šárce, PP Pitkovická stráň, PP Trubínský vrch a PP Na horách a PR Prokopské údolí (stručný popis lokalit je uveden v následující kapitole). Lokality byly navštěvovány především v květnu a červnu. Území PP Na horách bylo navštíveno celkem čtyřikrát (8. 5., 23. 5., 13. 6. a 18. 6.), PP Pitkovická stráň třikrát (3. 6., 16. 6. a 17. 9.) a ostatní lokality jedenkrát (dvě v květnu a dvě v červnu).

Výskyt škodlivých činitelů v souplodích konikleců byl po roztažení nažek v souplodích zjišťován přímým pozorováním u rostlin na lokalitách. Při návštěvách lokalit byla zaznamenávána fenologie konikleců, zjišťována ekologie a další charakteristiky vyskytujících se hmyzích parazitů, pořizována fotodokumentace a odebírány vzorky hmyzu ze souplodí konikleců. U třech souplodí odebraných 23. 5. v přírodní památce Na horách byl spočítán celkový počet jedinců obou parazitů z řádu dvoukřídlých (souplodí byla podrobně prohlédnuta a úplně rozebrána) a u čtyřiceti nažek poškozených květilkou (*Anthomyiidae* sp.) odebraných 13. 6. v téže přírodní památce, byl proveden podrobný rozbor. Míra napadení rostlin byla u obou druhů dvoukřídlých zjišťována na základě zkoumání určitého počtu souplodí plošně reprezentujícího danou lokalitu.

Z odebraných vzorků hmyzu byly zhotoveny mikroskopické preparáty (jako uzavírací médium byl použit roztok glycerolu, želatiny a chlorhydrátu zvaný Liquido Faure-Berlese). Mikroskopické preparáty jsou uloženy ve sbírce M. Skuhravé v Praze. Larvy bejlmorek

(*Cecidomyiidae*) a květilek (*Anthomyiidae* sp.) determinovala Dr. M. Skuhrová a larvální stadia (nymfy) a dospělce třásněnek (Thysanoptera) Dr. V. Zeman.

Klíčivost nažek koniklece lučního českého (*P. pratensis* subsp. *bohemica*) z lokality Na horách byla zjišťována u nažek odebraných 10. 6. 2009. Klíčivost zdravých vyvinutých nažek (N = 250) byla zjištěna pět a půl měsíce od jejich odběru v rámci I. klíčícího pokusu (viz. kapitola 3.1.6.2.) a klíčivost nedokonale vyvinutých nažek (N = 30) a nažek poškozených larvami květilky (N = 20) o čtyři měsíce později v rámci Pokusu II. (kapitola 3.1.7.) a Pokusu III. (kapitola 3.1.8.). Pro testy klíčivosti nažek byly použity Petriho misky se třemi vrstvami filtračního papíru. Nažky byly kultivovány při teplotě $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ (zdravé vyvinuté nažky) a $24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ (nedokonale vyvinuté nažky a nažky poškozené larvami květilky), při světelném režimu 16/8 hodin (světlo/tma). Podrobnější metodika těchto klíčících pokusů je uvedena v citovaných kapitolách a dále v kapitolách 3.1.1. až 3.1.5.

V rámci výzkumu ekologie druhů hmyzu vyvíjejících se v souplodích koniklece lučního českého bylo vhodné rozlišovat následující fenologické fáze kvetení a zrání květů konikleců na lokalitě:

1) Kvetoucí květ - květ je plně funkční, všechny části květu jsou živé, čnělky tvoří pouze úzký válec uprostřed květu.

2) Odkvetlý květ - tyčinky již zaschly (v květu není vidět výrazné žluté prašníky), čnělky semeníků se trochu prodloužily a rozšířily - vyplňují celý prostor mezi okvětními lístky. Květní stopka se prodlužuje a napřimuje - květ má již přibližně vodorovnou polohu.

3) Zrající souplodí – V této fázi okvětní lístky již zaschly a následně opadávají; stejně tak i tyčinky. Čnělky (přívěsky) jsou dlouhé a rozestálé na všechny strany. Nažky později také zasychají – jejich barva se mění ze zelené přes žlutozelenou až do hnědé. Květní lůžko je stále zelené.

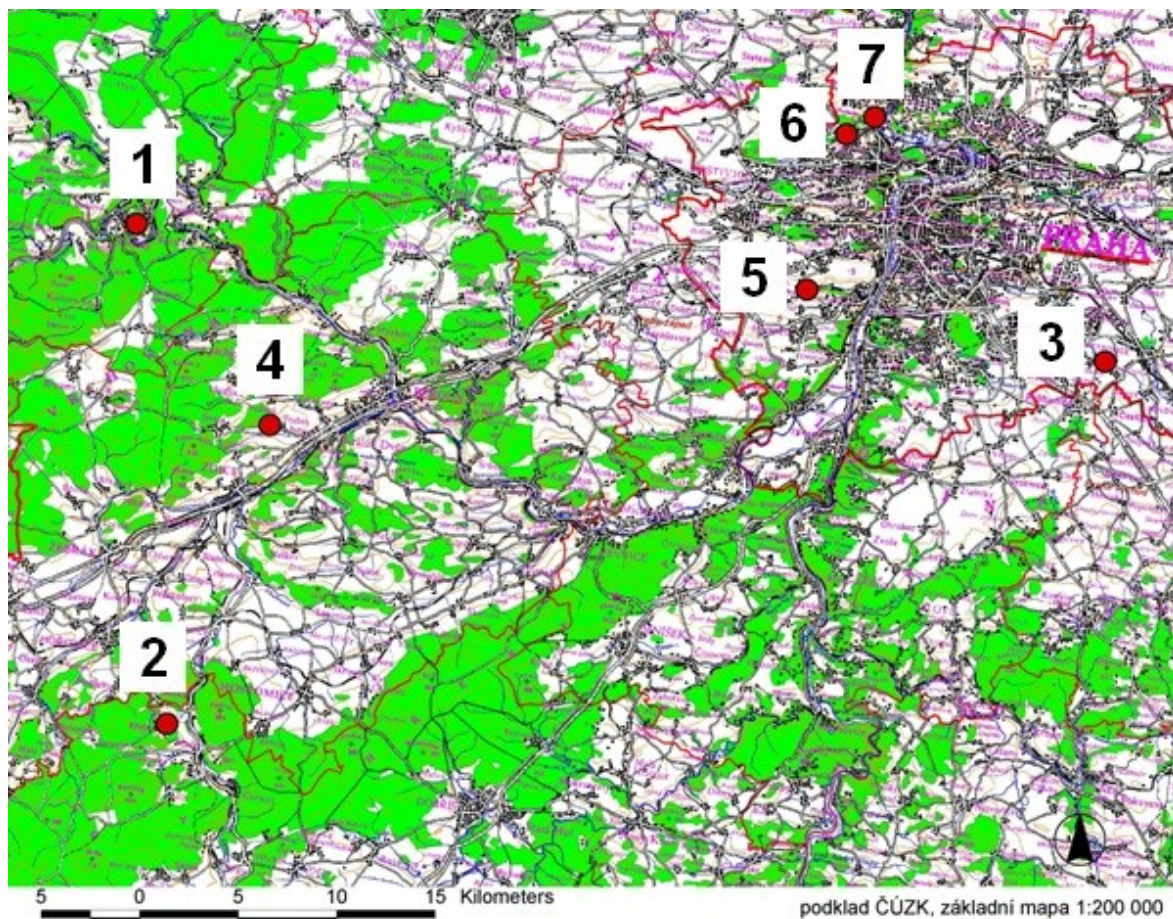
4) Zralé souplodí – všechny nažky i květní lůžko jsou hnědé a suché, neživé (kromě semen v nažkách).

Výsledky této studie byly uveřejněny ve sborníku *Bohemia centralis* 30 (Jiras et al. 2010)..

3.2.1. Zkoumané lokality

Na obrázku 1. je vyznačena poloha šesti lokalit ve středních Čechách, na nichž byl proveden průzkum výskytu hmyzu v souplodích koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*). Pro úplnost je navíc zařazena i lokalita Na Babě na

Křivoklátsku, která sice v roce 2010 nebyla navštívena, ale pochází odtud starší údaj o bejlmorce koniklecové (Skuhrová 1975). V následujícím textu jsou uvedeny stručné popisy zkoumaných lokalit (včetně lokality Na Babě). U jednotlivých lokalit je uvedena velikost populací koniklece tak, jak byla zaznamenána ve vegetační sezóně 2010.



Obr. 1. Lokalita s jediným dosavadním českým nálezem bejlmorky koniklecové (*Dasineura pulsatillae*): 1 – PR Na Babě; a lokality ve středních Čechách, kde byl sledován výskyt hmyzu v souplodích koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*) v roce 2010: 2 – PP Na horách, 3 – PP Pitkovická stráž, 4 – PP Trubínský vrch, 5 – PR Prokopské údolí, 6 – PP Nad mlýnem, 7 – lom u PP Baba.

Přírodní rezervace Na Babě

Přírodní rezervace (PR) Na Babě byla vyhlášena v roce 1984 a její rozloha je 23,95 hektarů. Nachází se v katastrálním území obce Křivoklát, od které je vzdálená přibližně jeden kilometr jižním směrem. Z regionálně fytogeografického hlediska se rezervace nachází v mezofytiku, ve fytogeografickém okrese 32. Křivoklátsko. Plochu rezervace ležící v nadmořské výšce 235-404 metrů tvoří jihozápadně orientované skalní svahy vrchů Sokolí a Baby a levý údolní svah údolí Berounky. Geologické podloží lokality tvoří neoproterozoické břidlice a droby s průnikem žilného ryolitu, ale také vulkanity (spilit,

andezit). Mezi významná rostlinná společenstva v rezervaci patří skalní stepi, teplomilné lemy a dále především asociace *Pulsatillo pratensis-Avenochloetum pratensis* ze svazu *Koelerio-Phleion phleoidis*, která byla poprvé rozlišena právě na území této rezervace (Kolbek et al. 1980, Kučera in Ložek et al. 2005). Z chráněných druhů rostlin se na lokalitě vyskytuje zejména česnek tuhý (*Allium strictum*) a koniklec luční český (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*), jehož populace dle ústního sdělení Petry Karešové ze Správy chráněné krajinné oblasti Křivoklátsko čítá zhruba 500 rostlin. Přírodní rezervace je významným refugiem běžných i reliktních druhů bezobratlých (Ložek et al. 2005).

Přírodní památka Pitkovická stráň

Přírodní památka (PP) Pitkovická stráň byla vyhlášena v roce 1968 a její rozloha je 0,51 hektaru. Nachází se v katastrálním území Pitkovic (hlavní město Praha), půl kilometru západně od této obce, na východní straně ostrohu v meandru Pitkovického potoka. Nadmořská výška území je 263-283 metrů. Z hlediska regionálně fytogeografického se přírodní památka nachází na hranici termofytika - fytogeografický okres 10. Pražská plošina a mezofytika - fytogeografický okres 64. Říčanská plošina. Jedná se o skalnatou, zčásti zalesněnou stráň, částečně narušenou malým lomem. Podloží přírodní památky tvoří jílovité břidlice proterozoického stáří se svahovými hlínami na úpatí. Její největší část pokrývá rostlinné společenstvo asociace *Pulsatillo pratensis-Avenochloetum pratensis*. Z chráněných druhů rostlin zde roste zejména chrpa chlumní (*Cyanus triumfettii*) a koniklec luční český (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*), jehož populaci odhadujeme alespoň na 350 rostlin. Území přírodní památky je také významným refugiem stepní fauny bezobratlých (Kubíková et al. 2005).

Přírodní památka Na horách

Přírodní památka Na horách byla vyhlášena v roce 1996 a její rozloha je 4,76 hektarů (Ložek et al. 2005). Nachází se v katastrálním území obce Křešín, ve výšce 420-455 m n. m. Z regionálně fytogeografického hlediska se přírodní památka nachází v mezofytiku – fytogeografický podokres 35c. Příbramské Podbrdsko, ale v bezprostřední blízkosti oreofytika – fytogeografický okres 87. Brdy. Přírodní památku tvoří jižní až jihovýchodní svah hřbítku přiléhající k východnímu okraji obce. Jeho geologický podklad tvoří jílovité břidlice středního kambria. Plochu lokality tvoří zejména společenstva obnažených půd a subxerothermní trávníky svazů *Hyperico perforati-Scleranthion perennis* a *Koelerio-Phleion phleoidis*, včetně asociace *Pulsatillo pratensis-*

Avenochloetum pratensis. Typický ráz lokality dotvářejí solitérní borovice lesní (*Pinus sylvestris*) a jalovce obecné (*Juniperus communis*). Lokalita je známá především masovým výskytem koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*) na kyselých horninách a hojným výskytem vstavače kukačky (*Orchis morio*) (Karlík in Ložek et al. 2005, Karlík 2005). Populaci koniklece tvoří až několik tisíc rostlin. Přírodní památka je významným refugiem stepních a petrofilních bezobratlých (Ložek et al. 2005).

Přírodní památka Nad mlýnem

Přírodní památka Nad mlýnem byla vyhlášena v roce 1968 a její rozloha je 3,91 hektarů. Nachází se v katastrálním území Dejvic a Nebušic (hlavní město Praha), v nadmořské výšce 210-275 metrů. Z regionálně fytogeografického hlediska se přírodní památka nachází v termofytiku – fytogeografický okres 9. Dolní Povltaví. Lokalitu tvoří skalnatý svah nad meandrem Šáreckého (Litovického) potoka. Geologické podloží přírodní památky tvoří proterozoické břidlice, které místy vycházejí na povrch. Z chráněných druhů rostlin se na lokalitě vyskytuje zejména křivatec český (*Gagea bohemica*) a koniklec luční český (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*) (Kubíková et al. 2005). Koniklec zde roste na pruhu skalní stepi vyskytující se podél hrany v západní části přírodní památky. V roce 2010 jsme zde zaznamenali pět rostlin koniklece.

Lom u přírodní památky Baba

Tato lokalita se nalézá nad hranou bývalého lomu, který leží na pravém břehu Šáreckého potoka, cca 0,25 km severozápadně od zříceniny na Babě. Lokalita se nachází v katastrálním území Dejvic (hlavní město Praha), v nadmořské výšce 190-245 metrů. Z regionálně fytogeografického hlediska se toto území nachází v termofytiku – fytogeografický okres 9. Dolní Povltaví. Geologické podloží tvoří sled střídajících se drob a břidlic kralupsko-zbraslavské skupiny svrchního proterozoika. Jedná se o xerothermní trávníky s kostřavou sivou (*Festuca pallens*), mochnou písečnou (*Potentilla arenaria*) a dále například se seselem sivým (*Seseli osseum*) zarostlé dřevinami, v nichž se na jednom místě zachovala populace koniklece lučního (Karlík et Řezáč 2008), čítající v roce 2010 deset rostlin.

Přírodní rezervace Prokopské údolí

Přírodní rezervace Prokopské údolí byla vyhlášena v roce 1978 a její rozloha je 101,5 hektarů. Lokalita se nachází na katastrálním území Hlubočep a Jinonic (hlavní město

Praha), v nadmořské výšce 220-326 metrů. Z regionálně fyto geografického hlediska se přírodní rezervace nachází v termofytiku, ve fyto geografickém okrese 8. Český kras. Lokalitu tvoří sedm izolovaných ploch v hluboko zaříznutém údolí Prokopského a Dalejského potoka. Geologické podloží přírodní rezervace tvoří prvohorní horniny, zejména vápence. Na značných plochách se zde vyskytují xerothermní vápnomilné trávníky z třídy *Festuco-Brometea* (Kubíková et al. 2005). V rámci našeho výzkumu jsme sledovali jen území v blízkosti Butovického hradiště, kde jsme zaznamenali populaci koniklece o velikosti cca 15 rostlin.

Přírodní památka Trubínský vrch

Přírodní památka byla vyhlášena v roce 1984 v katastru obce Trubín na rozloze 3,94 hektarů, v nadmořské výšce 295-368 metrů. Z regionálně fyto geografického hlediska se přírodní památka nachází v termofytiku – fyto geografický okres 8. Český kras, u hranice s mezofytikem – fyto geografický okres 32. Křivoklátsko. Trubínský vrch představuje velmi dobrou ukázkou výchozu ordovických diabasů komárovského komplexu. Na prudkých svazích se zde vyskytuje rozvolněná vegetace teplomilných suchých trávníků s výskytem mochny písečné (*Potentilla arenaria*), vlnice chlupaté (*Oxytropis pilosa*) nebo např. sesele sivého (*Seseli osseum*) (Ložek et al. 2005). Zdejší populace koniklece čítala v roce 2010 cca 150 rostlin.

