

Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta
Katedra ekologie a životního prostředí



**Biologie klíčení polyploidů se zaměřením na polyploidní
komplex *Allium oleraceum***

Germination biology of polyploids with an emphasis on the polyploid complex *Allium
oleraceum*

Nikola Vacková

Bakalářská práce

předložená

na Katedře ekologie a životního prostředí
Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

jako součást požadavků
na získání titulu Bc. v oboru
Ekologie a ochrana životního prostředí

Vedoucí práce: RNDr. Martin Duchoslav, Ph.D.

Olomouc 2015

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem zadanou bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením RNDr. Martina Duchoslava, Ph.D., s použitím citované literatury a konzultací.

V Olomouci dne:

.....

Nikola Vacková

VACKOVÁ N. Biologie klíčení polyploidů se zaměřením na polyploidní komplex *Allium oleraceum* [bakalářská práce]. Olomouc: Katedra ekologie a životního prostředí Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, 2015, 56 s., 10 příloh, česky.

Abstrakt

Polyploidie je proces, který biologie fascinuje už více než 100 let. Abychom organismus mohli nazvat polyploidním, musí mít více než dvě kompletní chromosomové sady. Pro tuto práci byl vybrán modelový druh *Allium oleraceum* L. Jedná se o běžný evropský taxon, který má na území České republiky známy tři cytotypy ($2n = 32; 40; 48$), které se vyskytují buď v homogenních, nebo smíšených populacích. Všechny tyto ploidní úrovně jsou schopny vytvářet sexuální i asexuální potomstvo. Byly provedeny dva experimenty (klíčovost, venkovní) s cílem zjištění případných rozdílů v klíčivosti a rychlosti klíčení mezi cytotypy, propagulemi v závislosti na experimentálních teplotních podmínkách. Byla zjištěna podobná klíčivost/pučivost semen a pacibulek u tetra a pentaploidů na pokusné ploše na pozemku, přičemž nejvíce klíčily/pučely semena/pacibulky z lokality Venušina sopka (4x). Z experimentu v laboratoři vyplynulo, že pro klíčení/pučení je nejméně vhodná teplota 20 °C, kromě hexaploidní populace, kde byla zjištěna klíčivost výrazně větší. Nejvyšší klíčivost/pučivost byla detekována u střídavého teplotního režimu 14/7 °C. Dále byl prokázán pozitivní vliv průměrné velikosti propagule na klíčivost/pučivost propagulí. Pilotní experiment bude potřeba rozšířit o větší počet populací, aby byly získány robustní výsledky.

Klíčová slova: *Allium oleraceum*, dormance, pacibulky, polyploidie, semena

VACKOVÁ N. Biology of germination in polyploids with an emphasis on the polyploid complex *Allium oleraceum* [bachelor thesis]. Olomouc: Department of Ecology and Environmental Sciences, Faculty of Science, Palacký University of Olomouc, 2015, 56 pp., 10 Appendices, in Czech.

Abstract

Polyploidy is a process that fascinated biologists for more than 100 years. We can call a polyploid an organism, which has more than two completed chromosome sets. There were chosen an ideal model species for this study, *Allium oleraceum* L. It is widespread European taxon, which is known three cytotypes ($2n = 32; 40; 48$) in the Czech Republic. We can find it in homogenous or mixed populations. All these ploidy levels are able to create sexual and asexual offspring. Two experiments were carried (germination boxes, outdoor) in order to detect any differences in germination and germination rate between cytotypes, bulbils and seeds depending upon the experimental temperature conditions. Similar germination/sprouting seeds and bulbils were found in the tetraploid and pentaploid population outside. The best germination/sprouting had seeds/bulbils from population Venušina sopka (4x). Laboratory experiment showed that 20 °C is not suitable temperature for germination/sprouting. On the other side we found significantly larger germination for hexaploid population in 20 °C. The highest germination/sprouting was detected with alternating temperature mode 14/7 °C. We also demonstrated a positive impact on the average size of the seeds/bulbils on germination/sprouting. It is necessary to expand pilot experiment in the future on a large number of population if we want to obtain robust results.

Key words: *Allium oleraceum*, dormancy, bulbils, polyploidy, seeds,

Obsah

Seznam obrázků	viii
Seznam tabulek	x
Seznam použitých zkratek.....	xi
Poděkování	xii
1. Úvod	13
1.1 Polyploidie.....	13
1.2 Klíčení a dormance	14
1.3 Studovaný organismus.....	15
2. Obecná část	17
2. 1 Polyploidie.....	17
2.2 Klíčení	19
2.3 Semenná banka	20
2.4 Dormance.....	21
2.4.1 Typy dormance	22
2.4.2 Funkce dormance	24
2.4.3 After – rippening perioda (AR).....	24
2.4.4 Prolomení dormance	24
2.5 Objekt studia – <i>Allium oleraceum</i> L.....	25
2.5.1 Taxonomické zařazení, rozšíření	25
2.5.2 Popis.....	26
2.5.3 Životní cyklus	27
3. Cíle práce.....	29
4. Materiál a metody.....	30
4.1 Rostlinný materiál – zdrojové populace	30
4.2 Sběry jedinců <i>Allium oleraceum</i>	32

4.3 Cytotypové složení populace.....	32
4.4 Klíčení semen a pučení pacibulek: laboratorní experiment.....	33
4.5 Příprava experimentu – pozemek	35
4.6 Tetrazoliový test	37
4.8 Statistické zpracování dat	38
5. Výsledky.....	39
5.1 Srovnání pučivosti pacibulek na pozemku	39
5.2 Srovnání pučivosti/klíčivosti pacibulek/semenn na pozemku.....	40
5.3 Délka nadzemní části u vyklíčených/vypučených jedinců na pozemku.....	44
5.4 Délka kořenů vyklíčených/vypučených jedinců na pozemku	47
5.5 Vyhodnocení počtu kořenů u vypučených jedinců na pozemku	49
5.6 Celková klíčivost/pučivost semen/pacibulek v klíčidlech.....	52
5.7 Vliv hmotnosti propagule na pučivost/klíčivost.....	54
6. Diskuze.....	57
6.1 Laboratorní experiment	57
6.2 Pokusná plocha na pozemku.....	58
7. Závěr.....	59
Seznam použité literatury.....	60
Přílohy	69

Seznam obrázků

Obrázek 1: Mapa lokalit, ze kterých byly prováděny sběry propagulí <i>Allium oleraceum</i> v roce 2014. Červeně jsou označeny tetraploidní, modře pentaploidní a zeleně hexaploidní populace.	30
Obrázek 2: Příprava na zahájení germinačního experimentu. Na obr. A je používaná krabička (velikost 2,5 x 10 cm). Na obr. B jsou již krabičky s propagulemi v klíči (foto VACKOVÁ, 2014).	34
Obrázek 3: Příprava experimentu na pozemku. Na obr. A je připravená brázda s květináči. Brázda byla 6 metrů dlouhá vyložená pletivem. Na obr. B jsou kontejnery s propagulemi označeny štítkem (foto VACKOVÁ 2014).	36
Obrázek 4: Příprava na tetrazoliový test. Na obrázku A je nádoba, ve které test probíhal. Na obrázku B jsou obarvená embrya, která detekují živou tkáň (foto VACKOVÁ 2015).	37
Obrázek 5: Procento vypučených pacibulek ve vztahu k době odběru za venkovních podmínek (sezóna 2014/15). V obrázku jsou hodnoty průměru \pm SE.	40
Obrázek 6: Klíčení semen a pacibulek na pozemku do 18.4.2015 pocházejících z 4x mateřských rostlin (hodnoty v grafu značí průměr \pm SE).	42
Obrázek 7: Klíčení semen a pacibulek na pozemku do 18.4.2015 pocházejících z 5x mateřských rostlin (hodnoty v grafu značí průměr \pm SE).	43
Obrázek 8: Klíčení semen na pozemku do 18.4.2015, pocházejících z 4x a 5x mateřských rostlin (hodnoty v grafu značí průměr \pm SE).	43
Obrázek 9: Průměrná klíčivost semen a pučivost pacibulek u čtyř populací. Populace: Džbánov – 5x, Ludmírov – 4x, Příbylov – 5x, Venušina sopka – 4x.	44
Obrázek 10: Délka nadzemní části rostlin vzhledem k termínu odběru a jednotlivým ploidiím.	45
Obrázek 11: Délka nadzemní části rostlin dle jednotlivých populací. Populace: Džbánov – 5x, Ludmírov – 4x, Polsko – 6x, Příbylov – 5x, Rovensko – 6x, Venušina sopka – 4x.	46
Obrázek 12: Délka kořene rostlin ve vztahu k termínu odběru a jednotlivým ploidiím.	48
Obrázek 13: Délka kořene rostlin vzhledem k termínu odběru a jednotlivým populacím. Populace: Džbánov – 5x, Ludmírov – 4x, Polsko – 6x, Příbylov – 5x, Rovensko – 6x, Venušina sopka – 4x.	49
Obrázek 14: Počet kořenů na rostlinu ve vztahu k ploidii a termínu odběru.	50

Obrázek 15: Počet kořenů na rostlinu pove vztahu k termínu odběru a jednotlivým lokalitám. Populace: Džbánov – 5x, Ludmírov – 4x, Polsko – 6x, Příbylov – 5x, Rovensko – 6x, Venušina sopka – 4x.....	51
Obrázek 16: Porovnání klíčivosti jednotlivých ploidí u semen s ohledem na zásah.	53
Obrázek 17: Porovnání klíčivosti jednotlivých ploidí u pacibulek s ohledem na zásah.	53
Obrázek 18: Klíčivost pacibulek (v %) vs. průměrná hmotnost jedné propagule.....	55
Obrázek 19: Klíčivost semen (v %) vs. průměrná hmotnost jedné propagule.	56
Obrázek 20: Výsledek robustní analýzy – pozitivní závislost mezi průměrnou hmotností jedné propagule a klíčivostí.	56

Seznam tabulek

Tabulka 1: Klasifikační schéma dormance semen (Nikolaeva 1977)	23
Tabulka 2: Seznam lokalit, ze kterých byl odebírán rostlinný materiál (* ... převzato Jandová 2010, jinak vlastní popis)	31
Tabulka 3: Výsledky Tukey – Kramer testu, které porovnávají, jak se odlišují jednotlivé odběry mezi sebou ($\alpha = 0,05$; DF = 12; kritická hodnota = 4,51).....	39
Tabulka 4: Výsledky Tukey – Kramer testu, které porovnávají, jak se odlišují jednotlivé odběry mezi sebou ($\alpha = 0,05$; DF = 6; MSE = 28,08; kritická hodnota = 4,90).	41
Tabulka 5: Výsledky Tukey – Kramer testu, které porovnávají, jak se odlišují jednotlivé termíny odběrů ve velikostní nadzemní části ($\alpha = 0,05$; DF = 12; kritická hodnota = 4,5145).	46
Tabulka 6: Výsledky Tukey – Kramer testu, které porovnávají, jak se odlišují jednotlivé termíny odběrů ve velikostní nadzemní části ($\alpha = 0,05$; DF = 12; kritická hodnota = 4,5145).	47
Tabulka 7: Výsledky Tukey – Kramer testu, které porovnávají, jak se odlišují jednotlivé termíny odběrů ve velikostní nadzemní části ($\alpha = 0,05$; DF = 12; kritická hodnota = 4,5145).	51
Tabulka 8: Výsledky Tukey – Kramer testu, které porovnávají, jak se odlišují jednotlivé režimy klíčení a propagule ($\alpha = 0,05$; DF = 6; MSE = 0,58; kritická hodnota = 6,13).....	52
Tabulka 9: Výsledky Tukey – Kramer testu, které porovnávají, jak se liší průměry klíčivosti pacibulek vzhledem k jednotlivým ploidiím.	54
Tabulka 10: Výsledky Tukey – Kramer testu, které porovnávají, jak se liší průměry klíčivosti semen vzhledem k jednotlivým zásahům ($\alpha = 0,05$; DF = 9; MSE = 0,14; kritická hodnota = 4,22).....	55

Seznam použitých zkratek

2n	počet homologních sad chromosomů v živé buňce, v tomto případě 2 sady
3x	tři chromosomové sady, tzv. triploidní
4x	čtyři chromosomové sady, tzv. tetraploidní
5x	pět chromosomových sad, tzv. pentaploidní
6x	šest chromosomových sad, tzv. hexaploidní
7x	sedm chromosomových sad, tzv. heptaploidní
8x	osm chromosomových sad, tzv. oktoploidní
APG	databáze taxonomického řazení druhů, pravidelně aktualizována
AR	After – rippening metoda, skladování čerstvě sklizeného osiva
DNA	deoxyribonukleová kyselina
DZ	Džbánov, lokalita sběru jedinců <i>Allium oleraceum</i>
LU	Ludmírov, lokalita sběru jedinců <i>Allium oleraceum</i>
MD	morfologická dormance
MPD	morfofyziologická dormance
n	meioticky redukovaný haplofázický počet chromosomů
PD	fyziologická dormance
PL	Polsko, lokalita sběru jedinců <i>Allium oleraceum</i>
PR	Příbylov, lokalita sběru jedinců <i>Allium oleraceum</i>
PřF	Přírodovědecká fakulta
PY	fyzikální dormance
PY + PD	kombinovaná dormance
R	Rovensko, lokalita sběru jedinců <i>Allium oleraceum</i>
UP	Univerzita Palackého
VS	Venušina Sopka, lokalita sběru jedinců <i>Allium oleraceum</i>
x	základní sada chromosomů

Poděkování

V první řadě bych ráda poděkovala svému vedoucímu bakalářské práce, RNDr. Martinu Duchoslavovi, Ph.D., za jeho odborné vedení, udílené rady a spolupráci při řešení nejrůznějších problémů.

Neméně důležitým rádčem pro mě byla Mgr. Míša Jandová, která mi pomáhala při sběrech rostlinného materiálu, dávala mi odborné rady při práci v laboratoři, zasvětila mně do práce s průtokovým cytometrem a našla jsem v ní kamarádku a rádkyni, bez níž bych tuto práci nikdy nedokončila. Děkuji, Míšo!

Dále bych chtěla poděkovat pracovníkům z katedry botaniky PřF UP za zapůjčení prostorů pro práci v laboratoři a pěstebních ploch pro experiment na pozemku.

Děkuji Mgr. Vaškovi Dvořákovi, který mi ochotně pomáhal v Herbáriu Katedry botaniky se sušením biomasy.

V neposlední řadě děkuji své spolubydlící a dobré kamarádce Dominice Markové, která mi ochotně pomáhala s některými odběry.

Velké díly patří mé rodině, která mě po celou dobu studia podporovala, psychicky i finančně – děkuji, mami a tati.

Nakonec bych ráda poděkovala svému příteli, Ing. Tomovi Vydrovi, který mi byl velkou oporou při všech strastech studia a vždy, když to bylo v jeho silách, tak mi pomáhal.

Děkuji všem lidem, kteří mě byť pouhou myšlenkou podpořili v mém úsilí.



