



ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta životního prostředí

Katedra ekologie a životního prostředí

Klíčnická ekologie křídlatky japonské (*Fallopia japonica*)

Germination ecology of *Fallopia japonica*

**Diplomová práce**

Vedoucí diplomové práce: doc. Mgr. Bohumil Mandák, Ph.D.

Autor: Bc. Štěpán Ressler

Praha, 2012

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci s názvem „Klíční ekologie křídlatky japonské (*Fallopia japonica*)“ vypracoval samostatně a použil pouze podkladů a literárních pramenů uvedených v referencích.

V Praze, 30.4.2012

.....

### **Poděkování**

Rád bych na tomto místě poděkoval především vedoucímu své diplomové práce, doc. Mgr. Bohumilu Mandákovi, Ph.D. za odborné vedení a cenné rady, Pavlovi Trávníčkovi z Laboratoře průtokové cytometrie za velkou pomoc při provádění cytometrických analýz a paním zahradnicím, že pečlivě zavlažovaly rostliny.

## ABSTRAKT

Tato práce se zabývá klíční ekologií semen křídlatky japonské pravé (*Fallopia japonica* var. *japonica*), která patří mezi nejinvazivnější druhy naší flóry. Pohlavní systém křídlatek je gynodioecní, v jejich populacích se vyskytují samičí a hermafroditní jedinci. *F. japonica* var. *japonica* je unikátní tím, že je v celé Evropě geneticky uniformní, její populaci zde tvoří jediný samičí klon. Z tohoto důvodu všechna semena, která *F. japonica* var. *japonica* produkuje, jsou hybridního původu.

Dosud není plně objasněno, jaké hybridní taxony a s jakými frekvencemi v ČR vůbec vznikají a jestli se liší klíčení a životaschopnost různých kříženců. Experimentální část této diplomové práce měla zodpovědět otázku, zda a jak se liší klíčení a vzcházení semen z pěti lokalit ve třech typech substrátu ve venkovních podmínkách. Následně bylo pomocí průtokové cytometrie zjištěno jaké hybridní kombinace vznikají na jednotlivých lokalitách. Reálná frekvence hybridních taxonů na jednotlivých lokalitách byla porovnána s pylovou dostupností různých druhů rodu *Fallopia*.

Celkem byl zaznamenán vznik pěti hybridních taxonů, jejichž zastoupení na jednotlivých lokalitách bylo odlišné. Konkrétně byl prokázán vznik pentaploidní *F. × conollyana* (zkřížením s *F. aubertii*), hexaploidní *F. × bohémica* (zkřížením s tetraploidní *F. sachalinensis*), heptaploidní *F. × bohémica* (splynutím s redukovanými gametami hexaploidní *F. × bohémica*), oktoploidní *F. × bohémica* (zkřížením s oktoploidní *F. sachalinensis*) a dekaploidní *F. × bohémica* (splynutím s neredukovanými gametami hexaploidní *F. × bohémica*). Bylo zjištěno, že klíčení a vzcházení semen se liší mezi různými hybridními taxony a mezi různými substráty. V písku semenáčky klíčily a přežily zdaleka nejlépe, nejhůře vzcházely v jílovité hlíně, kde bylo vlhké půdní prostředí. Největších hodnot dosahovala hmotnost nadzemní biomasy semenáčů v humózní propařené hlíně, nejnižších naopak v písku. Nejlépe klíčila a vzcházela hexaploidní *F. × bohémica* poté oktoploidní *F. × bohémica* a nejhůře klíčili a vzcházeli zpětní kříženci (heptaploidní a dekaploidní *F. × bohémica*). Úspěšnost křížení se samičí *F. japonica* var. *japonica* se lišila mezi taxony rodu *Fallopia*. Evidentně nejhůře docházelo ke zpětnému křížení s hexaploidní *F. × bohémica*. Odlišnost v úspěšnosti křížení s ostatními taxony nebyla jednoznačně prokázána.

Klíčová slova: invazní rostlina, hybridizace, polyploid, *Reynoutria*

## ABSTRACT

This dissertation examines germination ecology of *Fallopia japonica* var. *japonica*, one of the most invasive plant in the Czech Republic. Breeding system of *F. japonica* var. *japonica* has been characterized as gynodioecious. However, there is only one genetically uniform female clone of *F. japonica* var. *japonica* outsider of the native distribution range. It means that all seeds produced by this invasive species possess hybrid origin because of hybridization with other *Fallopia* species.

It is exactly not known, which hybrid taxa and with which frequency are created in the Czech Republic and if there are any differences in germination and vitality among particular hybrids. Experimental part reveals whether there are any differences between germination and vigour of seeds taken from five localities and in three substrata in outside conditions. Which hybrid taxa rise in particular localities was examine by flow cytometry to answer the question which of them should be ecologically successfull. To found out how successfull are different *Fallopia* taxa in crossing with *F. japonica* var. *japonica*, hybrid frequency in every locality was compared with pollen availability of other *Fallopia* taxa.

Overall five hybrid taxa were recognised, which frequency differed among localities. It was pentaploid *F. × conollyana* (cross with *F. aubertii*), hexaploid *F. × bohémica* (cross with tetraploid *F. sachalinensis*), heptaploid *F. × bohémica* (cross with reduced gametes of hexaploid *F. × bohémica*), octoploid *F. × bohémica* (cross with octoploid *F. sachalinensis*) and decaploid *F. × bohémica* (cross with unreduced gametes of hexaploid *F. × bohémica*). It was examined that germination and vigour of *F. japonica* var. *japonica* seeds depend on specific hybrid taxa and substrata. The best germination and survival was observed in the sand, in contrast to the loam were the survival was wery bad for a wet soil conditions. The biggest average size had seedlings in the steam soil, less in the loam and the lowest in the sand. The best value of germination and vigour was reached by hexaploid *F. × bohémica*, less by octoploid *F. × bohémica* and the worst by heptaploid and octoploid *F. × bohémica*. Success of crossing with *F. japonica* var. *japonica* was different between particular *Fallopia* taxa. It was obvious that backcrossing with hexaploid *F. × bohémica* happened only if there was available no other *Fallopia* taxa.

Key words: invasive plant, hybridization, polyploid, *Reynoutria*

## Obsah

1. ÚVOD.....	7
2. CÍLE PRÁCE .....	8
3. LITERÁRNÍ REŠERŠE .....	8
3.1 Vliv nepůvodních a invazních druhů.....	8
3.2 Faktory úspěšné invaze.....	9
3.2.1 Co předchází invazi.....	9
3.2.2 Náhylnost společenstev k invazím .....	10
3.2.3 Fenotypová plasticita .....	11
3.2.4 Vliv hybridizace .....	12
3.2.5 Polyploidie .....	12
3.2.6 Počet introdukcí.....	13
3.2.7 Vliv vegetativního rozmnožování na invazi .....	14
3.3. Historie invaze křídlatek, současné rozšíření jednotlivých taxonů a jejich genetická diverzita .....	15
3.3.1 Invaze <i>F. japonica</i> var. <i>japonica</i> .....	15
3.3.2 Introdukce <i>F. japonica</i> var. <i>compacta</i> .....	16
3.3.3 Invaze <i>F. sachalinensis</i> .....	17
3.3.4 Invaze <i>F. × bohemica</i> .....	18
3.4 Popis morfologie křídlatek.....	20
3.5 Ekologie křídlatek .....	22
3.5.1 Původní výskyt křídlatek.....	22
3.5.2 Vztah nutriční náročnosti a rozsahu typů stanovišť .....	23
3.5.3 Preference stanovišť v sekundárním areálu .....	23
3.5.4 Kompetiční schopnosti křídlatek .....	24
3.6 Vegetativní rozmnožování křídlatek.....	25
3.7 Pohlavní rozmnožování rodu <i>Fallopia</i> .....	26
3.7.1. Květní biologie .....	26
3.7.2 Vznik semen u rodu <i>Fallopia</i> .....	27
3.7.3 Šíření křídlatek pomocí semen .....	29
3.7.4 Semenače v přírodě.....	29
3.7.5 Klíčení a vzházivost semen <i>F. japonica</i> .....	30
3.7.5.1 Klíčovost a vzházení semen různého hybridního původu .....	31
3.7.5.2 Vliv dozrání semen .....	33
3.7.5.3 Posklizňové dozrávání semen .....	34
3.7.5.4 Přezimování v různých podmínkách .....	35
3.7.6 Klíčovost a vzházivost semen ostatních taxonů rodu <i>Fallopia</i> a frekvence vzniklých hybridů .....	36
4. METODIKA.....	37
4.1 Vyhodnocení rozdílu klíčení a vzházení semen.....	39
4.2 Klíčovost .....	40

4.3 Hmotnost semenáčků na různých substrátech .....	40
4.4 Určení původu hybridního potomstva .....	41
4.5 Rozdíl v obsahu jaderné DNA mezi hybridními taxony .....	42
4.6 Uchování exemplářů.....	43
4.7 Sledování výskytu a rozšíření potenciálních donorů pylu.....	43
5. VÝSLEDKY .....	44
5.1 Klíčení a vzcházení semenáčků.....	44
5.2 Klíčivost .....	48
5.3 Hmotnost semenáčků na různých substrátech.....	49
5.4 Vyhodnocení původu hybridních jedinců .....	50
5.5 Klíčení a vzcházení semen z různých lokalit v souvislosti s jejich vznikem.....	51
5.6 Rozdíl v obsahu jaderné DNA mezi hybridními a rodičovskými taxony.....	53
6. DISKUSE.....	55
6.1 Plodnost .....	55
6.2 Vznik hybridních jedinců v porovnání s dostupností pylových zdrojů.....	55
6.3 Vznik hybridních jedinců v souvislosti s jejich výskytem v přírodě, životaschopností a s výskytem, produkcí a klíčivostí pylu rodičovských taxonů.....	58
6.4 Klíčení a vzcházení semen.....	60
6.5 Vliv různých faktorů na klíčení a vzcházení .....	61
6.6 Klíčení ostatních druhů rostlin .....	61
6.7 Relativní obsah jaderné DNA hybridních taxonů.....	62
7. ZÁVĚR.....	63
8. CITOVANÁ LITERATURA.....	65
9. SEZNAM PŘÍLOH.....	70
10. PŘÍLOHY .....	71

## 1. ÚVOD

Česká republika je náchylná k invazím díky své geografické poloze, přírodním podmínkám, historii lidského osídlení a současnému využívání krajiny (Pyšek et Prach 2003), ale nemůže se naštěstí v tomto ohledu srovnávat např. s Jižní Afrikou, Kalifornií či s Austrálií (Pyšek 2001). Zavlečení a následná úspěšná naturalizace nepůvodních druhů na nových místech a stanovištích je dnes kvůli intenzivní mezikontinentální dopravě celosvětově velkým problémem.

Křídlatky (*Fallopia* sekce *Reynoutria*) jsou spolu s *Heracleum mantegazzianum* (bolševník velkolepý) a *Impatiens glandulifera* (netykavka žlaznatá) nejinvazivnější rostliny naší flóry. Křídlatky patří do čeledi rdesnovitých (*Polygonaceae*). Vývoj nomenklatury celého rodu je poměrně složitý. V této diplomové práci jsem se přiklonil k zařazení křídlatek do rodu opletka (*Fallopia*) sekce křídlatka (*Reynoutria*). Toto taxonomické zařazení lépe reflektuje evoluční historii celé skupiny (Bailey et al. 2007). V české literatuře je nejčastěji používáno zařazení do samostatného rodu *Reynoutria*. V ČR jsou invazní tři druhy: *Fallopia japonica* var. *japonica* (křídlatka japonská pravá), *Fallopia sachalinensis* (křídlatka sachalinská) a jejich kříženec *Fallopia* × *bohemica* (křídlatka česká) (Pyšek et al. 2002b). Ještě se u nás vyskytuje taxon křídlatka japonská tuhá (*F. japonica* var. *compacta*), ale ten zplaňuje jen vzácně (Mandák et al. 2004).

Křídlatky se šíří téměř výhradně vegetativně, hlavně pak rozptylováním částí oddenků a stonků při povodních a díky antropogenním disturbancím a aktivitám (Bímová et al. 2003). V sekundárním areálu v Evropě dochází u sekce *Reynoutria* rodu *Fallopia* ke generativnímu rozmnožování všeobecně velmi vzácně a dosud není známo kdy a za jakých podmínek (Bímová et al. 2008 (nepubl)). Odlišná je situace na severovýchodě Severní Ameriky. Tam již k rozmnožování semeny dochází v mnohem větší míře, podobně jako v původním areálu v Asii (Grimsby et al. 2007, Gammon et al. 2010).

Jedná se o rostliny gynodioecní. V jejich populacích se vyskytují hermafroditní a samičí jedinci (Bailey 1989, Tiébré et al. 2007). Někdy jsou však popisovány i jako rostliny subdioecní. V USA se vyskytují samičí, hermafroditní ale i samčí jedinci (Forman et Kesseli 2003).

*F. japonica* var. *japonica* postrádá v Evropě jakoukoli genetickou variabilitu. Jedná se o samičí rostlinu, která se vegetativně rozšířila po jediné introdukci z Japonska do Evropy v roce 1848 (Mandák et al. 2005). Z důvodu absence hermafroditních jedinců, a tedy pylových zrn, v populacích, je pro tento druh křížení s jinými příbuznými taxony jedinou

možností, jak se pohlavně rozmnožovat. Z toho také vyplývá, že všechna semena vzniklá na *F. japonica* var. *japonica* musí být hybridního původu.

Dosud není plně objasněno, v jakých frekvencích jednotlivé hybridní kombinace v ČR vznikají. Dále není známo, jaké taxony se nejnáze kříží s *F. japonica* var. *japonica*. Není také jasné, zda se liší klíčivost a vzcházení semen různých hybridů a jestli jsou nějaké hybridní kombinace životaschopnější než jiné. Dále je nedostatek empirických dat, ze kterých by bylo patrné, jak působí přírodní výběr na jednotlivé polyploidní úrovně jedinců, kteří vznikají v průběhu pohlavního rozmnožování.

## 2. CÍLE PRÁCE

Cílem předkládané práce je popsat klíčící ekologii *F. japonica* var. *japonica*. Konkrétně jsem se snažil zodpovědět následující otázky.

- (1) Liší se klíčení a vzcházení semen *F. japonica* var. *japonica* z různých lokalit a v různých substrátech?
- (2) Jaké hybridní kombinace vznikají na různých lokalitách?
- (3) Existuje rozdíl mezi klíčením a vzcházením jednotlivých hybridních taxonů?
- (4) Je rozdíl v úspěšnosti křížení *F. japonica* var. *japonica* s různými taxony rodu *Fallopia*?

## 3. LITERÁRNÍ REŠERŠE

### 3.1 Vliv nepůvodních a invazních druhů

Nepůvodní druhy (rostlin i živočichů) nemají v 50 % žádný prokazatelný efekt na strukturu původních společenstev, ve 46 % konkurují původním druhům, ve 28 % slouží původní druhy jako kořist nepůvodním, ale ve 31 % případů nepůvodní druhy dokonce podporují strukturu původních společenstev. Jen asi ve 2 % zapříčiní nepůvodní druhy vyhynutí druhu původního. Je zde ale ještě možná existence mnoha vedlejších efektů, například zavlečené druhy mohou zapříčinit snížení abundance jednoho druhu, což může mít za následek navýšení abundance druhů jiných (Bruno et al. 2005).



Invaze je u mnoha rostlinných druhů rychlá, tvoří se pak monokulturní, rozšiřující se porosty, rychle se mění ekosystémy (D'Antonio et Hobbie 2005) a dochází k rapidnímu poklesu druhové diverzity na stanovišti (Bímová et al. 2004).

Při invazi křídlatek dochází ke zvýšení erozní náchylnosti lokalit, jelikož plytké kořeny křídlatek jsou nedostatečnou ochranou proti půdní erozi a jestliže v podrostu chybí jiné druhy rostlin, zpevňující svými kořeny svrchní vrstvu půdy, jsou křídlatky i se svými kořeny strženy a iniciuje se eskalovaná eroze (Birklen 2007).

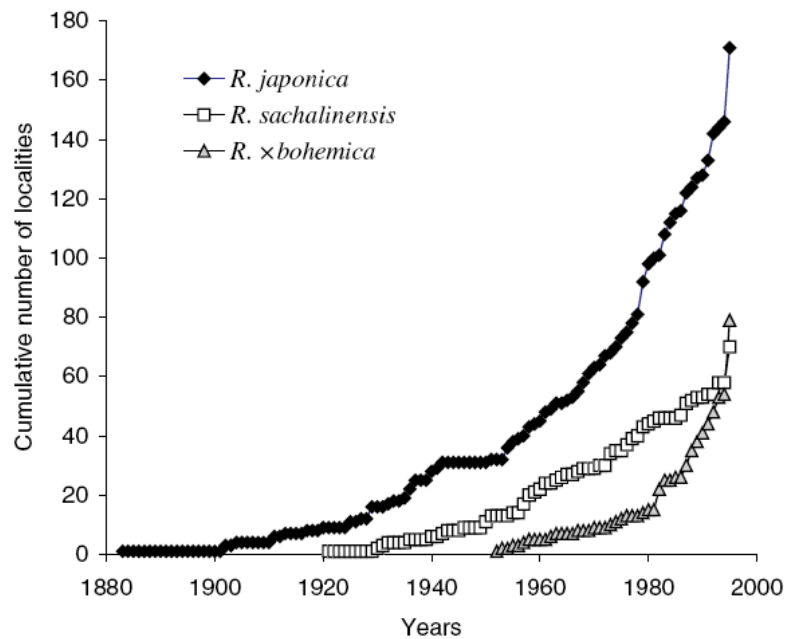
Díky invazi jiných druhů rostlin se zase může například změnit hustota hořlavého materiálu na stanovišti (díky změně v produkci biomasy), a tím se naruší požární dynamika celého ekosystému (D'Antonio et Hobbie 2005).

### **3.2. Faktory úspěšné invaze**

#### **3.2.1 Co předchází invazi**

Velké množství ze zavlečených druhů nepřežije nepříznivé klimatické nebo stanovištní podmínky a jen velmi malá část introdukovaných druhů se následně stane invazními. Některé odhady tvrdí, že pouhá 2–3 % (Pyšek 2001). Ještě předtím, než se invazní druh začne exponenciálně šířit, nachází se v různě dlouhém období klidu nazývané lag fáze. Toto období je velmi důležitým určujícím činitelem pro následnou invazibilitu daného druhu. Rostlina se při něm díky genetickým změnám adaptuje na nové prostředí. Kvůli lag fázi je tedy téměř nemožné předpovědět, bude-li daný druh invazní či nikoli (Bailey et al. 2007). U každého druhu trvá lag fáze různě dlouho. U *Heracleum mantegazzianum* ji Pyšek (2001) odhaduje na 100 let a v jiných případech může trvat ještě mnohem déle.

Na obr. 1 je zachycen exponenciální nárůst počtu lokalit křídlatek v ČR a je zřejmé, že u křížence *F. × bohemica* chybí právě zmíněná lag fáze. Hypotéza, že před rokem 1950 nebyla *F. × bohemica* rozpoznána botaniky a tudíž, že chybí záznamy o jejím výskytu, je pravděpodobnější, než že lag fáze úplně chybí (Mandák et al. 2004).



**Obr. 1:** Kumulativní zvyšování počtu lokalit s výskytem třech druhů rodu *Fallopia* sekce *Reynoutria* od počátku introdukce (Mandák et al. 2004).

### 3.2.2 Náchylnost společenstev k invazím

Teprve jestliže se fyzikální podmínky prostředí nachází v základní (fundamentální) nice daného druhu a je-li v prostředí prostor, ve kterém by se rostliny ujaly, je možné zavedení nového druhu do tohoto prostředí. Následně je zde možnost, že se daný druh stane invazním (Begon et al. 1997).

Invaze jsou tedy ovlivňovány abiotickými faktory například disturbancemi a klimatickými podmínkami, ale i biologickými vlastnostmi invadovaných společenstev, jakými jsou abundance přirozených nepřátel, konkurentů a mutualistů (Bímová et al. 2004) a přísun diaspor invadujícího druhu (Levine 2000). Každé společenstvo je do jisté míry vůči invazím rezistentní. Tato odolnost však může být překonána, pokud je do něj vnášen dostatečný přísun diaspor. Úspěch invaze záleží tedy na interakci vlastností invazního druhu, invadovaného společenstva a přísunu diaspor (Colautti et al. 2006).

Vliv druhové diverzity invadovaných společenstev na dopad invaze závisí na škále, kterou bereme v potaz. Levine (2000) uvádí, že pokud vyhodnotíme data ze stejně velkých ploch v rámci lokálního území, můžeme pozorovat negativní vztah mezi druhovou diverzitou původních a nepůvodních druhů, takže druhově bohatá společenstva jsou méně náchylná k invazím. Tato teorie se opírá o fakt, že ostrovní společenstva jsou náchylnější k invazím,

jelikož mají více prázdných nik, a je-li zde více druhů, pak je prázdných nik méně a invaze je pro nepůvodní druhy obtížnější.

Po vyhodnocení dat z různě velkých ploch doložil Pyšek et al. (2002a) pozitivní vztah mezi invazemi a druhovou bohatostí společenstev. Počet a podíl nepůvodních druhů pak narůstal se zvyšující se druhovou diverzitou. Na malém území se totiž vyskytuje méně původních druhů než na větším území a stejně je to s druhy nepůvodními.

Dále například Bímová et al. (2004), při studii invaze křídlatky na březích řeky Jizery, prokázala její invazi do společenstev nezávisle na jejich druhové bohatosti. Data byla totiž shrnuta z více typů stanovišť, která měla různý režim disturbancí. Pro šíření křídlatek není příliš důležité, jak je společenstvo druhově rozmanité, ale spíše, jestli má tento invazní druh možnost se zde dobře vegetativně šířit (Bímová et al. 2004).

### 3.2.3 Fenotypová plasticita

Rostliny obecně disponují větší fenotypovou proměnlivostí než živočichové. To je dáno tím, že rostliny jsou modulární organismy a nemají tudíž přesně určenou výslednou tělesnou formu (Briggs et Walters 2001). Fenotypová plasticita je definována jako schopnost organismu měnit fyziologii a morfologii v závislosti na změnách prostředí (Schlichting 1986). Například pokud vysadíme ramety *Persicaria amphibia* (rdesno obojživelné) do suchozemského a vodního prostředí, můžeme poté pozorovat vytváření „suchozemského“ nebo „vodního“ fenotypu. Tato schopnost se liší i mezi jedinci jednoho druhu v závislosti na jejich genetické výbavě (Briggs et Walters 2001).

Pro kolonizující druhy existují dva protichůdné modely adaptace na variabilní životní prostředí, a to genetický polymorfismus a fenotypová plasticita. Jestliže druhu chybí genotypová diverzita, je náhradní cestou, jak se přizpůsobit novému prostředí, právě fenotypová plasticita (Mandák et al. 2005). Některá literatura dokonce uvádí, že fenotypová plasticita, a tím určená šířka nik invazních druhů, koreluje více s úspěchem invazních druhů kolonizovat nová prostředí než genotypová diverzita (Levin 2000). Takže jak předpokládá Mandák et al. (2003), pro cytologicky uniformní a geneticky nevariabilní *F. japonica* var. *japonica* je to pravděpodobně nejdůležitější faktor úspěšné introdukce. Navíc existuje hypotéza, že raně sukcesní druhy (mezi nimiž je i *F. japonica* var. *japonica* (Maruta 1994)) vykazují větší plasticitu než druhy jim příbuzné z pozdějších sukcesních stádií (Briggs et Walters 2001).

### 3.2.4 Vliv hybridizace

Nedostatečná genetická variabilita omezuje schopnost populace reagovat na změny podmínek v prostředí (Begon et al. 1997) a rychlá evoluce díky náhodné hybridizaci a polyploidizaci je v podstatě alternativní cesta, která má za následek, stejně jako „klasické“ pohlavní rozmnožování, zvýšení genetické variability v populaci (Mandák et al. 2005). To umožňuje danému druhu následně lépe reagovat na změny podmínek v prostředí.