4. Výsledky

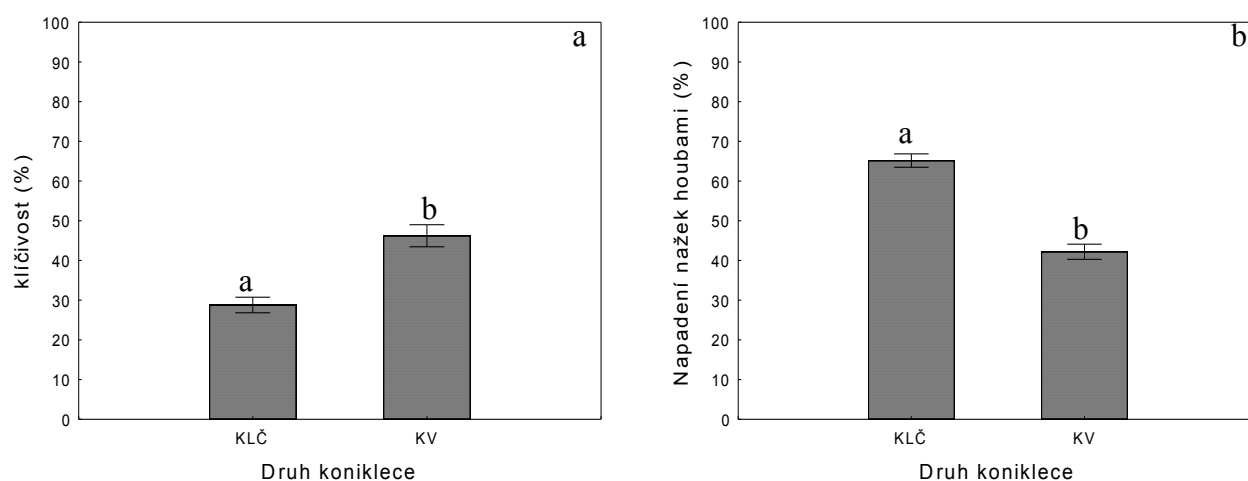
4.1. Pokus I.: Vliv dostupného dusíku na klíčení nažek koniklece lučního českého a koniklece velkokvětého

4.1.1. Klíčivost nažek a jejich napadení houbami u studovaných druhů konikleců

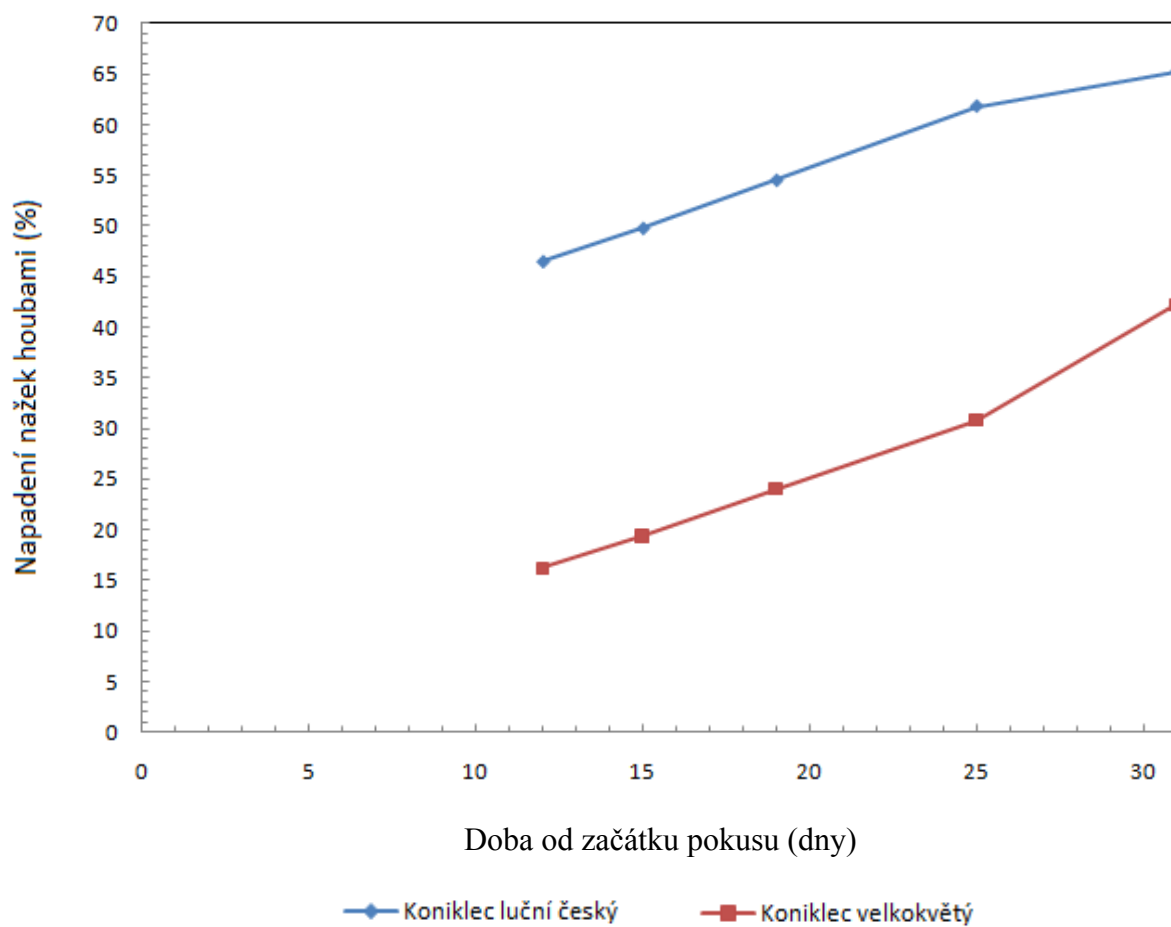
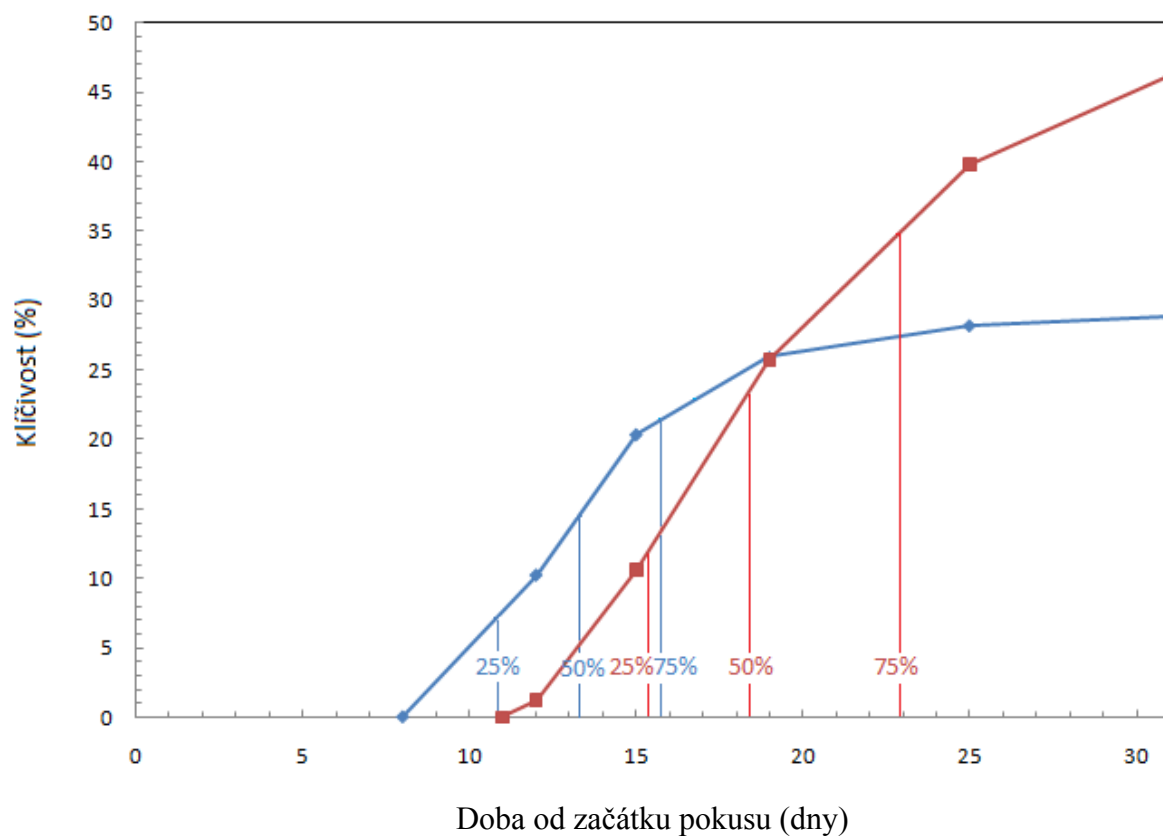
Nažky koniklece lučního českého začaly klíčit zhruba 8. den a koniklece velkokvětého 11. den od založení pokusu (1. klíčící pokus). Na klíčících nažkách obou druhů se nejdříve v místě u přívěsku vytvořila podélná puklina, na jejíž místě většinou zanedlouho vyrůstal klíček. Po určité době mladá rostlinka většinou vyzvedla nažku nad povrch filtračního papíru (epigeické klíčení) a uvolnila si z ní své zelené fotosyntetizující dělohy. Následně u nejvyvinutějších rostlinek došlo k růstu prvního páru pravých listů a k zvětšení kořenové soustavy (nejvíce vyvinuté rostlinky měly v době ukončení pokusu kořínky dlouhé přes 10 cm). Rostlinky koniklece lučního českého měly v průběhu pokusu rychlejší vývin než rostlinky koniklece velkokvětého. Od pohledu nejrychleji se vyvíjející a

nejživotaschopnější rostlinky obou druhů se vyskytovaly v miskách s kombinacemi faktorů: nažky s přívěskem se střední koncentrací ledku (konc. č. 3) a nažky bez přívěsku také se střední koncentrací ledku (konc. č. 4).

Ze sloučených dat konečné klíčivosti a napadení nažek houbami (31. den od začátku pokusu) obou druhů konikleců je patrné, že koniklec velkokvětý měl signifikantně vyšší klíčivost (Obr. 1a) a signifikantně menší napadení nažek houbami (Obr. 1b) než koniklec luční český (v obou případech na hladině významnosti $P < 0,001$). Z obrázku 2 (klíčivost) je patrné, že nažky koniklece velkokvětého klíčily po delší dobu než nažky koniklece lučního českého a v průběhu pokusu ještě nedošlo k vyklíčení naprosté většiny klíčení schopných nažek. Naproti tomu většina nažek koniklece lučního českého (87 %) vyklíčila do 11 dnů od začátku klíčení (19. dnů od založení klíčícího pokusu). Průběh napadení nažek obou druhů konikleců houbami byl během pokusu podobný, ale u koniklece lučního bylo napadení nažek houbami o hodně větší (Obr. 2, napadení nažek houbami).



Obr. 2. Konečná klíčivost a napadení nažek koniklece lučního českého (KLČ) a koniklece velkokvětého (KV) houbami (1. klíčící pokus). Sloučená data z 1. klíčícího pokusu vyhodnocená trojcestnou ANOVOU (použité faktory: koncentrace ledku, úprava nažek a druh koniklece).



Obr. 3. Průběh klíčivosti (s vyznačením doby dosažení 25 %, 50 % a 75 % z vyklíčených nažek) a napadení nažek obou zkoumaných druhů konikleců houbami (1. klíčící pokus).

4.1.2. Vliv jednotlivých faktorů a jejich interakce na konečnou klíčivost a napadení nažek houbami

Vliv ledku, úpravy nažek a jejich interakce na konečnou klíčivost a napadení nažek obou druhů konikleců houbami byl vyhodnocen pomocí dvoucestné analýzy variance (ANOVA), zvláště pro každý druh koniklece (použité faktory: koncentrace ledku a úprava nažek). K analýzám byla použita data z 1. klíčícího pokusu (založeného 5,5 měsíce od sběru nažek) zjištěná 31. (koniklec luční český) a 32. (koniklec velkokvětý) den od založení pokusu (konečný odečet klíčivosti a napadení nažek houbami).

4.1.2.1. Klíčivost

Vliv ledku

Ledek měl vysoce signifikantní vliv ($P < 0,001$) na konečnou klíčivost a napadení nažek obou druhů konikleců houbami (Obr. 4, Tabulka 1 a 2). Pomocí metody mnohonásobných porovnání podle Tukeyho (dále jen Tukeyho test) ($P < 0,05$) byly u koniklece lučního českého zjištěny signifikantní rozdíly v klíčivosti nažek mezi nejvyšší koncentrací ledku (konc. č. 6) a ostatními koncentracemi a u koniklece velkokvětého mezi koncentracemi č. 5 a 4, 3 a 6 (Obr. 4 a, b). Celkově bylo u obou druhů u většiny koncentrací dosaženo velice podobné klíčivosti. U koniklece lučního byla nejvyšší klíčivost (kolem 33 %) dosažena u koncentrací 1-5 (na hladině významnosti $P < 0,05$ nebyly rozdíly v klíčivosti mezi těmito koncentracemi signifikantní) a nejnižší (1 %) u nejvyšší koncentrace ledku (konc. č. 6). U koniklece velkokvětého byla nejvyšší klíčivost (64,6 %) dosažena u střední koncentrace ledku (konc. č. 3) a nejnižší (7,8 %) také u nejvyšší koncentrace (obě klíčivosti se na hladině významnosti $P < 0,05$ signifikantně lišily od klíčivosti nažek s jinými koncentracemi ledku).

Vliv úpravy nažek

Úprava nažek měla vysoce signifikantní vliv ($P < 0,001$) na konečnou klíčivost nažek koniklece velkokvětého, s vyšší klíčivostí nažek bez přívěsku, ale na hladině významnosti $P < 0,05$ neměla vliv na konečnou klíčivost koniklece lučního českého (Obr. 3 a, b; Tabulka 1).

Vliv interakce

Interakce obou faktorů měla při hladině významnosti $P < 0,05$ signifikantní vliv na klíčivost koniklece lučního českého, ale neměla vliv na klíčivost koniklece velkokvětého (Obr. 5, Tabulka 1).

U koniklece lučního českého bylo u všech koncentrací kromě vysoké koncentrace ledku (konc. č. 5) dosaženo podobné klíčivosti mezi nažkami bez přívěsku a s přívěskem. Nažky bez přívěsku klíčily nejlépe (41,6 %) při vysoké (konc. č. 5) a nejhůř (0,8 %) při nejvyšší koncentraci ledku (konc. č. 6), zatímco nažky s přívěskem klíčily nejlépe (38,8 %) při střední (konc. č. 4) a nejhůř (1,2 %) také při vysoké koncentraci ledku (konc. č. 6).

U koniklece velkokvětého se zdá, že oba faktory mají pouze aditivní účinek: u všech koncentrací ledku kromě nejnižší a nejvyšší koncentrace (konc. č. 1 a 6) při kterých byla klíčivost nažek s oběma typy úpravy podobná, lépe klíčily nažky bez přívěsku a to s přibližně stejným absolutním rozdílem od klíčivosti nažek s přívěskem. Nažky obou typů úpravy klíčily nejlépe (nažky bez přívěsku 74 % a s přívěskem 55,2 %) při střední (konc. č. 3) a nejhůř (nažky bez přívěsku 10,8 % a s přívěskem 4,8 %) při nejvyšší koncentraci ledku (konc. č. 6).

Tabulka 8. Výsledky dvoucestné analýzy variance – vliv jednotlivých faktorů na konečnou klíčivost obou druhů konikleců (použité faktory: úprava nažek a koncentrace ledku; analýza byla prováděna pro každý druh zvlášť). Hodnoty tučně zvýrazněné označují signifikantní vliv daného faktoru.

nezávisle proměnná	<i>koniklec luční český</i>			<i>koniklec velkokvětý</i>		
	s. v.	<i>F</i> -poměr	<i>P</i>	s. v.	<i>F</i> -poměr	<i>P</i>
úprava	1	1,87	0,177	1	17,55	<0,001
koncentrace ledku	5	29,88	<0,001	5	34,42	<0,001
úprava*koncentrace ledku	5	3,30	0,012	5	0,95	0,458

4.1.2.2. Napadení nažek houbami

Vliv ledku

Ledek měl vysoce signifikantní vliv ($P < 0,001$) na konečnou hodnotu napadení nažek houbami u obou druhů konikleců (Obr. 4 c,d; Tabulka 2). Pomocí Tukeyho testu ($P < 0,05$) byly u obou druhů konikleců zjištěny signifikantní rozdíly v napadení nažek houbami mezi nejvyšší koncentrací ledku (konc. č. 6) a ostatními koncentracemi. U těch nebyly rozdíly v napadení nažek houbami moc výrazné. Maximálního a minimálního napadení nažek houbami bylo u obou druhů dosaženo při stejných koncentracích ledku: u nejvyšší koncentrace (konc. č. 6) – pp 83,4 %; pg 62,2 % a u nízké koncentrace ledku (konc. č. 2) – pp 57,6 %, pg , 31,2 %. Hodnoty minimálního napadení nažek houbami u obou druhů ale nejsou na hladině významnosti $P < 0,05$ signifikantně odlišné od hodnot s koncentrací ledku č. 1, 3, 4 a 5.

Vliv úpravy nažek

Při hladině významnosti $P < 0,05$ neměla úprava nažek vliv na konečné napadení nažek obou druhů konikleců houbami (Obr. 3 c, d; Tabulka 2). Hodnoty konečného napadení nažek houbami byly u nažek s oběma typy úprav prakticky stejné.

Vliv interakce

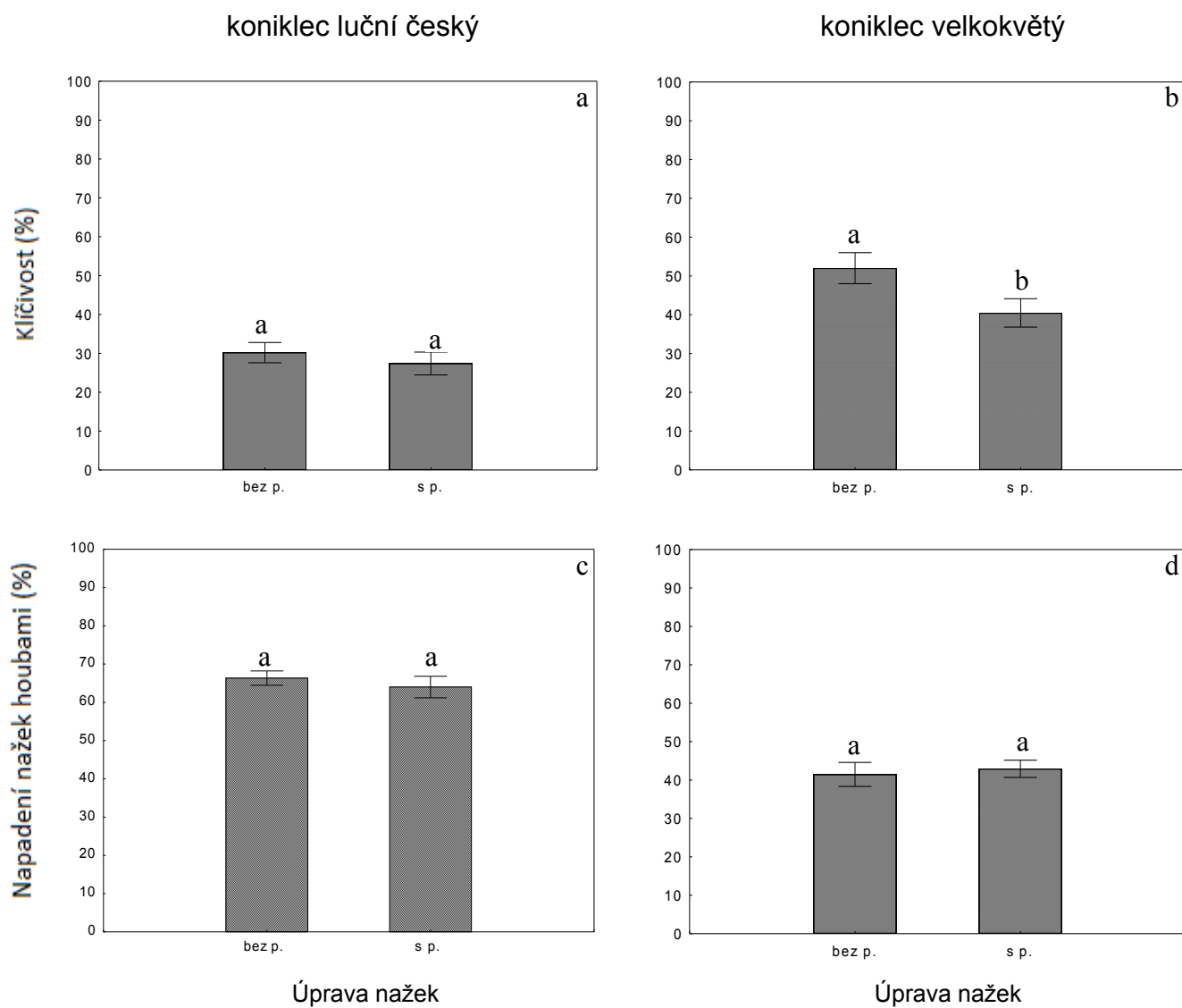
Interakce obou faktorů měla při hladině významnosti $P < 0,05$ signifikantní vliv na napadení nažek houbami pouze u koniklece velkokvětého (Tabulka 2.).