„Per aspera ad astra...“

(„Přes překážky ke hvězdám“)

1. Úvod

1.1 Polyploidie

Polyploidie je proces, který biology fascinuje už více než 100 let. Abychom organismus mohli nazvat polyploidem, musí mít více než dvě kompletní chromosomové sady ($2n$) (Soltis et al. 2003; Madlung 2013). Podle Stebbinse (1947) rozlišujeme tři hlavní typy polyploidů – autopolyploidy, allopolyploidy a segmentované allopolyploidy. Autopolyploidy mají všechny genomy stejné nebo velmi podobné a vznikají duplikací genomu stejného druhu (Stebbins 1947; Madlung 2013). Allopolyploidem naopak nazýváme organismus, který obsahuje dva nebo více odlišných genomů, které vznikly prostřednictvím hybridizace dvou různých druhů následně za zdvojnásobování genomu (Madlung 2013). Segmentovaný allopolyploid je pojem, který zavedl Stebbins (1947) a znamená to, že genomy jsou homeologické. Tímto pojmem označujeme pouze částečně diferencované genomy. Při této situaci může docházet k tvorbě bivalentů a různých multivalentních formací mezi chromosomy dvou rodičovských taxonů (Stebbins 1947; Madlung 2013).

Polyploidy mezi organismy nalzáme ve větší míře u kvetoucích rostlin (včetně zemědělských plodin) než u živočichů. Mezi živočichy jsou většinou tyto procesy letální. Je to kvůli způsobu rozmnožování u živočichů. Podle Wertheima et al. (2013) je to způsobeno skutečností, že živočichové mají častěji oddělené pohlaví a pohlavní chromozómy. I přes to se hromadí důkazy, že mnoho živočichů je polyploidních (Mable 2004). Pokud chceme nalézt odpověď na otázku, proč polyploidů je u rostlin více než u živočichů, je to zčásti proto, že pozornost byla soustředěna u živočichů na omezený počet taxonů - převážně na obojživelníky, ryby (Mable et al. 2011), savce a rod *Drosophila*. U tohoto výběru je velmi nepravděpodobné, že bude odrážet plnou rozmanitost reprodukční strategie u živočichů (Mable 2004). V evoluci rostlin byla polyploidie velmi významným faktorem. Odhad procent jednotlivých skupin se liší. Například Mable (2004) udává, že až 70 % semenných rostlin je polyploidních. V jiných studiích se uvádí, že 30 – 80 % kvetoucích rostlin (Andreuzza 2008) a 95 % kaprad'orostů je polyploidních (Masterson 1994; Soltis 1999; Mable 2004). Proces polyploidizace však neprobíhal u všech druhů najednou, ale došlo k němu nezávisle několikrát během evoluce (Soltis et al. 2003).

Pokud dojde k polyploidizaci, okamžitě se projeví změny ve fenotypu a fyziologických vlastnostech. Proto jsou polyploidní cytotypy obvykle morfologicky odlišné od mateřské rostliny (Fialová et al. 2014). Obecně můžeme říci, že polyploid má větší rozmanitost alel či je

méně náchylný ke snižování genetické diverzity v důsledku příbuzenského křížení. Podle Levina (2002) má polyploidie přímý vliv i na velikost buněčného jádra (tzv. nukleotypový efekt), a z toho následně vyplývá vliv na různé fyziologické, anatomické a morfologické znaky/funkce, což se projevuje i na vnější morfologii neboli fenotypu polyploidní rostliny.

Čím více se zvyšuje počet chromosomových sad, tím více se zvyšuje velikost buněčných jader, objem a průměr buněk a zároveň se snižuje intenzita metabolických procesů. Obecně platí resp. se uvádí, že tyto rostliny mají větší rozměry vegetativních i generativních částí než diploidní příbuzní (Levin 2002).

1.2 Klíčení a dormance

Klíčení je vývojový proces, kterým se embryo mění, za součinnosti dalších částí semene, v klíčnou rostlinu (Luštinec & Žárský 2003). Základem klíčení je nějaká propagule. Pokud vznikla vegetativně, mluvíme např. o pacibulce, která má růstový vrchol (meristém), pokud ovšem vznikla generativně, jedná se o semeno. Semeno je rostlinné embryo kryté ochrannou mateřskou tkání, kterou nazýváme testa. Obvykle je opatřeno zásobní vrstvou, která má zásobu živin a nazýváme ji endosperm (Finch – Savage & Leubner – Metzger 2006). Můžeme říci, že každé semeno apomiktické rostliny je geneticky totožné s mateřskou rostlinou. Primární funkcí semen je reprodukce (Fenner & Thompson 2005).

Důležitým faktorem pro klíčení jsou abiotické podmínky stanoviště, jako je například sluneční záření, teplota, vlhkost, textura a chemické složení půdy atd. Tyto faktory určují výběr a počet druhů, které vyklíčí ze zásoby semenné banky. Vyklíčí ty druhy, které se shodují s vlastnostmi okolního prostředí. Vnější prostředí nám tedy funguje jako takové „síto“ a udává nám kvalitativní a kvantitativní složení populace (Slavíková 1986).

Pro většinu druhů je čas, po který je rostlina schopna klíčení, značně limitován během roku, například pouze na podzim, na jaře nebo ve vlhkém období. Naopak, pro jiné druhy je sezóna, kdy klíčí, dlouhá, například skrze celé vegetační období. Hlavním cílem ekologů, kteří se zabývají klíčením, je vysvětlení, jak je kontrolováno časování klíčení v přírodě a jeho ekologické a evoluční důsledky (Baskin & Baskin 2014). Ranal & Santana (2006) uvádějí, že čas, rychlost a homogenita jsou důležitými faktory, které by měly být měřeny při zkoumání klíčení. Jsou to charakteristiky, které nejsou podstatné pouze pro fyziologii a technologii semen, ale i pro ekologii, protože je díky tomu možné předvídat stupeň úspěchu druhů založený na množství semen schopných vyklíčit (Ranal & Santana 2006).

Občas není rostlina schopna vyklíčit okamžitě. Tento případ označujeme jako dormance. Jedná se o vrozenou vlastnost semene, kdy nevyklíčí ani za předpokladu, že se dostane do podmínek příznivých pro klíčení (voda, teplota, světlo, provzdušnění). Klíčení ovlivňuje i čas, podmínky a místo, kde by mělo k vyklíčení semene dojít (Geneve 2005). Částečný vliv mají i rostlinné hormony, kyselina abscisová a gibereliny (Finch – Savage & Leubner – Metzger 2006). Slovo dormance pochází z latinského *dormine*, což v překladu znamená spát. Proto bývá často dormance přirovnávána ke stavu hlubokého spánku (Luštinec & Žárský 2003). Více sofistikovaná a experimentálně více užitečná definice byla publikována v práci Baskina & Baskina (2014). Říkají, že dormantní semeno nemá kapacitu vyklíčit v určitou dobu ani v rámci kombinace běžných fyzikálních faktorů, které jsou jinak příznivé pro klíčení, díky kterým semeno přestane být dormantní. Ovšem definice dormance je velice komplikovaná, protože dormance se obvykle měří pouze jako absence klíčení (Finch – Savage & Leubner – Metzger 2006).

Schopnost semen přežívat v latentním stavu je výsledkem dlouhodobé evoluce rostlin a jejich adaptace na vnější podmínky. Dormantní semena (v půdě semena i spory) tvoří semennou banku půdy. Dormance tedy umožňuje rostlině překonat nepříznivé období pro růst a vývoj. Můžeme tedy říci, že to je adaptace na nepříznivé podmínky prostředí (Slavíková 1986). Je důležité vědět, jestli rostlina přechází do dormantního stádia nebo jestli klíčí ihned po dozrání. Můžeme tak lépe řídit germinační procesy, například u kulturních rostlin.

Některé rostlinné druhy mimo semen tvoří i vegetativní orgány – dceřiné cibule a pacibulky. Pacibulky jsou často vytvářeny v kombinaci se semeny. Jedná se o trade – off, evoluční omezení mezi sexuálním a vegetativním rozmnožováním, kdy počet jednoho nelze zvýšit, aniž by druhý klesl (Walck et al. 2010). Avšak některé druhy, například *Gagea spathacea* (Schnittler et al. 2009), *Titanotrichum oldhamii* (Wang et al. 2004) či *Allium oleraceum* (Duchoslav 2001) spoléhají v reprodukci skoro výhradně na pacibulky. Pacibulky mohou spadnout z rostliny a růst samostatně nebo zůstanou k mateřské rostlině připojeny do chvíle, než se z nich vyvinou dceřiné rostliny (Walck et al. 2010). Díky tomu, že již zmíněný druh *Allium oleraceum* vytváří semena i pacibulky, byl vybrán jako modelový druh pro tuto studii.

1.3 Studovaný organismus

Pro rod *Allium* je významným znakem výskyt polyploidů. Podle práce Gohla & Kouhla (1973) se v tomto rodě nachází 34% polyploidů. Stupeň polyploidie je v rozsahu od triploidů až po

oktoploidy, nejvíce je zastoupený tetraploidní stupeň, následovaný triploidním, hexaploidním a pentaploidním (Gohl & Kouhl 1973 sec. Fialová 1996). Proto byl druh *Allium oleraceum* L. vybrán jako ideální modelový druh pro tuto studii.

Česnek planý (*Allium oleraceum* L.) je běžným druhem České republiky. Jedná se o geofyt, což je rostlina se zásobním orgánem, který přetrvává nepříznivé podmínky v půdě ve formě cibulek (Duchoslav 2009). Nalezneme ho téměř na celém území ČR, ale většinou se nevyskytuje v polohách nad 1 000 m. n. m (Duchoslav 2001). Nejčastější výskyt je na stráních skalnatého nebo křovinatého charakteru, hojný je i v suchých trávnících a vůbec nejčastěji se vyskytuje v příkopech u cest. Často roste na ruderalních stanovištích. Nemá preferenci v nějakém typu substrátu, roste na půdách minerálně středně silných, které mají slabě kyselou až slabě alkalickou reakci (Duchoslav 2001).

Polyplodie se projevuje na fenotypu rostliny, díky různým cytotypům je velmi variabilní. Variabilitu můžeme pozorovat v barvě okvědí, celkové výšce rostliny a dokonce i v počtu cibulek (Duchoslav 2009).

2. Obecná část

2. 1 Polyploidie

Polyploidie (často nazývána duplikace celého genomu) je stav, kdy se u jedince v jádrech buněk nachází větší počet chromosomových sad, než je $2n$ (Kováčik 1983; Soltis et al. 2003). Polyploidie je vysoce dynamický proces, který hraje majoritní roli v evoluci a speciaci krytosemenných rostlin a významnou roli v evoluční historii eukaryot (Soltis et al. 2003).

Širší areály rozšíření polyploidů jsou často vykládány jako úspěch cytotypů v důsledku jejich odlišných ekologických nik, popřípadě rychlejší schopností kolonizace, například osidlování území po ústupu zalednění (Fialová & Duchoslav 2013).

První odborné publikace o polyploidii se objevily téměř před stoletím, začátkem 20. století. Polyploidie byla považována za důvod fenotypových změn, ze začátku byla drtivá většina polyploidů spontánně popsána díky fenotypovému projevu, než na základě karyotypu nebo průběhu meiózy (Ramsey & Ramsey 2014; Soltis et al. 2014). Za zajímavé byly pokládány rostliny, které se vyznačovaly mohutnějším vzrůstem než mateřské rostliny, a často byly označovány jako mutantní. Například Hugo DeVries (1915) identifikoval autotetraploidního mutantu *Oenothera biennis* v závislosti na velikosti a tvaru poupatek. Postupem času se objevovaly nové studie, které se pokoušely vysvětlit vznik polyploidů. Příkladem mohou být hybridizační pokusy s rodem *Nicotiana* (Clausen & Goodspeed 1925). Čím více studií se uskutečnilo a čím více znalostí se nashromáždilo, bylo jasné, že existuje více způsobů, jak může nový polyploid vzniknout. Briggs & Walters (2001) uvádějí, že v roce 1917 Winge jako první odhalil rozdíl mezi prostým zdvojením chromosomové sady jednoho jedince a hybridizací spojenou s polyploidizací. Teprve o devět let později byly zavedeny termíny rozlišující oba procesy. Jedná se o pojem autopolyploid, což je produkt intraspecifické polyploidizace a allopolyploid, což označuje produkt interspecifické polyploidizace. V případě allopolyploida jde tedy o dva procesy – hybridizaci a polyploidizaci. Tyto termíny poprvé definovali Kihara & Ono (1926). Kromě výše uvedených termínů zavedl Stebbins (1947) pojem segmentální allopolyploid, což znamená, že genomy polyploidů jsou pouze částečně diferencované.

Dalším kritériem klasifikace může být stáří polyploidů. Dělí se na paleopolyploidy a neopolyploidy. Paleopolyploidem nazýváme starobylé taxony, které ve své evoluční historii prošly procesem polyploidizace, ovšem dnes se jeví jako diploidi – hovoří se o takzvané rediploidizaci, během níž dojde k přeorganizování duplikované DNA. Tímto procesem prošla v evoluci většina organismů, včetně člověka. Často jsou to rostliny, které mají nízká

chromosomová čísla. Jako příklad paleopolyploidů můžeme uvést například kukuřici – *Zea mays* L. (Levin 2002). Pojmem neopolyploid označujeme evolučně velmi mladé polyploidy, kteří se liší morfologickými, cytogenetickými a fenotypovými vlastnosti od svých předků (Ramsey & Schemske 2002).

V průběhu 20. století byla zavedena terminologie pro označení ploidních stupňů, která je dnes již ustálená. Označuje se písmenem x , které značí základní sadu chromosomů. Vyšší ploidie se poté označují: $2n = 3x$ (triploid), $2n = 4x$ (tetraploid), $2n = 5x$ (pentaploid), $2n = 6x$ (hexaploid) atd. U některých druhů mohou poté chromosomové počty stoupat až do tisíců, například u kapradin. Příkladem druhem může být *Ophioglossum coriaceum*, u kterého $2n = 360$ (Brownlie 1957). Označení $2n$ znamená neredukované diplofázické chromosomové číslo, písmenem n pak označujeme meioticky redukovaný haplofázický počet chromosomů (Brownlie 1957).

V současnosti je polyploidie uznávána jako jeden z klíčových adaptačních a speciačních mechanismů v evoluci rostlin (Ramsey & Schemske 1998).