Ekologická amplituda druhů vzniklých stabilizací hybridních linií je odlišná od rodičovských druhů, protože hybridní druhy kombinují genom dvou ekologicky odlišných jedinců (Rieseberg 1997). Takoví hybridní jedinci kombinují ekologické nároky obou rodičů a vyskytují se tak většinou na příbuzných nových stanovištích. Příklady zaujímání rozdílných ekologických nik byly zaznamenány u rodu *Helianthus* (slunečnice) (Rieseberg 1997), *Rhododendron* (Milne et Abott 2000) a *Fallopia* (Bímová et al. 2004).

Následné šíření nově vzniklých druhů bylo opakovaně dokumentováno v případě některých druhů rodů *Tragopogon* (kozí brada) (Novak et al. 1991), *Spartina* (Marchant 1967), a *Carpobrotus* (kosmatcovník) (Vilá et D'Antonio 1998). Hybridizace je tedy považována za důležitý evoluční aspekt, který může významně ovlivnit nepůvodní druhy a zvýšit jejich invazibilitu (Ellstrand et Schierenbeck 2000).

Proces hybridizace je důležitý na mezidruhové úrovni, ale může působit i na vnitrodruhové úrovni (mezi populacemi, které byly v primárním areálu izolované a v sekundárním areálu mezi nimi díky introdukci dochází k interakcím) (Ellstrand et Schierenbeck 2000). Úspěšné invaze *Lythrum salicaria* (kyprej vrstice) v Severní Americe a *Echium plantagineum* (hadinec jitrocelový) v Austrálii mohou být způsobeny slučováním populací, které mají původ v různých částech Evropy (Mandák et al. 2005).

### 3.2.5 Polyploidie

Zatímco u zvířat je polyploidie (jev, kdy má organismus více než dvě sady chromozomů) vzácná, v rostlinné říši je běžná. Ramsey et Schemske (1998) odhadují, že se vyskytuje u 47–70 % krytosemenných rostlin. Polyploidizace je často spojena s vegetativním způsobem rozmnožování a polyploidní jedinci mají také obvykle větší rozměry než jejich rodičovské druhy a mnohdy je překonávají i ekologickou amplitudou a zeměpisným rozšířením (Briggs et Walters 2001).

Polyploidizace může vést také k tzv. saltační speciaci. Například sterilní *Primula kewensis*, která je křížencem mezi *Primula floribunda* a *Primula verticillata*, je diploidní jako její rodiče. Ovšem nejméně třikrát bylo pozorováno, že u některých částí hybridních rostlin (stvolů) došlo k somatické mutaci, při níž se zdvojnásobil počet chromozomů, přičemž tyto tetraploidní části plodily semena a i potomstvo z těchto tetraploidních semen bylo plodné. Plodná *P. kewensis* se v tomto případě chová jako nový druh (Briggs et Walters 2001). Polyploidizace je také jednou z možností, jak se může obnovit fertilita u neplodných kříženců (Ramsey et Schemske 1998).

Polyploidie také někdy pozitivně koreluje s šířením nepůvodních druhů a jejich ekologickým dopadem (Barrett 1982), jelikož díky rychlé genomové diverzifikaci může být výhodná při kolonizačním procesu, kdy kolonizující populace tvoří malý počet jedinců (Mandák et al. 2005). U malých populací s nedostatečnou genetickou variabilitou roste příbuznost spolu se rozmnožujících jedinců, velký vliv začíná mít genetický posun (některé alely mohou vymizet), klesá podíl heterozygotů, následně stoupá pravděpodobnost škodlivých recesivních mutací, a to má dohromady za následek pokles fitness (zdatnosti) (Begon et al. 1997). Polyploidie umožňuje redukovat tento negativní dopad inbreedingu (Mandák et al. 2003), protože polyploidi mají lokus určité alely přítomný ve více chromozomech než diploidní rodiče a mohou tak účinněji uchovat genetickou variabilitu. Hybridizace má podobný efekt, jelikož mezidruhový hybrid je s velkou pravděpodobností v mnoha lokusech heterozygotní a následná duplikace jeho chromozomů v allopolyploidech zaručuje fixaci této heterozygotnosti (Briggs et Walters 2001). Křídlatky se rozšířily do krajiny právě díky výrazné klonalitě, hybridizaci a polyploidizaci (Mandák et al. 2003).

### 3.2.6 Počet introdukcí

Genofond introdukovaných druhů je determinován, kromě pohlavního rozmnožování, hybridizace a polyploidie, také průběhem introdukce (Mandák et al. 2005). Naturalizované populace druhů, které byly introdukované záměrně vícekrát v průběhu delšího časového období, vykazují vyšší genetickou diverzitu než druhy, které byly introdukované nezáměrně a méně často, jelikož každá nová introdukce zvyšuje pravděpodobnost zavlečení nového genotypu (Mandák et al. 2005). Tento jev se nazývá efekt zakladatele (Briggs et Walters 2001).

Vysokou genetickou variabilitu vykazují okrasné druhy, které byly opakovaně záměrně introdukovány do svého sekundárního areálu. Je to například *Lathyrus latifolius* (hrachor širolistý) (Godt et Hamrick 1991) a *Lonicera japonica* (zimolez japonský) (Schierenbeck et al. 1995).

Na druhé straně při jedné náhodné introdukci mají naturalizované populace malou genetickou variabilitu. To je případ i *F. japonica* var. *japonica* (Mandák et al. 2005). Dalšími příklady jsou *Abutilon theophrasti* (mračňák Theofrastův) (Warwick et Black 1986), *Alternanthera philoxeroides* (Ye et al. 2003) a *Bromus tectorum* (sveřep střešní) (Novak et Mack 1993).

### 3.2.7 Vliv vegetativního rozmnožování na invazi

Klonalita je obvykle chápána jako adaptace na vysoce heterogenní prostředí (Eriksson 1986). Některé vysoce invazní taxony se rozmnožují výhradně vegetativně a tvoří tedy geneticky identické potomstvo (což je případ *F. japonica* var. *japonica*, jedné z nejvíce invazních rostlin v Evropě (Mandák et al. 2003)).

Jak uvádí Pyšek (1997), intenzivní vegetativní rozmnožování může mít podobný efekt na úspěšné rozšíření invadujícího druhu jako vznik nových genetických kombinací při hybridizaci a polyploidizaci. Takže rostliny s klonálním rozmnožováním jsou v invazi stejně úspěšné jako ty, které se rozmnožují jen pohlavně. Obecně však platí, že druhy rozšiřující se pomocí semen se šíří rychleji než druhy rozšiřující se vegetativně. Například v ČR postupovala invaze *Heracleum mantegazzianum* a *Impatiens glandulifera* (druhy šířící se semeny) rychleji než invaze křídlatek. Ale nevýhoda pomalého šíření klonálních rostlin bývá dlouhodobě kompenzována jejich častějším zavlékáním a po naturalizaci je klonální druh schopen lépe udržet prostor a bývá konkurenčně silnější (Pyšek 2001).

Jak dokládá ve své práci Pyšek (1997), klonalita je u nás běžná. Ve střední Evropě se 69,4 % z původních druhů rozmnožuje vegetativně, u nepůvodní flóry je jen 36,2 % klonálních taxonů. Pyšek (1997) dále dokládá, že na polopřírodních stanovištích je 63 % z nepůvodních druhů klonálních, avšak na stanovištích ve velké míře ovlivněných člověkem je nepůvodních klonálních druhů jen 33 %.

### 3.3. Historie invaze křídlatek, současné rozšíření jednotlivých taxonů a jejich genetická diverzita

Zástupci křídlatek pocházejí z východní Asie a do Evropy byly introdukovány jako okrasné květiny v 19. století (Bailey et Conolly 2000). Nyní jsou rozšířeny ve většině evropských zemí. V oblasti Středozemního moře jsou poměrně vzácné, daří se jim zde jen v okolí určitých řek a jejich výskyt v evropské části Ruska je také vzácností. Nikdy nebyly nalezeny v Albánii a v evropské části Turecka (Bailey 2003). Mimo Evropu je značné množství populací na Novém Zélandě, v menším měřítku probíhá invaze také v Austrálii (Bailey et al. 2007 ex A. Conolly in verb). V Severní Americe jsou křídlatky rozšířeny především na západním a východním pobřeží, ale celkově se vyskytují již ve 40 státech USA a v polovině Kanadských provincií (Forman et Kesseli 2003).

#### 3.3.1 Invaze *F. japonica* var. *japonica*

Původní výskyt *F. japonica* var. *japonica* je patrně jen v oblasti Japonska. Mimo Japonsko se nejspíš jedná o *Fallopia forbesii*, která je ovšem někdy považována jen za synonymum (Bailey et al. 2007). Její výskyt zahrnuje oblast Korey, Číny a Taiwanu (Pyšek et Mandák 2001), přičemž její nejjižnější lokality jsou v j. Číně (Mandák et al. 2004).

První křídlatka (jednalo se o *F. forbesii*) byla do Evropy introdukována v r. 1825 z Číny a byla pěstována v zahradnictví Chiswick v Británii, kde však nepřežila. Další introdukce proběhla v r. 1840, kdy Philipp von Siebold dovezl a pěstoval (v Leidenu) klon dlouho citovaný jako *Polygonum sieboldii*, ale ve skutečnosti se jednalo o *F. japonica* var. *japonica*. V roce 1847 byla *F. japonica* var. *japonica* v Utrechtu oceněna společností Agriculture & Horticulture zlatou medailí jako nová nejzajímavější rostlina a Siebold prodával sazeničky (zpočátku za závratné sumy) do celé Evropy. Toto byl tedy výchozí bod pro invazi tohoto taxonu do velké části Evropy (Bailey et Conolly 2000). Poprvé byla v České republice nalezena zplanělá *F. japonica* var. *japonica* v r. 1902 a dnes se zde vyskytuje na 1335 lokalitách (viz obr. 2). U nás je to tedy nejrozšířenější invazní taxon rodu *Fallopia*, stejně jako ve zbytku Evropy (Mandák et al. 2004).

*F. japonica* var. *japonica* má ve svém primární areálu vysokou cytologickou variabilitu, která zahrnuje tetraploidy, hexaploidy, oktoploidy a dekaploidy (Mandák et al. 2003), což je v kontrastu se situací v Evropě, kde nemá žádnou genetickou variabilitu

(Mandák et al. 2004 ex B. Mandák et al. nepubl.). V celé Evropě je přítomna pouze jedna ekologicky extrémně úspěšná oktoploidní ( $2n=8x=88$ ) samičí rostlina, která se rozšířila po jediné introdukci.

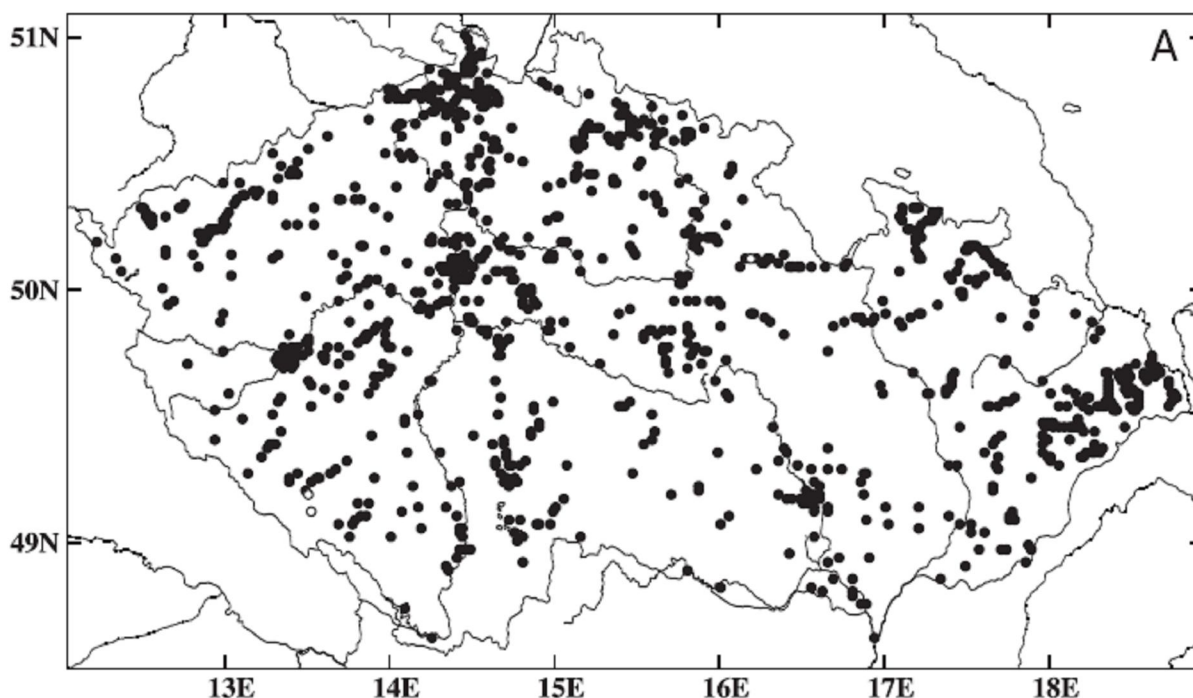
Odlišná je situace na severovýchodě USA (státy Massachusetts, Tennessee a Washington). *F. japonica* var. *japonica* zde totiž má značnou genetickou a cytologickou variabilitu. Nejčastěji se tu vyskytuje v oktoploidní formě (72 %), přičemž se většinou jedná o ten samý genotyp, který je rozšířen v Evropě. Dále zde není vzácností tetraploidní forma (14 %) a byl dokonce zaznamenán i výskyt pentaploidního, hexaploidního i nonaploidního jedince. Jedna z tetraploidních rostlin měla unikátní chloroplastový haplotyp, musela se tedy do Severní Ameriky dostat prostřednictvím samostatné introdukce (Gammon et al. 2007, 2010). Vyšší genetická různorodost *F. japonica* var. *japonica* v Severní Americe je způsobena kromě odlišného průběhu invaze i tím, že je zde ve větší míře přítomná introgrese (Gammon et al. 2010). Na rozdíl od Evropy, byl do Severní Ameriky introdukován také samčí jedinec *F. japonica* (Grimsby et al. 2007).

Kromě *F. japonica* var. *japonica* existují v přírodě ještě var. *hachidoensis* a var. *uzenensis*. Obě tyto variety jsou Japonskými endemity a není žádný záznam o jejich zavlečení mimo primární areál (Mandák et al. 2004). V USA je možné spatřit v zahradách a dokonce i koupit okrasnou varietu s růžovými květy *F. japonica* ‘Crimson Beauty’ a pestrobarevnou varietu *F. japonica* ‘Variegated’ (Forman et Kesseli 2003).

### 3.3.2 Introdukce *F. japonica* var. *compacta*

Zakrslá vysokohorská forma *F. japonica* – *F. japonica* var. *compacta* se vyskytuje původně v Japonsku (na hoře Fuji). V katalogu Von Siebold & Company je uvedena pod neplatným názvem *Polygonum pictum* již v roce 1841 (Bailey et Conolly 2000), ale v ČR je její první záznam až z r. 1948 (Mandák et al. 2004). *F. japonica* var. *compacta* se však nikdy nerozšířila (v ČR se vyskytuje jen na 5 lokalitách, z toho na 3 je zplanělá). Nikdy také nezískala pozornost botaniků a první lokalita byla nalezena až v r. 1995 na Šumavě (Mandák et al. 2004). Tato varieta je nalézána výhradně jako tetraploidní (Mandák et al. 2003) a hermafroditní (Mandák et al. 2004 ex Mandák et al. nepubl.).





**Obr. 2:** Mapa rozšíření druhu *F. japonica* v ČR. Plné kroužky - *F. japonica* var. *japonica*, prázdné kroužky - *F. japonica* var. *compacta* (Mandák et al. 2004).

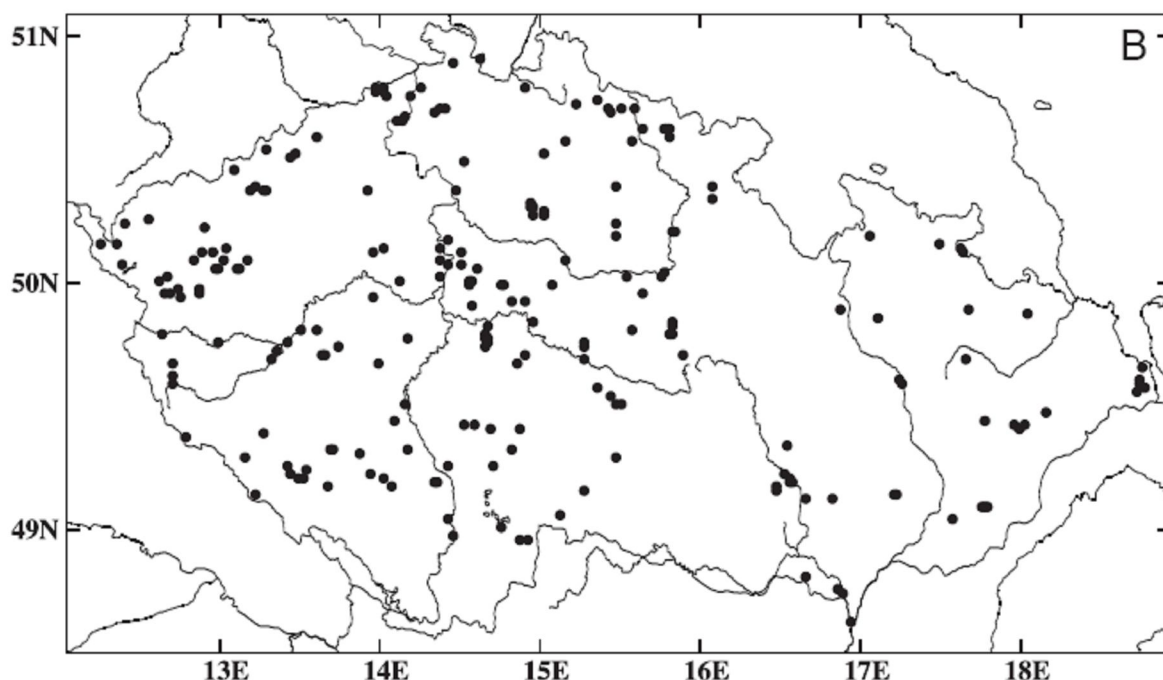
### 3.3.3 Invaze *F. sachalinensis*

Primární areál *F. sachalinensis* zahrnuje Japonsko a ostrovy Sachalin (severně od Japonska) a Ullung-do (mezi Koreou a Taiwanem). Do Evropy (do Petrohradu (Rusko)) byla poprvé dovezena v roce 1855 ze Sachalinu a z Petrohradské botanické zahrady byla později posílána do ostatních evropských zahrad (Bailey et Conolly 2000). Poprvé byla v ČR nalezena v r. 1921 (u Kolína) a dnes se zde vyskytuje na 261 lokalitě. Z invazních druhů *Fallopia* se jedná o nejméně rozšířený taxon.

Nyní se napříč Evropou vyskytují hermafroditní a samičí tetraploidní klony a v ČR byly navíc nalezeny i hexaploidní a oktoploidní (Mandák et al. 2004). Tento taxon je na našem území převážně (ze 73 %) tetraploid, z 21,3 % oktoploid a z 4,9 % hexaploid. Existují dva možné způsoby, jak mohlo dojít ke vzniku nových ploidních úrovní, a to buď pohlavním rozmnožováním prostřednictvím neredukovaných gamet (autopolyploidizace vedoucí k oktoploidnímu cytotypu), nebo somatickými mutacemi. Alternativním vysvětlením je introdukce nových ploidních úrovní přímo z primárního areálu (Mandák et al. 2003).

*F. sachalinensis* vykazuje určitou genetickou variabilitu. Mezi 55 vzorky bylo nalezeno 16 genotypů, z kterých jeden ( $2n=44$ ) je poměrně běžný a pět genotypů ( $2n=44$ ,

2n=88) se vyskytuje na lokalitách, které jsou koncentrovány na menších územích (Mandák et al. 2005).



Obr. 3: Mapa rozšíření druhu *F. sachalinensis* v ČR (Mandák et al. 2004).

### 3.3.4 Invaze *F. × bohemica*

*F. × bohemica*, kříženec mezi *F. japonica* var. *japonica* a *F. sachalinensis*, byl poprvé popsán v ČR v r. 1983. Teprve nedávno byl potvrzen výskyt křížence *F. × bohemica* v původním areálu, kde koexistují jeho rodiče (*F. japonica* a *F. sachalinensis*) a byl zde popsán jako *Fallopia × mizushiame*. Roli *F. japonica* var. *japonica* však u tohoto křížence zastupuje *F. japonica* var. *uzenensis* (Mandák et al. 2004). Nicméně o rozšíření *F. × bohemica* v původním areálu chybí v literatuře údaje. Jediný údaj je, že se vyskytuje v severním Japonsku tam, kde se spolu vyskytují *F. japonica* var. *japonica* a *F. sachalinensis* (BÚ AV ČR 2012).

*F. × bohemica* byla pěstována v anglických zahradách od r. 1872, neexistují však historické záznamy, které by jednoznačně potvrdily její původ, a je tedy možné, že tento taxon vznikl hybridizací přímo v Británii (Bailey et Conolly 2000). Nejstarší vzorek v ČR je z herbáře z r. 1950 z Botanické zahrady Karlovy univerzity (do r. 1983 byl tento kříženec

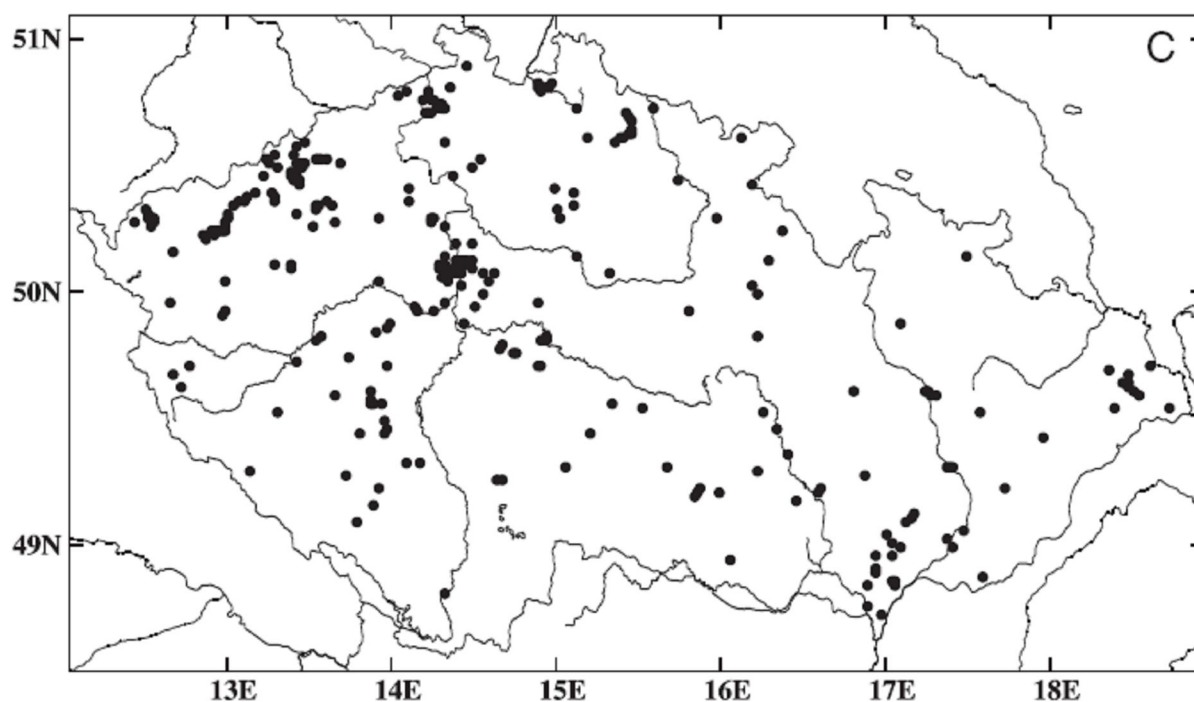
určován jako *F. sachalinensis* s poznámkou o menších listech). Nyní je *F. × bohemica* v ČR běžná a vyskytuje se zde na 381 lokalitě. Je široce rozšířena ve střední a severní Evropě a na Britských ostrovech (Mandák et al. 2004). Invaze *F. × bohemica* pokračuje rychlým tempem, neboť například v Belgii byla ještě nedávno považována za vzácnou, avšak nyní zde bylo zaznamenáno její široké rozšíření (Tiébré et al. 2007).