U koniklece velkokvětého bylo napadení nažek s oběma typy úpravy houbami u různých koncentrací ledku vysoce rozmanité. Nažky bez přívěsku byly nejvíc napadeny houbami (ze 70 %) u nejvyšší koncentrace ledku (konc. č. 6) a nejméně (z 23,6 %) při jeho nízké koncentraci (konc. č. 2), zatímco nažky s přívěskem byly nejvíc napadeny (z 54,4 %) také při nejvyšší koncentraci ledku (konc. č. 6), ale nejméně (z 33,6 %) při jeho nejnižší koncentraci (konc. č. 1).

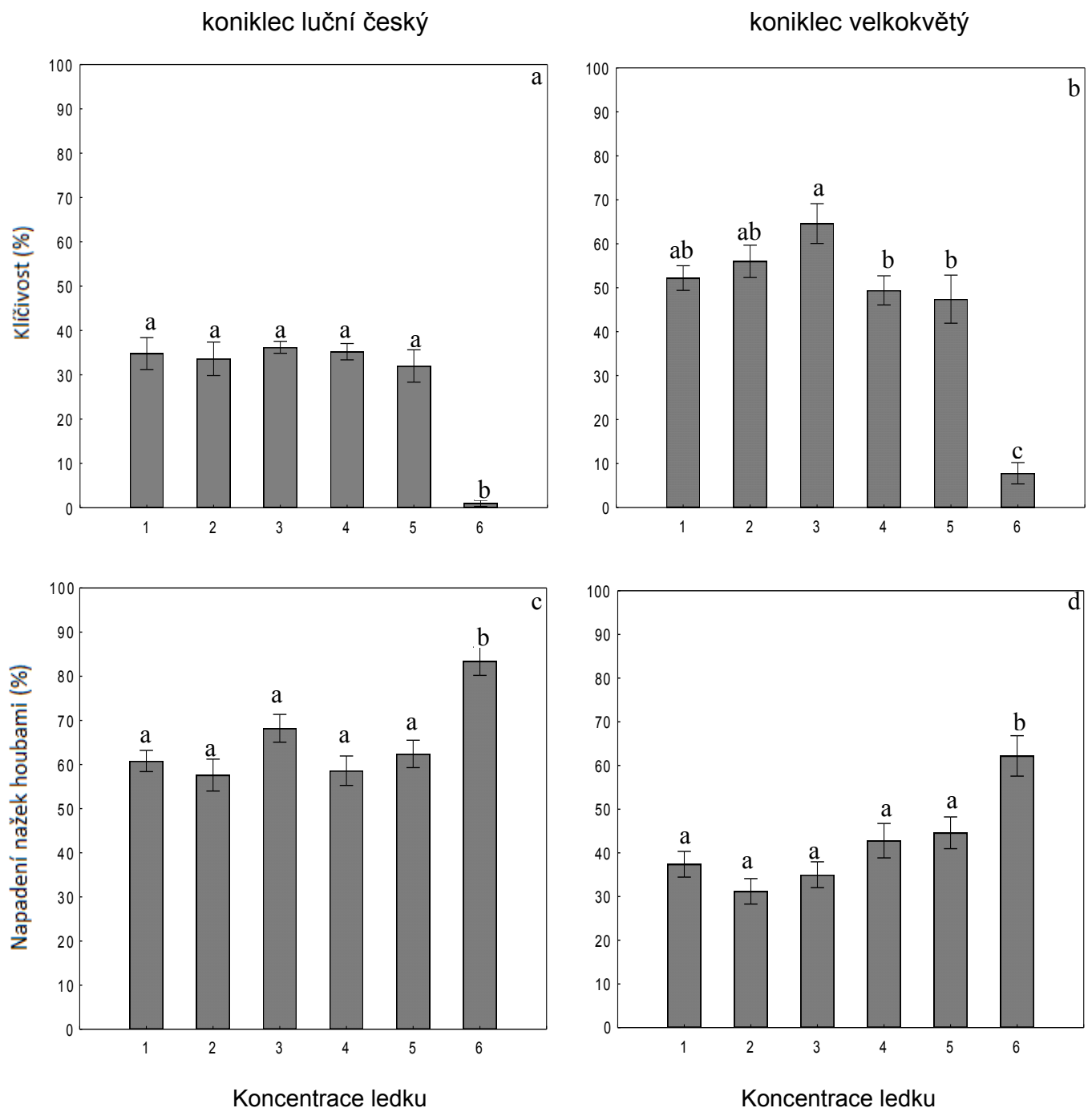
U koniklece lučního českého u většiny koncentrací (kromě vysoké koncentrace č. 5, při které byly nažky s oběma typy úpravy napadeny houbami téměř stejně a nejvyšší koncentrace (konc. č. 6)) byly víc napadeny houbami nažky bez přívěsku. Tyto nažky byly nejvíc napadeny (ze 76,8 %) při nejvyšší koncentraci ledku (konc. č. 6) a nejméně (z 59,2 %) při jeho nízké koncentraci (konc. č. 2). Nažky s přívěskem byly nejvíc napadeny houbami (z 90 %) také při nejvyšší koncentraci ledku (konc. č. 6), ale nejméně (z 54,5 %) při jeho střední koncentraci (konc. č. 4).

Tabulka 9. Výsledky dvoucestné analýzy variance – vliv jednotlivých faktorů na konečné napadení nažek obou druhů konikleců houbami (použité faktory: úprava nažek a koncentrace ledku; analýza byla prováděna pro každý druh zvlášť). Hodnoty tučně zvýrazněné označují signifikantní vliv daného faktoru.

nezávisle proměnná	<i>koniklec luční český</i>			<i>koniklec velkokvětý</i>		
	s. v.	<i>F</i> -poměr	<i>P</i>	s. v.	<i>F</i> -poměr	<i>P</i>
úprava	1	0,89	0,351	1	0,30	0,584
koncentrace ledku	5	10,17	<0,001	5	11,33	<0,001
uprava*koncentrace ledku	5	1,88	0,116	5	3,23	0,014



Obr. 4. Vliv úpravy nažek na konečnou (31. den od začátku pokusu) klíčivost a napadení nažek zkoumaných druhů konikleců houbami (dvoucestná ANOVA) (Použité faktory: úprava nažek a koncentrace ledku. Analýza byla prováděna pro každý druh zvlášť). Pozn.: bez p. – nažky bez přívěsku, s p. – nažky s přívěskem.



Obr. 5. Vliv koncentrace ledku na konečnou (31. den od začátku pokusu) klíčivost a napadení nažek zkoumaných druhů konikleců houbami (dvoucestná ANOVA, použité faktory: úprava nažek a koncentrace ledku. Analýza byla prováděna pro každý druh zvlášť).

4.1.3. Vliv jednotlivých faktorů a jejich interakce na průběh klíčení

4.1.3.1. Koniklec luční český

Klíčivost

Přírůstky v klíčovosti nažek mezi různými koncentracemi ledku byly v odečítací dny podobné. K zásadním rozdílům v klíčovosti nažek mezi různými koncentracemi ledku došlo do 12., popřípadě až do 15. dne. Od tohoto odečtu byly přírůstky v klíčovosti nažek mezi různými koncentracemi ledku téměř stejné (Obr. 5 c, d).

Téměř stejné přírůstky v klíčovosti nažek byly mezi odečítacími dny zaznamenány i mezi nažkami obou typů úpravy. K výrazně rozdílným přírůstkům jejich klíčovosti tudíž muselo dojít v období do 12. dne.

Napadení nažek houbami

Z průběhu klíčení je patrné, že nažky s koncentracemi ledku č. 1, 2, 4 a 5 měly podobné napadení nažek houbami. Do třetího odečtu (19. den klíčení) měly nažky se všemi koncentracemi ledku podobné přírůstky napadení houbami (k rozdílům v jejich napadení houbami tedy došlo do 1. odečtu), přičemž největší napadení houbami dosahovaly nažky s koncentrací ledku č. 3. Při dalším průběhu klíčení došlo k výraznému nárůstu napadení houbami u nažek s koncentrací ledku č. 6. V první půlce klíčení (do odečtu 19. dne) ale dosahovaly nažky s přívěskem při této koncentraci ledku poměrně nízkého napadení houbami. V druhé polovině klíčení pokusu došlo ke zmenšení rozdílů v napadení houbami mezi nažkami s oběma typy úpravy (více byly napadeny nažky bez přívěsku).

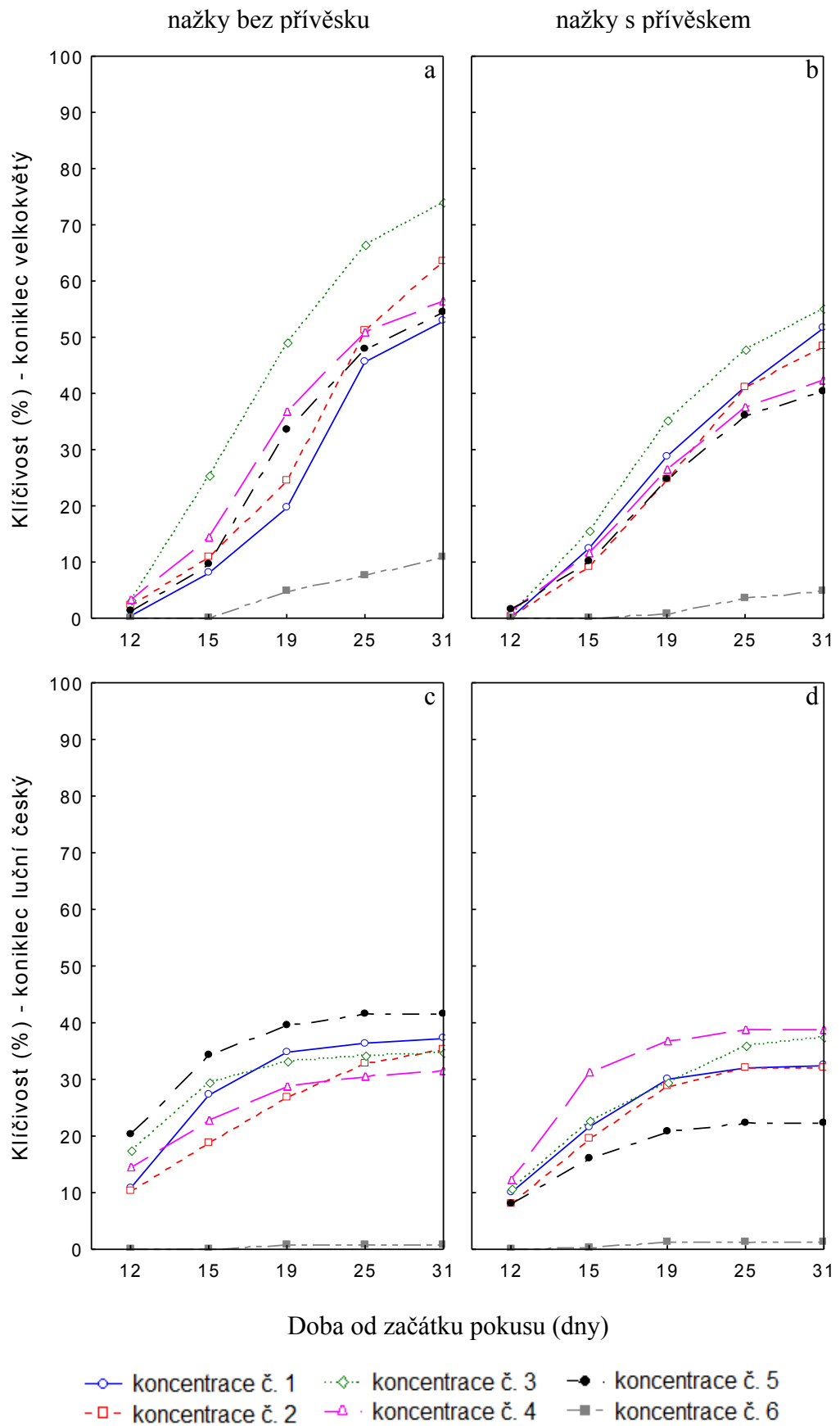
4.1.3.2. Koniklec velkokvětý

Klíčivost

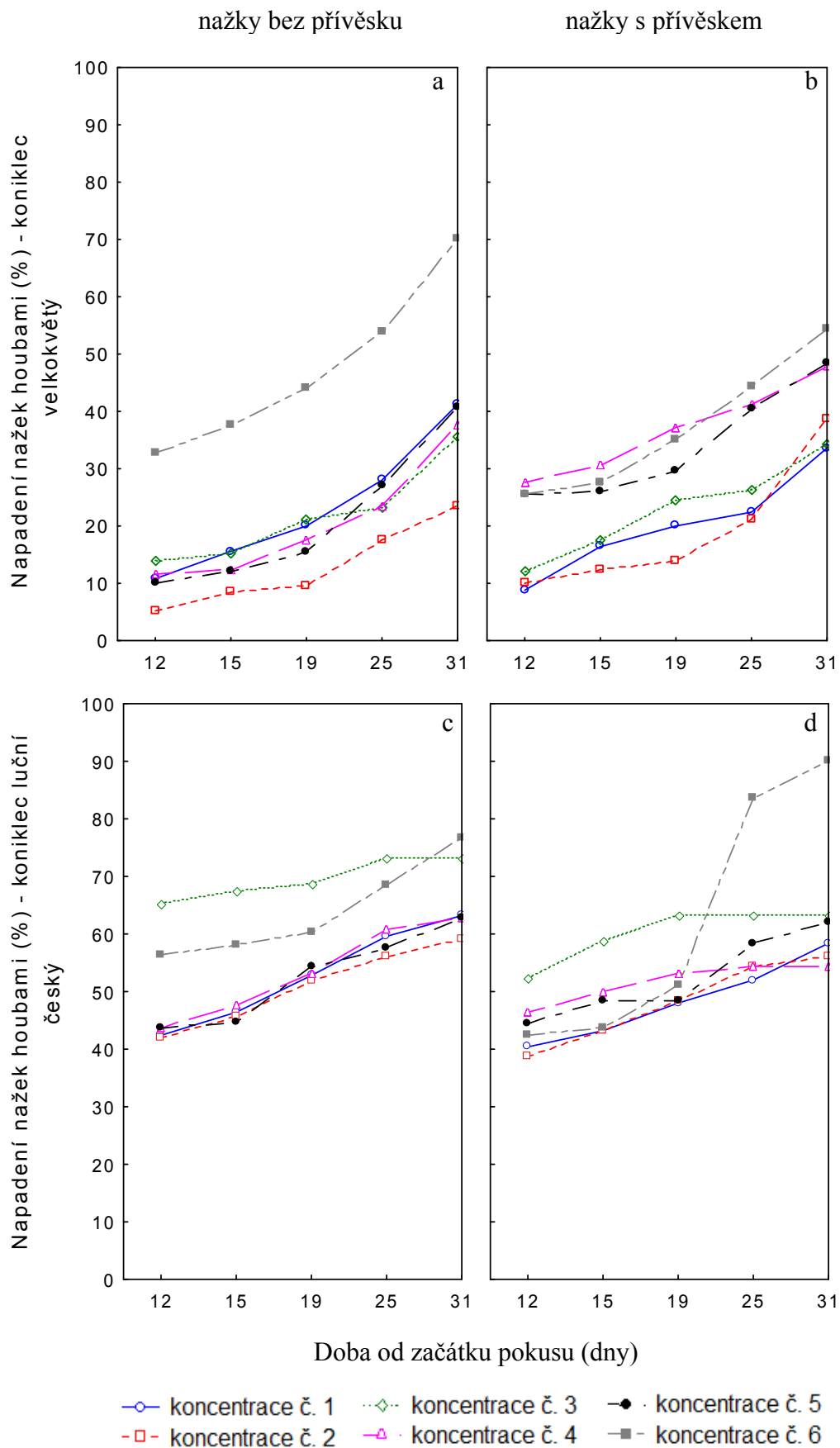
V průběhu klíčení postupně docházelo k větší klíčovosti nažek bez přívěsku (kromě nažek s koncentrací č. 1) oproti nažkám s přívěskem. Od odečítání 15. dne měly všechny koncentrace kromě 6. podobné přírůstky klíčovosti (nažky s koncentracemi ledku č. 1, 2, 4 a 5, které klíčily podobně, i do té doby) (Obr. 5 a, b). Největší klíčovosti u nažek obou typů úpravy v průběhu celého klíčení pokusu (kromě prvního odečtu) dosahovaly nažky s koncentrací ledku č. 3. V průběhu klíčení pokusu dosahovaly nažky obou typů úpravy relativně podobných rozdílů v klíčovosti mezi jednotlivými koncentracemi ledku.

Napadení nažek houbami

V průběhu klíčení postupně docházelo k zmenšování rozdílů mezi napadením nažek obou typů úpravy houbami (více byly napadány nažky s přívěskem). Nažky obou typů úpravy dosahovaly odlišného relativního napadení houbami mezi jednotlivými koncentracemi ledku. Nažky bez přívěsku s koncentracemi ledku č. 1, 3, 4 a 5 byly po celou dobu klíčícího pokusu podobně napadené houbami. Nejvíce, s velkým rozdílem, byly houbami napadány nažky s koncentrací ledku č. 6. Naproti tomu nažky s přívěskem měly podobné napadení houbami ve variantách s koncentracemi ledku č. 1, 2 a 3 v jedné skupině a s koncentracemi 4, 5 a 6 v druhé skupině. Nažky s oběma typy úpravy dosahovaly nejmenšího napadení houbami po největší část klíčícího pokusu s koncentrací ledku č. 2.



Obr. 6. Průběh klíčení nažek obou zkoumaných druhů konikleců, bez a s přívěskem a s různými koncentracemi ledu. Datové body představují průměr z pěti opakování.



Obr. 7. Průběh napadení nažek obou zkoumaných druhů konikleců houbami, bez a s přívěskem a s různými koncentracemi ledku. Datové body představují průměr z pěti opakování.

4.1.4. Vliv délky suchého skladování nažek koniklece velkokvětého na jejich klíčivost a napadení houbami

Při klíčení koniklece velkokvětého 9,5 měsíce (2. klíčící pokus) od sběru nažek byl zjištěn stejný vliv koncentrace ledku, úpravy a jejich interakce na klíčivost a napadení nažek houbami jako u 1. klíčícího pokusu provedeného 5,5 měsíce od sběru nažek (Tabulka 3). Rozdíl byl pouze u vlivu interakce obou faktorů na napadení nažek houbami - v 2. klíčícím pokuse totiž na hladině významnosti $P < 0,05$ nebyl prokázán její vliv na napadení nažek houbami. Tento rozdíl byl ale způsoben pouze použitím malého počtu variant koncentrací ledku v 2. klíčícím pokuse.

Začátek klíčení nastal v obou pokusech zhruba ve stejný den – 11. den od založení pokusů.

V 2. klíčícím pokuse bylo dosaženo zejména vyšších rozdílů mezi klíčivostí nažek obou typů úprav - nažky bez přívěsku klíčily o 74,2 % víc než nažky s přívěskem, oproti 28,5 % u 1. klíčícího pokusu (Obr. 6).

Při srovnání klíčivosti nažek s jednotlivými koncentracemi ledku bylo u střední koncentrace (konc. č. 4,5) překvapivě, u obou typů úprav, dosaženo vyšší klíčivosti než u obou nejbližších koncentrací v 1. klíčícím pokuse (Obr. 7).