Pohled na počet a zastoupení polyploidů v rostlinné říši se neustále mění. Jeden z prvních odhadů procentuálního zastoupení polyploidů mezi vyššími rostlinami publikoval Grant (1963). Ten udává 47 % krytosemenných rostlin. V současnosti se díky počítačovým analýzám a statistickým modelům dá najít velké množství studií zabývajících se touto problematikou. Například Wood et al. (2009) uvádí, že 15 % druhů cévnatých rostlin a 31% druhů kapradin vzniklo polyploidizací. Výjimku tvoří nahosemenné rostliny (cykasy, jehličnany), kde tento jev není tak častý, nalezneme ji u méně než 2 % jedinců. Asi největší zastoupení mají polyploidi v rodě *Ephedra*, kde nalezneme polyploidii u 50 % druhů. Tento jev můžeme nalézt i u hub, řas a mechorostů, v současné době jsou intenzivně zkoumány. Výjimkou nejsou ani zelené řasy, kde byly rovněž zaznamenány vysoké počty chromosomů (Briggs & Walters 2001; Leitch et al. 2005). U živočichů byla polyploidie nalezena asi u 200 druhů hmyzu a obratlovců a další případy jsou nalézány u bezobratlých. Příkladem mohou být některé druhy korýšů (Otto & Whitton 2000). Další polyploidi mohou být nacházeni například u žahavců (*Cnidaria*) nebo ostnokožců (*Echinodermata*) (McCarthy 2008).

Zajímavé mohou být i vzájemné interakce a analýzy vztahů mezi polyploidy a býložravci/opylovači. Například Thompson et al. (2008) zkoumali hmyzí opylovače na diploidech a autotetraploidech *Heuchera grossulariifolia* a našli významný rozdíl mezi cytotypy (Thompson et al. 2008).

Obecně tedy můžeme říci, že pokud je rostlina polyploidní, projeví se to na jejím fenotypu. Bude mít odlišnou velikost, šířku neboli mohutnost či barvu a velikost květů. Za

nevýhody polyploidie můžeme považovat složitější mitózu a meiózu, pomalejší klíčivost semen či možný vznik neplodného potomstva. Pokud vznikne nový polyploid, často se ze začátku potýká s konkurencí hojnějších diploidů (Levin 2002; Ramsey a Schemske 2002).

Polyploidie se rovněž považuje za důležitý faktor, pokud mluvíme o úspěšnosti invazních rostlin (Hahn et al. 2013). Polyploidé, na rozdíl od diploidů, mají rozdílnou genetiku, morfologii, fenologii i ekologii a proto mají předpoklady být invazními. Zároveň mají polyploidní rostliny větší buňky, což se promítne do velikosti a hmotnosti semen.

Polyploidizace může mít důsledky na fenotyp rostliny. Je to způsobeno tím, že díky většímu počtu chromosomových sad se zvětší obsah DNA. To má za následek zvětšení buňky i jádra a tento proces může vést ke změnám fenotypu (Knight & Beaulieu 2007; Hahn et al. 2013). Beaulieu et al. (2007) testovali vztah mezi hmotností semen a velikostí genomu. Tato závislost nebyla potvrzena, avšak zjistili zajímavý fakt. Rostliny, které mají velké genomy, nikdy neměly malá semena, zatímco rostliny s menšími genomy měly širokou velikostní škálu semen (Knight & Beaulieu 2007). Rozdíly mezi cytotypy můžeme rovněž nalézt u vitality semen, klíčením a úspěšností růstu rostliny. Příkladem nám může být studie vypracovaná Bretagnolle et al. (1995), kteří našli vyšší rychlost klíčení u tetraploidů porovnávanou s diploidy u *Dactylis glomerata* závislou na hmotnosti semen, přičemž těžší semena tetraploidů produkovala větší semenáčky.

2.2 Klíčení

Semena jsou rozmnožovacím orgánem rostlin a rovněž důležitou strukturou, která umožňuje obnovu a šíření rostlinných populací. V přírodních podmínkách klíčení proběhne pouze na místě a v prostoru příznivém pro tento proces.

Klíčení je základní krok v celém regeneračním procesu a hraje ústřední roli v celém životním cyklu rostlin (Fenner & Thompson 2005; Ferreras et al. 2014). Jedná se o nezvratný proces – pokud embryo jednou začne klíčit, zavazuje se tím buď k růstu, nebo ke smrti. Vyklíčením dochází k prasknutí testy a k vytlačení plumuly (vzrostného vrcholu) nebo radikuly (kořínku) (Fenner & Thompson 2005). Zároveň je studium klíčení důležité kvůli získání znalostí o druzích, které mají potenciál být invazní (Ramsey & Ramsey 2014).

Tento proces zahrnuje propustnost pro vodu, rapidní nárůst dýchací činnosti, aktivaci zásob živin a zahájení růstu embrya (Fenner & Thompson 2005).

I přes zajištění veškerých podmínek se může stát, že semeno nevyklíčí. Je to proto, že jsou přítomny mechanismy, které zabraňují vyklíčení semene při nepříznivých podmínkách či za předpokladu, že by semenáček nedorostl do dospělosti. Takovému stavu semen říkáme dormance.

2.3 Semenná banka

Zralá semena a pacibulky se po oddělení z mateřské rostliny dříve či později dostanou do půdního prostředí (Fenner & Thompson 2005). Některá semena či pacibulky, pokud jsou v příhodných podmínkách, vyklíčí ihned. Avšak většina se jich shromažďuje v latentním (nevyvinutém) stavu jako zdroj potencionální vegetace po různě dlouhou dobu (Slavíková 1986; Fenner & Thompson 2005). Každý rok sem dopadají nové, takže v půdě jsou smíchány propagule z daného roku a minulé. Tato zásoba je zdrojem nové populace jedinců, pokud nastane změna podmínek prostředí, propagule rychle vyklíčí a vyrostou.

V půdní zásobě klesá počet vitálních (životaschopných) propagulí (přesněji jejich embryí) následkem přirozené ztráty klíčivosti. Některá semena jsou klíčivá pouze po velmi krátkou dobu – například rod *Salix*, některé rumištní druhy (*Aegopodium podagraria*, *Galium aparine*) či druhy s velkými semeny (*Juglans regia*, *Corylus avellana*). Ztráta semen je způsobena často také herbivory, parazity (bakterie, plísňe, houby), či hnitím (Slavíková 1986). Naopak semena jednoletých či dvouletých rostlin jsou klíčivá po velmi dlouhou dobu.

Semenou banku můžeme studovat z několika pohledů. Můžeme se věnovat druhovému složení, životaschopnosti, hloubce výskytu či vlivu velikosti, tvaru a povrchu propagulí na životnost a hloubku pohřbení. Například Lazenby (1962) studoval vliv hloubky pohřbení na růst a klíčivost pacibulek a dceřinných cibulí u *Allium vineale*. Autor zjistil, že délka růstové sezóny u hlouběji pohřbených propagulí je kratší než u mělčeji položených. Nejenom, že se listy objevují později, ale jedinec zahyne mnohem dříve, než je tomu u těch, kteří jsou blíže povrchu půdy (Lazenby 1962). Rovněž hloubka pohřbení ovlivňuje dormanci jedinců. U příkladu *Allium vineale*, pokud je pacibulka těsně pod povrchem v půdě bez konkurenčních rostlin, vyklíčilo 100 % na podzim a v zimě. Až 10 % může být dormantních, pokud je v půdě společně se semeny trav. Mnoho pacibulek pohřbených do půdy na podzim může být vitálních až 12 měsíců, pokud setrvávají v blízkosti povrchu půdy (Lazenby 1962).

Podle Thompsona et al. (1997) rozeznáváme tři typy semenné banky podle doby setrvávání propagulí v půdě. Prvním typem je banka přechodná (transient), kdy jsou propagule

v půdě živé maximálně jeden rok, ve většině případů méně. Dalším typem je banka krátkodobě přetrvávající (short – term persistent), kdy jsou semena v půdě 1 – 5 let. Posledním, třetím typem je banka dlouhodobě přetrvávající (long – term persistent), kdy jsou semena v půdě déle než 5 let (Thompson et al. 1997). Příkladem nám mohou být archeologické výzkumy, kdy byla nalezena semena *Spergula arvensis*, která zůstala klíčivá po 1 600 let. Předpokládá se, že udržení životaschopnosti semen je umožněno biocidními látkami zabraňujícími rozklad semen (Slavíková 1986).

Hmotnost a velikost semen v semenné bance se odvíjí od hloubky půdy. V hlubších vrstvách půdy nalezneme menší, lehčí semena a ty, které mají delší životnost. Rovněž závisí na typu společenstva. Ve společenstvech polních plevelů nalezneme semena dlouhověká, luční rostliny mají středně dlouhou délku života a například v opadavých lesích se většinou nachází přechodná semenná banka (Thompon et al. 1997; Bekker 1998).

Mnoho autorů se shodlo, že semenná banka je velmi důležitá pro zachování ekologické heterogenity (Venable & Brown 1988; Fenner & Thompson 2005). Pokud jednoletá rostlina nemá semennou banku, při nejbližší příležitosti, pokud například selže reprodukce, vyhyne. Pokud rostlině hrozí kompletní selhání reprodukce, o to více by měla investovat do semenné banky (Fenner & Thompson 2005).

2.4 Dormance

Propagule, které jsou shromážděné v semenné bance v půdě, mohou vyklíčit ihned nebo zde setrvávají po různě dlouhou dobu ve stavu dormance. Dormance tedy znamená stav klidu, kdy semena nejsou schopna vyklíčit a jejich metabolismus je snížen na minimum. Tato schopnost je výsledkem dlouhodobé evoluce rostlin. Dormantní stav umožňuje rostlině překonat období, které je nepříznivé pro její růst i vývoj (Slavíková 1986; Baskin & Baskin 2007). Tento proces můžeme popsat také jako analogii k aktivnímu úniku zvířat z nepříznivého prostředí (Slavíková 1986).

Dormance nastává u rostliny ze dvou důvodů. Za prvé, podmínky prostředí jsou nevhodné pro vyklíčení nového jedince. Semeno se může dostat například do bahna na dně jezera, může být v teplotních podmínkách nevhodných pro růst rostlin či se dostalo do papírového sáčku do laboratoře (Baskin & Baskin 2000). Druhým důvodem může být, že nějaká vlastnost semena to neumožňuje.

2.4.1 Typy dormance

Základní rozdělení dormance, které je často používáno ve studiích, je primární a sekundární dormance. Propagule, které jsou čerstvě sklizené, pro vodu propustné, ty jsou ve stádiu primární dormance. Oproti tomu sekundární dormance může být indikována v semenech s nehlubokou fyziologickou dormancí a většinou je připisována jednoletým dormančním cyklům v semenné bance. Sekundární dormance může být odstraněna několikerým střídáním sezónních změn, dokud nenastanou příhodné podmínky pro vyklíčení (Baskin & Baskin 1998; Finch – Savage et al. 2006). Další dělení dormance je na endogenní a exogenní (tabulka 1). Endogenní dormance, která zahrnuje fyziologickou a morfofyziologickou dormanci, často zahrnuje období stratifikace. Naopak exogenní dormance není ovlivňována teplotou (Nikolaeva 1977; Baskin & Baskin 2000; Phillips 2010).

Obsáhlé klasifikační schéma rozdílných typů organické dormance bylo prvně a souhrnně publikováno Nikolaevou v roce 1967 (Nikolaeva 1967). Pojem organická dormance používáme, pokud dojde ke změnám v nukleových kyselinách a metabolismu bílkovin. Toto období končí na jaře, kdy se obnoví růst rostlin a semen. V roce 1977 bylo toto schéma Nikolaevou zrevidováno a rozšířeno (tabulka 1) a podle Baskina & Baskina (2000) je tato verze dodnes nejlepším klasifikačním systémem (Nikolaeva 1977). Na základě tohoto schématu dělí Baskin & Baskin (2000) dormanci na pět klasifikačních skupin: fyziologická (PD), morfologická (MD), morfofyziologická (MPD), fyzikální (PY) a kombinovaná (PY + PD).

Fyziologická dormance je nejhojnějším typem a je nacházena u nahosemenných rostlin a u všech hlavních kládů krytosemenných rostlin (Finch – Savage et al. 2006). PD je také nejvíce rozšířeným typem dormance v temperátních semenných bankách a je majoritním typem u semen modelových druhů v laboratoři, například *Nicotiana spp*, *Helianthus annuus* či *Lactuca sativa*. Můžeme ji rozdělit do tří stádií – hluboká, střední a málo hluboká (Baskin & Baskin 2004; Finch – Savage et al. 2006).

Do morfologické dormance vstupují semena, která mají nevyvinutá embrya (myšleno velikostně), ale jsou diferencovaná (mají například vyvinuté dělohy). Tyto semena nevstupují do fyziologické dormance, pouze potřebují čas, aby vyrostly a vyklíčily. Příkladem tohoto typu dormance může být celer *Apium graveolens*. Podle Baskina & Baskina (1998) je tento typ dormance nejprimitivnějším typem.

Morfofyziologická dormance (MPD) je také patrná u semen s nevyvinutým embryem, zároveň však mají fyziologickou složku pro dormanci (Baskin & Baskin 2004). Taková to semena potřebují nějaké procesy (fyziologické), které prolomí dormanci, například

teplá/studená stratifikace. Tento typ dormance se vyskytuje například u jasanu *Fraxinus excelsior*.

Semena s fyzikální dormancí (PY) mají nepropustnou testu nebo oplodí – semeno je suché, dokud není narušeno osemení a vznikne tak cesta pro vodu. Tuto dormanci může narušit mechanická nebo chemická skarifikace.

Je běžné, že se mezi sebou jednotlivé typy dormance kombinují. Velmi běžná je kombinace morfologické a fyziologické – dormance morfofyziologická (viz výše). Naopak kombinace fyzikální a fyziologické dormance je velmi zřídka. Vyskytuje se u semen s nepropustným oplodím pro vodu, kde se kombinuje s fyziologickou dormancí embrya (Baskin & Baskin 2004).

Fyziologická dormance, jako nejhojnější typ, rovněž zajišťuje větší flexibilitu v reakci na změny prostředí.

Tabulka 1: Klasifikační schéma dormance semen (Nikolaeva 1977)

Typ dormance	Důvod	Způsob prolomení dormance
Endogenní		
Fyziologická	Fyziologický mechanismus inhibice klíčení	Teplá a/nebo studená stratifikace
Morfologická	Nevyvinuté embryo	Vhodné podmínky pro vývin embrya/klíčení
Morfofyziologická	Kombinace předchozích	Teplá a/nebo studená stratifikace
Exogenní		
Fyzikální	Obaly semena/plodu nepropustné pro vodu	Narušení povrchové vrstvy
Chemická	Inhibice klíčení	Loužení
Mechanická	Dřevnatá struktura omezuje růst	Teplá a/nebo studená stratifikace

2.4.2 Funkce dormance

Primární funkcí dormance, jak je obvykle uváděno, je zabránění klíčení během období, které je nevhodné pro klíčení. Ve skutečnosti, dormance není potřebná za tímto účelem – semena nevyklíčí během suchého období a požadavky na středně vysoké teploty pro klíčení jsou dostatečné pro zabránění klíčení během studeného období. Hlavní funkcí dormance je tedy zabránění klíčení, pokud podmínky jsou vhodné pro vyklíčení, ale pravděpodobnost přežití a růstu semenáčků je malá (Fenner & Thompson 2005).