V ČR i ve Velké Británii vykazuje tento hybridní taxon vysokou genetickou a cytologickou variabilitu. Mandák et al. (2005) rozpoznal 33 genotypů mezi 88 vzorky. Jeden genotyp ( $2n=66$ ) je široce rozšířen po celé ČR, tři ( $2n=66$ ) jsou lokálně rozmístěny na různých lokalitách a zbylé genotypy ( $2n=44$ ,  $2n=66$ ,  $2n=88$ ) se vyskytují pouze v oblastech s vysokou genetickou diverzitou. Takže *F. × bohemica* je díky úspěšnému vegetativnímu rozšiřování na většině území ČR geneticky uniformní.

Na území ČR je tento kříženec z 92,6 % hexaploid, z 5,3 % oktoploid a z 2,1 % tetraploid (Mandák et al. 2003). U řeky Morávky byl nalezen i jedinec se 77 chromozómy a dále zde byl zjištěn i výskyt aneuploidního jedince se 105 chromozómy (Bímová et al. 2008 (nepubl.)). Ve Velké Británii se velmi vzácně vyskytuje i forma se 110 chromozómy (Bailey et al. 2008).

V Severní Americe má *F. × bohemica* větší genetickou a cytologickou různorodost. Převažuje zde (63 %) hexaploidní úroveň, v menší míře (13 %) oktoploidní, a není zde vzácná ani tetraploidní (9 %) a nonaploidní forma (6 %). Ojedinele se zde vyskytují i heptaploidní a dekaploidní jedinci (Gammon et al. 2007, 2010). U jednoho tetraploidního křížence byla mateřskou rostlinou *F. sachalinensis* u ostatních třech pak *F. japonica* var. *japonica* (Gammon et al. 2007).

Mandák et al. (2003) na základě výzkumu genetické variability *F. × bohemica* (v ČR) předpokládá, že její vysoká hodnota na některých lokalitách je způsobena spíše opakovanou hybridizací než introdukcí. Vysoká genetická variabilita *F. × bohemica* může být způsobena i křížením různých genotypů hexaploidní *F. × bohemica* mezi sebou (Mandák et al. 2005).

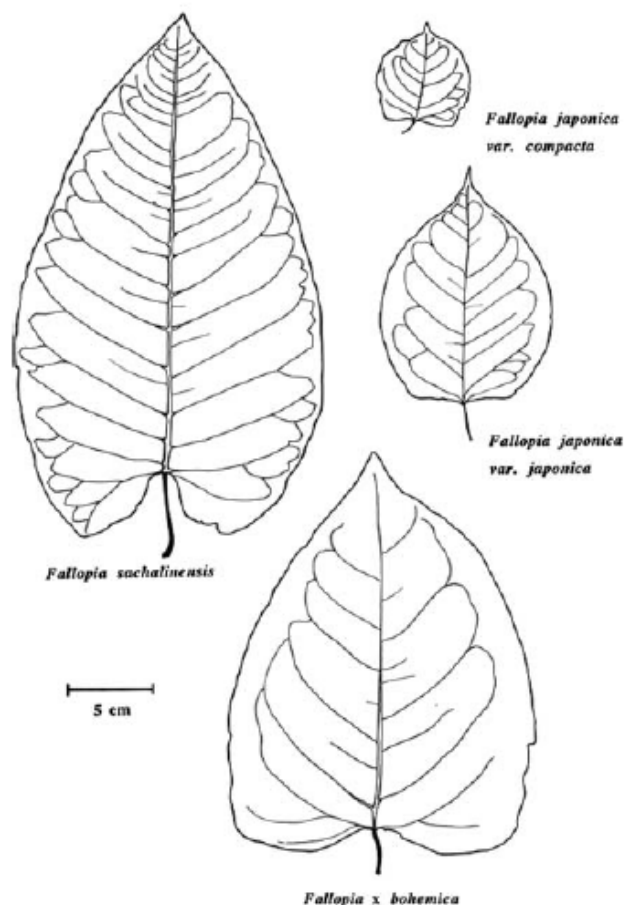


**Obr. 4:** Mapa rozšíření druhu *F. x bohemica* v ČR (Mandák et al. 2004).

(pozn.: uvedený počet lokalit u všech taxonů v ČR reprezentuje pouze část ze skutečného množství a jejich počet se bude pravděpodobně s probíhající invazí zvětšovat – zvláště počet lokalit *F. x bohemica*, který narůstá oproti rodičovským druhům dvojnásobnou rychlostí, přičemž *F. japonica* var. *japonica* se šíří průkazně rychleji než *F. sachalinensis* (Mandák et al. 2004)).

### 3.4 Popis morfologie křídlatek

Křídlatky mají duté, větvené lodyhy a svým vzrůstem patří k evropským nejvyšším vytrvalým bylinám (Pyšek et Mandák 2001). Nejvyšší je *F. sachalinensis*, dorůstá do výšky až 4 m. *F. japonica* var. *japonica* je o něco menší (2–3 m) a výška jejich křížence *F. x bohemica* se pohybuje na škále mezi rodiči (2,5–4 m) (Bailey et al. 2008). Zakrslá forma *F. japonica* var. *compacta* dosahuje jen 1,5 m (Bailey et al. 2007).



**Obr. 4:** Tvary listů křídlatek (Bailey et al. 2008).

Nejviditelnějším určujícím znakem zástupců rodu *Fallopia* sekce *Reynoutria* je tvar listů (je však důležité určovat největší plně vyvinuté listy na stonku). Listy *F. sachalinensis* jsou zdaleka největší (až 40 × 22 cm), mají srdčitou bázi a tupý až zaokrouhlený vrchol. *F. japonica var. japonica* má listy mnohem menší (10–15 cm dlouhé), na bázi kolmo uťaté, zakončené dlouhou špičkou. Listy *F. × bohemica* kolísají tvarem i velikostí mezi rodiči (Bailey et al. 2008).

Spolehlivé určení druhu zajišťují chlupy na rubu listů. *F. japonica* je má nezřetelné (jednobuněčné), redukované na krátké papily a *F. sachalinensis* má chlupy dlouhé (až 14 buněčné), na bázi neztlustlé. *F. × bohemica* má roztroušené chlupy (2–4 buněčné) se ztlustlou bází (Pyšek et Mandák 2001, Bailey et al. 2008).

Jednotlivé taxony se dále liší povrchem kutikuly na listech. *F. japonica* má kutikulu velmi hladkou, jen s několika žlábkami, zatímco kutikula *F. sachalinensis* je velmi vrásčitá. Vrásčitost kutikuly *F. × bohemica* kolísá stejně jako ostatní znaky mezi rodiči (Bailey et al. 2008).

Květy křídlatek můžeme spatřit od července do října, jsou pětičetné, bělavé až naružovělé, uspořádané v latách složených z lichoklasů (viz příloha 2,3,4) (Pyšek et Mandák 2001). Blizna je trojlaločná, andreceum tvoří osm tyčinek s krátkými čnělkami. Funkčně samičí květy mají tyčinky malé, zploštělé a prázdné, zatímco květy funkčně hermafroditní (většinou samčí) mají tyčinky velké a plné (Bailey 1989). Plodem je černá, lesklá, trojhranná nažka, zcela uzavřená ve zvětšeném okvětí (viz příloha 8) (Pyšek et Mandák 2001).

### 3.5 Ekologie křídlatek

#### 3.5.1 Původní výskyt křídlatek

Oproti sekundárnímu areálu se v původním areálu křídlatky vyskytují na mnohem větším rozpětí stanovištních typů a trpí zde tím, že jsou ve velké míře potravou mnoha bezobratlých živočichů (Bailey 2003). V původním areálu se *F. japonica* var. *japonica* vyskytuje od nížin po subalpínské polohy (0–2600 m n. m.) (Maruta 1994). V nížinách obývá erodované břehy řek, kde se vyskytuje ve společenstvech vysokých bylin. Se vzrůstající nadmořskou výškou se mění charakter porostů a rostliny jsou zde menšího vzrůstu – podobají se taxonu *F. japonica* var. *compacta* (BÚ AV ČR 2012).

V Japonsku v nejvyšších polohách na nehostinných lávových polích (např. na hoře Fuji) je *F. japonica* díky schopnosti akumulace dusíku a klonálnímu růstu jedním z klíčových druhů iniciálních sukcesních stadií. Uvnitř klonů dochází ke kumulaci na dusík bohaté biomasy, rozsáhlé a staré klony (50 m<sup>2</sup>) se poté v centrální části rozpadají a tím je umožněn nástup druhů pokročilejších sukcesních stadií (Adachi et al. 1996). V Japonsku se šíří na antropogenních stanovištích (např. na pastvinách), kde se stává obtížným plevelem (BÚ AV ČR 2012).

*F. sachalinensis* se v primárním areálu vyskytuje v nižších polohách, hlavně v okolí vodních toků, kde je efektivní šíření pomocí úlomků stonků (Bímová et al. 2003 ex Bailey in verb). To je pravděpodobně důvod, proč jako jediná z křídlatek regeneruje lépe ze stonků než z oddenků. Dále vytváří mohutné porosty na okrajích lesů, lavinových drahách a pobřežních útesech (Pyšek et Mandák 2001).

### 3.5.2 Vztah nutriční náročnosti a rozsahu typů stanovišť

Druhy, které mají schopnost regenerovat ve velmi chudých půdách a mají nízkou náročnost na živiny (*F. japonica* var. *japonica* (Bímová et al. 2003)), se vyskytují na velkém rozpětí typů stanovišť (D'Antonio et Hobbie 2005). *F. japonica* var. *japonica* jako jediná ze 4 taxonů rodu *Fallopia* sekce *Reynoutria* regeneruje lépe v písku než v půdě a také se vyskytuje na více stanovištních typech než *F. sachalinensis* a *F. × bohemica* (Bímová et al. 2004). Není vzácností nalézt *F. japonica* rostoucí ze základů domů nebo na betonovém povrchu (Bímová et al. 2003).

Dále byly z ekofyziologického pohledu studovány i semenáčky *F. japonica*. V nehostinných klimatických podmínkách na hoře Fuji prokázaly extrémní vitalitu a schopnost přežít a růst i na velmi chudých substrátech (Maruta 1994).

### 3.5.3 Preference stanovišť v sekundárním areálu

V Evropě preferují křídlatky ruderní stanoviště. Vyskytují se většinou v blízkosti lidských sídel, protože zde byly pěstovány a města a vesnice se pak staly jejich ohnisky, odkud se díky lidem a vodním tokům šířily do volné krajiny (zvláště pak díky transportu půdy při stavebních činnostech). Nejvyšší procento výskytu mimo lidská sídla vykazuje kříženec *F. × bohemica* (nejčastěji je na lokalitách v okolí vodních toků) (Bímová et al. 2004, Mandák et al. 2004). *F. japonica* a *F. sachalinensis* se nejčastěji vyskytují v okolí silnic, přičemž výskyt *F. sachalinensis* je poměrně často omezen na zahrady a parky, kde byla běžně pěstována jako okrasná květina (Mandák et al. 2004).

Stanoviště, kde dosahuje invaze křídlatek největších rozměrů, jsou velmi často zaplavována. Povodně zde periodicky ničí původní vegetaci, a tím uvolňují místo pro následnou regeneraci úlomků stonků a oddenků křídlatek. Na stanovištních typech, které jsou také zaplavované, ale vliv povodní je menší, dosahuje invaze již menších rozměrů. Není zde totiž tak velká půdní disturbance a původní vegetace není obvykle zničena (Bímová et al. 2004).

Nejméně invadovaná jsou sukcesně pokročilejší společenstva (např. lesy) a společenstva s pravidelným managementem (pole, louky) (Bímová et al. 2004). Na sečených loukách a pastvinách má původní vegetace kvůli adaptaci kompetiční výhodu. Takže

k předcházení invazím na loukách a pastvinách je důležitým faktorem pravidelný management pastvy a kosení (Brabec et Pyšek 2000).

### 3.5.4 Kompetiční schopnosti křídlatek

Druhy rodu *Fallopia* sekce *Reynoutria* tvoří husté monokulturní porosty, které téměř vylučují přítomnost původních druhů bylin. Od časného jara do konce vegetační sezóny dopadne v těchto hustých porostech na zem jen málo světla díky velkým listům, které tvoří kompaktní pokryv (Bailey et al. 2008). Na zastínění je například citlivý biotop štěrkových náplavů u řeky Morávky. Křídlatky zde zcela eliminují světlomilné druhy, mezi nimiž je mnoho ohrožených taxonů (například *Myricaria germanica* (židovník německý) nebo *Tetrix tuerki* (saranče marše Türkova)) (Birklen 2007).

Produkce velkého množství nadzemní biomasy je tedy významnou součástí jejich kompetiční schopnosti. Horn et Prach (1995) však uvádí, že produkce nadzemní biomasy, která je okolo 0,9 kg/m<sup>2</sup>/rok sušiny je srovnatelná s některými domácími druhy jako např. *Urtica dioica* (kopřiva dvoudomá), *Bromus inermis* (sveřep bezbranný) nebo *Calamagrostis epigejos* (třtina křovištní). Křídlatky však produkují více podzemní biomasy (okolo 1,5 kg/m<sup>2</sup> ročně) a vytváří tak mohutný a hustý oddenkový a kořenový systém. Toto důkladné obsazení půdy také přispívá k potlačení původních rostlinných společenstev. Celkovou produkcí biomasy se tudíž řadí mezi naši nejproduktivnější bylinnou vegetaci (Pyšek et Mandák 2001).

Na stanovištích, kde se spolu vyskytují *F. japonica* var. *japonica* a *F. × bohemica*, se zdá, že je kříženec kompetičně lepší (Bímová et al. 2004 ex Pyšek et Mandák nepubl.). Ke stejnému výsledku dospěl Mandák (2012) při pokusu, kdy byla měřena tvorba biomasy ve směsných porostech. Kompetitivní hierarchie v rámci invazních taxonů rodu *Fallopia* byla *F. × bohemica* > *F. sachalinensis* > *F. japonica*.

Křídlatky působí na okolní vegetaci také alelopaticky. Převážně ve svých oddencích obsahují vysoké množství fenolických sloučenin (Vaher et Koel 2003). Mandák (2012) dokonce zjistil, že klíčení *Urtica dioica* (kopřiva dvoudomá) a *Calamagrostis epigejos* (třtina křovištní) není inhibováno zástínem listů, ale výluhy z listů a oddenků křídlatek.

Kvůli vysokým kompetičním schopnostem křídlatek zůstává v jejich porostech jen velmi málo druhů. Mezi nimi jsou jarní geofyta (jsou odolná invazi díky jejich časně době květu - např. *Ficaria bulbifera* (orsej jarní)) a ruderalní a nitrofilní druhy jako např. *Urtica*



*dioica* (kopřiva dvoudomá), *Geranium robertianum* (kakost smrdutý), a *Aegopodium podagraria* (bršlice kozí noha) (jsou odolné, jelikož mají podobné ekologické vlastnosti jako křídlatky). V porostech *Alnus glutinosa* (olše lepkavá) také křídlatka silně konkuruje semenáčkům stromů, ale jen pokud jsou vysoké méně jak 2 m, dospělé stromy jsou invazi odolné (Bímová et al. 2004).

### 3.6 Vegetativní rozmnožování křídlatek

Křídlatky se v sekundárním areálu v Evropě šíří téměř výhradně vegetativně, hlavně pak rozptylováním částí oddenků a stonků při povodních a díky antropogenním disturbancím a aktivitám (Bímová et al. 2003, Bailey et al. 2008). To dokládá případ, kdy při povodni v roce 1997 na řece Morávce, byly stržené části rostlin rozneseny do dosud nezasazených lokalit, a tím se nastartoval masivní rozvoj porostu křídlatek i hluboko v lužním porostu (Birklen 2007).

Křídlatky disponují výbornou regenerační schopností. Nová rostlina může vzniknout regenerací i z velmi malých úlomků oddenků a stonků. Je dokumentována regenerace z oddenku, o velikosti 1 cm a váze 0,7 g (Bailey et al. 2008). Větší podíl při šíření křídlatek má zřejmě disturbance a transport půdy společně s jejich oddenky, než rozšiřování jejich nadzemních částí (Mandák et al. 2004). Oddenky křídlatek totiž obecně lépe regenerují než stonky. Jediná *F. sachalinensis* regeneruje lépe ze stonků (Bímová et al. 2003).

Nejlepší celkový regenerační potenciál má *F. × bohemica* (61 %), a proto může být považována, z hlediska regenerace a vzcházení nových výhonů, za nejúspěšnější taxon rodu *Fallopia* sekce *Reynoutria* v ČR. Vysokou regenerační schopnost ještě prokazuje *F. japonica* var. *compacta* (52 %), ostatní taxony mají již nižší regenerační potenciál (*F. japonica* var. *japonica* 39 % a *F. sachalinensis* 21 %) (Bímová et al. 2003).

Po úspěšné regeneraci tvoří křídlatky na novém místě polykormony. Klony jsou na lokalitách velmi perzistentní. Byl nalezen polykormon *F. japonica* var. *japonica* starý 91 let a *F. sachalinensis* starý 130 let (Pyšek et al. 2001). Jednotlivé taxony tvoří různě veliké parciální trsy s odlišnou strukturou. *F. japonica* var. *japonica* je má poměrně rozsáhlé, spojené dlouhými a tenkými oddenky, *F. sachalinensis* tvoří menší velmi kompaktní parciální trsy. *F. × bohemica* kombinuje vlastnosti obou rodičů. *F. japonica* var. *japonica* a *F. × bohemica* mají na parciálním trsu velmi často více nadzemních výhonů

a *F. sachalinensis* má většinou pouze jeden nadzemní výhon vyrůstající z koncové části parciálního trsu (Bailey et al. 2008).

### 3.7 Pohlavní rozmnožování rodu *Fallopia*

#### 3.7.1. Květní biologie

Na základě výzkumu v Belgii (Tiébré et al. 2007) se zdá, že úspěšnost opylení květů *F. japonica* var. *japonica* je velmi nízká. Byl zjištěn velmi malý počet zrn na blizně (průměrně jen 0,68). Ostatní taxony měly průměrné hodnoty počtu pylových zrn na blizně mnohonásobně vyšší. Samičí *F. sachalinensis* jich měla v průměru 7,73, *F. × bohemica* 26,33 a *Fallopia aubertii* (opletky Aubertova) dokonce 1566 (Tiébré et al. 2007).

Koukolíková (2001) se pomocí klíčivosti pylových zrn na bliznách *F. japonica* var. *japonica* pokoušela stanovit, do jaké míry se mohou jednotlivé taxony podílet na jejím opylení a oplození. Klíčivost pylových zrn křídlatek byla obecně poměrně nízká. Nejvyšších hodnot klíčivosti dosahovala pylová zrna oktoploidní *F. × bohemica*. Tento kříženec je však na území ČR velmi vzácný. Doposud jsou u nás známe pouze dvě lokality jeho výskytu. Dalším druhem, jehož pylová zrna klíčila relativně úspěšně byl druh *F. aubertii*.

Ze zahraničních výzkumů vyplývá, že nejlepší klíčivost pylových zrn společně s jejich vysokou produkcí má 4x *F. sachalinensis*. Oproti ní 6x *F. × bohemica* produkuje dvakrát méně pylových zrn se čtyřikrát nižší klíčivostí (Tiébré et al. 2007). Na rozdíl od výsledků Koukolíkové (2001) byla zjištěna velmi nízká klíčivost pylu *F. aubertii* (Tiébré et al. 2007).

V experimentální zahradě v USA měli hepta, nona a dekaploidní zpětní kříženci (6x *F. × bohemica* + 8x *F. japonica* var. *japonica*) velmi nízkou klíčivost pylových zrn, avšak u třech nonaploidních jedinců v přírodě dosahovala velmi vysokých hodnot podobně jako u 4x *F. sachalinensis* (Gammon et al. 2010). Zpětní kříženci se u nás ale vyskytují jen velmi vzácně (Mandák et al. 2005, Bímová et al. (2008 (nepubl.)).

### 3.7.2 Vznik semen u rodu *Fallopia*

#### a) Plodnost *F. japonica* var. *japonica*

Ve Velké Británii *F. japonica* neplodila tak pravidelně, jako je tomu dnes. Před 30 lety se tam semena objevovala jen příležitostně po horkém a suchém létě. To znamená, že se za posledních 30 let něco velmi změnilo, jelikož nyní je nezvyklé, když je na podzim *F. japonica* var. *japonica* bez semen (Bailey et al. 2008). Ještě poměrně nedávno produkovaly porosty *F. japonica* var. *japonica* pouze malé množství semen. Bailey (1989) a Horn (1996) uvádí, že i při dobrých podmínkách jich na jednom polykormonu uzrává pouze několik desítek. Podle posledních studií (Tiébré et al. 2007, Gammon 2010) vyprodukuje *F. japonica* var. *japonica* každý rok veliké množství nažek. Podle Bímové et al. (2008 (nepubl.)) se na jedné rostlině *F. japonica* var. *japonica* nachází ale jen v průměru 50–300 semen. Počet plodných jedinců je na různých lokalitách odlišný. U řeky Jizery v roce 2003 byly nalezeny jen čtyři plodící rostliny, zatímco u řeky Moravy nebyl problém nasbírat semena z 24 jedinců (Bímová et al. (2008 (nepubl.))

Vyšší produkce semen souvisí se změnou chování opylovačů. Na přelomu 70tých a 80tých let 20. století se zdálo, že květy nelákaly opylovače, přestože jsou pro ně velmi atraktivní (hmyz vábí bohatou produkcí nektaru, kromě toho k opylení dochází i anemogamě (Pyšek et Mandák 2001)). Také se výrazně častěji pěstuje *F. aubertii*, hlavní donor pylu pro *F. japonica* var. *japonica* ve Velké Británii a v některých částech kontinentální Evropy. Je tedy možné, že zvýšená produkce semen, jakou vidíme dnes, je výsledkem zvýšené atraktivity květů křídlatek pro opylovače, lepší dostupností vhodného pylového zdroje (*F. aubertii*) a obecně teplejším klimatem (Bailey et al. 2008).

*F. japonica* var. *japonica* má v Belgii velmi nízkou plodnost – průměrně pouhých 0,44 % květů dá v konečném výsledku vzniknout semenu. Tato skutečnost byla vyvážena velkým počtem květů na jednom trsu (průměrně 425 000). To odpovídá průměrné hustotě 1 974 semen/m<sup>2</sup>. I přes nízkou plodnost je celková produkce nažek tedy poměrně velká (Tiébré et al. 2007). Oproti tomu na severovýchodě USA *F. japonica* var. *japonica* vykazovala v průměru stonásobně vyšší plodnost (v přírodě okolo 40 %). Ve studii (Gammon et al. 2010) není uvedena celková produkce semen, ale pokud by byl počet květů na m<sup>2</sup> srovnatelný se situací v Belgii, pak by *F. japonica* var. *japonica* produkovala průměrně zhruba 200 000 semen na 1 m<sup>2</sup>.

### **b) Plodnost *F. sachalinensis***

Samičí *F. sachalinensis* měla průměrnou plodnost 5,06 % (počet semen/počet květů). To je mnohem více ve srovnání s *F. japonica* var. *japonica* (Tiébré et al. 2007).