U interakce koncentrace ledku a úpravy nažek se oba klíčící pokusy navzájem lišily zejména velkým rozdílem (dvojnásobným a vyšším) mezi klíčivostí nažek obou typů úpravy u nejnižší koncentrace ledku (konc. č. 1) a vysoké koncentrace (konc. č. 5,5) - u 2. klíčícího pokusu klíčily výrazně více nažky bez přívěsku). U nejnižší koncentrace ledku nažky bez přívěsku klíčily lépe než v 1. klíčícím pokuse.

V 2. klíčícím pokuse bylo napadení nažek s přívěskem houbami o něco větší než u nažek bez přívěsku, vzhledem k výsledkům 1. pokusu.

Při srovnání napadení nažek s jednotlivými koncentracemi ledku houbami bylo u vyšších koncentrací (konc. č. 4,5 a 5,5) dosaženo výrazně vyššího napadení nažek houbami než u nejbližších koncentrací použitých v 1. klíčícím pokuse a u koncentrace č. 1. překvapivě nižšího napadení nažek houbami než v 1. klíčícím pokuse (Obr. 7).

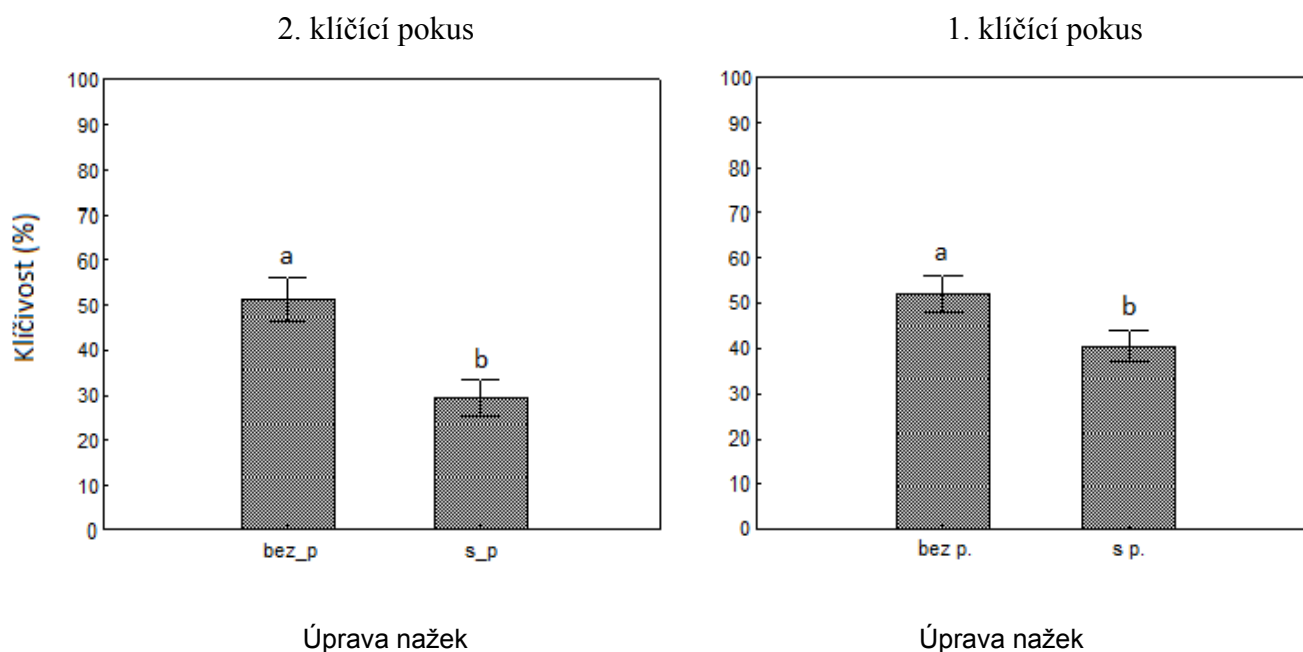
U interakce koncentrace ledku a úpravy nažek se oba klíčící pokusy navzájem lišily zejména opačnou tendencí v napadení nažek s nejnižší koncentrací (konc. č. 1.) houbami. V 2. klíčícím pokuse totiž na rozdíl od prvního byly u této koncentrace víc napadeny nažky s přívěskem.

Průběh klíčení se vzhledem k 1. klíčicímu pokusu lišil zpočátku mírnější klíčivostí (do 3. odečtu – 19. den od začátku pokusu).

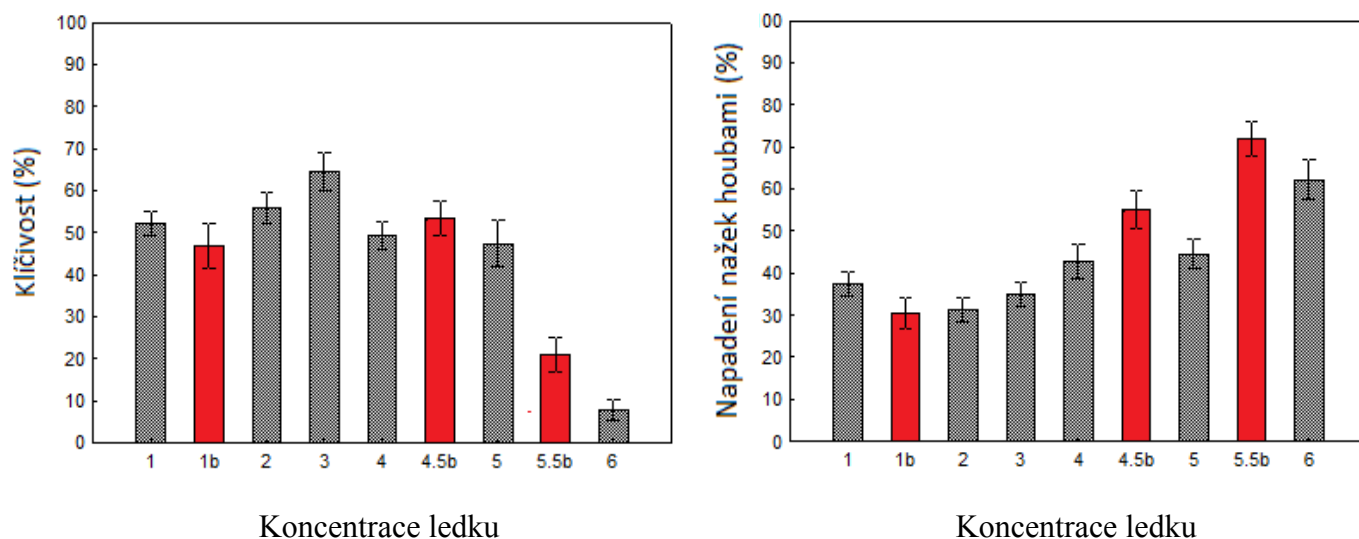
Průběh napadení nažek houbami se lišil zejména výrazně strmějším nárůstem u všech hladin obou faktorů. Nažky s nejnižší koncentrací ledku (konc. č. 1) tak měly téměř exponenciální průběh napadení houbami během pokusu. Dále u koncentrace s vyšším obsahem ledku (konc. č. 4,5) bylo během téměř celého pokusu dosaženo velkých rozdílů v napadení nažek houbami mezi oběma typy úpravy (víc byly napadeny nažky s přívěskem).

Tabulka 10. Výsledky dvoucestné analýzy variance – vliv jednotlivých faktorů na konečnou klíčivost a napadení nažek koniklece lučního českého houbami (Jedná se o 2. klíčicí pokus, založený o 4 měsíce později než 1. klíčicí pokus). Použité faktory pro dvoucestnou analýzu variance byly úprava nažek a koncentrace ledku. Hodnoty tučně zvýrazněné označují signifikantní vliv daného faktoru.

nezávisle proměnná	klíčivost			napadení nažek houbami		
	s. v.	F-poměr	P	s. v.	F-poměr	P
Úprava	1	38,18	<0,001	1	1,34	0,258
koncentrace ledku	2	31,21	<0,001	2	26,21	<0,001
uprava*koncentrace ledku	2	0,57	0,572	2	0,89	0,423



Obr. 8 Vliv úpravy nažek na konečnou klíčivost (31. den od začátku klíčení) koniklece velkokvětého v 2. a pro srovnání v 1. klíčicímu pokuse (dvoucestná ANOVA, použité faktory: úprava nažek a koncentrace ledku). Pozn.: bez p. – nažky bez přívěsku, s p. – nažky s přívěskem.



Obr. 9. Vliv koncentrace ledku na konečnou klíčivost (31. den od založení pokusů) a napadení nažek koniklece velkokvětého houbami v 1. a 2. klíčícím pokuse (dvoucestná ANOVA, použité faktory: úprava nažek a koncentrace ledku). Poznámka: Data z 2. klíčícího pokusu jsou zvýrazněna červeně. Data z obou klíčících pokusů byla analyzována zvlášť.

4.2. Pokus II.: Klíčivost nedokonale vyvinutých a poškozených nažek

Poslední den odečtu (30. den od založení pokusu) nažky obou druhů nevykazovaly žádnou klíčivost. Pouze poté vyklíčila jedna nažka koniklece lučního českého. Konečné napadení nažek koniklece lučního českého plísněmi bylo výrazně vyšší (84 %) než u koniklece velkokvětého (46%).

4.3. Pokus III.: Klíčivost nažek koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*) poškozených neznámým druhem květilky (*Anthomyiidae* sp.)

Poslední den odečtu (30. den od založení pokusu) nažky obou typů úprav nevykazovaly žádnou klíčivost. Konečné napadení nažek s přívěskem plísněmi bylo výrazně vyšší (90 %) než u nažek bez přívěsku (46 %).

4.4. Bejlmorka koniklecová (*Dasineura pulsatillae*) a další druhy hmyzu vyvíjející se v souplodích koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*) ve středních Čechách

Na základě pozorování souplodí konikleců na šesti zkoumaných lokalitách byly zjištěny tři druhy hmyzu potravně vázané na souplodí koniklece (viz. následující kapitoly). Kromě nich se 8. 5. v květech koniklece v PP Na horách poměrně často vyskytovaly jedinci drobného druhu blanokřídlého hmyzu (*Hymenoptera*). Během terénních průzkumů

byl zaznamenán také častější výskyt různých druhů ploštic (*Heteroptera*) v souplodích konikleců.

4.4.1. Bejlmorka koniklecová (*Dasineura pulsatillae*) (Diptera: Cecidomyiidae)

Larvy druhu *Dasineura pulsatillae* (Kieffer, 1894) byly zjištěny na dvou ze šesti lokalit prozkoumaných v roce 2010: PP Na horách a PP Pitkovická stráň.

Larvy byly na obou lokalitách nalézány po celou dobu jarních terénních průzkumů. V květnu se v souplodích koniklece vyskytovaly většinou oranžové larvy 2. instaru a v červnu oranžové až bílé larvy 3. instaru (8. 5. byly v PP Na horách možná pozorovány i larvy 1. instaru: jednalo se o velmi drobné, kolem 0,5 mm dlouhé, slabě oranžové larvy). Vzrostlé larvy byly 1,5–2 mm dlouhé, 0,6–0,75 mm široké a trochu lesklé. V souplodích se moc nepohybují, ale mimo ně (např. na ruce) jsou poměrně dobře pohyblivé. Byly nalézány na květním lůžku a mezi nažkami zejména zrajících souplodí koniklece. Dále se spíš výjimečně vyskytovaly i v odkvetlých květech (zejména mladé larvy) a v zralých souplodích (je možné, že zde přežívaly sáním uvnitř nažek poškozených larvami květilek).

Pravděpodobně kvůli jarní pastvě a příznivým vlhkostním podmínkám v roce 2010 vykvetla výjimečně asi jedna třetina všech konikleců v PP Pitkovická stráň na podzim podruhé. Proto byl výskyt larev bejlmorky koniklecové na této lokalitě zjišťován i na podzim, konkrétně dne 17. 9. 2010. Na zrajících souplodích však v tomto termínu nebyly nalezeny žádné larvy.

Počet larev v souplodích a počet souplodí s jejich výskytem se lišil podle data terénního průzkumu: 8. 5. a 23. 5. se ve většině napadených zrajících souplodí v PP Na horách vyskytovalo alespoň 7 larev této bejlmorky (v jednom zrajícím souplodí odebraném 23. 5. z PP Na horách bylo zjištěno dokonce 39 larev), zatímco 13. 6. se v zrajících souplodích na lokalitě vyskytovaly už pouze 1–2 larvy. (V tento den byl výjimečně nalezen větší počet larev v jednom zralém souplodí). Míra napadení zrajících souplodí koniklece larvami bejlmorky v PP Na horách a PP Pitkovická stráň v roce 2010 je uvedena v tabulce 2.

Tab. 11. Míra napadení zrajících souplodí koniklece larvami bejlomorky koniklecové (*Dasineura pulsatillae*) v PP Na horách a PP Pitkovická stráň v roce 2010. Pozn.: PSL – počet souplodí s larvami, CPPS – celkový počet pozorovaných souplodí.

Datum Date	Na horách			Pitkovická stráň		
	PSL	CPPS	%	PSL	CPPS	%
8. 5.	min. 21	25	84	–	–	–
23. 5.	kolem 21	25	84	–	–	–
3. 6.	–	–	–	6	20	30
13. 6.	6	25	24	–	–	–
16. 6.	–	–	–	2	15	13,3

Rozbor souplodí koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*) odebraných 23. 5. 2010 v PP Na horách

Pro rozbor souplodí napadených předdisperzními predátory byly odebrány tři souplodí ve třech fenologických fázích:

Při rozboru zrajícího souplodí s velkým množstvím larev bejlomorky koniklecové (provedeném 24. 5. 2010), (obsahujícího zhruba 115 nažek), byla zjištěna jedna larva květilky abdominální částí trčící z nažky a 39 larev bejlomorky koniklecové (*Dasineura pulsatillae*). Pro zjištění larev květilky v nažkách, byla polovina nažek rozřezána žiletkou. Při tomto rozboru nebyly v nažkách zjištěny žádné larvy květilky (*Anthomyiidae*), ačkoliv některé nažky vypadaly, že měly uvnitř nějaké požerky. S velkou pravděpodobností v některých nažkách larvy květilky byly (možná drobné larvy), ale jejich přítomnost nebyla zjištěna. Otvory ve stěnách nažek vzniklé po jejich opuštění larvami květilky nebyly pozorovány.

Při rozboru souplodí v 2. fen. fázi (na začátku srpna 2010) bylo zjištěno několik nažek poškozených larvami květilky (*Anthomyiidae*). Pravděpodobně to znamená, že larvy květilky žijí již v souplodích ve stadiu odkvetlého květu.

Při rozboru zralého souplodí se 138 semen (na začátku srpna 2010), bylo zjištěno 36 % zdravých nevyvinutých semen, 30 % zdravých vyvinutých semen, 16 % vyvinutých semen napadených larvami květilky a 18 % nevyvinutých semen napadených larvami květilky. Dohromady tedy bylo 34 % semen souplodí napadených larvami květilky. V souplodí bylo také zjištěno zhruba 6 larev bejlomorky koniklecové.

Všechny tři souplodí byly skladovány v mikroténových pytlících, při pokojové teplotě.

Bejlomorka koniklecová (*Dasineura pulsatillae*) je druh z řádu dvoukřídlých (Diptera) z čeledi bejlomorkovitých (Cecidomyiidae), patřící v České republice k velmi vzácným

druhům bejlmorok, náležejícím z hlediska plošného rozšíření bejlmorok do frekvenční skupiny I. - druhy vyskytující se ojediněle (Skuhrová 1982, 1994). Dosud byl druh zaznamenán pouze na lokalitě Baba u Křivoklátku (dnešní přírodní rezervace Na Babě), kde larvy bejlmorky koniklecové nalezl A. Příhoda v červnu roku 1972 (Skuhrová 1975). V rámci Evropy je druh dále znám ze Švédska, Dánska, Francie, Německa, Slovenska, Rumunska a Lotyšska (Skuhrová 1986).

Podle dostupné literatury byl druh nalezen na konikleci lučním a jarním (*Pulsatilla pratensis*, *P. vernalis*) (Kieffer 1894, Buhr 1964-1965), konikleci lučním českém (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*) (Skuhrová 1975), konikleci německém (*Pulsatilla vulgaris*) (Skuhrová 1986) a konikleci slovenském (*Pulsatilla slavica*) (Skuhrová 1989).

Z hlediska ekologie druhu Kieffer (1894) v popise této bejlmorky píše, že larvy působí deformaci plodního lůžka („Fruchtbärte“), Skuhrová (1975) uvádí výskyt oranžových larev této bejlmorky v květním lůžku a v nažkách koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*) a ve zduřelých květních pupenech koniklece slovenského (*Pulsatilla slavica*) (Skuhrová 1989).

4.4.2. Květilka (Diptera: Anthomyiidae)

Larvy dosud neurčeného (a pravděpodobně dosud pro vědu nepopsaného) druhu dvoukřídleho hmyzu, pravděpodobně náležejícího do čeledi květilkovitých (Anthomyiidae) (v textu dále jen květilka) byly nalezeny v souplodích koniklece pouze v přírodní památce Na horách. Tyto larvy se vyvíjejí uvnitř zrajících nažek, v nichž ničí semena. Kromě nich byly v souplodích nalezeny také jejich černé exuvie, často čnicí z otvorů v nažkách a pupária. Larvy květilky byly v souplodích konikleců v PP Na horách pozorovány pouze při opuštění téměř zralých napadených nažek (poprvé 13. 6. 2010). Tyto larvy byly bílé, 2,5 mm dlouhé a 1 mm široké. Byly zhruba 2× větší než vzrostlé larvy bejlmorky koniklecové (*D. pulsatillae*). Nebyl u nich pozorován viditelný pohyb (pouze pomalé pohyby při reakci na dotek). Nažky napadené larvami květilky bylo možno rozeznat až v době jejich zralosti, kdy na nich byly patrné otvory vytvořené larvami.

Poprvé byly larvy květilky zjištěny při rozboru zrajícího souplodí koniklece odebraného 23. 5. 2010. Nejvíce larev květilky bylo na této lokalitě pozorováno 13. 6., kdy bylo v jednotlivých zrajících a zejména téměř zralých souplodích zjištěno i několik larev trčících z nažek. V tento den byla také stanovována míra napadení květilkou na vzorku 25 náhodně vybraných zralých souplodí reprezentujících populaci koniklece v PP Na horách, ze kterých bylo vybráno vždy 10 nažek (viz. tabulka). Nažky napadené květilkou byly

poměrně snadno rozeznatelné přítomností otvoru po larvě v jejich stěnách. Bylo zjištěno, že v souplodích koniklece napadených larvami květilky bylo průměrně 41 % poškozených nažek. Počet poškozených nažek z 10 nažek vybraných z každého z 25 kontrolovaných souplodí byl však velmi variabilní. 68 % všech kontrolovaných souplodí v PP Na horách bylo napadeno larvami květilky a 28 % všech kontrolovaných nažek bylo v roce 2010 poškozeno larvami květilky.