2.4.3 After – ripening perioda (AR)

Jedná se o období, kdy je obvykle po dobu několika měsíců čerstvě sklizené osivo skladováno v tmavé místnosti při pokojové teplotě. Jedná se o běžný způsob posklizňové úpravy osiva, který se užívá k oslabení dormance (Finch – Savage et al. 2006). Určuje nám potenciál klíčení semen. Úspěšnost tohoto posklizňového zacházení se semeny může být uvedena na příkladu publikace Leubnera – Metzgera (2005), kdy došlo k rychlému protržení testy u *Nicotiana tabacum* asi po 60 dnech suchého skladování.

Semena, která projdou tímto skladováním, se mohou vyznačovat: (1) rozšířeným rozsahem teplot pro klíčení; (2) semenům, která nechtějí klíčit ve tmě, ubudou požadavky na světlo; (3) úbytkem požadavků na nitráty; (4) zvýšenou rychlostí klíčení (Finch – Savage et al. 2006).

2.4.4 Prolomení dormance

Prolomení morfologické nebo morfofyziologické dormance vyžaduje růst nebo vývoj embrya, zatímco prolomení fyzikální dormance vyžaduje narušení osemení. V obou případech, dormance i prolomení dormance jsou snadno zjištělné jevy (tabulka 1) (Fenner & Thompson 2005). Fyziologickou dormanci můžeme prolomit pomocí teplé/studené stratifikace. Je proveditelná u malých, ale plně diferenciovaných semen.

Pokud se podíváme na způsoby prolomení dormance, do jisté míry záleží na tom, kde uděláme pomyslnou linii mezi klíčením a dormancí (Fenner & Thompson 2005). Například ve studii Pons (2000) se uvádí, že dormance je přerušena světlem. Můžeme na to tedy pohlížet dvěma způsoby – světlo je posledním krokem v prolomení dormance, nebo je to první krok v procesu klíčení.

Například semena mnoha druhů temperátních bobovitých rostlin (luštěnin), které mají všechny fyzikální dormanci, klíčí na jaře vlivem přírodních podmínek. Laboratorní studie ukázaly, že dormance je prolomena při kolísání teploty, ale pod podmínkou, že semena nejdříve projdou etapou mrazivých teplot (Fenner & Thompson 2005). V přírodě i v laboratoři je nutné narušení osemení před vyklíčením. Vysoké teploty mohou být rozhodující v procesu prolomení fyzikální dormance v přírodních podmínkách, ovšem v laboratoři je možné prolomení fyzikální dormance pouze fyzikálním či chemickým narušením osemení. V pracích mnoha autorů se objevuje narušení osemení mikrobiálním útokem (Baskin & Baskin 2000). Ovšem tato souvislost se ještě neprokázala a podle všeobecného názoru proces dormance skýtá ještě mnohá překvapení (Fenner & Thompson 2000).

Obecně proces prolomení dormance můžeme nazvat stratifikace. Jedná se o kombinaci více faktorů, či dlouhodobé působení jednoho faktoru, například dlouhodobé vystavení nízkým teplotám, kolísání teplot či umístění do vlhkého písku o teplotě 5 °C (Luštinec & Žárský 2003). Původně byl tento proces experimentálně zajišťován vrstvením osiva s vlhkým substrátem (pískem). Pro různé druhy se používaly různé typy substrátu, bylo možné použití čisté rašeliny – huminové kyseliny naruší povrch osemení.

2.4.5 Dormance u čeledi *Amaryllidaceae*

Podle Baskin & Baskin (1998) má čeleď *Amaryllidaceae* nevyvinutá lineární embrya, která jsou plně diferencovaná. Znamená to tedy, že embryo musí dorůst, než může semeno vyklíčit. Nicméně, údaje o růstu embrya jsou v této skupině vzácná.

Semena s nevyvinutým embryem mají morfologickou dormanci, mohou ovšem mít i dormanci fyziologickou. Ovšem pokud je růst embrya a kořínku dokončen do třiceti dnů za vhodných podmínek, semena mají pouze morfologickou dormanci. Na druhé straně, pokud je klíčení zpožděno o více než třicet dní a semena vyžadují zásahy k prolomení dormance - stratifikaci, jako je vystavení vlhkému chladu (0 – 10 °C) a/nebo vlhkému teplu (≥ 15 °C), mají morfofyziologickou dormanci (Copete et al 2011; Baskin & Baskin 1998; Nikolaeva 1977).

2.5 Objekt studia – *Allium oleraceum* L.

2.5.1 Taxonomické zařazení, rozšíření

Rod *Allium* L. (česnek) zahrnuje trvalé, cibulovité byliny s charakteristickým zápachem cibule nebo česneku (Stearn 1980). Cibule jsou jednotlivé nebo nahloučené, složené z jedné až

několika zásobních šupin, což jsou zdužnatělé báze listů (Krahulec & Duchoslav 2010). Rod obsahuje více než 800 druhů, které jsou rozšířené v mírném pásu severní polokoule, až na 1 druh – *Allium dregeanum*, který se vyskytuje v Jižní Africe (De Sarker 1997; Krahulec & Duchoslav 2010). Patří ke středně velkým rodům české květeny. Vedle nápadných a snadno určitelných druhů (např. *Allium ursinum* – česnek medvědí) se zde nacházejí i nenápadné a často přehlížené druhy (Krahulec & Duchoslav 2012). Kromě planě rostoucích druhů obsahuje tento rod i mnoho významných zemědělských plodin, jako je například česnek kuchyňský (*Allium sativum*), cibule kuchyňská (*Allium cepa*) či pór (*Allium porrum*) (Phillips 2010).

Allium oleraceum je taxonomicky řazeno do podrodu *Allium*, sekce *Codonoprasum*. Rod *Allium* patří do řádu *Asparagales*, čeledi *Amaryllidaceae*, podčeledi *Allioideae* (APG III). Jeho taxonomické řazení je stále předmětem diskuzí, k jeho upřesňování dochází s rozvojem molekulárních metod.

Allium oleraceum je běžný evropský druh, který se vyskytuje na celém území Evropy, od oblasti Skandinávie až po Středozevní moře (oblast Středomoří), nejhojněji se vyskytuje ve střední, východní a západní Evropě, chybí v jižní části Balkánského poloostrova a jižní Itálii (Duchoslav 2001).

V České republice se jedná o hojný druh rodu *Allium*. Najdeme ho od nížin po pahorkatiny (až 600 m. n. m.), velmi vzácně ve vyšších nadmořských výškách (nejvyšší nález 908 m. n. m., Bílé Karpaty). Nejčastěji se nachází v křovinách, suchých trávnících, je častým obyvatelem příkopů cest či okrajů polí, ale v posledních desetiletích ustupuje. V současnosti preferuje spíše antropogenní stanoviště, hojný je například v akátinách. Často roste v lehce rozvolněných porostech na písčitohlinitých až jílovitých půdách, preferuje čerstvě vlhké až sušší půdy. Nalézáme ho společně s *Allium vineale*, se kterým se může často zaměňovat, zvláště ve sterilním stavu (Krahulec & Duchoslav 2010).

2.5.2 Popis

Allium oleraceum L. je vytrvalá bylina 25 – 100 cm vysoká. Jedná se o geofyt, který voní po česneku, ale chuť je mdlá. Cibule je blanitá, téměř kulovitá, průměrná velikost je 1,0 – 1,5 cm, rozpadá se ve vlákna. Dceřiné cibulky se tvoří nepravidelně, počet bývá 1 – 2, jsou elipsoidní, až 1 cm dlouhé. Jsou schované v blanité bělavé šupině, buď skryté pod listovými pochvami, nebo jsou vně cibule na stopkách, které dosahují velké délky mezi listové pochvy až nad cibuli. Listy mají čárkovitou až nitkovitou čepel délky až 30 cm, počet je 2 – 5 na rostlinu, na vrcholu jsou tupě zaoblené až špičaté, jsou na líci žlábkovité, zejména na rubu je výrazně vystupující

drsné žebro. Stvol je přímý, oblého tvaru, listy jsou zelené až sivě ožíněné (Krahulec & Duchoslav 2010).

Květenství je ve tvaru lichookolíku, který je polokulovitý až kulovitý, ve tvaru až 20 cm dlouhého vytrvávajícího dvouklaného toulce, který je tvořen dvěma nestejně dlouhými zašpičatělými cípy, ty zůstávají v době kvetení zachovány. Toulec je před kvetením uzavřený, je velmi řídký, s počtem jednotlivých květů 0 – 50. V květenství převažují vřetenovité pacibulky, které jsou vegetativním orgánem, a v jednom květenství jich může být několik desítek. Květní stopky jsou 15 – 60 mm dlouhé, vnější za květu dolů ohnuté. Okvětní lístky jsou na vrcholu bělavé s různým nádechem (světle růžovým až do hněda), hrotité, vždy mají zřetelně tmavší střední žilku. Tyčinky jsou kratší než okvěti, nitky jsou 4,5 – 5,5 mm dlouhé, na bázi krátce rourkovitě srostlé, prašníky jsou většinou žluté. Kveté v červenci až září. Semeník je za květu úzce obvejcovitý, dosahuje asi 4x větší délky než šířky, na vrcholu je zaobleně utátný. Tobolky se vytvářejí jen zřídka (Krahulec & Duchoslav 2010). Mimo semena a pacibulky rostlina tvoří také dceřiné cibule, které dorůstají v samostatné jedince.

Pokud se podíváme na semena, tak celá sekce *Conodoprasum* je charakteristická trojúhelníkovitými nebo téměř ploše vypouklými, drsnými semeny s rozměry 2,3 – 4,4 x 1,0 – 2,7 mm (Cheshmedziev 1997).

Pacibulky, jak je zmíněno výše, jsou vegetativně tvořeným orgánem, který nalezneme v květenství. Rostlina jich produkuje velké množství a jsou robustnější než semena (Fialová & Duchoslav 2014). Semena i pacibulky začínají v přírodních podmínkách klíčit/pučet během pozdního podzimu (Fialová & Duchoslav 2014).

Allium oleraceum je polyploidní komplex. Na území Evropy byly nalezeny celkem šest ploidních úrovní (Duchoslav et al. 2013; Fialová et al. 2014) – triploidní $2n = 3x = 24$, tetraploidní $2n = 4x = 32$, pentaploidní $2n = 5x = 40$, hexaploidní $2n = 6x = 48$, heptaploidní $2n = 7x = 56$ a oktoploidní $2n = 8x = 64$ úroveň. Triploidní jedinci jsou extrémně vzácní s nejmenší frekvencí. Na území České republiky se podle Duchoslava (Duchoslav et al. 2013) triploidní jedinci nenacházejí. Na našem území se nachází tři ploidní stupně, které se vyskytují nerovnoměrně. Jedná se o tetraploidy, pentaploidy a hexaploidy. Můžeme je nalézt jak v homogenních, tak v cytotypově smíšených populacích.

2.5.3 Životní cyklus

Allium oleraceum je geofyt se sympodiálním větvením. Pokud o rostlině mluvíme jako o geofytu, jedná se o vytrvalou bylinu s obnovovacími pupeny umístěnými pod povrchem země.

Nepříznivé období poté přežívá pomocí zásobovacího orgánu (např. hlíza, cibule, apod.). Vývoj jedince začíná na podzim, kdy pacibulka začne rašit výhonkem a vyvine kořínek – to trvá skoro jeden rok. Rostlina buď hibernuje jako pacibulka hlouběji v zemi nebo vyrostě krátký zelený výhonkový lístek nad půdní povrch během teplého a dlouhého podzimu a v této fázi zůstane přes zimu. Další vývoj začíná na jaře. Tři nebo čtyři listy se začínají prodlužovat. Terminální okolík mladých pacibulek a květních pupenů se začne rozvíjet uzavřený dvěma listy o nestejně délce se širokou základnou a protáhlou špičkou (toulec). Jak pacibulky rostou, protrhnou toulec. To se stává několik týdnů před kvetením (Åström & Hægström 2004). Mladé květní pupeny jsou vyvinuty mezi mladými pacibulkami a ty je chrání při jejich vývinu, kdy jsou náchylné k poškození. V tomto stádiu zelené listy začínají odumírat. Kvetení začíná a pokračuje v červenci až září (Krahulec & Duchoslav 2010). Počet květů na rostlinu je obvykle menší, pohybuje se mezi 0 až 41. Počet pacibulek většinou převyšuje počet květů (Åström & Hægström 2004).

3. Cíle práce

Z předložené přehledové studie můžeme vytyčit tyto hlavní cíle práce a shrnout je v následujících bodech:

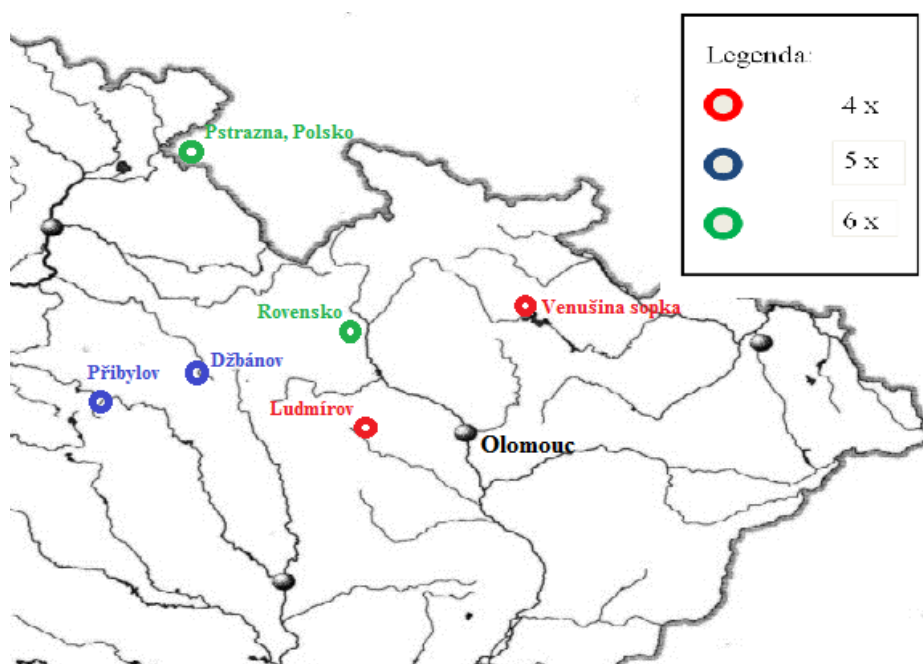
- (1) Vztažení velikosti (hmotnosti) propagulí ve vztahu k ploidii, zjistit souvislost s úspěšností klíčení semen/pučení pacibulek za různých teplotních režimů (cf. Bretagnole et al. 1995; Eliášová et al. 2014).
- (2) Otestování, za jakých podmínek budou klíčit semena/pučit pacibulky. Zjištění, zda je u nich přítomná dormance, či after-ripening perioda. Sledování, zda propagule nemohou klíčit/pučet či klíčí/pučí za jakýchkoliv teplot a tedy nevykazují dormanci. Dopusud bylo klíčení *Allium oleraceum* prováděno převážně pouze při jednom teplotním režimu (Fialová et al. 2014); práce Åström & Hæggström je doplněna ještě o klíčení při teplotě 20 °C (Åström & Hæggström 2004); tato práce byla rozšířena ještě o další teplotní režimy.
- (3) Experimentální otestování fenologie klíčení/pučení semen/pacibulek za simulace přirozených podmínek.