### **c) Plodnost *F. × bohemica***

Ve státě Massachusetts (USA) vykazovala samičí *F. × bohemica* vysokou plodnost (0–40 %) (počet semen/počet květů), téměř srovnatelnou s oktoploidní *F. japonica* var. *japonica* a v jednom případě dosáhla plodnost dokonce i vysoké hodnoty 90 % (Gammon 2009, Gammon et al. 2010). To je v kontrastu s evropskou situací, kde je výskyt semen na *F. × bohemica* vzácným a teprve nedávným fenoménem (Bímová et al. 2008 (nepubl.), Bailey et al. 2009). Například na břehu řeky Morávky bylo na jedné rostlině nalezeno pouze 5–20 semen (Bímová et al. 2008 (nepubl.)). V Belgii měla 6x *F. × bohemica* extrémně nízké hodnoty plodnosti (0–0,03 %) (počet semen/počet květů). Z důvodu nízké produkce semen nebylo možné vyhodnotit ani jejich klíčivost (Tiébré et al. 2007).

### **d) Plodnost zpětných kříženců v USA**

Heptaploidní a nonaploidní jedinci, vzniklí zpětným křížením *F. japonica* var. *japonica* s *F. × bohemica* měli ve srovnání s jinými taxony nejnižší plodnost. Jejich hodnoty dosahovaly maximálně 0,1 % (počet semen/počet květů) (Gammon et al. 2010).

### **e) Plodnost *F. aubertii***

*F. aubertii* měla největší počet semen na květ (19,55 %), ale žádné semeno nevyklíčilo při klíčném pokusu. V současnosti nemá produkce semen *F. aubertii* význam pro invazi rodu *Fallopia* (Tiébré et al. 2007).

### 3.7.3 Šíření křídlatek pomocí semen

Na rozdíl od Evropy, kde se křídlatky šíří téměř výhradně vegetativně, hraje v USA významnou roli i rozšiřování pomocí semen. Důkazem je velmi vysoká genetická diverzita *F. × bohemica* a *F. japonica*. Grimsby et al. (2007) přirovnává svůj výsledek k modelu šíření křídlatek v původním areálu v Japonsku. Z populační struktury lze odhadovat způsob šíření. Většinou křídlatka invaduje nová stanoviště pomocí semen a následně se zde vegetativně rozšíří. Tento způsob šíření je charakterizován unikátním genotypem na daném místě (nebyly nalezeny nikde jinde v rámci tohoto výzkumu). Přítomnost unikátního genotypu byla zjištěna u 17 z 21 odělených porostů. Tento trend byl obzvláště výrazný u izolovaných porostů s velmi malou rozlohou (<1m<sup>2</sup>). Všech deset takovýchto zkoumaných porostů bylo tvořeno unikátními genotypy. Z toho vyplývá, že nejběžnější propagule, díky kterým se zde křídlatka šíří, jsou semena a ne úlomky oddenků, jak se ještě nedávno domnívali Forman et Kesseli (2003).

V Belgii byl zjišťován i způsob distribuce semen v prostoru. Z celkového počtu 160 semen se 88 % zachytilo v prvních dvou pastích. To znamená, že naprostá většina semen se nedostala dále než půl metru od mateřské rostliny. Průměrně pouhých 1,1 % se dostalo až za hranici 16 m (Tiébré et al. 2007).

### 3.7.4 Semenáče v přírodě

#### a) Semenáče v Evropě

Vyklíčení a přežití semenáčů křídlatek je možné, pokud se vhodné genotypy setkají s přijatelnými ekologickými podmínkami. Vhodné ekologické podmínky pro ujetí semenáčků křídlatek jsou situované v údolích řek, kde jarní povodně disturbancí říčních břehů zničí původní vegetaci a vytvoří tak volné místo pro zachycení nových druhů. V těchto lokalitách mají porosty křídlatek vysokou genetickou diverzitu (Mandák et al. 2005).

U nás bylo značné množství semenáčků nalezeno na písčitém břehu řeky Morávky, ale na takovémto místě je velmi malá šance, že se dožijí dospělosti. Obnažená půda vhodná ke klíčení, neposkytuje již dobré podmínky k přežívání rostlin zimní období v oddenkách (Bímová et al. 2008 (nepubl.)). Tiébré et al. (2007) při rozsáhlém výzkumu nespatriil v Belgii v přírodě (v porostech křídlatek a v jejich okolí) žádné semenáče.

Celkově je velmi málo informací o tom, jak působí přírodní výběr na selekci hybridního potomstva. Pravděpodobně pouze malá část z diverzity hybridního potomstva, která je přítomna ve vzniklých semenech, projde sítím přírodního výběru a následně se rozmnoží.

### **b) Semenáče v Severní Americe**

Locandro (1973) na přelomu 60tých a 70tých let 20. století během 5 let pozorování na lokalitě v New Jersey zaznamenal velký počet semenáčů. Těm se však zřídka vyvinuly více jak tři listy, a nikdy nepřežily déle než do půlky léta. Sieger (1993) ve státě Washington D.C. zaznamenal také uhybnutí semenáčů v brzkém stadiu vývoje.

V současné době se však zdá, že se situace změnila. Na severovýchodě USA již nelze považovat klíčení a uchycení semen *F. japonica* za vzácnou záležitost. Forman et Kesseli (2003) pozorovali během roku 2001 klíčení semenáčů a jejich následné uchycení ve státě Massachusetts. Na jedné lokalitě vyklíčilo nejméně sto semenáčků v dostatečné vzdálenosti od mateřského porostu. Ačkoli okolní byliny a dřeviny zamezovaly v přístupu slunečního světla, pokračovaly v růstu po celé vegetační období. U některých jedinců došlo ke ztrátě děložních listů a rozvinutí pěti a více listů pravých. Na konci podzimu vytvořili oddenek, což reflektuje akumulaci živin jako přípravu na přezimování. Po mírnější zimě v dubnu 2002 vyrostli z oddenků 4 jedinci, kteří se nadále vyvíjeli. Předchozí studie nezaznamenaly žádné úspěšné uchycení semenáče v přírodě, jelikož sledování probíhalo na místech, kde hustý porost křídlatek znemožňoval růst jejich semenáčků stejně jako bránil v růstu ostatním druhům rostlin (Forman et Kesseli 2003).

### **3.7.5 Klíčení a vzcháživost semen *F. japonica***

Jak prokázali mnohé studie, klíčivost semen *F. japonica* var. *japonica* je velmi vysoká a je ovlivněna mnohými faktory. Zásadní roli hraje možnost dozrání semen na rostlinách. Křídlatky kvetou na podzim, u nás konkrétně od července do září (Pyšek et Mandák 2001). První mrazy ukončují proces zrání semen a při špatné sezóně nemusí dozrát ani jedno semeno (Bailey 1989, Horn 1996). Dalším významným činitelem je posklizňové dozrání, stratifikace (přezimování) a klíčivost se také značně liší mezi různými lokalitami

sběru semen, neboť odlišná dostupnost různých pylových zdrojů pro mateřský porost předurčuje vznik rozdílného hybridního potomstva.

Za ideálních podmínek může průměrná klíčivost dosáhnout dokonce 100 % (Forman et Kesseli 2003), nebo se k této hranici přiblížit (96,5 % (Hrušková et Hofbauer 2001)).

Semena za laboratorních podmínek (v Petriho miskách na filtračním papíru, při 20–22 °C) začínají klíčit již po 4 či 7 dnech a některá klíčí ještě okolo 30 dnů od zasetí (Hrušková et Hofbauer 1999, 2001, Forman et Kesseli 2003, Uriánek 2010). Obecně lze říci, že semena hermafroditních jedinců oproti samičím mají nižší klíčivost (Gammon et al. 2010).

Forman et Kesseli (2003) sledovali další vývoj vyklíčených semenáčů ve skleníku. Dospělosti se dožilo 82 % semen *F. japonica* var. *japonica*, která měla 100 % klíčivost (autor považuje za dospělé ty semenáče, které již ztratily děložní listy a mají vyvinutých nejméně 5 pravých listů). Do rozmnožovací fáze (kvetení) se poté dostalo 67 % z celkového počtu semen. První jedinec vykvetl již 5 měsíců od klíčení. Některé rostliny během experimentu rozkvetly dokonce dvakrát nebo i vícekrát. Doba kvetení byla pozorována ve dvou periodách (červen–září 2000, květen–říjen 2001). Většina potomstva byla velkého vzrůstu, rostla agresivně a byla zdravá.

### 3.7.5.1 Klíčivost a vzcházení semen různého hybridního původu

Semena, která z důvodu totální absence pylu *F. japonica*, musí být hybridního původu, mohou na *F. japonica* vznikat následujícími způsoby.

a) Opylením *F. aubertii* ( $2n=2x=20$ ) vznikne hybrid *Fallopia* × *conollyana* ( $2n=5x=54$ ). Tento taxon byl popsán poměrně nedávno a vyskytuje se vzácně v severozápadní Evropě (Bailey et al. 2008). Semena tohoto mezidruhového křížence byla nalezena i v ČR (Horn 1996, Bailey et al. 2008 ex Bailey nepubl.). Ve Velké Británii je to nejčastěji se vyskytující kříženec v semenech *F. japonica*. Bailey (1989) pozoroval vznik těchto semen na 11 z 12 sledovaných lokalit. Tato semena obsahují také dostatek endospermu a vykazují dobrou klíčivost při testech (Bailey 1989). Při výzkumu v Belgii vznikala tato semena již méně často (jen z 25 %). Při počítání chromozomů vypěstovaných semenáčků bylo zjištěno, že potomci byli euploidní s očekávaným počtem chromozomů 54 (Tiébré et al. 2007).

*F. × conollyana* je sterilní (její fertilita by vyžadovala chromozomální zdvojení) a v přírodě se ujme jen vzácně (Bailey 2001). Donor pylu *F. aubertii* sice v Evropě nezplaňuje, ale je velmi často pěstován v podstatě na celém území ČR.

**b)** Opylením tetraploidní *F. sachalinensis* vznikne *F. × bohémica* ( $2n=6x=66$ ). Vznik těchto semen u nás zaznamenal například Horn (1996) a Bimová et al. (2008 (nepubl.)). V Belgii tato semena vznikala jen vzácně (3,6 %) (Tiébré et al. 2007).

V okolí řeky Jizery byl sebrán vzorek semen, ve kterém 87 % tvořila právě hexaploidní *F. × bohémica*. Tato semena měla vysokou klíčivost (93,8 %). Navzdory vysoké klíčivosti mají ale porosty *F. × bohémica* u Jizery malou genetickou variabilitu a z toho se dá vyvodit, že ujmoutí těchto semen je velkou vzácností. Na lokalitě, kde byla sebrána semena, se nicméně vyskytovala hexaploidní *F. × bohémica*, která zde patrně vznikla tímto způsobem (Bimová et al. 2008 (nepubl.)). Po umělém opylení 4x *F. sachalinensis* byla v USA pozorována nižší klíčivost těchto semen (61 %) (Gammon et al. 2010).

**c)** splynutím s částečně nebo zcela redukovanými či neredukovanými gametami hexaploidní *F. × bohémica* vzniká *F. × bohémica* s přibližnou celkovou sadou chromozomů ( $2n=7x=77$ ) nebo ( $2n=10x=110$ ). Většinou se jedná o aneuploidní jedince (Bailey et al. 2008, Bimová et al. (2008 (nepubl.))). Klíčivost čistě aneuploidních semen (s počtem chromozomů 72–102) byla 84 % (Bimová et al. 2008 (nepubl.)). Při výzkumu v Belgii vznikali s největší frekvencí (58,3 %) právě tyto aneuploidní zpětní kříženci. Bylo zjištěno, že všichni jedinci, kteří byly podrobeni dalšímu zkoumání, mají ve svých buňkách jádra s různým počtem chromozomů. Konkrétní hodnoty u čtyř zkoumaných jedinců byly 78-79, 77-86, 103-105 a 104-110 (Tiébré et al. 2007).

Oproti Evropě dochází v USA (po umělém opylení 6x *F. × bohémica*) ke vzniku i jiných plodných úrovní. Nejčastěji se vyskytovali hexaploidní (36 %) a oktoploidní (28 %) jedinci a s nejmenší frekvencí vznikali hepta, nona a dekaploidní zpětní kříženci. Průměrná klíčivost těchto semen (sebraných ze tří jedinců) byla 60 % a velmi se lišila mezi jednotlivými jedinci. Potomstvo se vyznačovalo velmi dobrým přežíváním. Dvou týdnů se průměrně dožilo více jak 90 % semenáčků a dvou let více jak 70 % (Gammon et al. 2010).

V Evropě se v přírodě zpětní kříženci vyskytují jen ve velmi malé míře. Heptaploidní a dekaploidní jedinci byli detekováni např. na břehu řeky Morávky (Bimová et al. 2008 (nepubl.)). V Severní Americe se nyní už zpětní kříženci vyskytují poměrně často. Nedávno



byl prokázán jejich výskyt v přírodě ve státě Massachusetts. Obvykle je matkou *F. japonica* var. *japonica*, ale byl nalezen i zpětný kříženec, kdy byla matkou *F. sachalinensis*. V jakém rozsahu dochází k introgresi a na jaké úrovni je však stále nejasné. (Gammon et al. 2007, 2010). Zpětné křížení v USA dokládá i Grimsby et al. (2007).

**d)** Semena, která vznikla splynutím s pylovými zrny několikanásobných zpětných kříženců, měla vysokou klíčivost (okolo 70 %) (Gammon et al. 2010).

**e)** V USA dochází, kromě mezidruhového a zpětného křížení, i ke křížení vnitrodruhového, neboť v Severní Americe se vyskytuje i samčí *F. japonica* var. *japonica*. Klíčivost semen, kdy byla hlavním donorem pylu při volném opylení oktoploidní samčí *F. japonica* byla nízká (pouze 35 %) (Gammon et al. 2010).

**f)** V USA bylo zaznamenáno klíčení a vzházení semen sebraných z nonaploidní a heptaploidní *F. japonica* var. *japonica*, které se po morfologické stránce neliší od nejrozšířenější oktoploidní formy. Autoři původně minili zkoumat právě oktoploidní *F. japonica* var. *japonica*. Klíčivost těchto semen byla 54 a 36 %. Nejčastěji vznikalo hexaploidní, oktoploidní, ale i dodekaploidní potomstvo (Gammon et al. 2010).

### 3.7.5.2 Vliv dozrání semen

Závislost klíčivosti na termínu sběru semen u nás sledovali Hrušková et Hofbauer (1999, 2001). Semena byla sbírána od půlky září až do začátku listopadu v letech 1997 a 1999. V obou studiích bylo prokázáno velmi výrazné zvyšování klíčivosti v závislosti na termínu sběru.

U jedné lokality, kdy sběr proběhl 1.10.1997 a poté o pouhý týden později, byl nárůst klíčivosti z 2,8 % na 10,8 % a při druhém klíčivém pokusu dokonce z 4,8 % na 33,5 %.

U semen z další lokality, jež byla sebrána 27.10.1999 a poté o 13 dní později, se klíčivost zvýšila z nepatrného 0,5 % na 12 %, při druhém pokusu pak z 6 % na 24 %. Z výsledků studie (Hrušková et Hofbauer 2001) je dále patrné, že nažky dozrávají na rostlinách ještě i na začátku listopadu. Ukončení jejich dozrávání způsobí až první podzimní mrazíky. Dokonce i ve větší nadmořské výšce na Kralickém Sněžníku (700 m n.m.) byla

příznivá teplota pro dozrání semen. Jejich klíčivost v podzimním a jarním termínu byla 45 % a 69 %.

Vliv dozrání semen na jejich klíčivost dále popisuje výzkum z Filadelfie, USA (Bram et McNair 2004). Byl prokázán postupný gradient zvýšení klíčivosti semen sebraných od půlky září do půlky října roku 2000. Z méně než 10 % se klíčivost zvýšila na více jak 90 %.

Fakt, že zásadní podmínkou úspěšného klíčení semen je jejich dozrání na rostlině, potvrdil i případ, kdy semena, která byla sebrána z nalomeného stonku *F. japonica* var. *japonica*, měla nulovou klíčivost (Forman et Kesseli 2003).

### 3.7.5.3 Posklizňové dozrávání semen

Posklizňovému dozrávání semen se u nás věnují výzkumy (Hrušková et Hofbauer 1999, 2001). Bailey (1994) doporučuje jako ideální metodu pro zrušení dormance semen 3–5 měsíční skladování při pokojové teplotě. V ostatních studiích tento efekt hraje jistě také značnou roli při klíčení semen, ale není na něj brán zřetel.

Významnou úlohu posklizňového dozrání, podložili Hrušková et Hofbauer (1999) pokusem, kdy jedna část semen byla zasetá ihned po sklizni a druhá část byla skladována po dobu tří měsíců při pokojové teplotě. Při první zkoušce se klíčivost jednotlivých vzorků pohybovala v rozmezí od 0 do 45 % v průměru pak 13 %. Značné procento semen (55–94,5 %) bylo charakterizováno jako neklíčivá (v době ukončení testu všechna vypadala zdravá a životaschopná). Po třech měsících skladování klíčila semena o poznání lépe. Vzorek, který nevyklíčil vůbec, měl nyní klíčivost 10,8 %. Průměrná klíčivost byla celkově 32 %, nejvyšší pozorovaná pak 72 %. V průměru bylo 55 % semen klasifikováno jako mrtvých oproti předchozí klíční zkoušce, kdy bylo mrtvých semen méně jak 5 % (Hrušková et Hofbauer 1999). Další výzkum (Hrušková et Hofbauer 2001) potvrdil ten samý trend. Semena neměla v době první zkoušky klíčivosti dokončen vývoj embryí. Teprve do doby druhé zkoušky došlo k dokončení jejich vývoje – posklizňovému dozrání (konkrétně během přibližně tří měsíců ve 20 °C). Tento proces prodělávají například embrya v osivu některých okoličnatých. Jde tedy o zřetelnou interakci s endogenní dormancí nažek, kdy dochází k poklesu inhibičních látek v semenech. Tato interakce nebyla dosud u žádné z křídlatek studována (Hrušková et Hofbauer 2001).

V kontrastu s českými studiemi (Hrušková et Hofbauer 1999, 2001), kdy v posklizňovém klíčním pokusu byla jen velmi nízká klíčivost, zaznamenali Forman et

Kesseli (2003) poměrně vysokou klíčivost semen zasetých bezprostředně po jejich sebrání v USA (v průměru 78 %). I tato klíčivost je však podstatně nižší ve srovnání se 100 % klíčivostí semen (samičí *F. japonica* var. *japonica*), která byla uchována od podzimu do února příštího roku při pokojové teplotě (jedná se však o semena z jiných jedinců a z jiného roku). Dále v Čechách zkoumal klíčivost čerstvých semen *F. japonica* var. *japonica* (původem z okolí Prahy) Stražil (2007). Laboratorní klíčivost na podzim po sběru semen byla v roce 1999 pouze 6 % a v roce 2000 18 %.

### 3.7.5.4 Přezimování v různých podmínkách

Vliv stratifikace na semena se velmi liší mezi jednotlivými studii a mnohdy dokonce i v rámci jednoho výzkumu. Na celkovou klíčivost semen, sebraných v listopadu 2000 v USA, nemělo statisticky významný vliv zda přezimovala či nikoli a nelišila se ani mezi jednotlivými způsoby založení klíčivostního pokusu. Průměrná klíčivost semen se pohybovala od 76 po 85 % (Forman et Kesseli 2003). Kromě toho zaznamenali Forman et Kesseli (2003) velký pokles klíčivosti u semen, která byla dva měsíce uchována v mrazu (autoři neuvádí teplotu). Jejich poměrně vysoká průměrná klíčivost v předběžném testu po uchování v mrazu velmi klesla, přičemž velká většina vzorků nevyklíčila vůbec. Před stratifikací byla semena uchována po 7 měsíců při pokojové teplotě, takže měla možnost po sklizni dozrát.

Při výzkumu v Belgii měla stratifikace (3 měsíce ve 4 °C nebo ponecháním přes zimu ve venkovních podmínkách) velmi negativní vliv na semena sebraná v roce 2002. Klíčivost se snížila o 61 % a 86 %. Na semena z roku 2003 měla stratifikace naopak pozitivní vliv, jejich klíčivost se zvýšila (Tiébré et al. 2007). Autor neuvažuje proč k tomuto rozdílu došlo. Nabízí se vysvětlení, že stratifikace v chladu má negativní vliv na semena, která mají možnost posklizňového dozrání při pokojové teplotě (ta z roku 2002) a na čerstvě zasetá (z roku 2003) nemá až zase takový vliv. Semena z roku 2002 a 2003 byla totiž stratifikována a následně podrobena klíčivostnímu pokusu společně. Podobného výsledku bylo dosaženo i při studii (Forman et Kesseli 2003) (viz výše).

Mandák (2012) uvádí, že se nemění klíčivost semen ihned po sebrání a po dvouměsíčním skladování při teplotě -20 °C.

### 3.7.6 Klíčivost a vzházivost semen ostatních taxonů rodu *Fallopia* a frekvence vzniklých hybridů

a) Semena vzniklá na samičí hexaploidní *F. × bohemica* (kříženec první filiální generace) měla 50 % klíčivost a 92 % semenáčků se dožilo dvou týdnů. Semena hermafroditního jedince druhé filiální generace měla nižší klíčivost (37,8 %) a i hůře přežívala (81 %). Oba mateřští jedinci z první a druhé filiální generace dali vzniknout širokému spektru cytotypů 4x, 5x, 6x, 7x, 9x, přičemž jedinec z druhé filiální generace i 11x a 14x (Gammon et al. 2010). Výsledkem kontrolovaného dihybridního křížení 6x *F. × bohemica* byli jedinci hexaploidní a tetraploidní. Klíčivost těchto semen byla velmi nízká (průměrně pouze 21 %). Dvou týdnů se dožilo 71 % semenáčků a následně stáří dvou let dosáhlo 60 % z nich (Gammon et al. 2010).

Klíčivost semen sebraných z 6x *F. × bohemica* na břehu řeky Morávky byla pouze 10,2 % (Bimová et al. 2008 (nepubl.)). Pokud již 6x *F. × bohemica* v Evropě produkuje málo časté euploidní potomstvo, jedná se o počet chromozomů (55,77,99,110 a 121) (Bailey et al. 2008).

b) Semena produkovaná hermafroditní 4x *F. sachalinensis* v USA mají velmi proměnlivou klíčivost v rozsahu hodnot mezi 3,6–56 %. Všichni potomci byli tetraploidní s výjimkou jednoho hexaploida (Gammon et al. 2010).

Klíčivost čerstvých semen 4x *F. sachalinensis* z Belgie se pohybovala v rozmezí 10–15 %, zatímco po stratifikaci klíčila s více než 40 % úspěšností (vliv stratifikace zde však nebyl signifikantní) (Tiébré et al. 2007). V Belgii byl zaznamenán vznik hybridu ( $2n=32$ ) ze semene produkovaného 4x *F. sachalinensis* po opylení *F. aubertii* ( $2n=20$ ) (jediný zkoumaný semenáč ze semene *F. sachalinensis*) (Tiébré et al. 2007).