Dne 16. června 2010 byl stejný průzkum proveden i v PP Pitkovická stráň, ale na žádném z 15 kontrolovaných souplodí koniklece nebyly poškozené nažky nalezeny. Na této lokalitě se květilka pravděpodobně nevyskytuje. Na ostatních čtyřech navštívených lokalitách nebyly nažky koniklece poškozené larvami květilky nalezeny. Je však možné, že pouze unikly pozornosti.

Tabulka 12. Míra napadení nažek koniklece lučního českého květilkou 13. 6. 2010 v PP Na horách. Čísla vyjadřují počet napadených nažek z deseti vybraných z každého kontrolovaného zralého souplodí nažek. Celkem bylo kontrolováno 25 souplodí.

Část lokality	okraj lesa						střední část										dolní část pod cestou a kousek nad cestou								
	Počet poškozených nažek	0	0	0	3	0	1	5	8	7	6	0	4	0	3	10	0	1	4	2	1	0	3	4	5

Z rozboru 40 zralých nažek poškozených larvami květilky bylo zjištěno, že nažky mají 1–3 otvory, které se nacházejí na různých částech nažek a jsou různě velké. Pro účely rozboru byla jejich velikost definována jako “malá“, “střední“ a “velká“, přičemž velký otvor měl průměr kolem 0,6 mm a více a malý 0,2–0,3 mm. Většina nažek měla otvory dva, poté jeden a nejméně otvory tři (1 otvor 27,5%, 2 otvory 57,5% a 3 otvory 15% nažek). Nejvíce otvorů na povrchu nažek bylo malých (51%), poté střední velikosti (37%) a nejméně velkých (12%). To vypovídá pravděpodobně o rostoucí mortalitě larev s jejich stářím. Nejvíce otvorů (53%) se nacházelo uprostřed nažky (z tohoto počtu 35% v poloze mírně ke špičce nažky), poté u špičky nažky (35%) a nejméně u přívěsku (12%). Počty otvorů různé velikosti na různých místech nažek a počty otvorů na různých místech nažek s jedním, dvěma, nebo třemi otvory je uveden v tabulkách 1. a 2.

Dále u nažek s dvěma otvory bylo zjištěno, že 61 % z nich mělo otvory v jedné příčné rovině (z nich 79 % přímo proti sobě), 35 % do vzdálenosti půlky nažky a pouze jedna nažka měla otvory na opačných koncích. Přitom 70 % nažek s dvěma otvory mělo na sobě otvory stejné velikosti.

Většina poškozených nažek (77,5 %) neobsahovala žádná semena, nebo pouze malé množství jejich zbytků. V některých nažkách byly nalezeny mrtvé larvy trčící z otvorů v jejich stěnách.

4.4.3. Truběnka travní (*Haplothrips aculeatus*) (Thysanoptera: Phlaeothripidae)

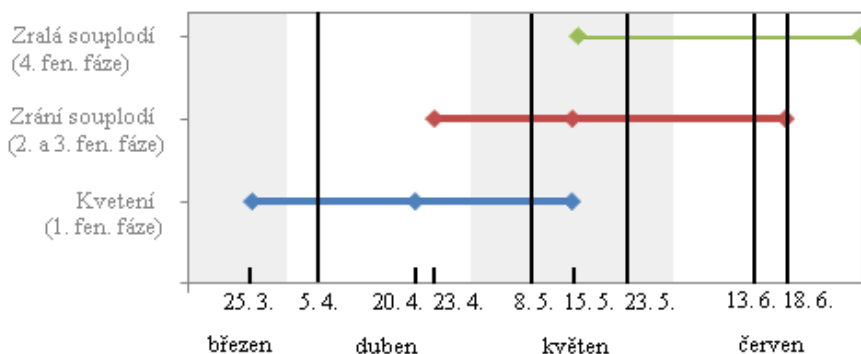
Larvální stadia (nymfy) a dospělci třásněnky truběnky travní byly nalezeny ve zrajících souplodích koniklece v přírodních památkách Na horách a Pitkovická stráň. Na ostatních čtyřech navštívených lokalitách nebyly třásněnky zjištěny.

Truběnky byly na uvedených lokalitách nalezeny jen při jarních terénních průzkumech konikleců. Zjištění jedinci byli bezkřídlí, 1,5 mm dlouzí, s výrazným červeno-hnědo-bílým zbarvením těla. Truběnky se poměrně rychle pohybovaly mezi nažkami v souplodích konikleců. V jednotlivých souplodích se vyskytoval zpravidla jen jeden jedinec, ale bylo pozorováno i několik jedinců v jednom souplodí.

Truběnka travní (*Haplothrips aculeatus*) (Fabricius, 1803) je druh z čeledi Phlaeothripidae z řádu třásnokřídých (Thysanoptera). Jedná se o v České republice běžný ubikvistní druh třásněnky. Vyskytuje se na travách a obilninách, ale i v květech různých rostlin. Na rostlinách se vyskytuje po celý rok a přezimuje pod kůrou stromů, nebo v jiných úkrytech. Jeho celosvětové rozšíření zahrnuje Euroasii, Severní Ameriku, Sumatru a Jávou (Priesner 1926-1928, 1964, Schliephake et Klimt 1979).

4.4.4. Fenologie kvetení a zrání koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*) v PP Na horách

Fenologie koniklece lučního byla podrobněji sledována pouze na lokalitě PP Na horách. Odhad průběhu fenologických fází kvetení a zrání u populace koniklece v PP Na horách v roce 2010 je vyjádřen v následujícím grafu:



Obr. 10. Odhad průběhu fen. fází kvetení a zrání u populace koniklece lučního českého v PP Na horách v roce 2010. Pozn.: velké černé svislé čáry označují data návštěv lokality, při kterých byla odhadem zjišťována fenologie populace konikleců a prováděny ostatní terénní výzkumy. Data 20. 4. a 15. 5. udávají velmi přibližně dny, kdy bylo na lokalitě nejvíc rostlin v té fázi kvetení anebo zralosti.

Délka fenologických fází u jedné rostliny nebyla zjišťována. Dle grafu č. 1. se dá hrubě odhadovat, že fáze kvetení u jednotlivých rostlin trvá kolem 29 dní a fáze odkvětu a zrání souplodí 27 dní.

4.4.5. Klíčivost nažek koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*) z území PP Na horách

Z pět a půl měsíce starých, zdravých vyvinutých nažek ($N = 250$) jich vyklíčilo 32,4 %. Nedokonale vyvinuté nažky ($N = 30$) a nažky poškozené květilkou (čeled' Anthomyiidae) ($N = 20$), jejichž klíčivost byla zjišťována o čtyři měsíce později, nevykazovaly žádnou klíčivost.

5. Diskuze

Tato diplomová práce se zabývá dvěma oblastmi reprodukční ekologie konikleců (*Pulsatilla* Mill). První část práce zkoumá vliv dostupného dusíku na klíčení nažek druhů koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*) a koniklece velkokvětého (*Pulsatilla grandis*). Druhá část práce se věnuje bejlmorce koniklecové (*Dasineura pulsatillae*) a dalším druhům hmyzu vyvíjejícím se v souplodích koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*).

Cílem této části práce je zhodnotit výsledky provedených výzkumů, porovnat dosažené výsledky se zjištěními jiných autorů, předložit domněnky a případně navrhnout další výzkum v dané problematice.

5.1. Pokus I. Vliv dostupného dusíku na klíčení nažek koniklece lučního českého a koniklece velkokvětého

5.1.1. Klíčivost nažek a jejich napadení houbami u studovaných druhů konikleců

Vzhledem k výsledkům Lhotské et Moravcové (1989) s kultivací nažek koniklece slovenského (*Pulsatilla slavica*) a Sayerse et Warda (1966) s kultivací nažek koniklece *Pulsatilla ludoviciana* (optimální klíčivosti obou druhů konikleců bylo dosaženo z konstantních teplot při teplotě kolem 20-25 °C), je pravděpodobné, že nažky obou studovaných konikleců byly kultivovány zhruba při optimální teplotě (22 ± 2 °C).

Vzhledem k teplotním podmínkám na stanovištích obou druhů konikleců v době zrání nažek a vzhledem k teplotě při které byly nažky skladovány, je patrné, že optimální teplotní podmínky pro dovyvinutí embrya jsou podobné těm pro jejich optimální klíčení (podobně jako u koniklece slovenského (*Pulsatilla slavica*) (Lhotská et Moravcová 1989)). Jedná se tak o příležitostnou adaptaci těchto druhů s ohledem na krátkou životnost jejich nažek (Lhotská et Moravcová 1989).

Vzhledem k výsledkům Lhotské et Moravcové (1989) a Wellse et Barlinga (1958) je patrné, že koniklec luční český a koniklec velkokvětý začínají klíčit dříve než koniklec slovenský (*Pulsatilla slavica*) a koniklec německý (*Pulsatilla vulgaris*). Podle výsledků obou zmíněných autorů je pravděpodobné, že koniklece klíčí od založení pokusů tím dříve, čím čerstvější semena jsou použita.

Podle Wellse et Barlinga (1958) a Šedivé (2002) je patrné, že míra konečné klíčivosti nažek konikleců je velmi závislá na konkrétní lokalitě a podle výsledků Wellse et Barlinga (1958) a Lhotské et Moravcové (1989) je pravděpodobné, že by mohla v nejlepších případech při kultivaci nažek v optimálních podmínkách (optimální teplota a kultivace nažek hned po jejich uzrání) dosahovat kolem 90 %.

Srovnáním konečné klíčivosti 5,5 měsíce starých nažek obou konikleců s přívěskem, kultivovaných v destilované vodě (koniklec luční český 32,4 %; koniklec velkokvětý 51,6 %), s konečnou klíčivostí 6,75 měsíce starých nažek koniklece slovenského (*Pulsatilla slavica*) (63,3 %) (Lhotská et Moravcová 1989), které měly za optimálních podmínek konečnou klíčivost 92,6 %, je patrné, že zejména nažky koniklece lučního českého pochází

z lokality se sníženou vitalitou nažek (přírodní památka Na horách). Ta je pravděpodobně z velké míry způsobena hmyzími parazity v souplodích nažek konikleců na této lokalitě (viz. kapitola). Např. u nažek koniklece lučního českého z lokality Klučov bylo dosaženo klíčivosti kolem 70 % (Šedivá 2002, kultivace v in vitro podmínkách).

Koniklec luční český a k. velkokvětý mají stejně jako ostatní druhy konikleců (např. koniklec slovenský (Lhotská et Moravcová 1989) a koniklec *Pulsatilla ludoviciana* (Sayers et Ward 1966) pomalý průběh klíčení nažek. Podle Sayerse et Warda (1966) je to důvod proč se *Pulsatilla ludoviciana* na svých stanovištích vyskytuje pouze v malé hustotě. V alpínské zóně se totiž vlhkostní podmínky vhodné ke klíčení semen můžou často vyskytovat pouze po dobu jednoho týdne, nebo ještě kratší. V rostlinných společenstvech se tak rozšíří spíše druhy s rychlým průběhem klíčení. Na stanovištích s výskytem koniklece lučního českého a k. velkokvětého jsou vlhkostní podmínky podobné. Tento způsob klíčení je ale úspěšný z dlouhodobého hlediska, protože zajišťuje přežití části potomstva i při výskytu nahodilých negativních faktorů.

Mnohem větší napadení nažek koniklece lučního českého plísněmi než u k. velkokvětého je způsobeno o hodně větším množstvím nedokonale vyvinutých nažek, mrtvých nažek poškozených květilkou (*Anthomyiidae* sp.) a úlomků nažek jí způsobených a nažek poškozených sáním bejlmorky koniklecové (*Dasineura pulsatillae*) a třásněnky truběnký travní (*Haplothrips aculeatus*) mezi odebranými a skladovanými nažkami. Právě tyto poškozená nebo mrtvá semena jsou totiž osidlována zejména saprofytickými druhy hub (Procházková 2007).

5.1.2. Vliv jednotlivých faktorů a jejich interakce na konečnou klíčivost a napadení houbami

5.1.2.1. klíčivost

Vliv ledku

Dusík, podobně jako jiné živiny, patří k limitujícím faktorům některých společenstev s výskytem konikleců (Kubíková 2005). A to i přesto, že celkový obsah dusíku na jejich lokalitách má široké rozmezí 0,01-1,342 %, (u koniklece lučního (*Pulsatilla pratensis*) 0,01-1,26 %) a v některých případech tedy skutečně vysoké hodnoty (podle dat Kubíkové (1977), Píla a Kukka (2002) a Wellse a Barlinga (1971)). Atmosférická depozice dusíku má proto negativní vliv na tyto společenstva (Kubíková 2005).

Tímto pokusem bylo zjištěno, že z hlediska přímého působení dusíkatých sloučenin na klíčení rostlin patří koniklec luční český (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*) a koniklec velkokvětý (*Pulsatilla grandis*) mezi ty druhy rostlin, které jsou ovlivněny zejména vysokou koncentrací dusíku a to negativně. K těmto druhům patří například lebeda lesklá (*Atriplex sagittata*), která reaguje mírně negativně na koncentraci dusíku 1,401 g/l, zatímco koncentrace desetkrát nižší nemá na klíčivost všech tří druhů jejich nažek téměř žádný vliv (Mandák et Pyšek 2001). Srovnáním s oběma druhy konikleců je zajímavé, že co se týče koncentrace dusíku v roztoku, jsou na tom oba koniklece podobně (při koncentraci 0,848 g/l dusík neměl vliv na konečnou klíčivost obou druhů, zatímco při koncentraci 4,239 g/l byla klíčivost minimální a pravděpodobně ještě snížena negativním efektem metabolitů hub (viz. kapitola 5.1.2.2. Napadení nažek houbami). Lebeda rozkladitá je totiž druh žijící na rudérálních stanovištích s velice variabilní koncentrací NO_3^- (Osbornová et al. 1990). Oba druhy konikleců mají také vyšší odolnost vůči koncentraci dusíku v roztoku než oves hluchý (*Avena fatua*), jehož obilky při koncentraci 2,802 g/l už vůbec neklíčily (Hilton 1983). Tato data ale nejsou plně srovnatelná kvůli jiným použitým dusíkatým iontům a sloučeninám v obou pokusech (KNO_3 v případě obou srovnávaných druhů rostlin). Výzkumem klíčení semen druhu *Vanilla planifolia* (Lugo Lugo 1955) bylo zjištěno, že nitrátové ionty měly vyšší inhibiční účinek na klíčení semen než ionty amonné. Je proto pravděpodobné, že při použití dusičnanu draselného by oba koniklece dosahovaly při stejných koncentracích dusíku nižší klíčivosti. V každém případě ale oba druhy konikleců vykazují poměrně vysokou odolnost vůči vysoké koncentraci dusíku při klíčení jejich nažek.

Z výsledků je dále patrné, že nízké koncentrace dusíku (34 mg/l (koncentrace č. 3) u koniklece velkokvětého; 14 a 140 mg/l u různých druhů nažek lebedy rozkladité (Mandák et Pyšek 2001) a 3-280 mg u ovsu hluchého (Hilton 1983)) mají pozitivní vliv na klíčení jejich semen.

Vliv úpravy nažek

Klíčivost nažek konikleců s odstraněným přívěskem zjišťovala např. Šedivá (2002) a Wells et Barling (1958).

Chlupatý přívěsek nažky je v době zralosti nažek neživý (uschlý). Odstranění přívěsků z nažek může zlepšit manipulaci z nimi při přípravě klíčících pokusů, popřípadě zvýšit množství použitých nažek k pokusům. Zároveň by mohlo zvýšit také jejich klíčivost zmenšením pevnosti testy a oplodí (Jedná se o příčné přetržení podélných řad buněk

přívěsku, které jsou následně pravděpodobně náchylnější k rozštěpení od sebe embryem) a tím, že by nebyla měněna jejich poloha během kultivace hygroskopicky aktivním přívěskem. Současně by toto narušení povrchu nažek ale také mohlo zvýšit riziko infekce semene patogeny. Dalším negativem je možnost poškození nažek při odstraňování přívěsku.

Vyšší konečná klíčivost nažek bez přívěsků než nažek s přívěskem u obou zkoumaných druhů konikleců (u koniklece velkokvětého dokonce signifikantní rozdíl na hladině významnosti $P < 0,001$) potvrzuje teorii, že nažky bez přívěsků by mohly mít vyšší klíčivost. S tímto zjištěním ale korespondují výsledky Wellse et Barlinga (1958), kteří u koniklece německého (*Pulsatilla vulgaris*) zjistili u nažek bez přívěsku o něco menší konečnou klíčivost (84 % k 92 % u nažek s přívěskem).

Vyšší rozdíl v konečné klíčivosti nažek obou úprav u koniklece velkokvětého je pravděpodobně způsoben pevnějším osemením a (nebo) oplodím (o něco větší a těžší nažky, citelný rozdíl při odstraňování přívěsků nažek obou druhů, „nadýchaný“ chumel nažek u koniklece velkokvětého oproti konikleci lučnímu českému. Tito rozdíly jsou možná zvýšeny slaběji vyvinutými nažkami koniklece lučního českého, které pochází z lokality s výskytem předdisperzních hmyzích parazitů koniklece). Pevnější osemení a (nebo) oplodí totiž mohlo mechanicky zabránit vyklíčení určitého procenta semen. Z tohoto hlediska je nutné hodnotit i údaje Wellse et Barlinga (1958), kteří se zmiňují o tom, že u nažek koniklece německého nepozorovaly hygroskopické pohyby. U obou studovaných konikleců totiž byly jasně prokázány. Různé druhy konikleců tak pravděpodobně mají různé fyzikální vlastnosti nažek, které se mohou odrážet i v různém způsobu jejich rozšiřování.

Vliv interakce

Příčina rozdílu ve vlivu interakce ledku a úpravy nažek na klíčivost obou studovaných druhů konikleců není známa. Vysoce variabilní klíčivost nažek různých úprav s různými koncentracemi ledku u koniklece lučního českého je možná způsobena přítomností hmyzími parazity, anebo jinak abortovaných nažek.

5.1.2.2. Napadení nažek houbami

Vliv napadení houbami na klíčivost nažek konikleců

Při kultivaci nažek obou druhů konikleců se na jejich povrchu a u variant s nejvyššími koncentracemi ledku (konc. č. 5 a 6) i na filtračním papíře objevilo několik druhů hub. Přítomnost jiných mikroorganismů také nebyla vyloučena.

Podle vizuálního pozorování - klíčení velkého počtu nažek hustě pokrytých houbami a puknutí semenných obalů (fáze těsně předcházející emergenci radikuly) u řady nažek s nejvyšší koncentrací ledku (konc. č. 6), se zdá, že houby samotné neměly velký vliv na klíčení nažek konikleců (pravděpodobně se jednalo pouze o saprofytické houby), ale že pravděpodobně mohly mít nepřímý vliv, zejména u nejvyšší koncentrace ledku (houby rostly i na filtračním papíru a v miskách bylo „neživotaschopné“ prostředí), jejich metabolity. Z naměřených dat také není zřejmá korelace mezi klíčovostí nažek a jejich napadením houbami.

Pro potvrzení anebo vyvrácení těchto domněnek by bylo vhodné tento pokus zopakovat se nažkami ošetřenými fungicidem (separování vlivu hub na klíčení nažek).