4. Materiál a metody

4.1 Rostlinný materiál – zdrojové populace

Na základě existující databáze lokalit cytotypů *A. oleraceum* (Duchoslav et al. 2010) byl proveden předběžný výběr 12 lokalit jednotlivých cytotypů s cílem získat dostatečně velké populační vzorky cytotypově uniformních populací ($2n = 4x, 5x, 6x$).

Vzhledem k nepříznivému vývoji počasí v r. 2014 nebo lidským zásahům byl vlastní odběr propagulí proveden na 5 již dříve známých lokalitách, a navíc byla doplněna jedna nová lokalita, celkem tedy bylo navštíveno 6 lokalit, po dvou na tetra-, penta- a hexaploidní cytotyp (obr. 1, tabulka 2).



Obrázek 1: Mapa lokalit, ze kterých byly prováděny sběry propagulí *Allium oleraceum* v roce 2014. Červeně jsou označeny tetraploidní, modře pentaploidní a zeleně hexaploidní populace.

Tabulka 2: Seznam lokalit, ze kterých byl odebírán rostlinný materiál (* ... převzato Jandová 2010, jinak vlastní popis)

Zkratka populace	Ploidie populace	Odhad velikosti populace	Obec	Popis	Stanoviště	Nadm. výška (m.n.m.)	Zem. šířka	Zem. délka	Rok sběru propagulí
LU	4x	>500*	Ludmírov	Vápencové stráňky s <i>Festuca rupicola</i> , paseno	Step	500	49° 37' 54"	16° 52' 21"	2014
VS	4x	100 – 200	Mezina	Travnatá mez u cesty, asi 100 m od vrcholu	Mez	645	49° 57' 32"	17° 28' 71"	2014
DZ	5x	>500*	Džbánov	Ruderální porost, železniční násep	Žel. násep	293	49° 55' 34"	16° 10' 22"	2014
PR	5x	>500*	Příbylov	Opuková sut' a stepní porost, sv. <i>Bromion</i>	Step	356	49° 51' 35"	15° 58' 54"	2014
PL	6x	100	Pstrazna, Polsko	Okraj pole, resp. krajnice silnice	Okraj pole	625	50° 28' 21"	16° 16' 11"	2014
R	6x	300 – 500*	Rovensko	Mez u pole	Mez	305	49° 54' 34"	16° 52' 36"	2014

4.2 Sběry jedinců *Allium oleraceum*

Sběry *Allium oleraceum* byly prováděny v roce 2014 na přelomu srpna a září. Rostliny se odebíraly ve fázi dozrání semen, pacibulky byly již zralé, těsně před vypadáváním. Sbírala se celá nadzemní část rostliny do igelitového sáčku.

Po nasbírání se rostliny umístily do laboratoře, spodní části stvolu se ponořily do nádoby s vodou a nechaly se dozrát propagule (cca dva týdny). Poté, co dozrály, jsem květenství jedinců rozebrala na semena a pacibulky. Po spočítání a zvážení celkového počtu semen a pacibulek z jednoho lichookolíku na laboratorních vahách se uložily do papírových sáčků označených kódem. V každém sáčku byly propagule z jednoho lichookolíku. Pro další práci se nepočítalo se semeny nevyvinutými (abortovanými), což jsou semena malá nebo svraskalá (viz Fialová et al. 2014). Propagule jsem uložila do papírové krabice a ponechala při pokojové teplotě do dalšího zpracování.

4.3 Cytotypové složení populace

Kontrola ploidie studovaných populací byla provedena několikrát v uplynulých letech (Šafářová 2004; Duchoslav et al. 2010; Šafářová & Duchoslav 2010; Jandová 2010), u populací, kde byly některými autory zaznamenány minoritní cytotypy (např. Ludmírov) a u nově zahrnuté lokality (Pstrazna) byl v roce 2015 proveden dodatečný skřínink DNA - ploidie. Byl proveden během měsíce února 2015.

Aby mohl být skřínink proveden, byly z populace od každého jedince odebrány alespoň dvě pacibulky. Pacibulka jako vegetativní propagule má ploidii mateřské rostliny (Jandová 2010). Pro změření ploidie bylo nutné vypreparovat meristém. Měření bylo provedeno na průtokovém cytometru za použití vnitřního standardu se známým obsahem DNA – *Triticum aestivum* cv. 'Saxana' $2C = 34,24$ pg – kalibrováno s *Hordeum vulgare* $2C = 10,43$ pg (Doležel et al. 1989). Pšenice byla vyseta na perlit a pěstována ve fytotronu a později ve skleníku. Pro účely analýzy byly použity pouze zdravé listy v čerstvém stavu.

Bylo použito množství 1 cm standardu i vzorku, které se společně nasekalo na Petriho misce žiletkou v 1 ml LBO1 pufru o pH 7,5 (Doležel et al. 1994). Následně byl homogenát přefiltrován přes nylonový filtr do kyvety. Ihned se k tomu napipetovalo 50 μ l fluorescenčního barviva PI (proprium jodid), které interkalární vazbou na řetězec DNA obarvilo chromosomy. Na lineární stupnici grafického výstupu byla hladina ploidie stanovena na základě poměru vzdáleností mezi G1 vrcholy, takzvanými píky standardu a vzorku (Jandová 2010; Šafářová & Duchoslav 2010).

Cytometrická analýza potvrdila, že získané vzorky populací z Ludmírova a Venušiny sopky jsou čistě tetraploidní a bylo zjištěno, že vzorky z populace z lokality Pstrazna jsou hexaploidní.

4.4 Klíčení semen a pučení pacibulek: laboratorní experiment

Semena a pacibulky, které jsem měla připravené již od doby sběru, jsem začala připravovat na experiment během měsíce října roku 2014 (cca 1 měsíc od sběru). Cílem experimentu bylo otestovat, za jakých podmínek probíhá pučení/klíčení *Allium oleraceum* s ohledem na situaci v přírodě a zda jsou semena/pacibulky dormantní či ne. Přípravy na experiment započaly na začátku října 2014, samotný experiment probíhal od 8. října.

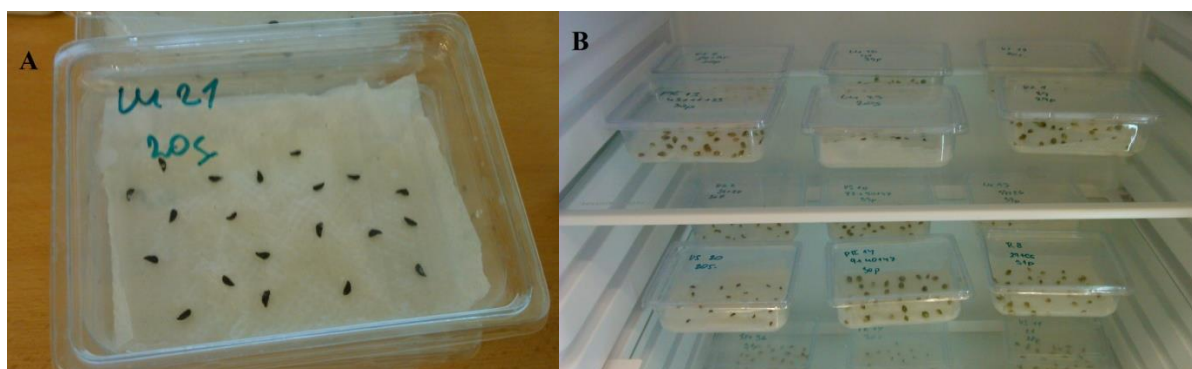
Experiment byl proveden se semeny a pacibulkami tří cytotypů, vždy reprezentovanými dvěma populacemi, v klícidlech, které byly nastaveny na 4 různé teplotní režimy – konstantní teploty 7°C, 14°C, 20°C a střídavý režim 7/14°C (střídání teploty po 12 hodinách). U stálých teplot byl světelný režim nastaven na 12 hodin světla (den) a 12 hodin tmy (noc). U střídavého režimu bylo světlo u vyšší teploty (14°C) a tma u nižší teploty (7°C).

V první fázi jsem si nachystala plastové krabičky (velikost 2,5 cm x 10 cm). Ty jsem vymyla roztokem Sava, aby se zabránilo rozvoji houbových a bakteriálních kolonií, které často klíčící propagule napadají. Dno krabičky jsem pokryla sterilní buničinou, která byla navlhčena destilovanou vodou.

Při práci se semeny docházelo ke slučování jedinců v rámci jedné populace před klíčením/pučením tak, abych dosáhla dostatečného počtu semen. U pacibulek to díky vysoké produkci nebylo nutné. Semena a pacibulky jsem umísťovala do krabiček. Do jedné krabičky jsem umístila buď 20 semen, nebo 30 pacibulek z jedné populace (příloha 1). Poté jsem je zavlažila destilovanou vodou, uzavřela a popsala krabičku kódem (obr. 3A). Následně jsem provedla náhodný výběr vzorků (krabiček) z téže populace tak, aby byly přiřazeny jednotlivým režimům náhodně a stejně tak jsem krabičky v klícidlech rozmístila náhodně (obr. č. 3B). V každém boxu jsem měla 16 krabiček, z toho bylo 7 krabiček se semeny, od každé populace 1 (Džbánov, Příbylov, populace z Polska) nebo 2 (Ludmírov, Venušina sopka) a 9 krabiček s pacibulkami, od každé populace 4. Populace z Rovenska nebyla semeny zastoupena vůbec, protože se nepodařilo získat dostatečný počet semen. Celkem byl tedy experiment prováděn se 64 krabičkami s propagulemi, z toho 28 krabiček se semeny a 36 krabiček s pacibulkami.

Buničinu jsem udržovala vlhkou pravidelným zvlhčováním při kontrole. Prováděla jsem dodatečnou závlahu, aby mi nevyschla buničina a tak jsem měla vždy v lednici stříčku s vodou o stejné teplotě jako nastavená teplota v klíčiidle.

Kontrolu vyklíčených semen a vypučených pacibulek jsem prováděla každé 3 dny, počítala jsem vyklíčená semena a pacibulky. Jakmile semeno vyklíčilo nebo pacibulka vypučela, přesunula jsem si ji na okraj krabičky, abych ji při další kontrole nezapočítala znovu. Vše jsem si důkladně poznačila do připravených archů a po kontrole došlo k zaměnění pozic krabiček v klimaboxu. Experiment byl ukončen po 137 dnech na konci měsíce února.



Obrázek 2: Příprava na zahájení germinačního experimentu. Na obr. A je používána krabička (velikost 2,5 x 10 cm). Na obr. B jsou již krabičky s propagulemi v klíčiidle (foto VACKOVÁ, 2014).

4.5 Příprava experimentu – pozemek

Připravila jsem si semena a pacibulky, počítala jsem opět semena po 20 a pacibulky po 30. Zvážila jsme čerstvou hmotnost příslušných vzorků a poté jsem uložila propagule do papírových sáčků.

Příprava pozemku proběhla předem. Vykopala jsem brázdu o hloubce kontejneru, položila na dno pletivo o velikosti ok 1x1 cm, které jsem jemně zasypala přesátým zahradnickým substrátem tak, abych vytvořila rovnou brázdu, do které bych mohla umístit kontejnery (obrázek 4A).

Ve skleníku jsem si připravila pěstební substrát, přesátou zeminu, které jsem smíchala s výsevním substrátem v poměru 3:1 a důkladně jsem tuto směs promíchala. Poté jsem propagule začala vysévat do připravených kontejnerů. Kontejner jsem naplnila připravenou směsí, 2 cm pod okrajem kontejneru jsem rovnoměrně rozmístila propagule a jemně je zasypala substrátem. Celkem jsem si takto připravila 85 květináčů o rozměrech 9 x 9 x 9,5 cm, od každé populace cca 12 – lišily se v počtech květináčů se semeny, protože u některých populací bylo vzorků více než u jiných (příloha 2).

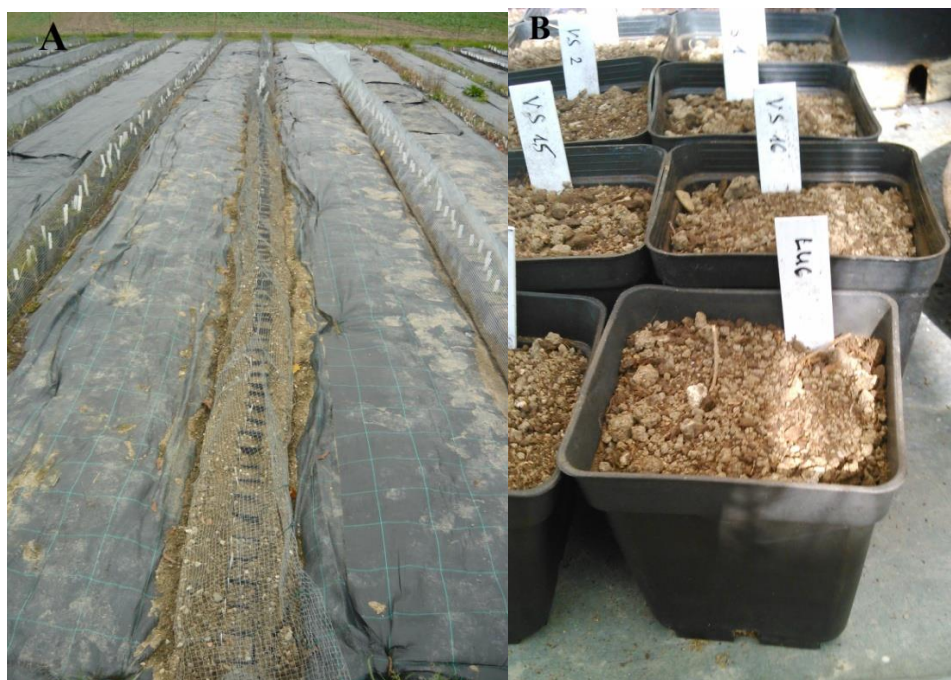
Kontejnery se semeny/pacibulkami byly celé zapuštěny (po okraj kontejneru) do půdy na rovinatém experimentálním pozemku katedry botaniky PřF UP (Olomouc). Experiment začal 10. října okamžitě po přípravě kontejnerů. Kontejnery byly zapuštěny do vytvořené brázdy až po okraj těsně vedle sebe, aby byly ochráněny před vnějšími podmínkami. Umístění kontejnerů bylo provedeno ve znáhodněném pořadí.