Klíčivost semen *F. sachalinensis* sebraných v Jihomoravském kraji se pohybovala od 50 do 66 %. (Hrušková et Hofbauer 2001).

c) V kontrastu s vysokou produkcí semen *F. aubertii* je jejich klíčivost nulová (Tiébré et al. 2007).

d) Semena hermafroditní *F. japonica* (pouze ze 2 jedinců) měla v průměru klíčivost 85 %, z vyklíčených se 61 % dožilo dospělosti. Ten samý nebo následující rok kvetla třetina z celkového množství semen (Forman et Kesseli 2003).

e) Hermafroditní rostliny zahradní variety *F. japonica* 'Variegated' produkovaly pouze 1–2 semena na jedno květenství, které čítalo více než sto květů. Jen dva semenáčky se dožily dospělosti a vykvetly. Všechny jedince *F. japonica* 'Variegated', které Forman et Kesseli (2003) spatřili, byly plodní, hermafroditní, a tak se můžou stát snadno zdrojem pylu pro invazní *F. japonica*.

f) Oproti *F. japonica* 'Variegated', byla produkce semen samičím jedincem variety *F. japonica* 'Crimson Beauty' srovnatelná s vysokou produkcí invazní *F. japonica*. Celková klíčivost těchto semen byla nižší, ale zato měly semenáčky vysokou životaschopnost. Všechny semenáče, které vyklíčily, se dožily dospělosti a všechny následně rozkvetly. Tento kultivar, vyskytující se v USA, je také možné koupit jako neinvazivní. Ovšem alarmující je zjištění, že ke vzniku semen tohoto kultivaru ve skleníku došlo díky zkřížení s planě rostoucí hermafroditní *F. japonica*. Forman et Kesseli (2003) dále v předběžném pokusu zjistili vysokou klíčivost semen vyprodukovaných potomstvem *F. japonica* 'Crimson Beauty'.

#### 4. METODIKA

Sběr semen probíhal na uschlých lodyhách *F. japonica* var. *japonica* od února do začátku března 2010 na pěti lokalitách (2 pražské, 3 západní Čechy). V tuto roční dobu se na naprosté většině porostů *F. japonica* var. *japonica* vyskytuje jen malé množství semen. Na pěti lokalitách, ze kterých byla semena sebrána, byly nažky přítomny na lodyhách ještě v hojné míře. Datum sběru, souřadnice a popis lokalit jsou uvedeny v tab. 1. Všechny lokality jsou situovány na břehu řeky, kromě Lokality 4 (Praha–Sedlec). Ta se nachází na okraji silniční komunikace. Na slunných stanovištích se nacházely Lokality 1, 4 a 5. Mateřský porost na lokalitách 2 a 3 byl pod zápojem *Alnus glutinosa* (olše lepkavá) a navíc v hlubších údolích.

Číslo lokality	Název lokality	Souřadnice	Datum sběru semen	Popis lokality
1	Karlovy Vary - Dvory	50°13'8.92"s.š. 12°50'0.80"v.d.	6.2.2010	levý břeh Ohře, 0,76 km JZ od Dvorského mostu
2	Karlovy Vary - Sv. Hubertus	50°14'26.69"s.š. 12°55'43.07"v.d.	1.3.2010	pravý břeh Ohře, u sil. komunikace K.V. - Kyselka, 2,1 km východně od čistírny odpadních vod K.V.
3	Svatava	50°12'41.47"s.š. 12°35'55.67"v.d.	21.2.2010	pravý břeh Svatavy, 2,24 km západně od kostela v Lomnici
4	Praha - Sedlec	50°7'39.77"s.š. 14°23'29.60"v.d.	25.2.2010	ulice Kamýcká, 1 km severně od zříceniny Baba, 0,25 km západně od autobusové zastávky V Sedlci
5	Praha 7 - Bubeneč	50°6'47.51"s.š. 14°25'12.89"v.d.	4.2.2010	levý břeh Vltavy, 0,65 km JV od Trojského zámku

**Tab. 1:** Číslo, název, popis a souřadnice lokalit a datum sběru semen.

Na každé lokalitě byla semena sebrána z 5 trsů, které byly od sebe navzájem vzdáleny 2–10 m. Tím byla zachycena případná variabilita semen na lokalitě (pylová dostupnost či vitalita jednotlivých trsů se mohla lišit). Variabilita mezi jednotlivými trsy v rámci lokality nebyla zkoumána. Semena byla po zbytek zimy uchována při pokojové teplotě v suché místnosti.

Pokus zkoumající klíčení a vzházení nažek sebraných z druhu *F. japonica* var. *japonica* probíhal na experimentální zahradě Botanického ústavu AV ČR. Z každého trsu bylo na začátku jara (24. 3. 2010) zaseto vždy 200 semen do jednoho květináče (o rozměru 17 x 17 cm) v němž byl přítomen jeden ze tří typů substrátů (říční písek, propařená humózní hlína a jílovitá hlína, která byla sebrána v Průhonickém parku, přímo na břehu potoka Botiče z podrostu *F. sachalinensis*). Aby semena nebyla odnesena větrem, byla zasypána co nejtěsněji vrstvičkou daného substrátu. Mocnost vrstvičky se mezi substráty lišila, jelikož jejich sypkost byla různá. V písku byla okolo 0,3 cm, v propařené hlíně 0,5 cm a v jílovité hlíně až 1 cm. V jílovité hlíně byly přítomny i menší kaménky (do průměru 1,5 cm) a hrudky.

Květináče byly seřazeny podle trsů do 5 bloků, v každém bloku po 3 řadách dle substrátů a v každé řadě byly zastoupeny všechny lokality. Ty byly v rámci řady náhodně promíchány. Celkem bylo tedy 75 květináčů (viz příloha 9). Jakmile byla zjištěna přítomnost prvních semenáčků (21.4., jejich stáří odhadem 1–5 dnů), byly spočteny zvlášť v každém květináči. Sčítání bylo prováděno celkem 5x ve 4–6ti denních intervalech. Vždy byly

spočteny všechny životaschopné rostliny. Jiné druhy rostlin, které klíčily spolu se semeny *F. japonica* var. *japonica* byly v průběhu pokusu odstraňovány, aby nedocházelo k mezidruhové konkurenci. Vyklíčení jedinci nebyli odstraňováni, a tak nelze určit celkovou klíčivost semen. Ve dnech, kdy nepršelo, byly rostliny dvakrát denně zavlažovány. Vždy ráno a večer, kvůli riziku teplotního šoku v poledních hodinách. Simulovalo se tím vlhké půdní prostředí v okolí vodních toků. Všechny statistické analýzy získaných dat byly prováděny v programu StatSoft Statistica 8.0.550. a tabulky v programu Microsoft Office Excel 2003.

Základní charakteristiky povětrnostních podmínek v době kvetení, formování a zrání semen a klíčení a vzcházení semenáčků byly následující. V Praze a v Karlovarském kraji byla teplota v září a říjnu 2009 podobná dlouhodobému průměru (z let 1961–1990), v listopadu byla ale o tři stupně vyšší, a tak podmínky pro dozrání semen byly v roce 2009 dobré. Při klíčení a vzcházení semen v dubnu 2010 byla průměrná teplota v Praze a Středočeském kraji 8,9 °C (o 0,8 °C více než dlouhodobý průměr) v květnu pak 17,3 °C (o 1 °C tepleji oproti průměru) (ČHMÚ 2012).

#### **4.1 Vyhodnocení rozdílu klíčení a vzcházení semen**

Data získaná z pěti odečtů počtu semenáčků byla vyhodnocena v programu StatSoft Statistica 8.0.550 pomocí analýzy variance (ANOVA – Repeated Measures). Pro mnohonásobné porovnání průměrů jednotlivých skupin (substráty a lokality) mezi sebou byl použit Tukey HSD test. Dále byly ověřeny předpoklady analýzy variance. Normalita dat byla ověřena grafickým znázorněním normality reziduálů. Ověření homogenity variancí proběhlo pomocí Cochran Bartlettova testu. Pro data z prvního sčítání byla zamítnuta hypotéza o homogenitě variancí, ale jen s marginální signifikací ( $p = 0,029$ ). Rozptyly dat z ostatních čtyř sčítání byly již homogenní, a proto bylo ověření předpokladů pro analýzu variance vyhodnoceno jako vyhovující. Krabicové grafy byly vytvořeny v Basic Statistics/Tables.

Úspěšnost semenáčků z různých lokalit (různých hybridních kombinací) byla porovnána se skutečným výskytem hybridních jedinců a jejich frekvencí v přírodě.

## 4.2 Klíčivost

Celkovou klíčivost sice nelze zjistit, protože vyklíčení jedinci nebyli v průběhu pokusu odstraňováni a počítáni, ale lze určit její hodnotu alespoň první kontrolní den, kdy ještě při pokusu nehrála roli mortalita jedinců. Pro vyhodnocení této klíčivosti byla použita Dvoucestná (Factorial) ANOVA. Normalita dat a homogenita variancí byla již ověřena v rámci vyhodnocení celkového rozdílu klíčení a vzházení semen (viz 4.1) Průměrné hodnoty klíčivosti semen z různých lokalit a substrátů byly mezi sebou porovnány pomocí Tukey HSD testu.

Dále je možné považovat za přibližnou hodnotu průměrné klíčivosti nejvyšší zjištěný počet semenáčků, v průběhu všech měření, v určitém květináči. V propařené a jílovité hlíně hrála mortalita značnou roli, takže by výsledek byl velmi zkreslující, oproti tomu v písku byla úmrtnost semenáčků velmi nízká. Proto byla vyhodnocena průměrná klíčivost, vycházející z maximálního počtu semenáčků v každém květináči, pouze v písku. V programu StatSoft Statistica 8.0.550 byla použita metoda One-way ANOVA. Stejně jako u předchozí analýzy variancí bylo ověření homogenity variancí vyhodnoceno Cochran Bartlettovým testem a normalita dat byla ověřena grafickým znázorněním normality reziduálů. Průměrné hodnoty klíčivosti semen z různých lokalit byly mezi sebou porovnány pomocí Tukey HSD testu. Krabicové grafy byly vytvořeny v Basic Statistics/Tables.

## 4.3 Hmotnost semenáčků na různých substrátech

Po ukončení sčítání semenáčků byly 25. 5. 2010 z každého květináče náhodně vybrány dvě rostliny, bez ohledu na to, v jakém vývojovém stadiu se nacházely a byla odstraněna celá jejich nadzemní část. Následovalo sušení v průběhu dvou dnů při teplotě 80 °C. Nakonec byly vzorky zváženy na elektronické váze s přesností 0,0001 g.

Vyhodnocení proběhlo pomocí neparametrické obdoby ANOVy – Kruskal-Wallisova testu, neboť byly velké rozdíly mezi rozptyly jednotlivých substrátů. Pro mnohonásobné porovnání průměrných hmotností semenáčků z různých substrátů posloužila funkce Multiple comparisons, která je součástí procedury Kruskal-Wallisova testu v programu StatSoft Statistica 8.0.550.

Možný rozdíl hmotnosti mezi semenáčky z různých lokalit nebyl bohužel brán v potaz. Pro důvěryhodný výsledek by musel být vybrán větší počet semenáčků.



#### 4.4 Určení původu hybridního potomstva

Protože je po celé Evropě rozšířen pouze jediný samičí klon *F. japonica* var. *japonica* (nemá zde žádnou genetickou variabilitu (Mandák et al. 2005)), musí být všechna semena, která tento taxon produkuje, hybridního původu. Další cílem této diplomové práce bylo určit, jaké hybridní kombinace vznikaly na různých lokalitách.

Po ukončení růstového pokusu byly (31. 5. 2010) z každého květináče náhodně vybrány tři rostliny a jednotlivě přesazeny (z důvodu lepší identifikace a kvůli růstu). Při výběru nebylo bráno v potaz to, jakým způsobem je semenáč vyvinutý. Byli přesazeni i jedinci malého věku. Pomocí průtokové cytometrie bylo u těchto 225 jedinců (45 z každé lokality) stanoveno relativní celkové množství jaderné DNA v poměru ke standardu. Dále byla analýze podrobena *F. japonica* var. *japonica* a potenciální donoři pylu (hexaploidní *F. × bohemica*, tetraploidní *F. sachalinensis*, oktaploidní *F. sachalinensis*, *F. aubertii* a *Fallopia dumetorum* (opletká křovištní)). Původ hybridního potomstva byl určen následujícím způsobem. Sečtením polovin zjištěných hodnot (jejich redukovaných gamet) relativního množství DNA samičí *F. japonica* var. *japonica* a potenciálních samčích rostlin, byly zjištěny hodnoty, jež byly dále porovnány s hodnotami relativního obsahu DNA hybridního potomstva.

Stanovení relativního obsahu jaderné DNA bylo provedeno v Laboratoři průtokové cytometrie Botanického ústavu AV ČR v Průhonicích, pomocí průtokového cytometru Partec Ploidy Analyzer II. Při analýze byla použita metodika přípravy vzorků dle Otta (1990). Materiálem pro analýzu bylo listové pletivo z čerstvých, nepoškozených listů křídlatek a opletek. Zhruba 0,5 cm<sup>2</sup> vzorku a 0,1 cm<sup>2</sup> interního standardu *Bellis perennis* (sedmikráska obecná) bylo rozsekáno ostrou žiletkou v petriho misce v 0,5 ml vychlazeného pufru Otto I.

##### Otto 1

0,1M – monohydrát kyseliny citrónové	4,2g
0,5 % (v/v) Tween 20	1 ml
H <sub>2</sub> O	200 ml

Poté byl vzorek přefiltrován přes síťovinu Uhelon (průměr ok 42 μm). Ještě před vlastní analýzou v cytometru byl do vzorku přidán 1 ml pufru Otto II s AT selektivním fluorochromem DAPI. DAPI produkuje histogramy s vysokou přesností a rozlišovací

schopností a je dobře použitelný pro detekci malých rozdílů v množství jaderné DNA (Suda et al. 2010).

#### Otto II

Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 12H <sub>2</sub> O (0,4M)	28,65 g
H <sub>2</sub> O	200 ml

#### DAPI

Otto II	10 ml
DAPI (zásobní roztok, 1 mg/ml)	400 µl
β-merkaptoetanol	20 µl

Vyhodnocení získaných histogramů bylo provedeno v programu FloMax 2.0 (Partec). Klíčovým parametrem, který určuje přesnost proběhnuté cytometrické analýzy je tzv. variační koeficient (CV). Jeho hodnota se vypočítá jako podíl směrodatné odchylky a průměrné pozice píku. Vzhledem k velkému počtu vzorků nebyla stanovena maximální přípustná hodnota CV, při které byl výstup z analýzy dále použit pro identifikaci hybrida. Pokud nebyl výstup analýzy (subjektivně) vyhodnocen jako dostatečně kvalitní, byl zkoumaný jedinec podroben další analýze. Největší hodnoty dosáhl CV 4,68. Pouze v 6 % byla hodnota CV větší než 4 a v 74 % případů tato hodnota nepřesáhla 3.

#### **4.5 Rozdíl v obsahu jaderné DNA mezi hybridními taxony**

V programu StatSoft Statistica 8.0.550. bylo ověřeno, zda jsou statisticky průkazné rozdíly mezi zjištěným relativním obsahem jaderné DNA subjektivně vylišených skupin. Z celkového spektra naměřených hodnot bylo vyliшено celkem pět skupin (každá představuje jiný hybridní taxon). Z důvodu nevyváženého rozložení dat byl použit General Linear Model (GLM). Mnohonásobné porovnání průměrů bylo provedeno Tukey HSD testem. Krabicový graf byl vytvořen v rámci procedury GLM.

#### 4.6 Uchování exemplářů

U všech rostlin, které byly pomocí průtokové cytometrie identifikovány, byly zaherbářovány celé jejich nadzemní části. Růst semenáčů byl ukončen 6. 10. 2010. Herbářové položky jsou uchovány v BÚ v Průhonicích. Sledy – popisky jednotlivých položek obsahují záznamy o lokalitě na níž byla semena sebrána, původ křížence a jeho odhadnutou plodní úroveň a dále i kód, díky kterému je možné nalézt na CD vloženém k diplomové práci výsledek průtokové cytometrie (histogram i vyhodnocený relativní obsah DNA vůči standardu (*Bellis perennis*)). Herbářové položky hybridního potomstva, které dnes těžko prochází sítím přírodního výběru, v souvislosti s výsledky této diplomové práce, mohou v budoucnu osvětlit, pokud se začnou v přírodě prosazovat nějaké další genotypy, k jakým změnám v pohlavním rozmnožování *F. japonica* var. *japonica* došlo.

#### 4.7 Sledování výskytu a rozšíření potenciálních donorů pylu

Dále v rámci výzkumu probíhal monitoring rozšíření a výskytu rostlin, jejichž samčí gamety se podílely na vzniku semen *F. japonica* var. *japonica*. Monitoring probíhal na podzim 2010 a v průběhu roku 2011. Na každé lokalitě bylo podrobně prohledáno s mapou přibližně kruhové území o poloměru 0,5 km. V případě nalezení pylového zdroje, jenž plně nevysvětloval celkovou variabilitu opylení, nebo v případě, kdy nebyl nalezen zdroj žádný, bylo již méně důkladně prohledáváno okolní území (někdy až do vzdálenosti 2,5 km od místa sběru semen). Plocha zdrojového porostu byla odhadnuta na základě přibližného měření a v některých vhodných případech (absence stromového patra) pomocí vyhodnocení satelitních snímků, přístupných na internetu ([maps.google.cz](http://maps.google.cz)). Monitoring nebyl prováděn na zalesněném území (absence výskytu křídlatek), pokud se ovšem nenacházel v nivách vodních toků a dále nebylo mnohdy možné vyvrátit výskyt původce pylových zrn na některých soukromých pozemcích, zahradách, či přímo v zahrádkářských koloniích. Výskyt potenciálních donorů pylu byl v terénu porovnán s tím, jakou měrou se podílely na vzniku semen.

## 5. VÝSLEDKY

### 5.1 Klíčení a vzcházení semenáčků

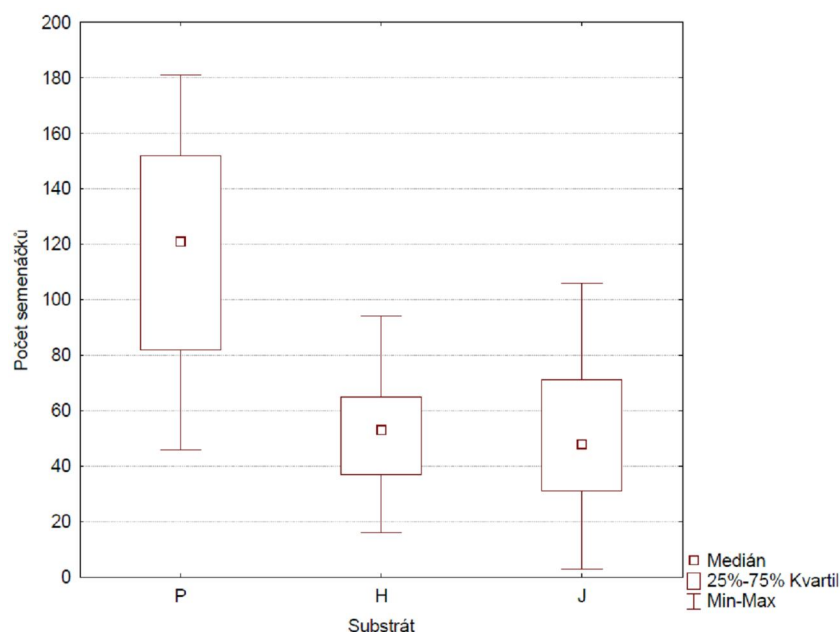
První semenáčky začaly klíčit zhruba 16. 4. 2010, to znamená přibližně tři týdny po zasetí. Již při prvním sčítání dosahovala klíčivost v některých květináčích (v písku, Lokalita 4) více než 70 %. První pravé asimilační listy se začaly objevovat v propařené hlíně 30. 4. 2010 (třetí kontrolní den). Oproti tomu se zdá že v písku semenáčky v růstu stagnují, pravé listy se ale o něco později vytvoří i u nich. Počet vyklíčených semenáčků se v průběhu času měnil v závislosti na daném substrátu a lokalitě (viz obr. 6).

Pomocí ANOVy – Repeated Measures bylo vyhodnoceno, jak se lišil počet semenáčků na různých substrátech původem z různých lokalit v průběhu pěti kontrolních dnů. Vliv všech faktorů a i všechny interakce mezi faktory vyšly průkazně (viz tab. 2).

Zdroj variability	SS	Degr. of freedom	MS	F	p
Substrát	373277	2	186638	138,718	0,000000
Lokalita	118425	4	29606	22,005	0,000000
Substrát*Lokalita	22805	8	2851	2,119	0,047678
Nevysvětlená variabilita	80727	60	1345		
Čas	1253	4	313	3,75	0,005581
Čas*Substrát	25962	8	3245	38,864	0,000000
Čas*Lokalita	5390	16	337	4,035	0,000001
Čas*Substrát*Lokalita	5553	32	174	2,078	0,001067
Nevysvětlená variabilita	20041	240	84		

**Tab. 2:** Výsledek ANOVy – Repeated Measures. SS (suma čtverců), Degr. of freedom (počet stupňů volnosti), MS (průměrná velikost čtverce), F (hodnota testovacího kritéria), p (dosažená hladina významnosti).

Pro následující výsledky byla data vyhodnocena bez efektu času. Mnohonásobným porovnáním průměrných počtů semenáčků (Tukey HSD test) bylo zjištěno, že mezi pískem a propařenou hlínou i pískem a jílovitou hlínou se průměry lišily na stejné, velmi významné hladině ( $p = 0,0001$ ). Statisticky významný rozdíl nebyl nalezen mezi propařenou a jílovitou hlínou. Samotný efekt substrátu vysvětlil většinu (63 %) variability v datech.



**Obr. 5:** Rozdíly v počtu semenáčků zjištěných v různých substrátech. P (písek), H (propařená hlína), J (jílovitá hlína).

Počet semenáčků se velmi lišil mezi jednotlivými lokalitami (bez ohledu na substrát a kontrolní den). Výsledky mnohonásobného porovnání průměrných počtů semenáčků z různých lokalit jsou uvedeny v tab. 3. Samotný efekt lokality vysvětlil 20 % variability v datech. Důvod rozdílného klíčení a vzcházení semenáčků z různých lokalit je popsán v kapitole 5.5

Lokalita	Průměr ± SD	Skupina
2	45,7 ± 24,6	a
3	61,3 ± 38,1	ab
5	75,7 ± 35,1	bc
1	88,7 ± 42,4	cd
4	94,1 ± 46,3	d

**Tab. 3:** Výsledky mnohonásobného porovnání průměrných počtů semenáčků (Průměr) z různých lokalit, bez ohledu na kontrolní den a substrát (Tukey HSD test). Lokality, v jejichž skupině je přítomno stejné písmeno, jsou navzájem neprůkazně odlišné ( $p > 0,05$ ). Popis lokalit je uveden v tab. 1 a vznik hybridních taxonů na jednotlivých lokalitách je uveden v tab. 9. Počet zasetych semen v jednom květináči je 200.