Vliv ledku

Vliv dusíku na houby byl dosud pouze málo studován. Jedná se například o práce Báátha et al. (1978) a Sarathchandry et al. (2000).

Signifikantně vyšší napadení nažek obou druhů konikleců houbami u nejvyšší koncentrace ledku (konc. č. 6) bylo pravděpodobně způsobeno vlivem vysoké koncentrace ledku a následně také pravděpodobně vlivem metabolitů hub, většího množství mrtvých nebo oslabených nažek, které sloužily houbám jako zdroj živin.

Vliv úpravy nažek

Odstranění přívěsků nažek by na jedné straně mohlo mít vliv na pomalejší rozšiřování hub v Petriho miskách a na straně druhé na snazší průnik houby skrze oplodí a testu k semenu.

Vyhodnocením klíčeního pokusu bylo zjištěno, že úprava nažek nemá vliv na napadení nažek obou druhů konikleců houbami. Tento výsledek koresponduje se zjištěními Riesena et al. (1986), kteří zjistili, že pluchaté obilky pšenice špaldy (*Triticum spelta*) a ozimé pšenice (*Triticum aestivum*) klíčily za přítomnosti hub lépe než obilky nahé. Na rozdíl od tohoto pokusu byla ale u nažek konikleců odstraněna pouze část oplodí.

Vliv interakce

Příčiny rozdílů ve vlivu interakce obou studovaných faktorů na napadení nažek obou druhů konikleců plísněmi nejsou známy. Hodnoty pravděpodobnosti vlivu interakce na napadení nažek obou druhů konikleců houbami jsou ale blízké hladině významnosti $P = 0,05$.

5.1.3. Vliv délky suchého skladování nažek koniklece velkokvětého na jejich klíčivost a napadení houbami

Ze studie Wellse et Barlinga (1958) je patrné, že snižování životnosti semen v závislosti na čase může být velmi rozdílné mezi rostlinami z různých lokalit. Údaje o snižování životnosti semen některých druhů konikleců jsou uvedeny v tabulce č 1.

Tabulka 13. Konečná klíčivost některých druhů konikleců po různé délce skladování při pokojové teplotě. Pozn.: * klíčivost nažek s přívěskem kultivovaných v destilované vodě (konc. č. 1), ** klíčivost nažek z různých lokalit.

Druh	Délka skladování (měsíce)	Konečná klíčivost (%)	Délka skladování (měsíce)	Konečná klíčivost (%)	Literární údaje
Koniklec* velkokvětý	5,5	51,6	9,5	33,2	
Koniklec slovenský	6,75	63,3	9,75	62,6	Lhotská et Moravcová 1989
Koniklec německý	0	92	8 9,5 9,5	15** 65** 25**	Wells et Barling 1958

Větší rozdíly v konečné klíčivosti nažek mezi oběma typy úprav vzhledem k 1. klíčicímu pokusu byly pravděpodobně způsobeny snížením vitality nažek, což zřejmě vedlo k většímu efektu úpravy nažek. U některých nažek s přívěskem tak pravděpodobně embrya neměly dost síly k prorůstání endospermem, osemením, nebo oplodím a odumřely.

U 2. (pozdějšího) klíčicího pokusu bylo dosaženo výrazně vyššího napadení nažek (kromě nejnižší koncentrace ledku) houbami, než u variant s jim nejbližšími koncentracemi ledku v 1. klíčicím pokusu. Průběh napadení nažek houbami během času měl zase strmější průběh. Tito výsledky souhlasí s obecnými znalostmi o vlivu skladování semen na jejich kvalitu a napadení houbami (viz. Procházková (2007): větší výskyt hub na semenech méně vitálních, například vlivem přirozeného stárnutí při dlouhodobém uskladnění; infekce z neodstraněných nečistot, mrtvých semen anebo ze semen se sníženou vitalitou).

Příčiny menšího napadení nažek plísněmi u varianty s destilovanou vodou a vyšší konečné klíčivosti u nažek bez přívěsků u této varianty a nažek obou typů úprav s koncentrací ledku č. 4,5, než v 1. klíčicím pokusu, nejsou známy.

5.2. Pokus II.: Klíčivost nedokonale vyvinutých a poškozených nažek

Nulová konečná klíčivost nedokonale vyvinutých a poškozených nažek je pravděpodobně způsobena skladováním sníženou životností nažek, nedostatkem

endospermu pro vývin embrya anebo také nepřítomností embrya (viz. Wells et Barling (1958)).

Vzhledem k tomu, že nažky obou druhů nebyly živé, nebylo u koniklece velkokvětého dosaženo jejich velmi vysokého napadení houbami.

5.3. Pokus III.: Klíčivost nažek koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*) poškozených neznámým druhem květilky (*Anthomyiidae* sp.)

Nulová konečná klíčivost nažek napadených květilkou (*Anthomyiidae* sp.) jenom potvrzuje výsledky rozboru těchto nažek.

Zajímavý je velký rozdíl v napadení nažek bez přívěsku a s přívěskem houbami. Nebyly ale provedeny opakování tohoto pokusu.

5.4. Bejlmorka koniklecová (*Dasineura pulsatillae*) a další druhy hmyzu vyvíjející se v souplodích koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*) ve středních Čechách

5.4.1. Výskyt a ekologie sledovaných druhů

Specializace velkého množství druhů hmyzu na určitý rod, druh, nebo i část rostliny je známá skutečnost. Většina druhů z čeledi bejlmorkovitých (Cecidomyiidae) tvoří háčky na rostlinách a je specificky vázaná na určitý druh nebo rod hostitelských rostlin. Larvy, které netvoří háčky a vyvíjí se v souplodích rostlin, jsou známy pouze u několika málo druhů bejlmorek. K těm patří i zkoumaná bejlmorka koniklecová (*Dasineura pulsatillae*) a také nedávno objevený a popsáný druh *Geomyia alpina* (viz Skuhrová et al. 2006). Obě bejlmorky mají dosti podobnou životní strategii. Larvy druhu *G. alpina* se vyvíjejí v souplodích nažek kuklíku plazivého (*Geum reptans*), která jsou velice podobná souplodím konikleců. Oba rody hostitelských rostlin mají podobný tvar souplodí a velmi podobnou morfologii plodů, projevující se přítomností chlupatého přívěsku vzniklého ze čnělky na nažkách. V souplodích larvy obou druhů bejlmorek sají rostlinné šťávy z vyvíjejících se nažek. V říjnu, kdy hostitelské rostliny zrají, larvy bejlmorky *G. alpina* opouštějí rostliny a zalézají do půdy, kde přezimují. Koncem června následujícího roku, kdy kuklák plazivý kvete, se líhnou dospělci a samice kladou vajíčka do jeho květů. Následkem napadení rostlin bejlmorkou *G. alpina* jsou nažky ze souplodí kuklíku plazivého (*G. reptans*) přibližně o 25 % lehčí než zdravé nenapadené nažky a jejich klíčivost je výrazně snížena (Skuhrová et al. 2006).

Výskyt bejlmorky koniklecové (*D. pulsatillae*) je v rámci České republiky v současné době znám ze tří lokalit – z přírodní rezervace Na Babě u Křivokláta (kde však

nebyl v roce 2010 ověřován) a z přírodních památek Na horách a Pitkovická stráň. Jedná se o lokality s velkými populacemi konikleců, které jsou patrně dlouhodobě stabilní a umožňují tak trvalé přežívání tohoto monofága. Tyto lokality se nacházejí v oblastech teplého a suchého mezofytika (takzvané „lokální termofytikum“) nebo přímo na hranici fyto geografických oblastí termofytika a mezofytika. Všechny tři lokality jsou si podobné i svojí geologií – vyskytují se na nich zejména jemnozrnné sedimentární silikátové horniny, konkrétně břidlice proterozoického až kambrického stáří. Uvedená charakteristika lokalit podmiňuje výskyt specifické vegetace, konkrétně asociace *Pulsatilla pratensis-Avenochloetum pratensis*, která se ve všech třech územích nachází. Toto společenstvo, charakteristické pro jižní polovinu středních Čech, se v minulosti vyvinulo na dlouhodobě využívaných pastvinách a vzhledem k útlumu pastvy se postupně stalo vzácným.

Z čeledi květilkovitých (Anthomyiidae) je poměrně dobře prozkoumáno několik druhů rodu *Chiastocheta*, jehož larvy požírají semena upolínu evropského (*Trollius europaeus*) (Bronstein 1992). Tato hostitelská rostlina patří společně s koniklecem lučním do stejné čeledi pryskyřníkovitých (Ranunculaceae). Druhy rodu *Chiastocheta* jsou zároveň jediní opylovači upolínu evropského (*T. europaeus*).

Prof. Rudolf Rozkošný, s nímž byla otázka druhové příslušnosti květilky z čeledi Anthomyiidae zjištěné v nažkách koniklece konzultována, uvádí, že v současné době není z příslušné odborné literatury znám žádný druh z čeledi květilkovitých vyvíjející se v souplodích konikleců. Biologie květilky je obecně dosud velmi málo známá.

Z dostupné literatury se napadení této květilky podobá údaj o larvách neznámého druhu hmyzu ničících obsah nažek koniklece německého (*Pulsatilla vulgaris* subsp. *vulgaris*), bez ovlivnění jejich vzhledu (viz. Jonsson et al. 1991).

Napadení nažek larvami, není do doby, kdy je larvy opustí, znát, ani u květilky v této studii. Je možné, že je to způsobeno tím, že larvy vytvářejí otvory v nažkách pouze na místech, kterými neprobíhají jejich hlavní cévní svazky. Přítomnost dvou cévních svazků podélně probíhajících nažkou je předpokládána Lénártem (1913) a byla pozorována i autorem této práce na některých mikroskopických snímcích nažek poškozených květilkou. Z provedeného rozboru nažek je dále pravděpodobné, že larvy květilky během svého vývoje napadají víc nažek koniklece.

Larvy květilky zjištěné v koniklecích mají podobný vývoj jako larvy bejlmorky koniklecové. Jedná se pravděpodobně o druhy, které mají pouze jednu generaci v roce (monovoltinní druhy) a jsou tak přizpůsobené k životnímu cyklu hostitelské rostliny.

Koniklec luční obvykle poskytuje mladé plody vhodné k vývoji hmyzích parazitů pouze na jaře. Nepřítomnost larev bejlmorky koniklecové (*D. pulsatillae*) v souplodích koniklece 17. 9. 2010 na lokalitě Pitkovická stráň, kdy v tomto roce koniklec zcela výjimečně kvetl podruhé, tak jenom potvrdila skutečnost, že se jedná o monovoltinní druh vázaný svým vývojem na jarní klimatické podmínky. Larvy obou druhů v době dozrávání plodů koniklece opouštějí souplodí, padají na půdu a zalézají do ní. V zemi přečkávají zimní období a na jaře se v půdě zakuklí. Vylíhlá imága po kopulaci kladou vajíčka do rozvíjejících se květních pupenů. Tímto způsobem probíhá vývoj monovoltinních druhů bejlmorek a pravděpodobně i vývoj květilek.

O výskytu třásnokřídých (Thysanoptera) i dvoukřídých (Diptera) v květech konikleců se zmiňuje například Piękoś-Mirkowa et Kaczmarczyk (1990), i když studie týkající se přímo koniklece lučního (*P. pratensis*) zaznamenala v jeho květech pouze přítomnost zástupců řádu blanokřídých (Hymenoptera), zejména rodu čmelák (*Bombus*) (Torvik et al. 1998).

Řada druhů řádu třásnokřídých (Thysanoptera) žijících v květech rostlin se živí pylem (Kirk 1985). Je proto možné, že i při této studii nalezený zástupce tohoto řádu, zjištěný ve zrajících souplodích koniklece lučního českého (*P. pratensis* subsp. *bohemica*), má podobnou životní strategii.

5.4.2. Míra ovlivnění hostitelských rostlin

Během zrání nažek koniklece nebylo pozorováno jejich zjevné poškození zjištěnými druhy parazitů, ani poškození květního lůžka. Až po uzrání nažek byly na jejich stěnách dobře patrné otvory způsobené larvami květilky, které působí přímé usmrcení semen. Larvy bejlmorky koniklecové (*D. pulsatillae*) a pravděpodobně i třásněnky truběnký travní (*H. aculeatus*) sají rostlinné šťávy ze stěn nažek nebo květního lůžka. Podle pozorování A. Příhody (Skuhravá 1975) poškozovaly larvy bejlmorek květní lůžko a nažky koniklece lučního (*P. pratensis*) tak, že nevznikala semena. Sání larev bejlmorky koniklecové (*D. pulsatillae*) a třásněnky truběnký travní (*H. aculeatus*) může způsobit snížení průměrné hmotnosti a klíčivosti nažek a zvýšit procento nedokonale vyvinutých (abortovaných) nažek, které byly v PP Na horách nápadně často nalézány. Je velmi pravděpodobné, že všechny tři nalezené druhy narušováním rostlinných pletiv koniklece zvyšují náchylnost klíčících semen k napadení houbami nebo jinými mikroorganizmy.

V PP Na horách, kde byl zjištěn silnější výskyt obou druhů dvoukřídlých, tak mohou tyto druhy snižovat možnost generativního rozmnožování koniklece. Vzhledem k tomu, že se však jedná o velmi početnou a silnou populaci koniklece, není na této lokalitě jeho výskyt vlivem zkoumaného hmyzu ohrožen.

5.4.3. Faktory limitující sledované hmyzí parazity

Úzce specializovaná bejlo morka koniklecová (*D. pulsatillae*) a pravděpodobně i další dva studované druhy hmyzu jsou nejvíce ohroženy faktory způsobujícími vymírání populací konikleců. Jedním z nich je zejména nedostatečný management na jejich lokalitách, jehož následkem dochází k postupnému zarůstání lokalit travinobylinnou vegetací a dřevinami, jejichž rychlý růst může být navíc podporován zvýšenou atmosférickou depozicí dusíku.

6. Závěr

Studium ekologie ohrožených druhů patří k základním opatřením směřujícím k jejich dlouhodobému výskytu v krajině. Tato diplomová práce se zabírala dvěma oblastmi reprodukční ekologie konikleců. První část práce zkoumala vliv dostupného dusíku na klíčení nažek druhů koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*) a koniklece velkokvětého (*Pulsatilla grandis*), kdežto druhá část se věnovala bejlorce koniklecové (*Dasineura pulsatillae*) a dalším druhům hmyzu vyvíjejícím se v souplodích koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*).

Výsledkem první části práce bylo zjištění, že atmosférickou depozicí zvýšené množství dusíku v půdě pravděpodobně nemá vliv na klíčení zkoumaných druhů konikleců. Vzhledem k velice rozdílné reakci různých druhů rostlin na dusík ale tento poznatek nemůže být zevšeobecňován na další chráněné druhy rostlin.

Výskyt tří druhů hmyzu vyvíjejících se v souplodích konikleců v PP Na horách a PP Pitkovická stráň zase nemá velký vliv na populace konikleců na těchto lokalitách kvůli jejich velké početnosti, ale také kvůli jejich dlouhověkosti (velikost populace není závislá pouze na počtu vyprodukovaných semen).

Tato práce tak rozšířila znalosti o vlivu dusíku na klíčení semen rostlin a o vlivu hmyzu na jejich generativní reprodukci.

Použitá literatura:

- Andrews M., Scott W. R. et McKenzie B. A. (1991): Nitrate effects on pre-emergence growth and emergence percentage of wheat (*Triticum aestivum* L.) from different sowing depths. – J. Exp. Bot. 42: 1449-1454.
- Astrom S. et Stridh B. (2003): The present status of *Pulsatilla vernalis* in Sweden. – Svensk Botanisk Tidskrift 97: 117-126.
- Baker K. F. (1972): Seed Pathology. - In: Kozłowski T. T. [ed.]: Seed Biology. Volume II.: Germination Control, Metabolism, and Pathology. – Academic press, New York and London, p. 1-102.
- Bang S. C., Kim D. H. et Ahn B. Z. (2005): Germination-Inhibitory Effect of *Pulsatilla koreana* N. Leaves; Protoanemonin as Active Principle – Agric. Chem. Biotechnol. 48: 89-92.
- Baskin C. C. et Baskin J. M. (2001): Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination. – Academic Press, San Diego, 666 p.
- Bááth E., Lohm U., Lundgren B., Rosswall T. et al. (1978): The effect of nitrogen and carbon supply on the development of soil organism populations and pine seedlings: a microcosm experiment. – Oikos 31: 153-163.
- Bewley, J. D. et Black, M. (1982): Physiology and Biochemistry of Seeds. Volume 2: - Springer-Verlag, Berlin.
- Bewley J. D. et Black M. (1983): Physiology and Biochemistry of Seeds. Volume 1: Development, Germination, and Growth. – Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York, 306 p.
- Bewley J. D. et Black M. (1994): Seeds: Physiology of development and germination. Second edition. – Plenum Press, New York, 445 p.
- Bibbey R. O. (1948): Physiological studies on weed seed germination. – Plant Physiol. 23, 467.
- Bjorn W. et Torbjorn L. (1996): Flowering and fruiting phenology in two perennial herbs, *Anemone pulsatilla* and *A. pratensis* (Ranunculaceae). – Acta Universitatis Upsaliensis Symbolae Botanicae Upsalienses 31: 145-158.
- Bobbink R. (1991): Effects of nutrient enrichment in Dutch chalk grasslands. – Journal of Applied Ecology 28: 28-41.
- Bobbink R., Ashmore M., Braun S., Flückiger W. et Van den Wyngaert I. J. J. (2002): Empirical nitrogen critical loads for natural and semi-natural ecosystems: 2002 update. – 128 p.
- Bobbink R., Bik L. et Willems J. H. (1988): Effects of nitrogen fertilization on vegetation structure and dominance of *Brachypodium pinnatum* (L.) Beauv. In chalk grasslands. – Acta Botanica Neerlandica 37: 231-242.
- Bobbink R. et Willems J. H. (1987): Increasing dominance of *Brachypodium pinnatum* (L.) Beauv. In chalk grasslands: A threat to a species-rich ecosystem. – Biological Conservation 40: 301-314.
- Bobbink R., Hornung M. et Roelofs J. G. M. (1996): Empirical nitrogen critical loads for natural and semi-natural ecosystems. – In: Manual on methodologies and criteria for mapping critical levels/loads and geographical areas where They are exceeded,