Takto připravenou plochu bylo nutné ještě zabezpečit proti narušení (ptáci, drobní hlodavci). Proto jsem brázdu uzavřela hustým pletivem tak, aby byly kontejnery chráněné. Kontejnery byly pravidelně kontrolovány (min 1x týdně) a v případě sucha jsem prováděla dodatečnou závlaku všech kontejnerů stejným objemem studniční vody tak, aby půda v květináčích nepřeschla.

Celkem bylo provedeno pět kontrol – odběrů kontejnerů, a to v termínech: 18. listopadu 2014, 18. prosince 2014, 18. března 2015, 18. dubna 2015 a 18. května 2015. Od začátku experimentu do prvního odběru uběhlo 31 dní. Mezi prvním a druhým odběrem bylo 30 dní, mezi druhým a třetím odběrem bylo 120 dní a mezi posledními bylo rovněž 30 dní. Celkem tedy experiment trval 211 dní. V každém odběru byly odebrány náhodným výběrem dva kontejnery s pacibulkami a jeden kontejner se semeny z každé populace.

Odebrané kontejnery jsem přenesla do laboratoře, kde jsem kontejner vysypala, oddělila substrát, nevyklíčené propagule a semenáčky (resp. vypučené pacibulky). U rostlin původem z pacibulek jsem měřila délku nejdelšího kořene a počet kořenů a délku nadzemní části měřenou

od místa vypučení až po konec nadzemní části. U semenáčků jsem měřila délku nadzemní části a kořene při každém odběru. U třetího, čtvrtého a pátého odběru jsem prováděla vážení biomasy jednotlivých jedinců. Zvážila jsem ji v živém stavu, těsně po odebrání a očištění, beze zbytků substrátu. Poté jsem provedla měření, každého jedince jsem umístila zvlášť do papírového sáčku a sušila v sušárně při teplotě 70 °C po dobu 24 hodin. U takto vysušených rostlin jsem opět zvážila biomasu.



Obrázek 3: Příprava experimentu na pozemku. Na obr. A je připravená brázda s květináči. Brázda byla 6 metrů dlouhá vyložená pletivem. Na obr. B jsou kontejnery s propagulemi označeny štítkem (foto VACKOVÁ 2014).

4.6 Tetrazoliový test

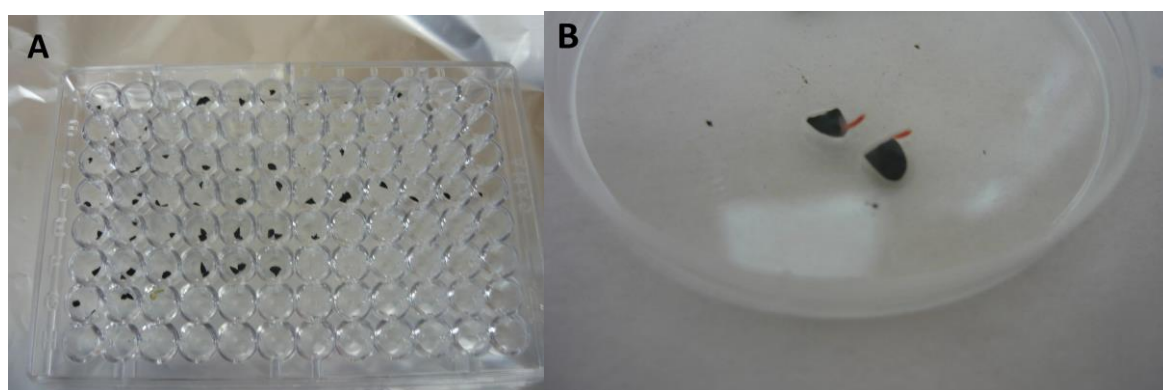
Semena a pacibulky, které nevyklíčily do doby ukončení experimentu s klíčením (germinačního testu), byly testovány na životaschopnost pomocí tetrazoliového testu (TTC test) dle Ellis et al. (1985).

K testu byl použit 1% roztok 2,3,5–trifenyltetrazolium chlorid (tetrazolium) uchovávaný v lednici ve tmě (Ellis et al. 1985). Nevyklíčená semena a pacibulky byla přenesena do Petriho misky (průměr misky 3 cm) a pomocí precizní práce skalpelu rozříznuta na dvě části.

Jelikož jsem ve všech pracích a metodikách našla pouze práci se semeny, vyzkoušela jsem test i na pacibulkách. Pacibulku jsem si rozřízla skalpelem tak, aby byl přítomný meristém, a pečlivě jsem preparační jehlou vypreparovala polovinu cibulky. Ta mi sloužila jako testovací vzorek. Druhou polovinu pacibulky jsem si schovala pro případ, že by bylo nutné test provést znovu.

Do připravené nádoby (obr. 5) jsem vložila propagule a zakápla je takovým množstvím roztoku, aby byla celá potopená. Kvůli zamezení nežádoucího rozkladu chemikálie světlem v průběhu testu (proto se roztok uchovává ve tmě) se misky obalily hliníkovou fólií. Semena a pacibulky jsem v roztoku ponechala tři hodiny při pokojové teplotě a poté probíhalo vyhodnocení.

Hodnocení probíhalo rozdělením vzorků do dvou skupin (Ellis et al. 1985). Jasně červené zbarvení testovaných pletiv (karmínově červená) indikovalo živé buňky semen a pacibulek. Pokud se tkáň neobarvila, byla částečně obarvená (do růžova nebo světle červená), nebo získala barvu tmavě červenou až hnědou, byla to známka mrtvého pletiva (Ellis et al. 1985).



Obrázek 4: Příprava na tetrazoliový test. Na obrázku A je nádoba, ve které test probíhal. Na obrázku B jsou obarvená embrya, která detekují živou tkáň (foto VACKOVÁ 2015).

4.8 Statistické zpracování dat

Veškerá získaná data a číselné údaje byly zaznamenány do programu Microsoft Office Excel. Všechny doplňující početní úkony (rychlost klíčení, průměrná klíčivost krabičky a populace probíhala rovněž v programu Microsoft Office Excel. Takto zpracované údaje byly následně vyhodnoceny v programu NCSS 9.

Nejdříve se provedlo zhodnocení rychlosti klíčení v klíčidlech pomocí Timsonova indexu (Baskin & Baskin 2014), který je definován jako

$$\Sigma n$$

kde n = kumulativní denní procento klíčení pro každý den studie.

Data získaná z odběrů na pozemku se analyzovala testem GLM ANOVA, kde byla ploidie a čas pevným efektem a populace byla vnořena do ploidie (nested efekt). Semena se neanalyzovala současně s pacibulkami, protože chybí semena u populace 6x. U délky nadzemní části, počtu kořenů a délky kořenů se analyzovaly pouze pacibulky.

U dat získaných z klíčidel se celková klíčivost analyzovala GLM ANOVOU – ploidie, zásah a propagule byly fixním efektem, populace byla vnořena do ploidie. U vlivu velikosti propagule na klíčivost se testovaly pouze pacibulky testem ANCOVA, průměrná velikost propagule se zaznamenala jako kovariáta, ploidie a zásah jsou fixní faktory.

Analýza byla vždy prováděna s transformovanými daty (převážně odmocninovou transformací, u hmotnosti semen log transformací) – v obrázcích jsou poté použita originální netransformovaná data.

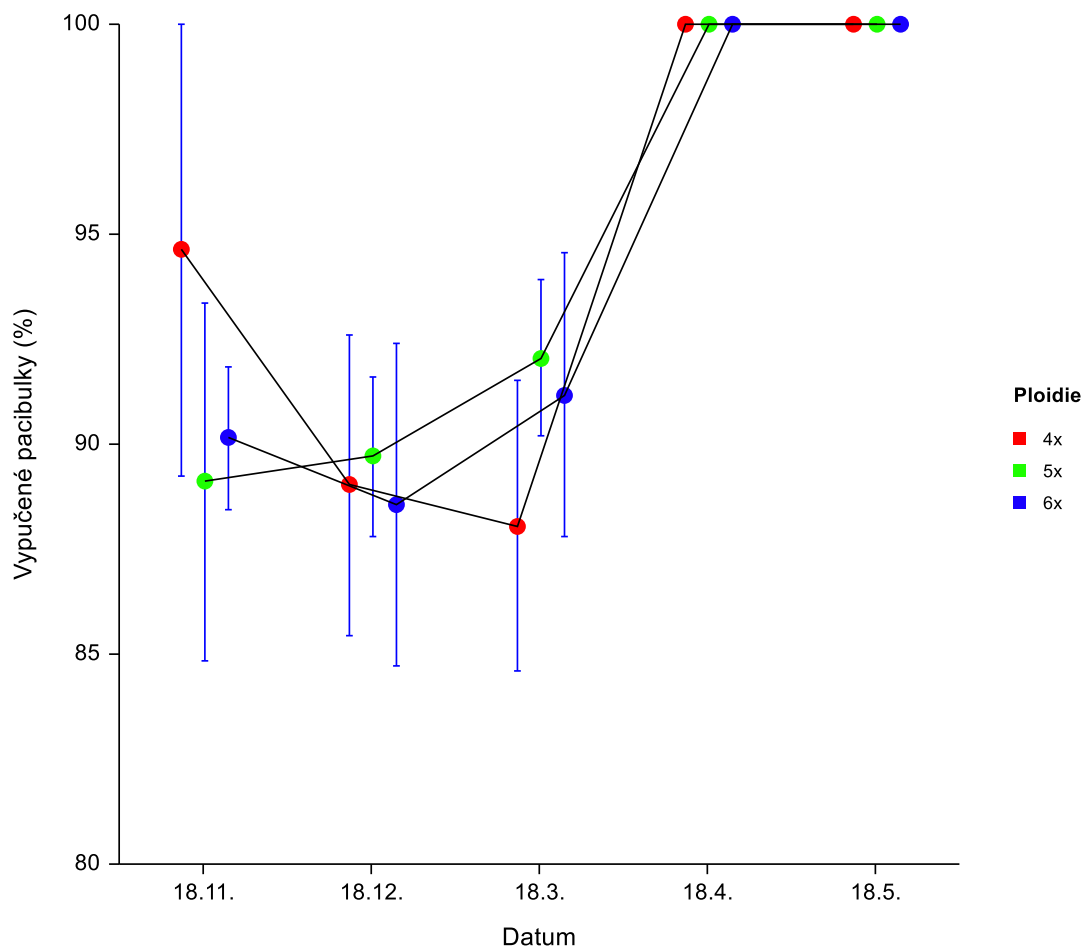
5. Výsledky

5.1 Srovnání pučivosti pacibulek na pozemku

Cílem analýzy bylo zjistit pučivost pacibulek studovaných cytotopů. Pomocí GLM ANOVA byl zjištěn pouze signifikantní vliv času (příloha 3, obrázek 5). Tukey – Kramer testem jsem zjistila, jak se od sebe jednotlivé odběry odlišují. Je to shrnuto v tabulce 3. Výsledkem je, že nejvíce se odlišují čtvrtý (18.4.) a pátý (18.5.) odběr od ostatních.

Odběr	Průměr	Rozdílné od skupiny
18.11.	91,3	18.4., 18.5.
18.12.	89,1	18.4., 18.5.
18.3.	90,4	18.4., 18.5.
18.4.	100,0	18.11., 18.12., 18.3.
18.5.	100,0	18.11., 18.12., 18.3.

Tabulka 3: Výsledky Tukey – Kramer testu, které porovnávají, jak se odlišují jednotlivé odběry mezi sebou ($\alpha = 0,05$; DF = 12; kritická hodnota = 4,51).



Obrázek 5: Procento vypučených pacibulek ve vztahu k době odběru za venkovních podmínek (sezóna 2014/15). V obrázku jsou hodnoty průměru \pm SE.

5.2 Srovnání pučivosti/klíčivosti pacibulek/semén na pozemku

V tomto případě jsem analyzovala pouze populace 4x a 5x, jelikož u 6x rostlin se mi nepodařilo získat semena a rovněž jsem nepočítala s posledním odběrem, u kterého taktéž chyběla semena.

Byl zjištěn signifikantní vliv populace u tetraploidů a pentaploidů ($F = 8,41$; $P < 0,05$) na klíčení/pučení semen/pacibulek. Znamená to, že se v klíčivosti/pučivosti semen/pacibulek liší populace uvnitř ploidie. Signifikantní interakci jsem zjistila mezi populací a propagulemi ($F = 17,09$; $P < 0,05$) a dobou odběru (příloha 4). V tabulce 4 je shrnuto, jak se odlišují jednotlivé odběry mezi sebou.

Z obrázku 6 je patrné, že u 4x populace lépe pučí pacibulky. Nejlepší pučivost jsem zaznamenala při prvním (18.11.) – 94,6 % a čtvrtém (18.4.) – 100 % odběru. Pučivost při druhém (18.12.) – 89 % a třetím (18.3.) – 88 % odběru byla velmi podobná. U semen jsem

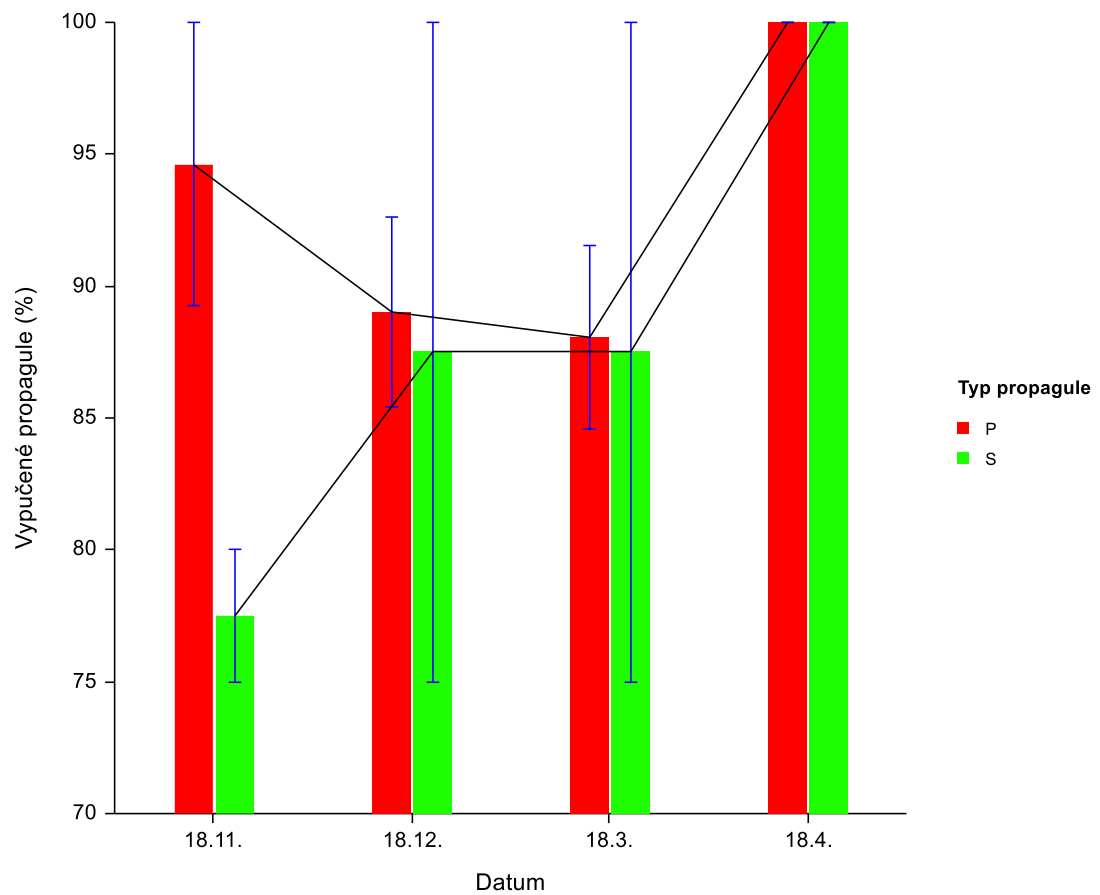
největší klíčivost zaznamenala při čtvrtém (18.4.) – 100 % odběru. Naopak nejmenší klíčivost byla při prvním odběru (18.11.) – 77,5 %.