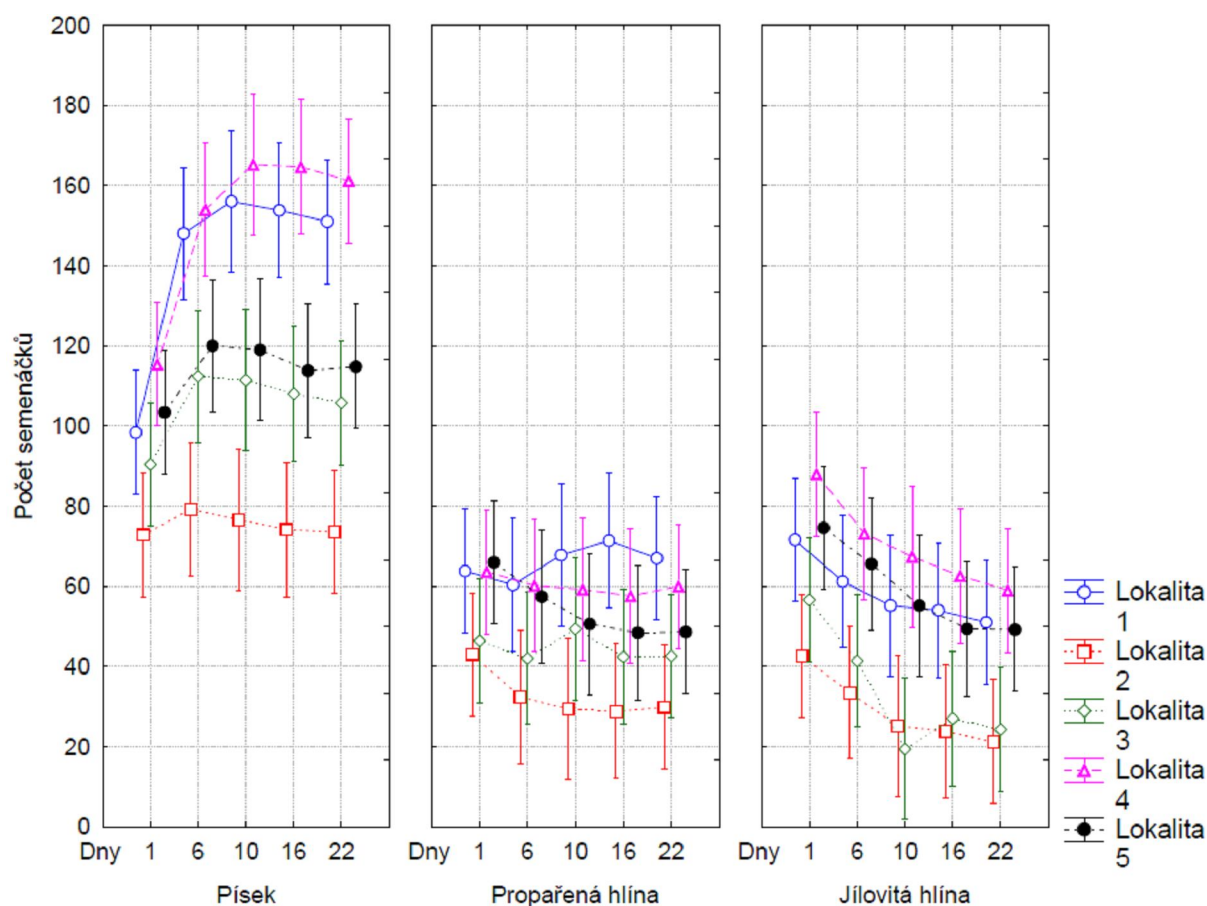
Průměrné počty semenáčků z různých lokalit se mezi sebou liší různě v různých substrátech (Substrát\*Lokalita;  $p = 0,05$ ) viz tab. 4. Faktor lokality hraje větší roli v písku než v propařené a jílovité hlíně. V písku bylo nalezeno pět signifikantních rozdílů mezi průměrnými počty semenáčků z různých lokalit, v jílovité hlíně jeden a v propařené hlíně se

mezi sebou nelišily. Interakce mezi těmito dvěma faktory vysvětlila jen 4,5 % variability v datech.

Substrát	Lokalita	Průměr ( $\pm$ SD)	Skupina
J	2	29,2 $\pm$ 12,5	a
J	3	33,7 $\pm$ 20,2	abc
J	1	58,6 $\pm$ 19,2	abcd
J	5	58,8 $\pm$ 21,1	abcd
J	4	70,0 $\pm$ 20,6	cde
H	2	32,7 $\pm$ 10,4	ab
H	3	44,6 $\pm$ 16,3	abcd
H	5	54,2 $\pm$ 18,6	abcd
H	4	60,1 $\pm$ 11,1	abcd
H	1	66,1 $\pm$ 12,4	bcd
P	2	75,3 $\pm$ 15,2	de
P	3	105,6 $\pm$ 26,0	ef
P	5	114,2 $\pm$ 25,9	f
P	1	141,4 $\pm$ 25,6	fg
P	4	152,1 $\pm$ 27,3	g

**Tab. 4:** Výsledky mnohonásobného porovnání průměrů (Tukey HSD test) jednotlivých lokalit na různých substrátech. Lokality, v jejichž skupině je přítomno stejné písmeno, jsou navzájem neprůkazně odlišné ( $p > 0,05$ ). Z tabulky je vidět, že se lokality mezi sebou lišily mnohem více v písku než v jiných substrátech. Substrát (J) jílovitá hlína, (H) propařená hlína, (P) písek. Lokality jsou popsány v tab. 1 a frekvence vzniku hybridních taxonů na jednotlivých lokalitách je uvedena v tab. 9.

Pokud byly zjištěné počty životaschopných semenáčků vyhodnoceny společně s efektem času, jsou výsledky následující. Interakce substrátu a času vysvětlila 46 % variability v datech. Vzájemné působení mezi vlivem času a lokality osvětlilo 10 % variability, stejně jako interakce všech tří faktorů dohromady. To znamená, že se počet semenáčků měnil v průběhu času odlišně hlavně na různých substrátech, ale také různě u semenáčků z různých lokalit a dále, že se také měnil různým způsobem, závislejícím na konkrétním substrátu a konkrétní lokalitě (viz obr. 6).



**Obr. 6:** Změna počtu semenáčků původem z různých lokalit na jednotlivých substrátech v průběhu času. Vertikální čára udává 95 % interval spolehlivosti (konfidenční interval), jednotlivé značky pak udávají průměrné hodnoty počtu životaschopných semenáčků. Lokality jsou popsány v tab. 1 a frekvence vzniku hybridních taxonů na jednotlivých lokalitách je uvedena v tab. 9.

V písku se počty semenáčků nejdříve zvýšily a následně začaly mírně klesat, buď třetí nebo čtvrtý kontrolní den, v závislosti na lokalitě. Oproti tomu v jílovité hlíně byl na všech lokalitách největší počet v průměru první kontrolní den a poté se ihned prudce snižoval. V propařené hlíně nebylo snižování tak markantní a na některých lokalitách bylo zaznamenáno i zvýšení počtu v některých časových úsecích. Ačkoli semenáče vzcházely lépe v propařené hlíně, než v jílovité, nebyl rozdíl mezi jejich průměrnými počty signifikantní, jelikož překvapivě byly první kontrolní den v jílovité hlíně na všech lokalitách (kromě Lokality 2) vyšší počty semenáčků než v propařeném substrátu. Ačkoli se v písku na Lokality 1 a 4 velmi zvyšoval počet druhý a třetí kontrolní den, na Lokality 2 se počet semenáčků téměř nezvýšil. Klíčivost a vzcházení semen z různých lokalit koreluje s tím, jaké hybridní taxony a s jakými frekvencemi na lokalitách vznikaly (viz tab. 9).

## 5.2 Klíčivost

První kontrolní den, kdy ještě v žádném substrátu nehrála roli mortalita jedinců, odpovídá zjištěný počet semenáčků v květináči klíčivosti semen. Stáří semenáčků bylo odhadem 1–5 dnů. Výsledek Dvoucestné (Factorial) ANOVy je uveden v tab. 5. Při porovnání průměrných hodnot klíčivosti semen v různých substrátech pomocí Tukey HSD testu, byl nalezen signifikantní rozdíl jen mezi pískem a jílovitou hlínou a pískem a propařenou hlínou. Klíčivost semen byla nejvyšší v písku (průměrně 48 %), nižších hodnot dosahovala v propařené a jílovité hlíně (v průměru 28 a 33 %). Maximální zaznamenaná klíčivost první kontrolní den byla více než 70 % (Lokalita 4, písek). Rozdíly v klíčivosti, vycházející z počtu semenáčků první kontrolní den, mezi jednotlivými lokalitami zachycuje tab. 6. V tuto dobu nebyl rozdíl mezi počtem semenáčků z různých lokalit tak markantní jako později (viz obr. 6).

Zdroj variability	SS	Degr. of freedom	MS	F	p
Substrát	5267,9	2	2634	35,392	0,000000
Lokalita	3114,7	4	778,7	10,463	0,000002
Substrát*Lokalita	269,8	8	33,7	0,453	0,883759
Nevysvětlená variabilita	4465,4	60	74,7		

**Tab. 5:** Výsledek Dvoucestné ANOVy vyhodnocující klíčivost semen, která vychází z počtu semenáčků první kontrolní den. SS (suma čtverců), Degr. of freedom (počet stupňů volnosti), MS (průměrná velikost čtverce), F (hodnota testovacího kritéria), p (dosažaná hladina významnosti).

Lokalita	Klíčivost	SD	Skupina
2	26,4 %	9,06	a
3	32,2 %	13,32	ab
1	39,0 %	10,37	bc
5	40,7 %	11,25	bc
4	44,5 %	14,85	c

**Tab. 6:** Průměrné hodnoty klíčivosti (vycházející z počtu semenáčků první kontrolní den) semen z různých lokalit. Lokality jsou popsány v tab. 1 a frekvence vzniku hybridních taxonů na jednotlivých lokalitách je uvedena v tab. 9.



Výsledek Jednocestné ANOVy klíčivosti, která vychází z maximálních počtů semenáčků v průběhu 5 kontrolních měření v písku (viz 4.2), je uveden v tab. 7 a průměrné hodnoty klíčivosti semen z různých lokalit jsou v tab. 8. Lokality se od sebe lišily stejným způsobem, ať už byly mezi sebou porovnávány na základě této klíčivosti, nebo na základě průměrných počtů semenáčků v průběhu 5 kontrolních dnů (viz 5.1). Nejvyšší klíčivost vůbec byla zaznamenána druhý kontrolní den (Lokalita 4, písek) 90,5 %. Rozdílná klíčivost semen z různých lokalit koresponduje s tím, jaké hybridní taxony na lokalitách vznikaly (viz 5.5).

Zdroj variability	SS	Degr. of freedom	MS	F	p
Lokalita	6107,8	4	1526,9	14,4296	0,000011
Nevysvětlená variabilita	2116,4	20	105,8		

**Tab. 7:** Výsledek Jednocestné ANOVy klíčivosti, zjištěné z maximální hodnoty počtu semenáčků v písku. SS (suma čtverců), Degr. of freedom (počet stupňů volnosti), MS (průměrná velikost čtverce), F (hodnota testovacího kritéria), p (dosažaná hladina významnosti).

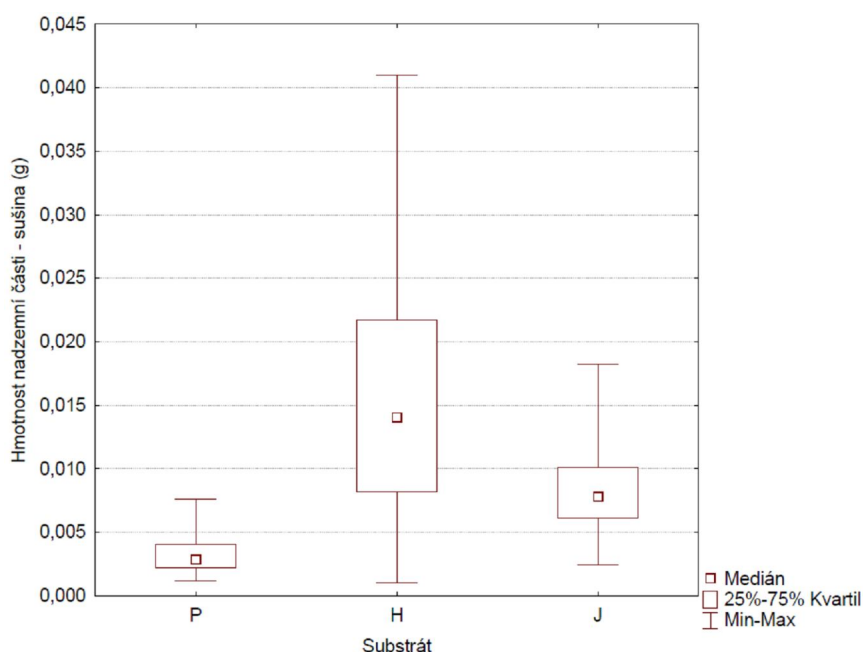
Lokalita	Klíčivost	SD	Skupina
2	39,8 %	8,52	a
3	57,7 %	13,51	ab
5	60,8 %	13,58	bc
1	79,0 %	3,28	cd
4	83,0 %	8,88	d

**Tab. 8:** Průměrné hodnoty klíčivosti semen z různých lokalit v písku (viz Metodika). Stejně písmeno ve Skupině značí nesignifikantní rozdíl mezi lokalitami ( $p = 0,05$ ), SD = směrodatná odchylka. Lokality jsou popsány v tab. 1 a frekvence vzniku hybridních taxonů na jednotlivých lokalitách je uvedena v tab. 9.

### 5.3 Hmotnost semenáčů na různých substrátech

V době odstřihávání nadzemních částí rostlin na konci května, některé semenáčky teprve klíčily, měly tedy ještě děložní listy, jiné byly už značně vyvinuté. Hodnoty hmotnosti sušiny tedy zdaleka nevystihují, jaké průměrné hmotnosti semenáče dosáhly po měsíci růstu v různých substrátech.

Pomocí funkce Multiple comparisons of mean ranks for all groups, která je součástí procedury Kruskal-Wallisova testu, bylo zjištěno, že se hmotnost semenáčků pěstovaných v písku liší na velmi významné hladině ( $p = 0,0000001$ ) od pěstovaných v propařené a jílovité hlíně. Semenáčky v propařené hlíně měly signifikantně větší hmotnost od těch v jílovité, avšak již na mnohem menší hladině významnosti ( $p = 0,05$ ). Nejnížší hodnoty v propařené a jílovité hlíně představují přítomnost čerstvě vyklíčených semenáčků, oproti tomu v písku se čerstvě vyklíčení jedinci téměř nevyskytovali a nízkou hmotnost si zachovávali po dlouhou dobu.



**Obr. 7:** Hmotnost sušiny nadzemních částí semenáčků na různých substrátech. P (písek), H (propařená hlína), J (jílovitá hlína).

#### 5.4 Vyhodnocení původu hybridních jedinců

Bez ohledu na jednotlivé lokality byla celkově nejčastějším paternálním taxonem tetraploidní ( $4x$ ) *F. sachalinensis* (39 %). Tento způsob křížení, při němž vzniká hexaploidní ( $2n=6x=66$ ) *F. × bohémica* nebyl zaznamenán pouze na Lokalitě 5.

Druhý nejčastější (27 %) byl vznik zpětného křížence heptaploidní ( $2n=7x=77$ ) *F. × bohémica* (splynutí s redukovanými gametami hexaploidní ( $6x$ ) *F. × bohémica*)

Tříkrát méně častěji (9 %) docházelo ke splynutí s nereduovanými gametami  $6x$  *F. × bohémica*, přičemž vznikala dekaploidní ( $2n=10x=110$ ) *F. × bohémica*.

Poměrně často (21 %) docházelo ke vzniku oktoploidní ( $2n=8x=88$ ) *F. × bohemica*, přičemž paternálním taxonem byla oktoploidní ( $8x$ ) *F. sachalinensis*.

V nejmenší míře, celkově pouze ze 4 %, docházelo ke křížení s diploidní ( $2n=2x=20$ ) *F. aubertii* za vzniku pentaploidní ( $2n=5x=54$ ) *F. × conollyana*.

Data získaná z průtokové cytometrie odhalila velký rozdíl v původu semenáčků z různých lokalit (viz tab. 9). Celkem bylo analyzováno 225 vzorků, z každé lokality 45 náhodně vybraných jedinců. Rozdíl ve vzniku hybridních jedinců na jednotlivých lokalitách je rozebrán společně s popisem dostupnosti pylových zdrojů v diskusi.

Donor pylu	Lokalita 1	Lokalita 2	Lokalita 3	Lokalita 4	Lokalita 5
n 2x <i>F. aubertii</i>	17,8 %	-	-	2,2 %	-
n 6x <i>F. × bohemica</i>	2,2 %	68,9 %	64,4 %	-	-
2n 6x <i>F. × bohemica</i>	4,4 %	28,9 %	11,1 %	-	-
n 4x <i>F. sachalinensis</i>	75,6 %	2,2 %	24,4 %	93,3 %	-
n 8x <i>F. sachalinensis</i>	-	-	-	4,4 %	100 %

**Tab. 9:** Zastoupení donorů pylu na různých lokalitách. n = redukované, 2n = neredukované gamety; Xx = ploidní úroveň. Lokality jsou očíslovány a popsány v tab. 1.

### 5.5 Klíčení a vzcházení semen z různých lokalit v souvislosti s jejich vznikem

Zjištěné procentuální zastoupení různých hybridních taxonů na lokalitách očividně koresponduje s tím, jak klíčila a vzcházela semena z různých lokalit. Díky vzniklému procentuálnímu zastoupení lze s jistotou říci, že klíčení a vzcházení různých kříženců se od sebe navzájem liší. Konkrétně byly nalezeny signifikantní rozdíly mezi klíčením a vzcházením semen z Lokalit 2, 4, a 5, kde vznikla semena křížením s různými taxony.

Nejvyšších průměrných hodnot (ať už je brána klíčivost semen (viz 5.2) nebo celkový počet semenáčků bez ohledu na kontrolní den a substrát (viz 5.1)) dosáhli kříženci z Lokality 4. Průtoková cytometrie ukázala, že v naprosté většině (93,3 %) se jednalo o 6x *F. × bohemica*.

Semena z Lokality 5, kde 100 % ze zkoumaných jedinců bylo určeno jako 8x *F. × bohemica*, klíčila a vzcházela signifikantně hůře.

Statisticky průkazně nejméně životaschopná byla semena z Lokality 2, kde se z 97,8 % jednalo o zpětné křížence (heptaploidní (7x) a dekaploidní (10x) *F. × bohemica*). Tyto nažky klíčily a vzcházely více než dvakrát hůře než semena z Lokality 4.

Klíčení a vzcházení semen z Lokality 4, se signifikantně nelišilo pouze od druhé nejmúspěšnější Lokality 1, na které byla taktéž většina jedinců (75,6 %) určeno jako 6x *F. × bohemica*. Zbylý podíl na Lokalitě 1 pak tvořila *F. × conollyana* a v malé míře také zpětní kříženci (7x a 10x *F. × bohemica*).

Semena z Lokality 3, kde většina (75,6 %) zpětných kříženců (7x a 10x *F. × bohemica*) byla promíchána s menším zastoupením (24,4 %) 6x *F. × bohemica*, klíčila a vzcházela lépe než téměř čistá (97,8 %) semena zpětných kříženců (7x *F. × bohemica*) z Lokality 2, ale zase o něco hůře než semena 8x *F. × bohemica* (Lokalita 5). Tyto rozdíly však již nebyly statisticky průkazné. Pro přehlednost jsou níže shrnuty signifikantní rozdíly v klíčení a vzcházení hybridních semen.

$6x F. \times bohemica \ggg 8x F. \times bohemica \ggg 7x \text{ a } 10x F. \times bohemica$

Jak dobře klíčila a vzcházela semena *F. × conollyana* lze odhadnout pouze výpočtem, neboť největší procentuální zastoupení *F. × conollyana* (na Lokalitě 1) bylo poměrně nízké - jen 17,8 %. Přibližná průměrná hodnota počtu semenáčků, pokud by byla k dispozici čistá semena *F. × conollyana*, byla určena pomocí dvou soustav rovnic o třech neznámých. Pro výpočet byly použity průměrné hodnoty počtu semenáčků (viz tab. 3) a procentuální zastoupení kříženců na lokalitách (viz tab. 9). Předpokladem bylo, že se neliší životaschopnost semen stejných kříženců na různých lokalitách. To bylo potvrzeno dodatečnou výpočetní zkouškou. Dalším předpokladem pro tento výpočet bylo, že se životaschopnost 7x a 10x zpětných kříženců od sebe neliší. Ze dvou rovnic (rovnice Lokalita 2 a 3) o dvou neznámých byla vypočtena hodnota průměrného počtu semenáčků, pokud by byla zasetá pouze semena zpětných kříženců. Tento výsledek byl dosazen do rovnice Lokalita 1 a v soustavě s rovnicí Lokalita 4 byla určena hodnota průměrného počtu semenáčků v jednom květináči pro *F. × conollyana* na 77,1, pokud by byla zasetá semena pouze tohoto taxonu. To je hodnota o něco málo vyšší než průměrný počet semenáčků 8x *F. × bohemica* z Lokality 5.

Lokalita 2:  $0,978 (7x, 10x F. \times bohemica) + 0,022 (6x F. \times bohemica) = 45,7$

Lokalita 3:  $0,766 (7x, 10x F. \times bohemica) + 0,244 (6x F. \times bohemica) = 61,3$

$(7x, 10x F. \times bohemica) = 44,2$

Lokalita 1:  $0,066 \times 44,2 + 0,756 (6x F. \times bohemica) + 0,178 \times (F. \times conollyana) = 88,7$

Lokalita 4:  $0,044 \times 75,7 + 0,933 (6x F. \times bohemica) + 0,022 \times (F. \times conollyana) = 94,1$

$(F. \times conollyana) = 77,1$

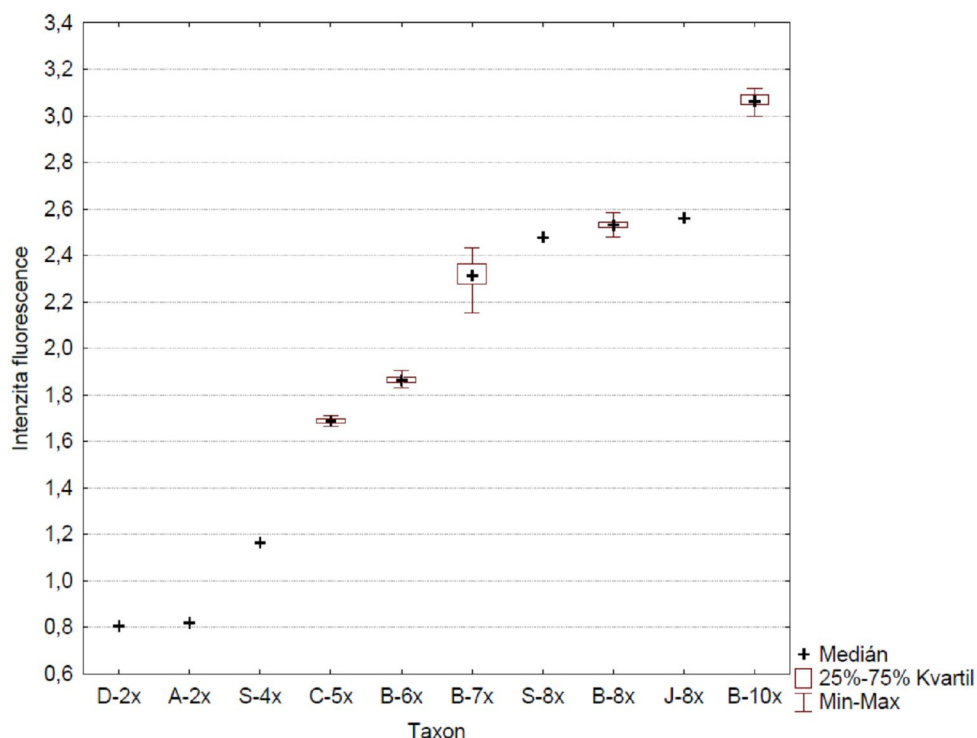
Pro zkoušku, jestli se od sebe neliší klíčení a vzcházení semen  $6x F. \times bohemica$  z Lokalit 1 a 4, byla do obou rovnic dosazena vypočítaná hodnota pro  $F. \times conollyana$  (77,1). V rovnici Lokality 1 vyšla poté hodnota 95,3 semenáčků a v rovnici Lokality 4 95,5 semenáčků. Je tedy možné říci, že pokud by hodnota průměrného počtu semenáčků pro čistá semena  $F. \times conollyana$  byla 77,1, bylo by klíčení a vzcházení semen  $6x F. \times bohemica$  z Lokalit 1 a 4 prakticky totožné.