- UNECE Convention on Long-range Transboundary Air Pollution, Federal Environmental Agency, Berlin.
- Bobbink R., Hornung M., Roelofs J.G.M. (1998): The effects of air-borne nitrogen pollutants on species diversity in natural and semi-natural European vegetation. - *Journal of Ecology*, 86: 717-738.
- Bock J. H. et Peterson S. J. (1975): Reproductive Biology of *Pulsatilla patens* (Ranunculaceae). - *American Midland Naturalist* 94: 476-478.
- Bochenková M. (2011): Vliv dostupnosti dusíku na kritickou fázi přežívání semenáčků vybraných zástupců rodu *Pulsatilla* Mill. a přežívání semenáčků druhu *Pulsatilla pratensis* na lokalitě Baba v Praze. - Diplomová práce. [depon. in Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta životního prostředí, Praha]
- Brickell Ch. et al. (1993): Velká encyklopedie květin a okrasných rostlin. - Příroda a. s., Bratislava, 597 p.
- Briggs D. et Walters S. M. (2001): Proměnlivost a evoluce rostlin. - Univerzita Palackého v Olomouci, 531 p.
- Bronstein J.L. (1992): Seed predators as mutualists: Ecology and evolution of the fig/pollinator interaction. - In: Bernays E. [ed.]: *Insect-Plant Interactions*. Díl 4. - FL: CRC Press, Boca Raton, s. 1-44.
- Buhr H. (1964-1965): Bestimmungstabellen der Gallen (Zoo- und Phytocecidien) an Pflanzen Mittel- und Nordeuropas. 2 díly. - Gustav Fischer, Jena.
- Bungard R. A., Mcneil D. et Morton J. D. (1997): Effects of Chilling, Light and Nitrogen-containing Compounds on Germination, Rate of Germination and Seed Imbibition of *Clematis vitalba* L. - *Annals of Botany* 79: 643-650.
- Butola J. S. et Badola H. K. (2004): Effect of pre-sowing treatment on seed germination and seedling vigour in *Angelica glauca*, a threatened medicinal herb. - *Current Science* 87: 796-799.
- Bylinský V. et Žlebčík J. (2009): Vývoj a současný stav populace koniklece jarního (*Pulsatilla vernalis* var. *vernalis* (L.) Mill.) u Bělé pod Bezdězem. - *Bohemia centralis* - 29: 37-46.
- Cechin I. et Press M. C. (1993): Nitrogen relations of the sorghum-*Striga hermonthica* host-parasite association: growth and photosynthesis. - *Plant, Cell & Environment* 16: 237-247.
- Cohn M. A., Butera D. L. et Hughes J. A. (1983): Seed Dormancy in Red Rice¹. III. Response to nitrite, nitrate, and ammonium ions. - *Plant. Physiol.* 73: 381-384.
- Čeřovský J. (1999): *Pulsatilla vernalis* (L.) Mill. - Koniklec jarní - Poniklec jarný. - In: Čeřovský J., Feráková V., Holub J., Maglocký Š. et Procházka F. (1999): Červená kniha ohrožených a vzácných druhů rostlin a živočichů ČR a SR. Vol. 5. Vyšší rostliny. - Příroda a. s., Bratislava, 456 p.
- Danova K., Bertoli A., Pistelli L., Dimitrov D. et Pistelli L. (2009): In vitro culture of Balkan endemic and rare *Pulsatilla* species for conservational purposes and secondary metabolites production. - *Botanica Serbica* 33: 157-162.
- Darvas B., Skuhrová M. et Andersen A. (2000): Agricultural dipteran pests of the Palaearctic region, s. 565-650. - In: Papp L. et Darvas B. [eds.]: *Contributions to a Manual of Palaearctic Diptera*. Vol. 1. General and Applied Dipterology. Science Herald, Budapest, s. 565-650.

- De Vries W., Reinds G. J., Van der Salm C., Van Dobben H., Erisman J. W., De Zwart D., Bleeker A., Draaijers G. P. J., Gundersen P., Vel E. M. et Haussmann T. (2003): Results on nitrogen impacts in the EC and UNECE ICP Forests programme. – In: Empirical Critical Loads for Nitrogen – Proceedings. SAEFL, Berne, this volume.
- EKL (Eidgenössische Kommission für Lufthygiene) (2005): Stickstoffhaltige Luftschadstoffe in der Schweiz. Status-Bericht der Eidg. Kommission für Lufthygiene (EKL). Bundesamt für Umwelt, Wald und Landschaft [Buwal, ed.], Schriftenreihe Umwelt Nr. 384, Bern. 168 p.
- Essl F. (2005): Bestandesentwicklung, Vegetationsanschluss und Gefährdungssituation der Gewöhnlichen Kuchenschelle (*Pulsatilla vulgaris* MILL.) in Österreich von 1991-2005. Population development, habitat preference and cause of endangerment of the Pasque Flower (*Pulsatilla vulgaris* MILL.) in Austria between 1991 and 2005. – Linzer Biologische Beiträge 37: 1145-1176.
- Evenari M. (1980-1981): The history of germination research and the lesson it contains for today. – Israel J. Bot. 29: 4-21.
- Evenari M. et Neumann G. (1953): The germination of lettuce seeds. IV. The influence of relative humidity of the air on light effect and germination. – Palestine J. Bot., Jerusalem Ser. 6, 96.
- Farkač J., Král D. & Škorpík M. [eds.] (2005): Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Bezobratlí. Red list of threatened species in the Czech Republic. Invertebrates. – Agentura ochrany přírody a krajiny ČR. Praha, 760 s. [Cecidomyiidae, s.255–258].
- Florová K. (2009): Vliv pastvy na populační dynamiku vybraných druhů. – Diplomová práce. [depon. in Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Knihovna katedry botaniky, Praha]
- Foster B. L. et Gross K. L. (1998): Species richness in a successional grassland: effects of nitrogen enrichment and plant litter. – Ecology 79: 2593-2602.
- Galloway J. N. (1995): Acid deposition: perspectives in time and space. – Water, Air and Soil pollution 85: 15-24.
- Gregor F., Rozkošný R. (1977): Kvěilkovité - Anthomyiidae. – In: Doskočil J. [ed.]: Klíč zvířeny ČSSR. Díl 5. – Academia, Praha, s. 285–292.
- Harris K.M. (1994): Gall Midges (Cecidomyiidae): classification and biology. – In: Williams M.A.J. [ed.]: Plant Galls. Systematics Association Special Volume. – Clarendon Press, Oxford, 49: 201–211.
- Hensen I., Oberprieler C. et Wesche K. (2005): Genetic structure, population size, and seed production of *Pulsatilla vulgaris* Mill. (Ranunculaceae) in Central Germany. – Flora 200: 3-14.
- Herrera C. M. et Pellmyr O. [eds.] (2002): Plant-animal Interactions: An Evolutionary Approach. – Blackwell, Oxford.
- Hilhorst H. W. M. et Karssen C. M. (1988): Dual effect of light on the gibberellin and nitrate-stimulated seeds of *Sisymbrium officinale* and *Arabidopsis thaliana*. – Plant Physiology 86: 591-597.
- Hilton J. R. (1983): The influence of light and potassium nitrate on the dormancy and germination of *Avena fatua* L. (wild oat) seed and its ecological significance. – New Phytol. 96: 31-34.

- Hošek J., Schwarz O. et Svoboda T. (2007): Výsledky desetiletého měření atmosférické depozice v Krkonoších. – In: Štursa J. et Knapik R. [eds.]: Geoekologické problémy Krkonoš. Sborn. Mez. Věd. Konf., říjen 2006, Svoboda n. Úpou. Opera Corcontica 44: 179-191.
- Hruška J., Cienciala E. (2002): Dlouhodobá acidifikace a nutriční degradace lesních půd - limitující faktor lesnictví. - MŽP ČR, Praha, 160 p.
- Huang S.-Q., Takahashi Y. et Dafni A. (2002): Why does the flower stalk of *Pulsatilla cernua* (*Ranunculaceae*) bend during anthesis? – American Journal of Botany 89: 1599-1603.
- Hulme P. E. et Benkman C. W. (2002): Granivory. – In: Herrera C. M. et Pellmyr O. [eds.]: Plant-animal Interactions: An Evolutionary Approach. – Blackwell, Oxford.
- Ivanič J., Havelka B. et Knop K. (1984): Výživa a hnojení rastlín. - Příroda, Bratislava, - SZN, Praha, 487 p.
- Ives S. A. (1923): Maturation and germination of seeds of *Ilex paca*. – Bot. Gaz. 76, 60.
- Janczewski E. (1889): On the Fruits of the Genus *Anemone*. – Botanical Journal of Scotland 17: 174-177.
- Jackson G. A. D. et Blundell J. B. (1965): Germination of *Rosa arvensis*. – Nature (London) 205, 518.
- Jiras P., Skuhrová M. et Karlík P. (2010): Bejlmorka koniklecová (*Dasineura pulsatillae*) a další druhy hmyzu vyvíjející se v souplodích koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis* subsp. *bohemica*) v přírodních památkách Na horách a Pitkovická stráž ve středních Čechách. – Bohemia centralis 30: 251-264.
- Jonsson O., Rosquist G. et Widén B. (1991): Operation of dichogamy and herkogamy in five taxa of *Pulsatilla*. – Holarctic Ecology 14: 260-271.
- Juškiewicz-Swaczyna B. (2010): Population structure of *Pulsatilla patens* in relation to the habitat quality. – Tuexenia 30: 457-466.
- Kalamees R., Pussa K., Vanha-Majamaa I. et Zobel K. (2005): The effects of fire and stand age on seedling establishment of *Pulsatilla patens* in a pine-dominated boreal forest. – Canadian Journal of Botany 83: 688-693.
- Kaligarić M., Skornik S., Ivancic A., Rebeusek F., Sternberg M., Kramberger B. et Sencic L. (2006): Germination and survival of endangered *Pulsatilla grandis* (*Ranunculaceae*) after artificial seeding, as affected by various disturbances. – Israel journal of plant science 54: 9-17.
- Kalliovirta M., Rytteri T. et Heikkinen R. K. (2006): Population structure of a threatened plant, *Pulsatilla patens*, in boreal forests: modelling relationships to overgrowth and site closure. – Biodiversity and Conservation 15: 3095-3108.
- Karlík P. (2005): Plán péče pro přírodní památku Na horách na období 2006–2015. – Ms. [depon in: KrÚ Středočeského kraje, AOPK ČR].
- Karlík P. et Řezáč M. (2008): Plán péče pro přírodní památku Baba na období 2010–2022. – Ms. [depon in: MHMP Praha].
- Kennedy R. A., Rumpho M. E. et VanderZee D. (1983): Germination of *Echinochloa crus-galli* (Barnyard Grass) Seeds under Anaerobic Conditions. – Plant. Physiol. 72: 787-794.
- Kieffer J. J. (1894): Neuer Beitrag zur Kenntniss der Zooecidien Lothringens. – Entomologische Nachrichten 20: 295–298.

- Kincaid R. R. (1935): The effects of certain environmental factors on germination of Florida cigar wrapper tobacco seeds. – Fla. Agr. Exp. Sta., Bull. 277, 1.
- Kirk W. D. J. (1985): Pollen-feeding and the host specificity and fecundity of flower thrips (Thysanoptera). – Ecological Entomology 10: 281–289.
- Klavina D., Gailite A., Jakobson G., Nečajeva J. et Gavrilova G. (2004): Tissue culture technology in conservation of threatened plant species of Latvia. – Acta Universitatis Latviensis, Biology 676: 183-188.
- Kolbek J., Hroudová Z. et Hrouda L. (1980). Vegetační poměry vrchu Baba u Křivokláta. – In: Fytogeografická a fytocenologická problematika středních Čech. – Studie ČSAV, 1: 131–171, Praha.
- Koller D. (1972): Environmental Control of Seed Germination. – In: Kozłowski T. T. [ed.]: Seed Biology. Volume II.: Germination Control, Metabolism, and Pathology. – Academic press, New York and London, p. 1-102.
- Komzáková O. (2006): Květilky (Anthomyiidae, Diptera) CHKO Kokořínsko. – Bohemia centralis 27: 481–486.
- Kratochwil A. (1988): Zur Bestäubungsstrategie von *Pulsatilla vulgaris* Mill. – Flora 181: 261-324.
- Kubíková J. (1977): The Vegetation of Prokop Valley Nature Reserve in Prague. – Folia Geobotanica Phytotaxonomica 12: 167-199.
- Kubíková J. (2005): Ekologie vegetace střední Evropy Díl I. – Nakladatelství Karolinum, Praha, 129 p.
- Kubíková J., Adámek M. et Špryňar P. (2007): Hranice mezofytika a termofytika na jihovýchodním okraji Prahy na příkladu dvou izolovaných chráněných území – přírodní památka Pitkovická stráň a přírodní památka V hrobech. – Natura Pragensis 18: 183-198.
- Kubíková J., Ložek V., Špryňar P. et al. (2005): Praha. – In: Mackovčín P. et Sedláček M. [eds.]: Chráněná území ČR, svazek XII. – Agentura ochrany přírody a krajiny ČR a EkoCentrum Brno, Praha, 304 s.
- Květ J. (1994): Funkce fytocenóz a jejich složek v provozu ekosystémů. – In: Moravec J. et al.: Fytocenologie. – Academia, Praha, p. 223-245.
- Laitinen P. (2008): Metsäpalojen vaikutus kangasvuokon (*Pulsatilla vernalis* L. Mill.) menestymiseen. - Master of Science Thesis. [depon. in University of Jyväskylä, Faculty of Mathematics and Science, Jyväskylä]
- Lénárt P. (1913): A *Pulsatilla pratensis* var. *Zichyi* Schur-ról. (Egy table rajzzal és egy térképpel). – Doktori értekezés. [depon. in Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Knihovna katedry botaniky, Praha]
- Lepš J. (2006): Biostatistika. – Jihočeská univerzita, Biologická fakulta, České Budějovice, 160 p.
- Lhotská M. et Moravcová L. (1989): The Ecology of Germination and Reproduction of Less Frequent and Vanishing Species of the Czechoslovak Flora. II. *Pulsatilla slavica* Reuss. – Folia Geobotanica et Phytotaxonomica 24: 211-214.
- Lona F. (1947): L'influenza delle condizioni ambientali, durante l'embriogenesi, sulla caratteristiche del seme e della pianta che ne deriva. - Pubbl. Ist. Bot. Univ. Milano, Lavori Bot. (G. Gola Anniv. Vol.) p. 277-316.

- Ložek V., Kubíková J., Špryňar P. et al. (2005): Střední Čechy. – In: Mackovčín P. et Sedláček M. [eds.]: Chráněná území ČR, svazek XIII. – Agentura ochrany přírody a krajiny ČR a EkoCentrum Brno, Praha, 904 s.
- Lugo Lugo H. (1955): The Effect of Nitrogen on the Germination of *Vanilla planifolia*. – *American Journal of Botany* 42: 679-684.
- Mandák B. et Pyšek P. (2001): The effects of light quality, nitrate concentration and presence of bracteoles on germination of different fruit types in the heterocarpous *Atriplex sagittata*. – *Journal of Ecology* 89: 149-158.
- Maron J. L. et Simms E. L. (1997): Effects of seed predation on seed bank size and seedling recruitment of bush lupine (*Lupinus arboreus*). – *Oecologia* 111: 76-83.
- Mlíkovský J. et Stýblo P. 2006: Nepůvodní druhy fauny a flóry České republiky. – ČSOP, Praha, 496 s. [Cecidomyiidae s. 317–335].
- Moldan B. (1979): Globální cyklus hlavních prvků. – In: Pátý L. [red.], Ekologie a fyzika, Praha, p. 76-99.
- Monaco T. A., Mackown CH. T., Johnson D. A., Jones T. A., Norton J. M., Norton J. B. et Redinbaugh M. G. (2003): Nitrogen effects on seed germination and seedling growth. – *Journal of range management* 56: 646-653.
- Moora M., Öpik M., Sen R. et Zobel M. (2004): Native arbuscular mycorrhizal fungal communities differentially influence the seedling performance of rare and common *Pulsatilla* species. – *Functional Ecology* 18: 554-562.
- Moravec J. [ed.] (1995): Rostlinná společenstva České republiky a jejich ohrožení. Ed. 2. – Severočes. Přír., Litoměřice, suppl. 1995/1: 1–206.
- Muller S. (1997): The post-glacial history of *Pulsatilla vernalis* and *Daphne cneorum* in Bitcherland, inferred from the phytosociological study of their current habitat. – *Global Ecology and Biogeography Letters* 6: 129-137.
- Niitots S. (2007): The effects of forest floor organic matter, charcoal and light availability on the establishment and growth of *Pulsatilla patens* (L.) Mill. and *Pulsatilla pratensis* (L.) Mill. – Master of Science Thesis. [depon. in Tartu University - Institut of Botany and Ecology, Tartu]
- Nowak T. (1997): The new *Pulsatilla patens* (L.) Mill. locality near Boleslaw in eastern part of Garb Tarnogorski. – *Prace Naukowe Uniwersytetu Slaskiego w Katowicach* 0(1620): 161-164.
- Osbornová J., Koviaová M., Lepš J. et Prach K. (1990): Succession in Abandoned Fields. Studies in Central Bohemia, Czechoslovakia. - Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Oulehle F. et Hruška J. (2008): Dusík v lesních ekosystémech – Zrcadlo proměn. – *Vesmír* 87: 866 – 869.
- Pakalniškis S. (2004): The Agromyzidae (Diptera) Feeding Particularities on Some Genera of Ranunculaceae. – *Latvijas Entomologs* 41: 93-99.
- Partsch M. (2009): Germination biology of eight selected dry grassland species. – In: Dry grasslands – species interaction and distribution. Conference in Halle (Saale) 2009.
- Pelikán J. (1957): Řád třásnokřídli – Thysanoptera. – In: Kratochvíl J. [ed.]: Klíč zvířeny ČSR. Díl 2: Třásnokřídli, blanokřídli, řasnokřídli, brouci. – Nakl. ČSAV, Praha, s. 9–34.