Z obrázku 7 můžeme vyčíst, že pacibulky z 5x mateřských rostlin pučí lépe. Největší pučivost jsem zjistila u čtvrtého odběru (18.4.). Nejméně pučily pacibulky při prvním odběru (18.11.) – 89 %. V tomto případě je trend rostoucí, u prvního odběru je pučivost nejmenší – 89,1 %; postupně se zvyšuje 89,7 %; 92 %, až u čtvrtého odběru dosáhne maxima – 100 %. Semena mají opět horší klíčivost. Nejvíce jich vyklíčilo u čtvrtého odběru (100 %).

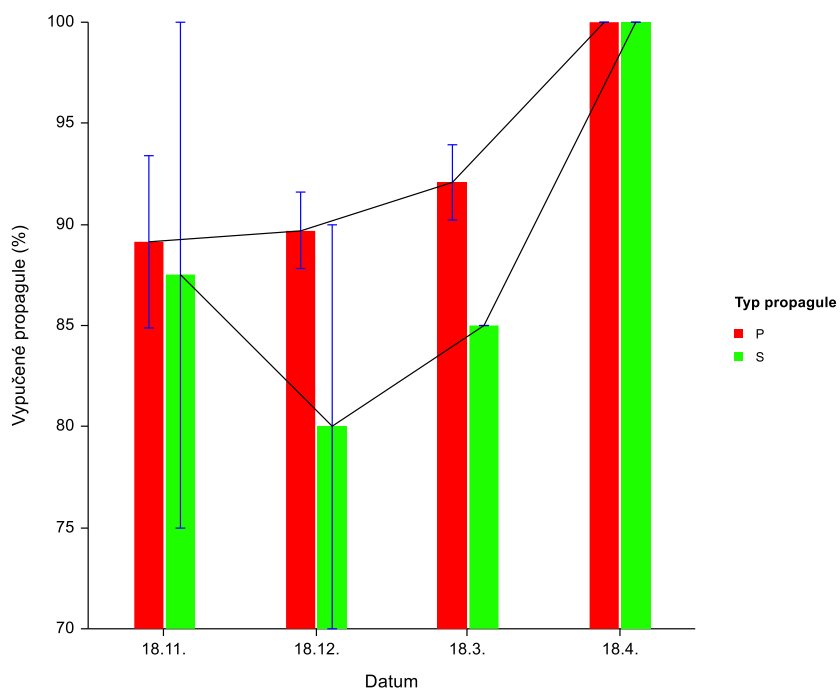
Z obrázku 8 vyčteme celkovou klíčivost semen pro 4x a 5x populace. U semen získaných z 4x mateřských rostlin vidíme stoupající trend v klíčení, kdy u prvního odběru jsem získala 86 % \pm 2,37; u druhého odběru jsem získala 88,3 % \pm 2,16; třetí odběr je roven 87,8 % \pm 2,00 a čtvrtý odběr je 100 % \pm 2,16. U semen získaných z 5x mateřských rostlin jsou hodnoty jednotlivých odběrů: 1. 88,3 % \pm 2,16; 2. 84,85 % \pm 2,16; 3. 88,52 % \pm 2,36; 4. 100 % \pm 2,16.

Odběr	Průměr	Rozdílné od skupiny
18.11.	87,2	18.4.
18.12.	86,6	18.4.
18.3.	88,2	18.4.
18.4.	100,0	18.11., 18.12., 18.3.

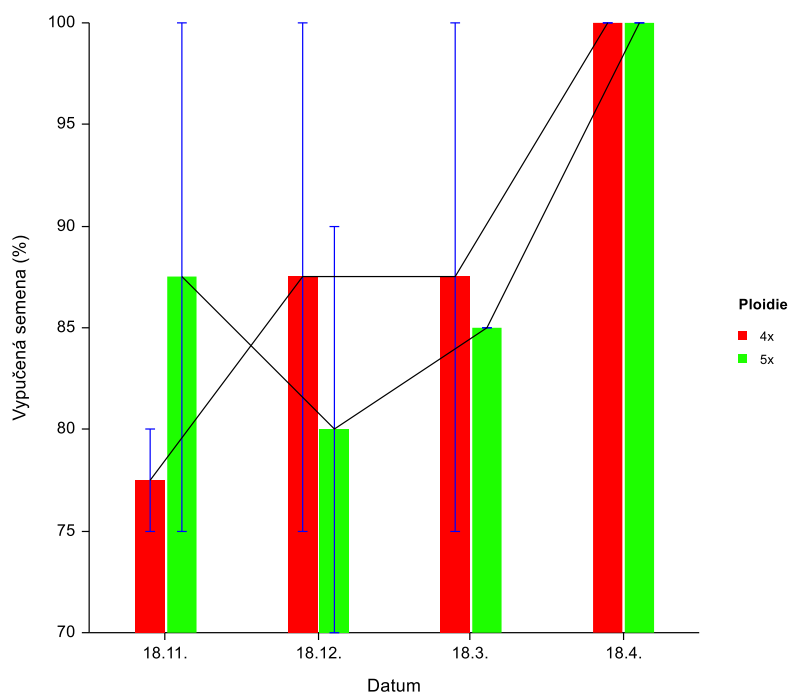
Tabulka 4: Výsledky Tukey – Kramer testu, které porovnávají, jak se odlišují jednotlivé odběry mezi sebou ($\alpha = 0,05$; DF = 6; MSE = 28,08; kritická hodnota = 4,90).



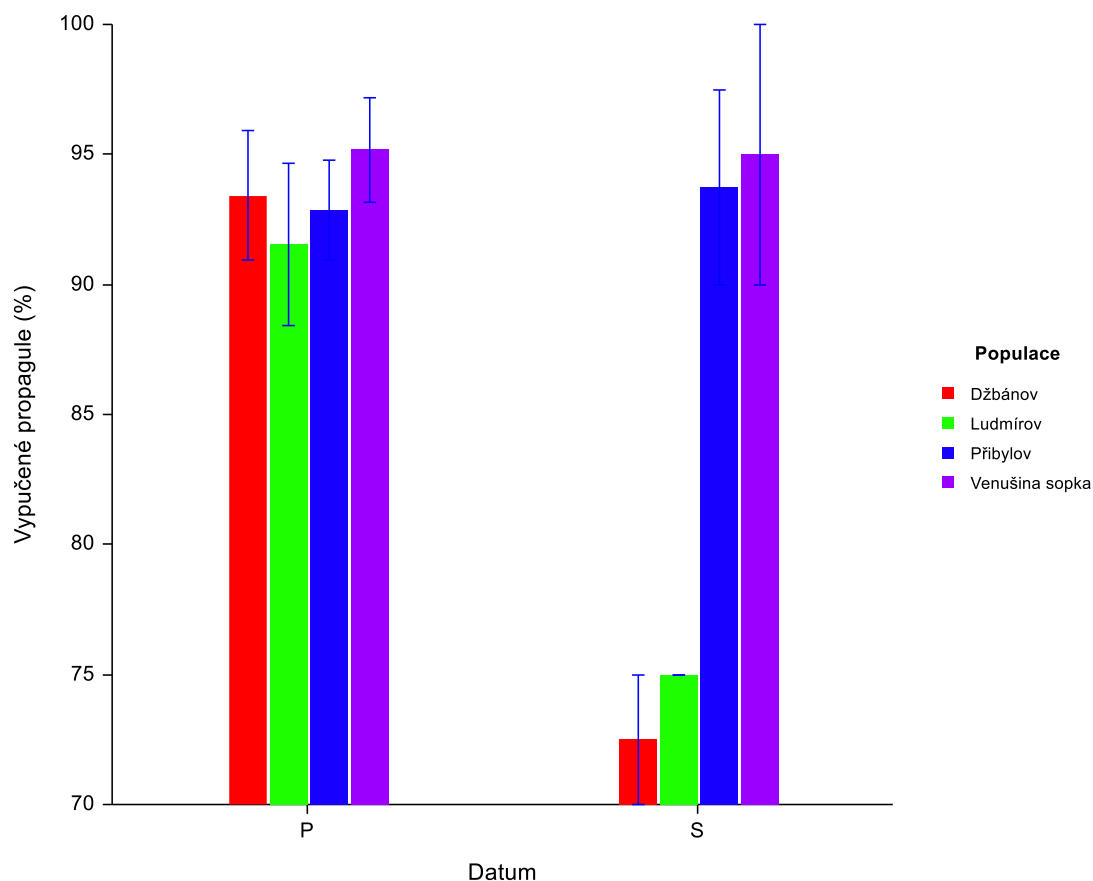
Obrázek 6: Klíčení semen a pacibulek na pozemku do 18.4.2015 pocházejících z 4x mateřských rostlin (hodnoty v grafu značí průměr \pm SE).



Obrázek 7: Klíčení semen a pacibulek na pozemku do 18.4.2015 pocházejících z 5x mateřských rostlin (hodnoty v grafu značí průměr \pm SE).



Obrázek 8: Klíčení semen na pozemku do 18.4.2015, pocházejících z 4x a 5x mateřských rostlin (hodnoty v grafu značí průměr \pm SE).



Obrázek 9: Průměrná klíčivost semen a pučivost pacibulek u čtyř populací. Populace: Džbánov – 5x, Ludmírov – 4x, Příbylov – 5x, Venušina sopka – 4x.

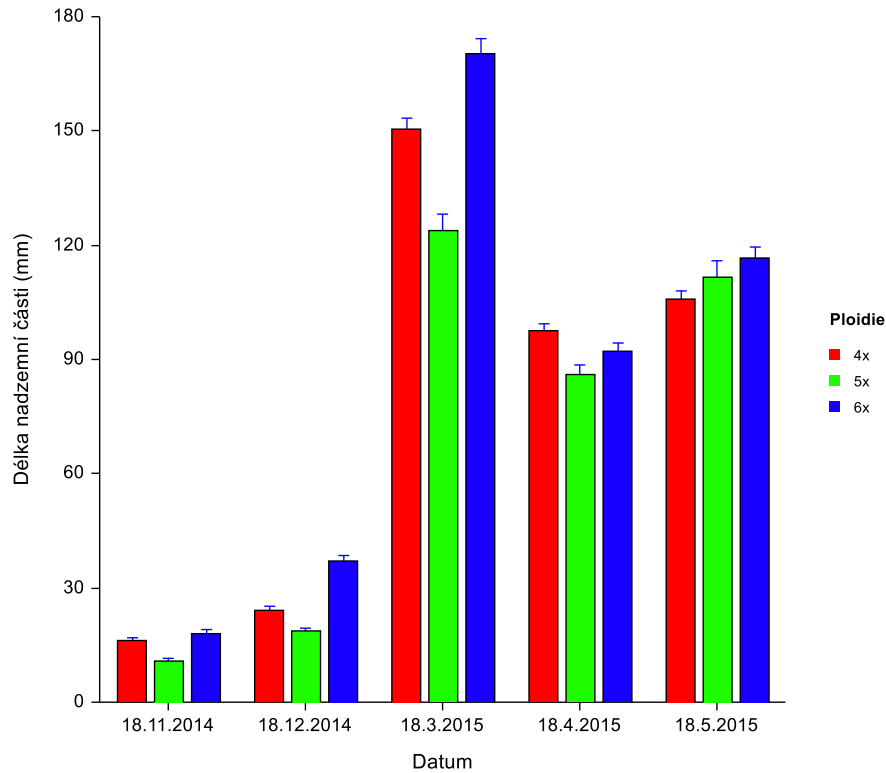
Z obrázku 9 lze vyčíst, že u pacibulek nejvíce pučely u populace Venušina sopka (4x) – 95 %. U populace ze Džbánova (5x) byla pučivost 93 % a u populace z Příbylova (5x) 92 %. Nejhůře pučily pacibulky u populace z Ludmírova (4x).

U semen měla největší klíčivost semena z lokality Venušina sopka (4x) – 95%. U populace z Příbylova (5x) byla klíčivost 94 %. Nejmenší klíčivost byla u semen z Ludmírova (4x) – 75% a ze Džbánova (5x) – 60 %.

5. 3 Délka nadzemní části u vyklíčených/vypučených jedinců na pozemku

Cílem této analýzy bylo zjištění, zda má ploidie vliv na velikost nadzemní části u vypučených/vyklíčených jedinců, nebo zda to závisí pouze na době odběru. U délky nadzemní části se opět nejprve analyzovaly pouze rostliny pocházející z pacibulek. Byl zjištěn signifikantní vliv populace ($F = 46,78$; $P < 0,05$). Znamená to, že se v klíčivosti/pučivosti

semen/pacibulek liší populace uvnitř ploidie (příloha 5). Zároveň je signifikantní termín odběru ($F = 130,12$; $P < 0,05$) a interakce mezi populací a termínem odběru ($F = 15,24$; $P < 0,05$). Nebyl zjištěn vliv ploidie ($F = 2,04$; $P = 0,188$) ani interakce ploidie s termínem odběru ($F = 0,80$; $P = 0,224$).