## 5.6 Rozdíl v obsahu jaderné DNA mezi hybridními a rodičovskými taxony

Celkem bylo vyhodnoceno 5 skupin hybridních taxonů, které se navzájem nepřekrývaly. Tyto rozdíly ve velikosti genomu jsou tedy druhově (taxonomicky) specifické. Hybridní taxony se na základě relativního obsahu jaderné DNA od sebe navzájem lišily všechny na hladině významnosti  $p = 0,00001$ . Počet měření relativního obsahu jaderné DNA rodičovských taxonů byl velmi malý. Ve většině případů byl rodičovský taxon podroben pouze jedné analýze obsahu jaderné DNA. Je to však dostačující údaj pro určení jejich paternity. Kříženci vykazovali intermediární postavení mezi rodiči. K překryvu hodnot došlo pouze u 3 jedinců (celkem ze 46)  $8x F. \times bohemica$  s  $8x F. japonica$  var. *japonica*. Histogramy u těchto 3 hybridů nemají jasně zřetelný peak. To je pravděpodobně důvod, proč hodnota obsahu jaderné DNA mateřského taxonu byla menší než hodnota těchto 3 kříženců, která by se měla, stejně jako u všech ostatních hybridních jedinců, zákonitě pohybovat v rozmezí mezi rodiči.

Obsah jaderné DNA u *F. dumetorum* a *F. aubertii* byl téměř totožný, přestože si jsou morfologicky méně podobné než *F. dumetorum* s *F. convovulus*. Z tohoto důvodu již nebyla

*F. convovulus* podrobena analýze, neboť je zřejmé, že bude mít obsah jaderné DNA velmi podobný.



**Obr. 8:** Intenzita fluorescence (relativní obsah jaderné DNA) hybridního potomstva a rodičovských taxonů. Hodnoty intenzity fluorescence jsou v poměru k internímu standardu (*Bellis perennis*). Taxon D (*F. dumetorum*), A (*F. aubertii*), S (*F. sachalinensis*), J (*F. japonica* var. *japonica*), B (*F. × bohémica*), C (*F. × conollyana*), Xx vyjadřuje ploidní úroveň.

Taxon	Počet	Průměr	Min	Max	SD
D-2x	1	0,805			
A-2x	1	0,820			
S-4x	2	1,165			
C-5x	9	1,687	1,664	1,712	0,016
B-6x	88	1,866	1,831	1,905	0,017
B-7x	61	2,317	2,154	2,435	0,059
S-8x	1	2,477			
B-8x	47	2,531	2,479	2,586	0,021
J-8x	1	2,560			
B-10x	20	3,064	3,000	3,120	0,034

**Tab. 10:** Průměrné hodnoty intenzity fluorescence (Průměr) hybridního potomstva a rodičovských taxonů. Taxon D (*F. dumetorum*), A (*F. aubertii*), S (*F. sachalinensis*), J (*F. japonica* var. *japonica*), B (*F. × bohémica*), C (*F. × conollyana*), Xx vyjadřuje ploidní úroveň. Počet znamená počet jedinců, kteří byly podrobeni průtokové cytometrii. U rodičovských taxonů nejsou uvedeny minimální (Min) a maximální (Max) hodnoty a směrodatná odchylka (SD) z důvodu malého počtu jedinců, kteří byly podrobena analýze relativního obsahu jaderné DNA.

## 6. DISKUSE

### 6.1 Plodnost

Podle Bímové et al. (2008 (nepubl.)) se na jedné rostlině *F. japonica* var. *japonica* nachází jen v průměru 50–300 semen. Při sběru semen v rámci této diplomové práce byla pozorována mnohem větší produkce. Nejvíce semen bylo na rostlinách na Lokalitách 4 a 5. Přestože velké množství semen muselo být v únoru již opadané, nebyl problém, na těchto dvou lokalitách, nasbírat na jednom trsu zhruba 15 000 semen. Podobné množství pozoroval Tiébré et al. (2007) a to 361–3680 semen na m<sup>2</sup>.

### 6.2 Vznik hybridních jedinců v porovnání s dostupností pylových zdrojů

Opylení rostlin zajišťuje především *Apis mellifica* (včela medonosná) a také druhy rodu *Bombus* (čmelák). Čím vzdálenější je rozkvetlý porost určitého druhu rostliny od včelnice, tím menší je naděje na dostatečné opylení všech květů. Z toho vyplývá, že čím vzdálenější jsou od sebe rostliny téhož druhu, tím více se snižuje šance na výměnu pylu mezi nimi. Počet včel se na *Trifolium pratense* (jetel luční) zmenšuje o 3,7 % na každých 100 m vzdálenosti od včelína. Do vzdálenosti 2,7 km doletují včely jen zcela ojediněle a nezajišťují opylení. Nejdokonalejší opylení (to je 100 %) je zajištěno v okruhu 100 m. Poloměr 2 km je možné považovat za krajní mez, ve kterém ještě včela pracuje s poměrným užitekem (Tomšík et al. 1955). Porovnání dostupnosti různých pylových zdrojů, závisí také na tom, kde se včelí maternálnímu a paternálnímu taxonu nachází včelín. Pokud v ideálním případě leží přímo mezi rodičovskými porosty, pak mohou teoreticky včely provádět opylování s poměrným užitekem ještě na vzdálenost 4 km.

Ve Velké Británii nejčastěji dochází ke vzniku *F. × conollyana* (Bailey 1989). V Belgii vznikal tento kříženec ve 25 % případů (Tiébré et al. 2007). Dokonce v jednom extrémním případě, proti všem očekáváním, semena sebraná z *F. japonica* var. *japonica*, přímo sousedící s porostem tetraploidní (4x) *F. sachalinensis*, vznikla zkřížením s *F. aubertii* a nikoli s 4x *F. sachalinensis* (Bailey 1989). Při výzkumu této diplomové práce, však tento kříženec vznikal s nejnižší frekvencí (pouze 4 % z celkového počtu 225 jedinců z pěti lokalit). Oproti tomu se například Koukolíková (2001) domnívá, že je to i u nás nejčastěji se vyskytující kříženec invazního rodu *Fallopia* v semenech. *F. aubertii* se totiž v ČR poměrně

hojně pěstuje na zahradách a má hned po oktoploidní (8x) *F. × bohemica* nejlepší klíčivost pylových zrn na bliznách *F. japonica* var. *japonica*.

Pokud srovnáme frekvenci vzniku hybridních jedinců s dostupností pylových zdrojů na Lokalitě 5 (viz tab. 11), byly zde porosty *F. aubertii* asi čtyřikrát více vzdálené, ale plochou srovnatelné s velikostí porostů 4x *F. sachalinensis*. Přesto byl vznik *F. × conollyana* na Lokalitě 5 zaznamenán pouze ze 2,2 % (jeden jedinec) a v naprosté většině (93,3 %) došlo ke splynutí s redukovanými gametami 4x *F. sachalinensis*. Navíc 8x *F. sachalinensis* se zasloužila o vznik semen více (4,4 %) než *F. aubertii*, a přitom byl nalezen pouze jeden porost 8x *F. sachalinensis* ve velké vzdálenosti (2,6 km) od mateřského porostu. Oproti tomu na Lokalitě 1 se zdá, že *F. japonica* var. *japonica* zde na svých bliznách selektovala pyl *F. aubertii* přibližně stejnou měrou jako pyl 4x *F. sachalinensis*. Poměrně ve velké vzdálenosti (0,8 a 1,2 km) od mateřské *F. japonica* var. *japonica* se nacházely jen velmi malé porosty *F. aubertii* a 1,5 km daleko byl nalezen jeden velmi rozsáhlý porost 4x *F. sachalinensis*. Nejčastějším donorem pylu na této lokalitě byla právě 4x *F. sachalinensis* (75,6 %) a *F. aubertii* (17,8 %).

Ke vzniku kříženců *F. × conollyana* ( $2n=5x=54$ ) se nabízí ještě alternativní hypotéza, že mohou vzniknout zkřížením s *F. dumetorum*. Horn (1996) zaznamenal vznik pentaploidních hybridních jedinců ( $2n=5x=54$ ) a vzhledem k situaci se zdroji pylu v místě sběru semen předpokládá, že by mohli vznikat po opylení *F. dumetorum*. Při jeho studii se *F. aubertii* vyskytovala v celém okolí jen na 2 lokalitách, ale *F. dumetorum* se vyskytovala hojně přímo v porostech *F. japonica* var. *japonica*. Při mém výzkumu se ale *F. dumetorum* vyskytovala v hojné míře jen na pražských lokalitách a to navíc pouze na břehu Vltavy. Pylová dostupnost *F. aubertii* na Lokalitě 4 byla jednoznačně lepší a na Lokalitě 5 vznik pentaploidního křížence nebyl vůbec zaznamenán. Na Lokalitě 1, kde byl zaznamenán vznik křížence ( $2n=5x=54$ ) s největší frekvencí, se *F. dumetorum* vyskytovala jen velmi ojediněle, byla zde spíše vzácností. Na Lokalitě 3 pak nebyla detekována vůbec. *Fallopia convolvulus* (opletka obecná) byla v rámci této studie nalezena u vodního toku (řeka Ohře) pouze jedenkrát. Roste především na polích, v úhorech a na okrajích cest. Bailey (1989) prokázal metodou in vitro velmi vysokou receptivitu blizny především u *F. japonica* var. *compacta* o něco méně pak pro *F. sachalinensis* k pylu obou zkoumaných opletek *F. dumetorum* a *Fallopia cilinodis* (vyskytuje se v Severní Americe). Bohužel nebyla zkoumána receptivita blizny *F. japonica* var. *japonica*. Úspěšná penetrace blizny pylovým zrnem nicméně nepodmiňuje úspěšnost následného procesu oplození vajíčka, vytváření embrya a klíčení.



Zkřížení (ani vznik embrya ani semene) *F. japonica* var. *japonica* s *F. dumetorum* ani s *F. convolvulus* se v laboratorních podmínkách nepodařilo. Bailey (1989) však nebyl úspěšný ani při vzájemném křížení *F. dumetorum* a *F. convolvulus*, ačkoli se tento kříženec v přírodě vyskytuje (*F. × convolvuliodes*).

Lokalita 1, 2 a 3 byly na první pohled velmi podobné. Na břehu řeky Ohře (Lokalita 1,2) a Svatavy (Lokalita 3) se vyskytoval mateřský porost v bezprostřední blízkosti rozsáhlých porostů *F. × bohemica*. Původ potomstva byl však naprosto odlišný. Na Lokalitě 2 byly téměř všechny semenáčky určeny jako zpětní kříženci s hexaploidní (6x) *F. × bohemica*. Pouze jeden jedinec (2,2 %) vznikl zkřížením s 4x *F. sachalinensis*. V blízkém ani širokém okolí nebyla 4x *F. sachalinensis* ani *F. aubertii* detekována. Na Lokalitě 3 došlo s nejvyšší četností (75,6 %) ke splynutí s gametami 6x *F. × bohemica*, ale také poměrně často (24,4 %) s gametami 4x *F. sachalinensis*. Přitom v okolí mateřského porostu byl nalezen jen jeden trs 4x *F. sachalinensis* ve velké vzdálenosti (2,1 km). Na Lokalitě 1 vznikla naprostá většina semenáčků zkřížením s 4x *F. sachalinensis* a dále pak s *F. aubertii*. V bezprostředním okolí Lokality 1 nebyl zaznamenán výskyt žádného z těchto rodičovských taxonů, zato do 200 m se rozkládal porost 6x *F. × bohemica* o rozloze 0,35 ha. 6x *F. × bohemica* byla však paternálním taxonem jen u 6,6 % vypěstovaných semenáčků.

Na základě výše zmíněných poznatků lze říci, že při vzniku semen na *F. japonica* var. *japonica* je nejvíce upřednostňován pyl 4x a 8x *F. sachalinensis* poté *F. aubertii* a pokud nezbývá jiná možnost dojde i ke splynutí s gametami 6x *F. × bohemica*.

		<i>F. aubertii</i>	<i>6x F. × boh.</i>	<i>4x F. sach.</i>	<i>8x F. sach.</i>		
Lokalita 1	Zastoupení donoru pylu	17,8 %		6,6 %	75,6 %	-	
	Plocha porostů (m <sup>2</sup> )	6	8	100	3500	1700	-
	Vzdálenost porostů (m)	800	1200	3700	30 - 200	1500	-
Lokalita 2	Zastoupení donoru pylu	-		97,8 %	2,2 %	-	
	Plocha porostů (m <sup>2</sup> )	100		1500	-	-	
	Vzdálenost porostů (m)	3600		0 - 100	-	-	
Lokalita 3	Zastoupení donoru pylu	-		75,6 %	24,4 %	-	
	Plocha porostů (m <sup>2</sup> )	-		25000	10	-	
	Vzdálenost porostů (m)	-		40 - 1000	2100	-	
Lokalita 4	Zastoupení donoru pylu	2,2 %		-	93,3 %	4,4 %	
	Plocha porostů (m <sup>2</sup> )	200		20	300	150	
	Vzdálenost porostů (m)	300		770	80	2600	
Lokalita 5	Zastoupení donoru pylu	-		-	-	100 %	
	Plocha porostů (m <sup>2</sup> )	-		-	30	150	
	Vzdálenost porostů (m)	-		-	840	0 - 15	

**Tab. 11:** Zjištěná dostupnost pylových zdrojů (plocha a vzdálenost porostů) v porovnání s procentuálním zastoupením donorů pylu při vzniku semen na *F. japonica* var. *japonica*. V tabulce jsou uvedeny pouze nejvíce dostupné pylové zdroje na lokalitách. Malé porosty ve velké vzdálenosti, které se s největší pravděpodobností neúčastnily procesu hybridizace nebo hrály potenciálně jen velmi zanedbatelnou roli při vzniku semen, uvedeny nejsou. Popis lokalit je uveden v tab. 1.

### 6.3 Vznik hybridních jedinců v souvislosti s jejich výskytem v přírodě, životaschopností a s výskytem, produkcí a klíčivostí pylu rodičovských taxonů

Nejčastější způsob vzniku semen, splynutím s redukovanými gametami *4x F. sachalinensis*, vysoká produkce těchto pylových zrn společně s jejich vysokou klíčivostí (viz 3.7.1) a velkou úspěšností při oplození (na základě srovnání dostupnosti pylových zdrojů) a i zdaleka nejlepší životaschopnost vzniklých kříženců koresponduje s tím, že vzniklý kříženec *6x F. × bohemica*, je ve srovnání s jinými cytotypy nejvíce rozšířená (93 % (Mandák et al. 2003)) v české krajině.

Méně často došlo v rámci tohoto výzkumu ke křížení *F. japonica* var. *japonica* se vzácnější oktoploidní formou *F. sachalinensis* (v ČR výskyt z 21 % (Mandák et al. 2003)). Při sledování výskytu rozšíření potenciálních donorů pylu, byl nalezen pouze jeden porost *8x F. sachalinensis*, ale celkem čtyři porosty *4x F. sachalinensis* (pouze u jednoho porostu byla určena ploidní úroveň pomocí průtokové cytometrie). *8x F. × bohemica* vznikala s větší

frekvencí (21 %) než s jakou se vyskytuje v přírodě (5 % (Mandák et al. 2003)). Tento kříženec pravděpodobně hůře prochází sítím přírodního výběru než široce rozšířená  $6x F. \times bohemica$ , jelikož semena  $8x F. \times bohemica$  klíčila a vzcházela signifikantně s menší úspěšností.

Nízká frekvence vzniku semen  $F. \times conollyana$  odpovídá tomu, že tento taxon nebyl dosud na území ČR v přírodě detekován. Tato semena se zdají být ale více životaschopná (viz 5.5), než semena vzniklá zpětným křížením a navíc z výzkumu Koukolíkové (2001) vyplývá, že klíčivost pylových zrn  $F. aubertii$  je ve srovnání s jinými taxony rodu *Fallopia* vyšší. To naznačuje možné budoucí uchycení  $F. \times conollyana$  v přírodě i u nás.

Zpětné křížení s  $6x F. \times bohemica$  probíhá v USA za vzniku naprosto odlišných plodných úrovní. S největší frekvencí vznikali v USA po umělém opylení  $6x F. \times bohemica$  hexaploidní a oktoploidní jedinci, méně často pak hepta, nona a dekaploidní jedinci. Oproti tomu při výzkumu této diplomové práce, stejně jako při jiných evropských výzkumech (Tiébré et al. 2007, Bímová et al. 2008 (nepubl.)) vznikali pouze zpětní kříženci (v naprotě většině aneuploidní) s počtem chromozomů okolo 77 a 110. Vznik jiných plodných úrovní nebyl v Evropě dosud zaznamenán. Ačkoli semena vzniklá zpětným křížením jsou produkována poměrně často, v Evropě se v přírodě tyto jedinci uchytí jen velmi zřídka a vyskytují se zde jen ve velmi malé míře. Heptaploidní a dekaploidní jedinci byly detekovány např. na břehu řeky Morávky, dekaploidní zpětní kříženci se vyskytují velmi zřídka i ve Velké Británii (Bailey et al. 2008). Nízká frekvence výskytu zpětných kříženců v přírodě (Mandák et al. 2003, Bímová et al. 2008 (nepubl.)) odpovídá jejich méně častému vzniku v rámci výzkumu této diplomové práce a dále také tomu, že klíčivost a množství produkováného pylu  $6x F. \times bohemica$  je velmi nízká, že ke křížení s  $6x F. \times bohemica$  docházelo pouze v případě, pokud na dané lokalitě byl naprostý nedostatek pylu jiných taxonů a navíc, že klíčivost a vzcházení vzniklých hybridních jedinců je proklatelně nejhorší ze všech. Navzdory těmto argumentům se zdá, že ze semen produkováných *F. japonica* var. *japonica*, jsou semena vzniklá zpětným křížením z invazního hlediska nejvýznamnější. V Severní Americe je introgrese genů *F. sachalinensis* do genofondu *F. japonica* var. *japonica* (pomocí zpětného křížení  $6x F. \times bohemica$  s *F. japonica* var. *japonica*) význačným faktorem, který zde, kromě jiných vlivů, umocnil rozsah úspěšného pohlavního rozmnožování. Je nejspíše jen otázkou času, kdy uchycení semenáčků v přírodě a jejich další rozmnožení nebude ani u nás pouze vzácným jevem.

## 6.4 Klíčení a vzcházení semen

Uriánek (2010) zkoumal klíčivost semen naprosto totožných s těmi, která byla použita při výzkumu této diplomové práce (stejně datum i místo sběru). Jedná se o semena z Lokality 4 – Praha Sedlec, z nichž 93 % vyklíčených semenáčků bylo určeno v mé práci jako *6x F. × bohemica*. Výsledky klíčivosti, které zjistil Uriánek (2010) jsou velmi podstatné, neboť v mé práci nebyla klíčivost přímo sledována. Klíčení probíhalo v klimaboxech při 20 °C, po dobu 11 dnů. Nažky, které nebyly zahrnuté půdní vrstvičkou klíčily již po čtyřech dnech. Semena ponechaná před založením pokusu 6 h ve vodě, vykazovala již 4 den klíčivost 70 % a do ukončení pokusu si udržely nejvyšší klíčivost. Byl tedy potvrzen vliv hydratace na fyziologickou dormanci. Semena zasetá ve vermikompostu měla celkovou klíčivost 79 %, v písku pak 75 %. Při mém výzkumu byla klíčivost, která vychází z maximálních počtů semenáčků v průběhu 5 kontrolních měření v písku (viz tab. 8) u semen z Lokality 4 v průměru 83 %. Této hodnoty klíčivosti dosáhla semena zhruba až po 11–16 dnech od začátku klíčení a více než měsíc od zasetí do venkovních podmínek. Uriánek (2010) pravděpodobně pozoroval nižší klíčivost těchto semen, jelikož klíční pokus ukončil již po 11 dnech od jeho založení.

Klíčení a vzcházení semen v rámci výzkumu této diplomové práce byla mnohem lepší ve srovnání s jinými studii, které také simulovaly klíčení v přírodních podmínkách. V Belgii byl podíl vyklíčených semenáčků vypěstovaných ze semen *F. japonica* var. *japonica* v průměru pouhých 21 % (s rozsahem 10–48 %). Po 135 dnech přežila jen polovina z nich (Tiébré et al. 2007). Horn (1996) dokonce zaznamenal klíčení pouze při pokojové teplotě, při výsevu do venkovních podmínek se neobjevil žádný semenáček.

Z výsledků studie (Gammon et al. 2010) vyplývá (viz 3.7.5.1 b,c), že klíčení a vzcházení semenáčků první filialní generace a zpětných kříženců je v průměru téměř srovnatelná, v některých případech může být klíčivost a vzcházení zpětných kříženců dokonce lepší. To je v naprostém kontrastu s výsledky této diplomové práce, kdy byla prokazatelně méně úspěšná klíčivost a přežívání zpětných kříženců než hybridů první filialní generace (*6x a 8x F. × bohemica*).

Na základě výsledků výzkumu (Bímová et al. 2008 (nepubl.)), probíhajícího na experimentální zahradě, nelze říci, že by aneuploidní semena, vzniklá zpětným křížením s *6x F. × bohemica*, měla nižší fitness, než převážně euploidní semena, vzniklá křížením s *4x F. sachalinensis*. Ve skleníku byla i aneuploidní semena dokonale životaschopná.

Klíčivost semen, vzniklých zpětným křížením s redukovanými a neredukovanými gametami *6x F. × bohemica* byla 84 %. To je mnohem více než při mém výzkumu (39,8 %).

### 6.5 Vliv různých faktorů na klíčení a vzházení

Klíčení semenáčků bylo ovlivněno také mocností vrstvičky, kterou byla semena zahrnuta, a která se mezi jednotlivými substráty lišila (viz 4.) V písku, kde byla vrstvička nejmenší, vyklíčily semenáčky nejrychleji a nejvyšších hodnot počtu semenáčků bylo v průměru dosaženo buď druhý nebo třetí kontrolní den. Semenáčky klíčily v pozdějších termínech jen zřídka.

Oproti tomu v propařené a jílovité hlíně byla vrstvička substrátu větší a ke klíčení semen docházelo v průběhu celého jednoměsíčního období výzkumu. Dále v těchto dvou substrátech bylo jen málokdy zaznamenáno navýšení počtu semenáčků, obvykle zde totiž převyšovala mortalita nad natalitou, a to se projevilo na postupném snižování počtu semenáčků. Obzvláště jílovitá hlína byla málo propustná, a to v kombinaci se zavlažováním, vytvořilo dosti vlhké půdní prostředí, ve kterém semenáčky, podle pozorování, přežívaly evidentně nejhůře. Například v jednom květináči, kde jílovitý substrát zadržoval vodu ve větší míře, se třetí kontrolní den vyskytovaly jen 3 životaschopné semenáčky (později pak 9 a 7).

V písku, který byl nejvíce propustný, byla mortalita semenáčků velmi nízká. Jejich vysoký počet byl však vyvážen jejich velmi malým vzrůstem (signifikantně nejnižší průměrná hmotnost sušiny nadzemní části). V písku po zhruba měsíci růstu dosahovaly maximálních hodnot pouze kolem 0,006 g. Nadzemní části s největší hmotností, vytvořilo hybridní potomstvo v propařené humózní hlíně, která mu poskytovala dostatek živin.

### 6.6 Klíčení ostatních druhů rostlin

Společně se semeny *F. japonica* var. *japonica*, v průběhu celého prvního měsíce, klíčily i ostatní druhy rostlin, případně regenerovaly z částí oddenků (např. *Tussilago farfara* (podběl lékařský)). Už první kontrolní den rostl v propařené hlíně merlík (*Chenopodium spp.*) v písku především rostliny z čeledi lipnicovitých (*Poaceae*), v jílovité hlíně např. kopřiva (*Urtica spp.*). Všechny druhy rostlin, ve všech substrátech, které vyklíčily i mnohem

později než zkoumaní kříženci, měly jasnou konkurenční převahu a větší životaschopnost a musely být většinou následující kontrolní den vytrhnuty. Ačkoli tedy semena *F. japonica* var. *japonica* mají mnohdy vysokou klíčivost a semenáčky za ideálních podmínek vzchází poměrně dobře, podle mého pozorování nejsou schopné uspět v konkurenci ostatních druhů rostlin. V našich podmínkách jen ve výjimečných případech mohou projít sítím přírodního výběru a následně se vegetativně rozšířit.