- Pelikán J. (1977): Thysanoptera. – In: Dlabola J. [ed.]: Enumeratio Insectorum Bohemoslovakiae Check List Tschechoslowakische Insektenfauna. – Acta Faunistica Entomologica Musei Nationalis Pragae 15 (Suppl. 4): 55–59.
- Pelikán J. (2005): Thysanoptera (trásnokřídlí). – In: Farkač J., Král D. et Škorpík M. [eds.]: Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Bezobratlí. List of threatened species in the Czech Republic. Invertebrates. – Agentura ochrany přírody a krajiny ČR, Praha, s. 138.
- Pfeifer E., Holderegger R., Matthies D. et Rutishauser R. (2002): Populationsbiologische Untersuchungen an einer Flaggschiff-Art der Magerrasen: *Pulsatilla vulgaris* Mill. In der Nordostschweiz. Investigation on the population biology of a flagship species of dry meadows: *Pulsatilla vulgaris* Mill. In north-eastern Switzerland. – Botanica Helvetica 112: 153-171.
- Piao R. Z. et al. (2007): Studies on Allelopathy of Extraction Solution of *Pulsatilla Chinensis* on Plant. – Journal of Anhui Agricultural Sciences 13.
- Piękoś-Mirkowa H. et Kaczmarczyk D. (1990): Sasanka słowacka *Pulsatilla slavica* Reuss – ekologia, zagrożenie i ochrona. *Pulsatilla slavica* Reuss – ecology, threat and conservation. – In: Piękoś-Mirkowa H. [ed.] Ekologia, zagrożenie i ochrona rzadkich gatunków roślin górskich. Ecology, threat and conservation of rare mountain plant species. – Studia Naturae, Ser. A, 33: 133–166.
- Pilt I. et Kukk Ü. (2002): *Pulsatilla patens* and *Pulsatilla pratensis* (Ranunculaceae) in Estonia: distribution and ecology. – Proc. Estonian Acad. Sci. Biol. Ecol. 51: 242-256.
- Píšová L. (2005): Mikropropagace vybraných druhů koniklece (*Pulsatilla* L.). – Diplomová práce. [depon. in Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta lesnická a dřevařská, Praha]
- Podhajská Z. et Čerovský J. (1999): *Pulsatilla patens* (L.) Mill. – Koniklec otevřený – Poniklec otevřený. – In: Čerovský J., Feráková V., Holub J., Maglocký Š. et Procházka F. (1999): Červená kniha ohrožených a vzácných druhů rostlin a živočichů ČR a SR. Vol. 5. Vyšší rostliny. – Příroda a. s., Bratislava, 456 p.
- Priesner H. (1926-1928): Thysanoptera Europas. - Wagner Verlag, Wien, 755 s.
- Priesner H. (1964): Ordnung Thysanoptera. Bestimmungsbücher zur Bodenfauna Europas. - Akademie Verlag, Berlin, 242 s.
- Procházka F. [ed.] (2001): Černý a červený seznam cévnatých rostlin České republiky [stav v roce 2000]. – Příroda 18.
- Procházková Z. (2007): K problematice hub na semenech lesních dřevin. – In: Pešková V., Holuša J. et Liška J. [eds.]: Aktuální problémy ochrany lesa. - Zpravodaj ochrany lesa 14: 8-13.
- Riba M., Rodrigo A., Colas B. et Retana J. (2002): Fire and species range in Mediterranean landscapes: an experimental comparison of seed and seedling performance among *Centaurea* taxa. – J. Biogeogr. 29: 135-146.
- Riesen Th., Winzeler H., Rügger A. et Fried P. M. (1986): The Effect of Glumes on Fungal Infection of Germinating Seed of Spelt (*Triticum spelta* L.) in Comparison to Wheat (*Triticum aestivum* L.). – Journal of Phytopathology 115: 318-324.
- Roelofs J. G. M., Bobbink R., Brouwer E. et De Graaf M. C. C. (1996): Restoration ecology of aquatic and terrestrial vegetation of non-calcareous sandy soils in the Netherlands. – Acta Botanica Neerlandica 45: 517-541.

- Roem W. J., Klees H. et Berendse F. (2002): Effects of nutrient addition and acidification on plant species diversity and seed germination in heathland. – *Journal of Applied Ecology* 39: 937-948.
- Ronikier M. (2002): The use of AFLP markers in conservation genetics – a case study on *Pulsatilla vernalis* in the Polish lowlands. (meeting) – In: Application of molecular markers in studies on plants, September 25-29, 2002, Warsaw, Poland. – k tomu článku: *Cellular & Molecular Biology Letters* 7: 2B, 677-684, 20 ref.
- Röder D. et Kiehl K. (2006): Population structure and population dynamic of *Pulsatilla patens* (L.) Mill. in relation to vegetation characteristics. – *Flora* 201: 499-507.
- Röder D. et Kiehl K. (2008): Vergleich des Zustandes junger und historisch alter Populationen von *Pulsatilla patens* (L.) Mill. in der Munchner Schotterebene. – *Tuexenia* 28: 121-132.
- Ruge U. et Liedtke D. (1951): Zur periodischen Keimbereitschaft einiger Malven-Arten. – *Ber. Deut. Bot. Ges* 64, 141.
- Rysina G. P. (1981): On the biology of *Pulsatilla patens* (L.) Mill. in the environs of Moscow (in Russian). *Bull. Mosc. Nat. Soc.* 86: 129-134.
- Sarathchandra S. U., Ghani A., Yeates G. W., Burch G. et Cox N. R. (2000): Effect of nitrogen and phosphate fertilisers on microbial and nematode diversity in pasture soils. – *Soil Biology and Biochemistry* 33: 953-964.
- Sayers R. L. et Ward R. T. (1966): Germination responses in alpine species. – *Botanical Gazette* 127: 11-16.
- Schliephake G. et Klimt K. (1979): Thysanoptera, Fransenflügler. *Die Tierwelt Deutschlands*, Teil 66. - VEB Fischer Verlag, Jena, 477 s.
- Skalický V. (1988a): *Pulsatilla* Mill. – koniklec. – In: Hejný S. et Slavík B. [eds.]: *Květena České republiky*, díl 1. – Academia, Praha, p. 414-422.
- Skalický V. (1988b): Regionálně fytogeografické členění. – In: Hejný S. et Slavík B. [eds.]: *Květena České republiky*, díl 1. – Academia, Praha, s. 103–121.
- Skuhrová M. (1975): Bejlomorky Křivoklátska. – *Bohemia centralis* 4: 84–95.
- Skuhrová M. (1982): Fytofágní bejlomorky (Cecidomyiidae, Diptera) jako model plánovitého faunistického výzkumu [Phytophage Gallmücken als Modellobjekt für planmäßige faunistische Forschung]. – *Zprávy Československé zoologické společnosti* 17–18: 35–56.
- Skuhrová M. (1986): Family Cecidomyiidae. – In: Soós Á. et Papp L. [eds.]: *Catalogue of Palaearctic Diptera*. Díl 4.: Sciaridae – Anisopodidae. – Akadémiai Kiadó, Budapest, s. 72–297.
- Skuhrová M. (1989): Bejlomorky Slovenska (Cecidomyiidae, Diptera). IV. Bejlomorky středního Slovenska. – *Stredné Slovensko, Prírodné vedy* 8: 257–299.
- Skuhrová M. (1994): The zoogeography of gall midges (Diptera: Cecidomyiidae) of the Czech Republic. II. Review of gall midge species including zoogeographical diagnoses. – *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae* 58: 79–126.
- Skuhrová M. (2009): Cecidomyiidae Macquart, 1838. – In: Jedlička L., Kúdela M. et Stloukalová V. [eds.]: *Checklist of Diptera of the Czech Republic and Slovakia*. Electronic version 2. <http://zoology.fns.uniba.sk/diptera2009>
- Skuhrová M., Martinez M. et Roques A. (2010): Chapter 10. Diptera. – In: Roques A., Kenis M., Lees D., Lopez-Vaamonde C., Rabitsch W., Rasplus J.Y. et Roy B. [eds.]:

- Alien Terrestrial Arthropods of Europe. – *BioRisk* 4 (Special Issue): 553–602.
<http://pensoftonline.net/biorisk/index.php/journal>
- Skuhrová M. et Roques A. (2000): Forest dipteran pests of Palaearctic region. – In: Papp L. et Darvas B. [eds.]: Contributions to a Manual of Palaearctic Diptera. Vol. 1. – General and Applied Dipterology. Science Herald, Budapest, s. 651–692.
- Skuhrová M. et Skuhrový V. (1960): Bejlmorky (Gallmücken). – ČSAZV+SZN, Praha, 270 s.
- Skuhrová M. et Skuhrový V. (1992): Atlas of Galls induced by Gall Midges. – Academia, Praha, 34 s.
- Skuhrová M. et Skuhrový V. (2010): Species richness of gall midges (Diptera, Cecidomyiidae) in Europe (West Palaearctic): biogeography and coevolution with host plants. *Acta Soc. Zool. Bohem.* 73.
- Skuhrová M., Skuhrový V. & Brewer J. W. (1984): Biology of gall midges. – In: Ananthakrishnan T. N. [ed.]: Biology of Gall Insects. – Oxford + IBH Publishing Company, New Delhi, Bombay, Calcutta, s.169–222.
- Skuhrová M., Skuhrový V. et Csóka G. (2007): The invasive spread of the gall midge *Obolodiplosis robiniae* in Europe. – *Cecidology* 22: 84–90.
- Skuhrová M., Stöcklin J. et Wepler T. (2006): *Geomyia* n. gen. *alpina* n. sp. (Diptera: Cecidomyiidae), a new gall midge species associated with flower heads of *Geum reptans* (Rosaceae) in the Swiss Alps. – *Mitteilungen der schweizerischen entomologischen Gesellschaft* 79: 107–115.
- Skuhrový V. (1991): The needle-shortening gall midge *Thecodiplosis brachyntera* (Schwäger.) on the genus *Pinus*. – *Rozpravy Československé Akademie Věd, Řada Matematických a Přírodních Věd*, 10, 104 s.
- Skuhrový V. et Skuhrová M. (1998): Bejlmorky lesních stromů a keřů (Gall midges of forest trees and shrubs). – *Matice lesnická, Písek*, 174 s.
- Skuhrový V., Skuhrová M. et Brewer J. W. (1993): The saddle gall midge *Haplodiplosis marginata* (Cecidomyiidae, Diptera) in the Czech Republic and Slovak Republic from 1971–1989. – *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae* 57: 117–137.
- Statsoft (2010): Statistica for Windows. Version 9. Tulsa.
- Steinbauer G. P. (1937): Dormancy and germination of *Fraxinus* seeds. – *Plant Physiol.* 12, 813.
- Suwa M. et Darvas B. (1998): Family Anthomyiidae. – In: Papp L. et Darvas B. [eds.]: Contributions to a Manual of Palaearctic Diptera (with special reference to flies of economic importance). Volume 3. – Science Herald, Budapest, s. 571–616.
- Šebánek J. (1998): Klíčení semen. – In: Procházka S., Macháčková I., Krekule J., Šebánek J. et al. [eds.]: Fyziologie rostlin. – Academia, Praha, p. 348–357.
- Šedivá J. (2002): Klíčivost některých druhů koniklece (*Pulsatilla* L.) v in vitro podmínkách. – *Acta Průhoniciana* 73: 48–51.
- Torvik S. E., Borgen L. et Berg R. Y. (1998): Aspects of reproduction in *Pulsatilla pratensis* in Norway. – *Nordic Journal of Botany* 18: 385–391.
- Ust'ak S., Váňa V., Honzík R. et Slejška A. (2008asi): Výzkumná zpráva 2008. – dostupné na: <http://monitoring.eto.vurv.cz/monitoring-imisi/vyzkumna-zprava-2008/2->

atmosfericka-depozice-a-vliv-imisi-na-zemedelskou-vyrobu/2-7-emise-imise-a-depozice

- Vaněk et al. (2002): Výživa a hnojení polních a zahradních plodin. 3. vydání. – Zemědělec, Praha, 132 p.
- Villiers T. A. (1972): Seed Dormancy. – In: Kozłowski T. T. [ed.]: Seed Biology. Volume II.: Germination Control, Metabolism, and Pathology. – Academic press, New York and London, p. 1-102.
- Vincent E. M. et Roberts E. H. (1977): The interactions of light, nitrate and alternating temperatures in promoting the germination of dormant seeds of common weed species. – Seed Science and Technology 6: 659-670.
- Vodrážka Z. (2002): Biochemie. 2. opravené vydání. – Academia, Praha, 170, 124 a 182 p.
- Von Abrams G. J. et Hand M. E. (1956): Seed dormancy in *Rosa* as a function of climate. – Amer. J. Bot. 43, 7.
- Wareing P. F. et Foda H. A. (1957): Growth inhibitors and dormancy in *Xanthium* seeds. – Physiol. Plant. 10, 266.
- Wellington P. S. (1956): Studies on the germination of cereals. 2. Factors determining the germination of wheat grains during maturation. – Ann. Bot. (London) [N.S.] 20, 481.
- Wells T. C. E. et Barling D. M. (1971): Biological flora of the British Isles, *Pulsatilla vulgaris* Mill. (*Anemone pulsatilla* L.) – Journal of Ecology 59: 275-292.
- Wennström A. et Ericson L. (1991): Variation in disease incidence in grazed and ungrazed sites for the system *Pulsatilla pratensis* – *Puccinia pulsatillae*. – Oikos 60: 35-39.
- Wennström et Ericson (1997):
- Westwood J. H. et Foy C. L. (1999): Influence of nitrogen on germination and early development of broomrape (*Orobancha* spp.). – Weed sci. 47: 2-7.
- Wildeman A. G. et Steeves T. A. (1982): The morphology and growth cycle of *Anemone patens*. – Canadian Journal of Botany 60: 1126-1137.
- Winkler E., Ganahl D. et Erschbamer B. (1999): Dynamic of size classes and extinction probability of *Pulsatilla oenipontana* populations. – Berichte des Naturwissenschaftlich-Medizinischen vereins in Innsbruck 86: 95-105.
- Xiangwei H., Atsushi T., Mitsuru T. et Shiqing L. (2011): Aboveground biomass response to increasing nitrogen deposition on grassland on the northern Loess Plateau of China. – Acta Agriculturae Scandinavica, Section B – Plant Soil Science 61: 112-121.
- Zahradníková J. (2004): Banka semen ohrožených druhů rostlin Krkonoš. The Seed Bank of the Endangered Plant Species of the Giant Mountains. – In: Kolektiv autorů Správy KRNAP: Ročenka Správy Krkonošského národního parku 2003. – Správa KRNAP, Vrchlabí, p. 39-42.

Internetové zdroje

- Anonymus. „Atmosférická depozice na území České republiky“ – Ročenka 1998. (1999).
old.chmi.cz/uoco/isko/groc/gr98cz/kap_03/kap_03.htm
- Anonymus. „Uses of *Pulsatilla*.“ - EHow health. (Sine dat).
http://www.ehow.com/about_5376764_uses-pulsatilla.html (12. 4. 2011).
- Anonymus. „Usual anemone.“ (*Pulsatilla vulgaris*). - Economics (2006).

- <http://www.economypoint.org/usual-anemone/index.html> (12. 4. 2011).
- Anonymus. „Živočišná fyziologie a autekologie I., na příkladu bezobratlých – hmyzu.“ – (2006). (učební text Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze). <http://web.natur.cuni.cz/zoologie/entomologie/Navody/Ter.%20ekosystemy%20hmyz%202006.rtf> (29. 4. 2011).
- Jahodář L. „*Pulsatilla pratensis* / koniklec luční.“ - *Avicenna Company spol. s r. o. herbální přípravky*. (Sine dat). <http://www.avicenna.cz/item/pulsatilla-pratensis-koniklec-lucni> (12. 4. 2011).
- Richter R. „Dusík v půdě“ In: Ryant P., Richter R., Hlušek J., Fryščáková E. et al. (2003-2007): *Multimediální učební texty z výživy rostlin*. http://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/vyziva_rostlin/html/agrochemie_pudy/a_index_a_grochem.htm (20. 4. 2011).

SEZNAM PŘÍLOH:

Příloha č. 1. - Rozbor nažek koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis subsp. bohemica*) poškozených květilkou (*Anthomyiidae* sp.)

Příloha č. 1.

Rozbor nažek koniklece lučního českého (*Pulsatilla pratensis subsp. bohemica*) poškozených květilkou (*Anthomyiidae* sp.)

nažka	počet otvorů	Poloha otvorů (sloupec) a jejich velikost (hodnota)			Stupeň poškození nažek	poznámky
		u přívěsku	uprostřed	u špičky		
1	2	střední*	malý		úplně	* trčí z něj (asi) larva (vždy neživá)
2	2		velký*		úplně	* jsou proti sobě
3	2	malý*	střední, u př.		úplně	* hodně malý otvor
4	1			malý*	trochu**	* trčí z něj tenká malá (asi) larva, ** nažka poškozena pouze z malé části - u špičky
5	3	střední*		malý*	málo zb.	* má kolem sebe jakoby prsteneček (nejspíš zbytky vzniklé při opouštění nebo napadání nažky)
				střední*		
6	2		střední		úplně	
			malý, u šp.			
7	2		střední*		málo zb.	* proti sobě
			střední*			
8	1		střední, u šp.		úplně	
9	3		malý*		zbytky***	* má kolem sebe jakoby malý prsteneček (nejspíš zbytky vzniklé při opouštění nebo napadání nažky), ** proti sobě, *** není poškozená celá nažka
			malý, u šp.**			
			střední**			
10	2	střední	střední, u šp.		ne vš.*	* menší část nažky (endospermu) není poškozená, jinde zbyly zbytky
11	2		velký*		málo**	* proti sobě, ** zadní část nažky a část vepředu není poškozená, možná i víc než půlka semene je nepoškozená
			velký, u šp.*			
12	2 (asi)	(asi) malý*	střední		úplně	* hodně malý otvor
13	2			malý*	úplně	* hodně malé otvory, proti sobě
				malý*		
14	1		střední, u šp.*		ne vš.**	* trčí z něj (asi) larva, ** část nažky není poškozena, jinde jsou zbytky
15	2 (asi)		malý		ne vš. (asi)*	neúplně vyvinutá nažka - hodně tenké a hodně chlupaté, * (asi) nepoškozené části nažky
			malý, u šp.			
16	3		střední		úplně	
			střední, u šp.	malý		
17	2	malý		malý	úplně	
18	1		střední, u		úplně	

			šp.			
19	1			malý	málo zb.	
20	3 (asi)	(asi) malý*	střední**		úplně	* asi ucpaný otvor, ** proti sobě
			malý**			
21	2		střední*		ne vš.	* proti sobě
			střední*			
22	2		střední, u šp.*	střední*	zbytky	* proti sobě
23	2 (asi)	(asi) malý	malý		ne vš.	
24	1		malý, u šp.		úplně	
25	1			malý	úplně	
26	2		malý*		málo**	* proti sobě, ** zdá se, že nažka je poškozena pouze mezi otvory
			malý*			
27	1			střední	málo zb.	
28	2		malý*	malý	úplně	* má kolem sebe jakoby malý prsteneček (nejspíš zbytky vzniklé při opouštění nebo napadání nažky)
29	1			hodně velký*	úplně (asi)	neúplně vyvinutá nažka, * hodně velký otvor, skoro celá úplně přední část nažky je "ukousnutá"
30	2		velký, u šp.*		úplně	* proti sobě
			velký, u šp.*			
31	2	malý	malý		ne vš.	
32	3		malý	malý	zbytky	
				velký		
33	2 (asi)			malý*	úplně	* Asi dva otvory těsně vedle sebe
				(asi) malý*		
34	2 (asi)		(asi) střední	malý	úplně	
35	1		střední		úplně (asi)*	neúplně vyvinutá nažka - menší, * nažka prakticky nemá vnitřek, zvnějšku je celá poškozená
36	2			střední*	zbytky	* jsou u sebe a proti sobě
				střední*		
37	3			malý*	úplně	* asi proti sobě
				malý*		
				malý		
38	1			velký	málo zb.	
39	2			malý*	úplně	* proti sobě
				střední*		
40	2		malý		málo zb.	
			střední, u šp.			

Pozn.:

Poznámky k datům označené hvězdičkami, např. *, **, se vztahují pouze k datům ve stejném řádku
 Řádky s tučně zvýrazněnými hodnotami náleží neúplně vyvinutým nažkám (malé, nebo příliš úzké, nebo deformované nažky, která pravděpodobně nebyla oplozena, nebo byla poškozena sáním, nebo larvami květilek)

Pojem "(-, u šp." znamená, že se otvor nachází trochu směrem ke špičce nažky

Pojem "(-, u př." znamená, že se otvor nachází trochu směrem k přívěsku nažky

Pojem "(asi)" značí, že není jisté, zda se daný údaj u semene vyskytoval (počet otvorů a typ otvorů - např. byl otvor tak malý, nebo málo znatelný, že není jisté, zda vůbec na semenu byl). Pouze ve sloupci Poznámky slovo "asi" značí, že se jednalo pravděpodobně o larvu (v opačném případě o exuvii).