### 6.7 Relativní obsah jaderné DNA hybridních taxonů

Při výzkumu (Suda et al. 2010) bylo zjištěno, že vnitrodruhová variabilita obsahu jaderné DNA všech invazních taxonů *Fallopia*, vyskytujících se v přírodě, byla většinou zanedbatelná (do 2,6 %), s výjimkou 6x *F. × bohemica*, která měla rozdíl ve velikosti jaderné DNA až 4 %. U semenáčků 6x *F. × bohemica* v mém výzkumu byla vnitrodruhová variabilita téměř totožná (3,8 %) u 8x *F. × bohemica* byla však větší (4,2 %). Největší vnitrodruhovou variabilitu vykazovala podle očekávání 7x *F. × bohemica* (12,1 %). Donor pylu 6x *F. × bohemica* se totiž vyznačuje extrémně nepravidelnou meiozou. To vede ke vzniku převážně aneuploidního potomstva (Mandák et al. 2003, Bímová et al. 2008 (nepubl.)) a tedy k velké variabilitě v množství jaderné DNA u těchto semenáčků. Oproti tomu 10x *F. × bohemica*, která vzniká splynutím s neredukovanými gametami 6x *F. × bohemica*, měla kupodivu jen malou vnitrodruhovou variabilitu relativního obsahu jaderné DNA (pouze 3,0 %).

Zjištěné relativní množství jaderné DNA nemusí být úměrné počtu chromozomů určitého jedince. Mezi semenáčky vzniklých ze semen sebraných u řeky Jizery je nesoulad mezi počtem chromozomů a množstvím jaderné DNA. Například jedinec se 111 chromozomy měl nižší obsah jaderné DNA než kříženec se 102 chromozomy. Důvodem je, že potomci mají různý poměr různě velkých chromozomů od *F. japonica* a *F. sachalinensis* (Bímová et al. 2008 (nepubl.)).

Obsah jaderné DNA semenáčků vzniklých po zkřížení s 6x *F. × bohemica*, vytvořil při výzkumu (Bímová et al. 2008 (nepubl.)) téměř kontinuum velikostí od hodnot 72–102 chromozomů. Skupina, kterou tvořili jedinci vzniklí splynutím s neredukovanými (a částečně redukovánými) gametami 6x *F. × bohemica*, je jakoby rozdělena na dvě podskupiny. Počet chromozomů těchto hybridních jedinců byl 95–111. Na základě výsledků této diplomové

práce, lze ale pomocí množství jaderné DNA mezi sebou skupiny jednoznačně odlišit. Semenáče vzniklé splynutím s neredukovanými gametami na třech lokalitách (1,2,3) tvořily dohromady pouze jednu skupinu. Pokud byla donorem pylu 4x *F. sachalinensis* shodovaly se mé výsledky s Bímovou et al. 2008 (nepubl.)). Všichni takto vzniklý jedinci byly hexaploidní a mezi jejich relativním obsahem jaderné DNA byla nízká variabilita.

## 7. ZÁVĚR

Bylo potvrzeno, že všechna semena, která *F. japonica* var. *japonica* produkuje, jsou hybridního původu. Evropskou populaci tohoto invazního druhu tvoří pouze jediný samičí klon, proto se může pohlavně rozmnožovat jediné křížením s jinými příbuznými taxony. Průtoková cytometrie odhalila odlišný původ semenáčků z různých lokalit. To bylo způsobeno rozdílnou dostupností pylových zdrojů (taxonů) na lokalitách. Při srovnání pylové dostupnosti různých taxonů se vzniklými hybridními frekvencemi na jednotlivých lokalitách je patrné, že nejnáze dochází ke splynutí s gametami tetraploidní (4x) a oktoploidní (8x) *F. sachalinensis* a diploidní *F. aubertii*. Evidentně nejhůře dochází ke zpětnému křížení s hexaploidní (6x) *F. × bohemica*. Například na Lokalitě 1, přestože byla pylová dostupnost porostů 6x *F. × bohemica* mnohem větší ve srovnání s ostatními taxony, došlo ke splynutí s gametami 6x *F. × bohemica* jen vzácně. Stejný trend byl pozorován i na Lokalitě 3.

Vůbec poprvé bylo zjištěno, že klíčivost a vzcházení různých hybridních taxonů (vzniklých ze semen *F. japonica* var. *japonica*) je odlišná. Nejlépe klíčila a vzcházela 6x *F. × bohemica* poté 8x *F. × bohemica* a nejhůře klíčili a vzcházeli zpětní kříženci – heptaploidní (7x) a dekaploidní (10x) *F. × bohemica*. Klíčení a vzcházení *F. × conollyana* bylo možné odhadnout pouze na základě výpočtu, protože nejvyšší zastoupení vzniku *F. × conollyana* (na Lokalitě 1) bylo pouze 17,8 %. Klíčení a vzcházení *F. × conollyana* byla poté vyhodnocena jako srovnatelná s 8x *F. × bohemica*.

Semenáčky klíčily a vzcházely rozdílně v různých substrátech. V písku klíčily a přeživaly zdaleka nejlépe, ale zato zde semenáčky dosahovaly nejnižších hmotností nadzemní biomasy. V propařeně a jílovité hlíně semenáčky klíčily hůře a především v jílovité hlíně jejich průměrný počet v průběhu tří týdnů značně klesl. Semenáčkům evidentně nescházelo vlhké půdní prostředí, které se nejvíce vytvořilo právě v jílovité hlíně. Největších

hmotností semenáčky dosahovaly v humózní propařené hlíně, která jim poskytovala dostatek živin.

*F. japonica* var. *japonica* produkuje u nás velké množství semen, která obecně vykazují dobrou klíčivost a semenáčky dobře přežívají v ideálních podmínkách (například v písku při zavlažování). Přesto jsou semenáčky *F. japonica* var. *japonica* nacházeny u nás v přírodě jen velmi zřídka. Vysvětlení této rozporuplné situace patrně tkví v tom, že při tomto výzkumu byla pozorována velmi nízká konkurenceschopnost a pomalý růst semenáček *F. japonica* var. *japonica* oproti ostatním druhům rostlin.



## 8. CITOVANÁ LITERATURA

- Adachi N., Teraschima I. et Takahaschi M., 1996:** Central die-back of monoclonal stands of *Reynoutria japonica* in an early stage of primary succession on Mount Fuji. *Annals of Botany* 77: 477–486 s.
- Bailey J. P., 1989:** Cytology and breeding behaviour of giant alien *Polygonum* species in Britain. *PhD Thesis, University of Leicester, UK.*
- Bailey J. P., 1994:** Reproductive biology and fertility of *Fallopia japonica* (Japanese knotweed) and its hybrids in the British Isles. In: de Waal L. C., Child L. E., Wade M. P. et Brock J. H. (eds.): Ecology and management of invasive riverside plants. *Wiley, Chichester, UK:* 141–158 s.
- Bailey J. P., 2001:** *Fallopia conollyana* the railway-yard knotweed. *Watsonia* 23: 539–541 s.
- Bailey J. P., 2003:** Japanese knotweed *s. l.* at home and abroad. In: Child L. E., Brock J. H., Brundu G., Prach K., Pyšek P., Wade P. M. et Williamson M., (eds): Plant invasions: ecological threats and management solutions. *Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands:* 183–196 s.
- Bailey J. P. et Conolly A. P., 2000:** Prize-winners to pariahs — a history of Japanese knotweed *s. l.* (*Polygonaceae*) in the British Isles. *Watsonia* 23: 93–110 s.
- Bailey J. P., Bímová K. et Mandák B., 2007:** The potential role of polyploidy and hybridisation in the further evolution of the highly invasive *Fallopia* taxa in Europe. *Ecological Research* 22: 920–928 s.
- Bailey J. P., Bímová K. et Mandák B., 2008:** Asexual spread versus sexual reproduction and evolution in Japanese Knotweed *s.l.* - the “Battle of the Clones?” *Biological Invasions* DOI 10.1007/s10530-008-9381-4
- Barrett S. C. H., 1982:** Genetic variation in weeds. In: Charudattan R. et Walker H. L., (eds): Biological Control of Weeds with Plant Pathogens. *J. Wiley, New York:* 73–93 s.
- Begon M., Harper J. L. et Townsend C. R., 1997:** Ekologie - jedinci, populace a společenstva. *Vydavatelství Univerzity Palackého, Olomouc.*
- Bímová K., Mandák B. et Pyšek P., 2003:** Experimental study of vegetative regeneration in four invasive *Reynoutria* taxa (*Polygonaceae*). *Plant Ecology* 166: 1–11 s.
- Bímová K., Mandák B. et Kašparová I., 2004:** How does *Reynoutria* invasion fit the various theories of invasibility. *Journal of Vegetation Science* 15: 495–504 s.
- Bímová K., Bailey J. P., Plačková I., Trávníček P., Bryja P. et Mandák B., 2008:** Evidence of further evolution in invasive alien *Fallopia* (*Polygonaceae*) taxa. *American Journal of Botany. (in revision)*

- Birklen P.**, 2007: Projekt na záchranu lužních stanovišť v povodí řeky Morávky. *Ochrana přírody* 62/4: 6–7 s.
- Botanický ústav AV ČR, v.v.i.:** Křídlatky. [online]. 2009 [cit. 24. 4. 2009]. Dostupné na: <http://www.ibot.cas.cz/invaze/druhy/seznam/kridlatka.html>
- Brabec J. et Pyšek P.**, 2000: Establishment and survival of three invasive taxa of the genus *Reynoutria* (*Polygonaceae*) in mesic mown meadows: a field experimental study. *Folia Geobotanica* 35: 27–42 s.
- Bram M. R. et Mcnair J. N.**, 2004: Seed germinability and its seasonal onset of Japanese knotweed (*Polygonum cuspidatum*). *Weed Science* 52: 759–767.
- Briggs D. et Walters S. M.**, 2001: Proměnlivost a evoluce rostlin. *Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc*.
- Bruno J. F., Fridley J. D., Bromberg K. D. et Bertness M. D.**, 2005: Insights into Biotic Interactions from Studies of Species Invasions. In: Sax F.D., Stachowicz J.J. et Gaines S.D (eds.): *Species Invasions: Insights into Ecology, Evolution, and Biogeography*. *Sinauer Associates, Inc. Sunderland, USA*: 13–40 s.
- Colautti R. I., Grigorovich I. A. et MacIsaac H. J.**, 2006: Propagule pressure: a null model for biological invasions. *Biological Invasions* 8: 1023–1037 s.
- Český hydrometeorologický ústav**, 2012: Historická data, Územní teploty. [online] [cit. 30.3.2012]. Dostupné na: <http://portal.chmi.cz>
- D'Antonio C. M. et Hobbie S. E.**, 2005: Plant Species Effects on Ecosystem Processes: Insights from Invasive Species. In: Sax F.D., Stachowicz J.J. et Gaines S.D (eds.): *Species Invasions: Insights into Ecology, Evolution, and Biogeography*. *Sinauer Associates, Inc. Sunderland, USA*: 65–84 s.
- Ellstrand N. C. et Schierenbeck K. A.**, 2000: Hybridization as a stimulus of the evolution of invasiveness in plants? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 97: 7043–7050 s.
- Eriksson O.**, 1986: Mobility and space capture in the stoloniferous plant *Potentilla anserina*. *Oikos* 46: 82–87 s.
- Forman J. et Kesseli R.**, 2003: Sexual reproduction in the invasive species *Fallopia japonica* (*Polygonaceae*). *American Journal of Botany* 90: 586–592 s.
- Gammon M.**, 2009: The diversity, growth, and fitness of the invasive plants *Fallopia bohemica* in the United States (*Polygonaceae*). *Ph.D dissertation. Boston, MA: University of Massachusetts Boston*: 135 s.
- Gammon M. A., Grimsby J. L., Tsirelson D. et Kesseli R. V.**, 2007: Molecular and morphological evidence reveals introgression in swarms of the invasive taxa *Fallopia japonica*, *F. sachalinensis*, and *F. bohemica* (*Polygonaceae*) in the United States. *American Journal of Botany* 94: 948–956 s.

- Gammon, M. A., Baack E., Forman J. O., et Kesseli R.,** 2010: Viability, growth, and fertility of knotweed cytotypes in North America. *Invasive Plant Science and Management* 3:208-218 s.
- Godt M. J. W. et Hamrick J. L.,** 1991: Genetic variation in *Lathyrus latifolius* (Leguminosae). *American Journal of Botany* 78: 1163–1171 s.
- Grimsby J. L., Tsirelson D., Gammon M. A. et Kesseli R.,** 2007: Genetic diversity and clonal vs. sexual reproduction in *Fallopia* spp. (Polygonaceae). *American Journal of Botany* 94: 957–964 s.
- Horn P.,** 1996: Ekologická studie druhu *Reynoutria japonica*. *Magisterská práce, Biologická fakulta Jihočeské univerzity, České Budějovice.*
- Horn P. et Prach K.,** 1995: Aerial biomass of *Reynoutria japonica* and its comparison with that of native species. *Preslia, Praha* 66: 345-348 s.
- Hrušková H. et Hofbauer J.,** 1999: Germination capacity of Japanese knotweed (*Reynoutria japonica* Houtt.). *Rostlinná výroba* 4: 189–191 s.
- Hrušková H. et Hofbauer J.,** 2001: Klíčivost nažek vyvinutých na rostlinách křídlatky japonské (*Reynoutria japonica* Houtt.) a křídlatky sachalinské (*Reynoutria sachalinensis* F. Schmidt). *Sborník Mendlovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně* 49: 37–41 s.
- Koukolíková I.,** 2001: Květní biologie vybraných taxonů rodů *Reynoutria* a *Fallopia*. *Diplomová práce, Katedra ekologie, FŽP, ČZU v Praze.*
- Levin D. A.,** 2000: The origin, expansion and demise of plant species. *Oxford University Press, Oxford, United Kingdom.* 240 s.
- Levine J. M.,** 2000: Species diversity and biological invasions: relating local process to community pattern. *Science* 288: 852–854 s.
- Mandák B.:** Biologická, ekologická a genetická studie invazních druhů rodu *Reynoutria* (Polygonaceae) v České republice. [online]. 2012 [cit. 24. 2. 2012]. Dostupné na: [http://www.ibot.cas.cz/invaze/projekty/mandak\\_reynoutria.html](http://www.ibot.cas.cz/invaze/projekty/mandak_reynoutria.html)
- Mandák B., Pyšek P., Lysák M., Suda J., Krahulcová A. et Bímová K.,** 2003: Variation in DNA-ploidy levels of *Reynoutria* taxa in the Czech Republic. *Annals of Botany* 92: 265–272 s.
- Mandák B., Pyšek P. et Bímová K.,** 2004: History of the invasion and distribution of *Reynoutria* taxa in the Czech Republic: a hybrid spreading faster than its parents. *Preslia* 76: 15–64 s.
- Mandák B., Bímová K., Pyšek P., Štěpánek J. et Plačková I.,** 2005: Isoenzyme diversity in *Reynoutria* taxa: escape from sterility by hybridization. *Plant Systematics and Evolutions* 253: 219–230 s.

- Marchant C. J.**, 1967: Evolution in *Spartina* (Gramineae) 1. The history and morphology of the genus in Britain. *Botanical Journal of the Linnean Society* 60: 1–24 s.
- Maruta E.**, 1994: Seedling establishment of *Polygonum cuspidatum* and *Polygonum weyrichii* var. *alpinum* at high altitudes of Mt Fuji. *Ecological Research* 9: 205–213 s.
- Milne R. I. et Abbott R. J.**, 2000: Origin and evolution of invasive naturalized material of *Rhododendron ponticum* in the British Isles. *Molecular Ecology* 9: 541–556 s.
- Novak G. F. et Mack R. N.**, 1993: Genetic variation in *Bromus tectorum* (Poaceae): comparison between native and introduced populations. *Heredity* 71: 167–176 s.
- Novak S. J., Soltis D. E. et Soltis P. S.**, 1991: Ownbey's *Tragopogons*: 40 Years Later. *American Journal of Botany* 78: 1586–1600 s.
- Otto F.**, 1990: DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. In: Crissman H.A. et Darzynkiewicz Z. (eds.): *Methods in Cell Biology*. Academic Press, New York. 33: 105–110 s.
- Pyšek P.**, 1997: Clonality and plant invasions: can a trait make a difference? In: de Kroon H. et van Groenendael J. (eds.): *The ecology and evolution of clonal plants*. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands: 405–427 s.
- Pyšek P.**, 2001: Zákonitosti rostlinných invazí. In: Pyšek P. et Tichý L. (eds.): *Rostlinné invaze, Rezekvítek, Brno*.
- Pyšek P. et Mandák B.**, 2001: Křídlatka japonská, k. sachalinská a k. česká. In: Pyšek P. et Tichý L., (eds.): *Rostlinné invaze. Rezekvítek, Brno*: 40 s.
- Pyšek P., Mandák B., Francírková T. et Prach K.**, 2001: Persistence of stout clonal herbs as invaders in the landscape: a field test of historical records. In: Brundu G., Brock J., Camarda I., Child L. et Wade M., (eds.): *Plant invasions: Species ecology and ecosystem management*. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands: 235–244 s.
- Pyšek P., Jarošík V. et Kučera T.**, 2002a: Patterns of invasion in temperate nature reserves. *Biological Conservation* 104: 13–24 s.
- Pyšek P., Sádlo J. et Mandák B.**, 2002b: Catalogue of alien plants of the Czech Republic. *Preslia* 74: 97–186 s.
- Pyšek P. et Prach K.**, 2003: Research into plant invasions in a cross-roads region: history and focus. *Biological Invasions* 5: 349–356 s.
- Ramsey J. et Schemske D. W.**, 1998: Pathways, mechanism and rates of polyploid formation in flowering plants. *Annual Review Ecologic and Systematics* 29: 467–501 s.
- Rieseberg L. H.**, 1997: Hybrid origins of plant species. *Annual Review Ecologic and Systematics* 28: 359–389 s.

- Schierenbeck K. A., Hamrick J. L. et Mack R. N., 1995:** Comparison of allozyme variability in a native and an introduced species of *Lonicera*. *Heredity* 75: 1–9 s.
- Schlichting C. D., 1986:** The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Annual Review Ecologic and Systematics* 17: 667–693 s.
- Sieger L., 1993:** The ecology and control of *Reynoutria japonica* (*Polygonum cuspidatum*). *Ph.D. dissertation, Columbian College and Graduate School of Arts and Sciences, George Washington University, Washington, D.C., USA*
- Stražil Z., 2007:** Pěstování a možnosti využití křídlatek (*Reynoutria*). *Zemědělská technika a biomasa* 4: 166-172 s.
- Suda J., Trávníček P., Mandák B. et Berchová-Bímová K., 2010:** Genome size as a marker for identifying the invasive alien taxa in *Fallopia* section *Reynoutria*. *Preslia* 82: 97–106 s.
- Tiébré M. S., Vanderhoeven S., Saad L. et Mahy G. 2007:** Hybridization and sexual reproduction in the invasive alien *Fallopia* (*Polygonaceae*) complex in Belgium. *Ann. Bot.* 99:193–203.
- Tomšík B., Lisý E., Svoboda J. et Hejtmánek J., 1955:** Včelařství. *Nakladatelství Československé akademie věd, Praha.* 321-322 s.
- Uriánek P., 2010:** Využití vybraných druhů divoce rostoucího plevelu (např. křídlatky) z hlediska jejich možnosti jako fytošanační a energetické suroviny. *Diplomová práce, Katedra environmentálního inženýrství a ochrany prostředí, FŽP, ČZU v Praze.*
- Vaher M. et Koel M., 2003:** Separation of polyphenolic compounds extracted from plant matrices using capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography - A* 990: 225–230 s.
- Vilá M. et D'Antonio C. M., 1998:** Fruit choice and seed dispersal of invasive vs. noninvasive *Carpobrotus* (*Aizoaceae*) in coastal California. *Ecology* 79: 1053–1060 s.
- Warwick S. I. et Black L. D., 1986:** Genecological variation in recently established populations of *Abutilon theophrasti* (velvetleaf). *Canadian Journal of botany.* 64: 1632–1643 s.
- Ye W. H., Li J., Cao H. L. et Ge X. J., 2003:** Genetic uniformity of *Alternanthera philoxeroides* in South China. *Weed Research* 43: 297–302 s.

## 9. SEZNAM PŘÍLOH

**Příloha 1:** Kvetoucí porost *F. japonica* var. *japonica*

**Příloha 2:** Samičí květy *F. japonica* var. *japonica*

**Příloha 3:** Kvetoucí *F. × bohemica*

**Příloha 4:** Květenství hermafroditní *F. × bohemica*

**Příloha 5:** Poničený porost *F. sachalinensis*

**Příloha 6:** Kvetoucí *F. aubertii*

**Příloha 7:** Plodící porost *F. dumetorum*

**Příloha 8:** Poslední zbytky nažek na uschlých lodyhách *F. japonica* var. *japonica*.

**Příloha 9:** Uspořádání klíčného pokusu s vlivem substrátu a původu semen (lokalita)

**Příloha 10:** Hybridní semenáčky vypěstované ze semen *F. japonica* var. *japonica* v písku.

**Příloha 11:** Rozdílný vzrůst a počet semenáčků v různých substrátech.

**Příloha 12:** Vzhled vypěstované *F. × conollyana*.

**Příloha 13:** Vypěstovaná hexaploidní *F. × bohemica*.

**Příloha 14:** Vypěstovaná heptaploidní *F. × bohemica*.

**Příloha 15:** Vypěstovaná oktoploidní *F. × bohemica*.

**Příloha 16:** Vypěstovaná dekaploidní *F. × bohemica*.



## 10. PŘÍLOHY



**Příloha 1:** Kvetoucí porost *F. japonica* var. *japonica* v Karlových Varech u řeky Ohře (Lokalita 1). Vyfotografováno 9.9.2010.



**Příloha 2:** Samičí květy *F. japonica* var. *japonica* (Lokalita 1). Vyfotografováno 9.9.2010.





**Příloha 3:** Kvetoucí *F. × bohemica* (Lokalita 1). Vyfotografováno 9.9.2010.



**Příloha 4:** Květenství hermafroditní *F. × bohemica*. Levý břeh Vltavy, Praha-Bubeneč. Vyfotografováno 7.10.2010.





**Příloha 5:** Poničený porost *F. sachalinensis* po úpravě terénu v Praze na pravém břehu Vltavy. Porost je vzdálený 840 m západně od Lokality 5. Vyfotografováno 7.10.2010.



**Příloha 6:** Kvetoucí *F. aubertii* v Praze na Suchdole, vzdálená 300 m západně od Lokality 4. Vyfotografováno 8.10.2010.





**Příloha 7:** Plodící porost *F. dumetorum* na levém břehu Vltavy v Praze-Sedlci, vzdálený 600 m východně od Lokality 4. Vyfotografováno 8.10.2010.



**Příloha 8:** Poslední zbytky nažek na uschlých lodyhách *F. japonica* var. *japonica*. Levý břeh Ohře, Karlovy Vary (Lokalita 1). Vyfotografováno 29.2.2012.





**Příloha 9:** Uspořádání klíčného pokusu s vlivem substrátu a původu semen (lokalita). Vyfotografováno 21.4.2010.



**Příloha 10:** Hybridní semenáčky vypěstované ze semen *F. japonica* var. *japonica* v písku. Vyfotografováno 21.4.2010.





**Příloha 11:** Rozdílný vzrůst a počet semenáčků v různých substrátech. Vlevo - jílovitá hlína, uprostřed – propařená hlína, vpravo – písek. Vyfotografováno 31.5.2010.



**Příloha 12:** Vzhled vypěstované *F. × conollyana*. Vyfotografováno 6.10.2010.





**Příloha 13:** Vypěstovaná hexaploidní *F. × bohemica*. Vyfotografováno 6.10.2010.



**Příloha 14:** Vypěstovaná heptaploidní *F. × bohemica*. Vyfotografováno 6.10.2010.



**Příloha 15:** Vypěstovaná oktaploidní *F. × bohemica*. Vyfotografováno 6.10.2010.



**Příloha 16:** Vypěstovaná dekaploidní *F. × bohemica*. Vyfotografováno 6.10.2010.