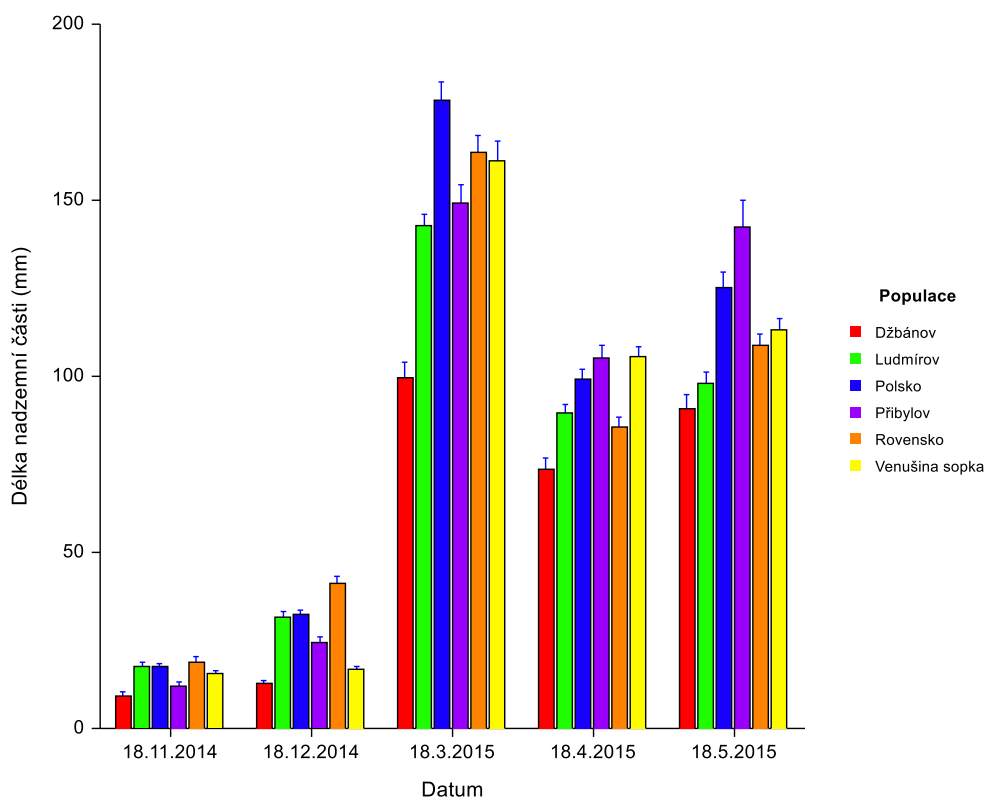


Obrázek 10: Délka nadzemní části rostlin vzhledem k termínu odběru a jednotlivým ploidím.

Tukey – Kramer testem jsem zjistila, jak se od sebe jednotlivé termíny odběru odlišují ve velikosti nadzemní části. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 5. Z tabulky je patrné, že odběr 18.3. se odlišuje ode všech ostatních odběrů, odběry 18.11. a 18.12. se odlišují od posledních třech a odběry 18.4. a 18.5. se odlišují od prvních třech. Tím jsem získala tři skupiny – první dva odběry (listopad, prosinec) s malou výškou lodyhy, poslední dva odběry (duben, květen) se střední výškou lodyhy a březnový odběr s nejvyšší výškou lodyhy (tabulka 5; obrázek 10, 11).

Odběr	Průměr	Odlišné od
18.11.	3,624	18.3., 18.4., 18.5
18.12.	4,974	18.3., 18.4., 18.5.
18.3.	12,023	18.11., 18.12., 18.4., 18.5.
18.4.	9,458	18.11., 18.12., 18.3.
18.5.	10,357	18.11., 18.12., 18.3.

Tabulka 5: Výsledky Tukey – Kramer testu, které porovnávají, jak se odlišují jednotlivé termíny odběrů ve velikostní nadzemní části ($\alpha = 0,05$; DF = 12; kritická hodnota = 4,5145).



Obrázek 11: Délka nadzemní části rostlin dle jednotlivých populací. Populace: Džbánov – 5x, Ludmírov – 4x, Polsko – 6x, Příbylov – 5x, Rovensko – 6x, Venušina sopka – 4x.

5. 4 Délka kořenů vyklíčených/vypučených jedinců na pozemku

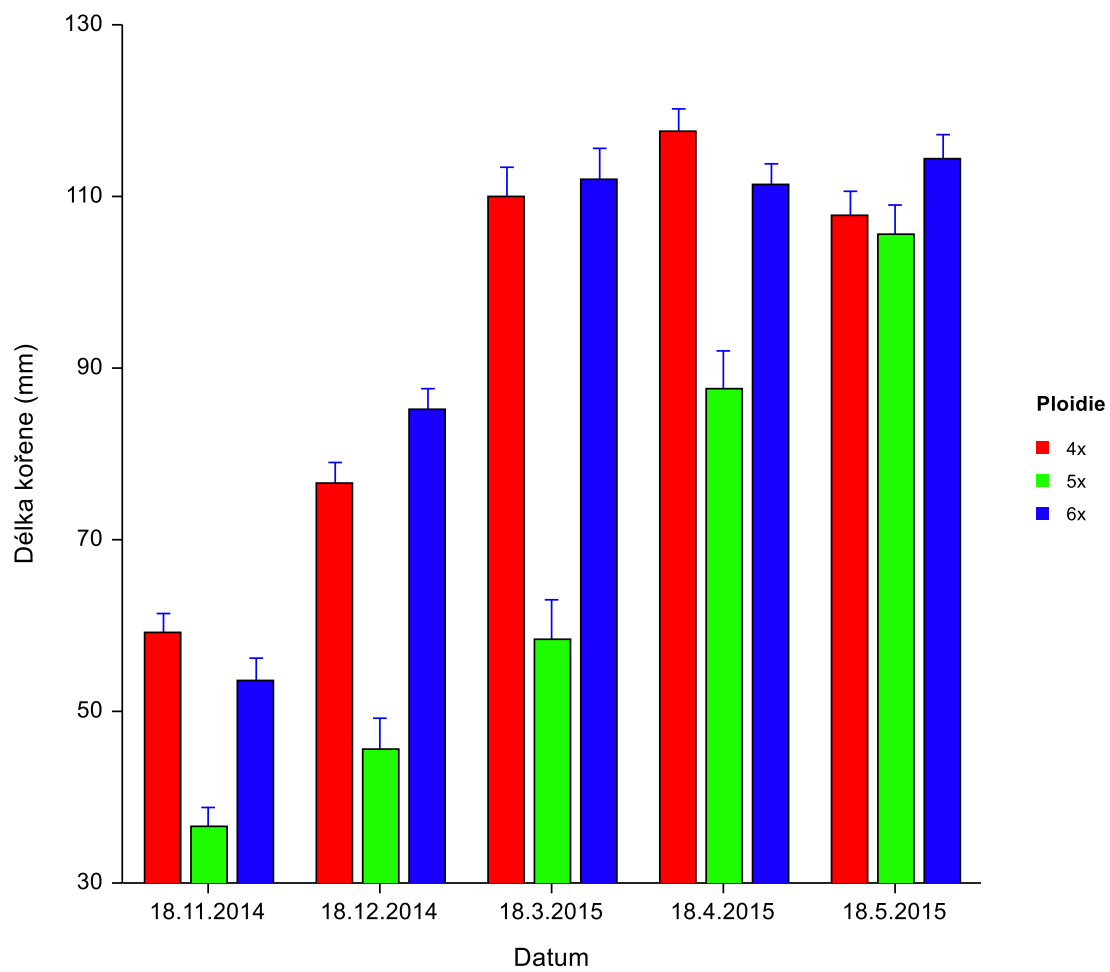
Cílem analýzy bylo zjistit, zda je délka kořenů vypučených jedinců závislá na ploidiu nebo zda ovlivňuje délku kořenů pouze termín odběru. V tomto případě jsem analýzu provedla pouze se získanou délkou kořenů rostlin z napučených pacibulek. Bylo dosaženo stejného výsledku jako v předchozím případě. Znamená to, že je signifikantní vliv populace ($F = 173,24$; $P < 0.05$). Znamená to, že se v klíčivosti/pučivosti semen/pacibulek liší populace uvnitř ploidiu (příloha 6). Dále je signifikantní termín odběru ($F = 9,07$; $P < 0.05$) a našla jsem interakci mezi populací a termínem odběru ($F = 27,97$; $P < 0.05$). Interakce mezi termínem odběru a ploidiu nebyla nalezena ($F = 0,81$; $P > 0,227$).

Z obrázku 12 a 13 se ukazuje, že růst kořenů je postupný a u všech tří ploidiu jsou kořeny s delší dobou odběru delší. U 4x populace byly nalezeny nejdelší kořeny u čtvrtého odběru (18.4.). Zároveň je zde délka kořene nejvyšší ze všech ploidiu. Pouze u 5x populace je od prvního odběru (15.11.2014) až po odběr čtvrtý (18.4.) růst výrazně pomalejší, než u ostatních ploidiu.

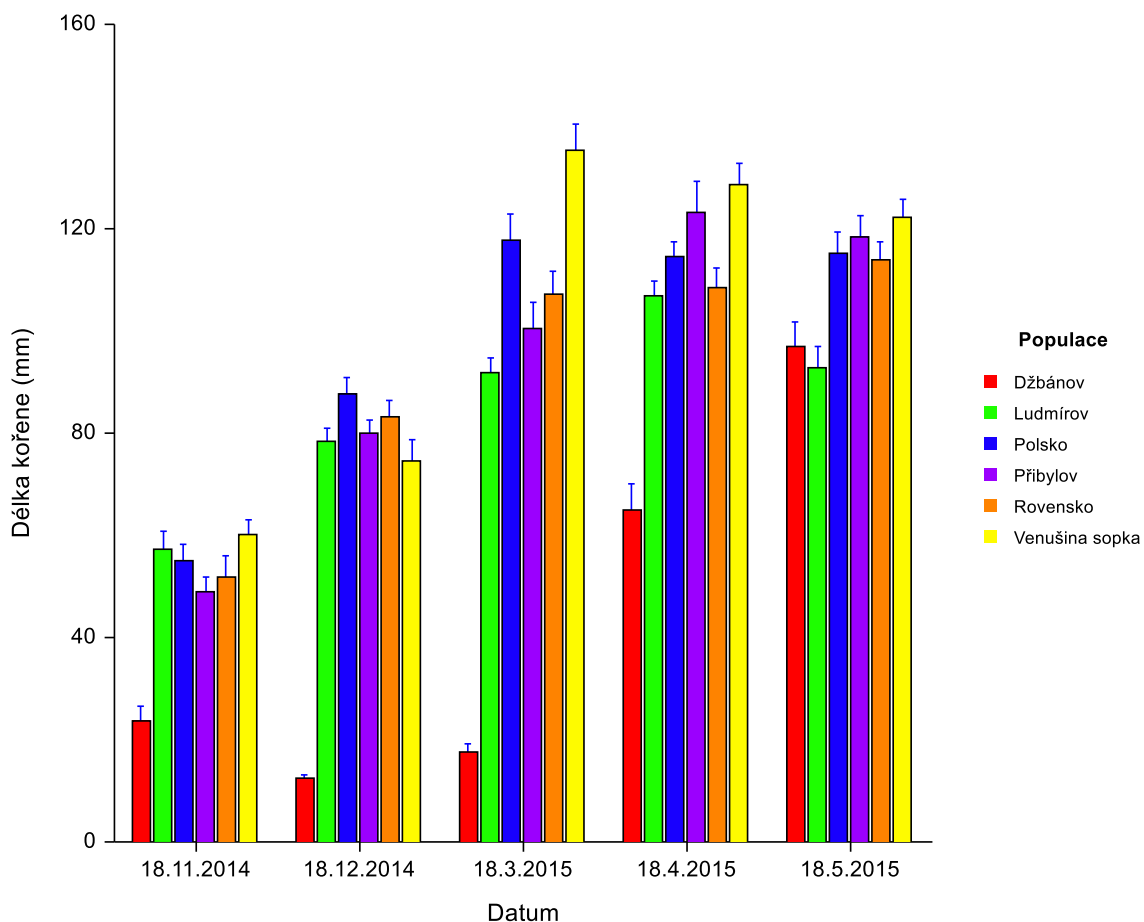
Podle Tukey – Kramer testu (tabulka 6) můžeme porovnat, jak se od sebe liší jednotlivé odběry vzhledem k termínu jejich odebrání z pozemku.

Odběr	Průměr	Odlišné od
18.11	6,74	18.3, 18.4, 18.5.
18.12.	7,92	18.5.
18.3.	9,21	18.11.
18.4.	9,99	18.11.
18.5.	10,26	18.11, 18.12.

Tabulka 6: Výsledky Tukey – Kramer testu, které porovnávají, jak se odlišují jednotlivé termíny odběrů ve velikostní nadzemní části ($\alpha = 0,05$; $DF = 12$; kritická hodnota = 4,5145).



Obrázek 12: Délka kořene rostlin ve vztahu k termínu odběru a jednotlivým ploidiím.



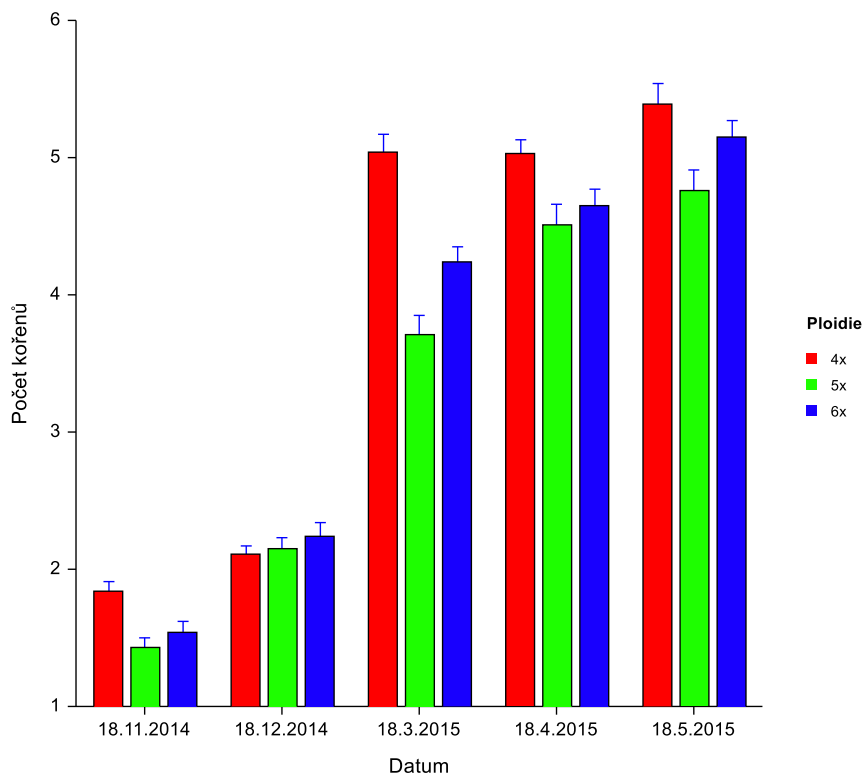
Obrázek 13: Délka kořene rostlin vzhledem k termínu odběru a jednotlivým populacím. Populace: Džbánov – 5x, Ludmírov – 4x, Polsko – 6x, Příbylov – 5x, Rovensko – 6x, Venušina sopka – 4x.

5.5 Vyhodnocení počtu kořenů u vypučených jedinců na pozemku

Cílem analýzy bylo zjistit, zda má na počet kořenů u vypučených pacibulek vliv ploidie, nebo zda je počet kořenů výsledkem termínu odběru. Při analýze počtu kořenů se pracovalo pouze s pacibulkami. Vyšel nám opět stejný výsledek, jako v předchozích případech (příloha 7; obrázek 14, 15). Zjistila jsem signifikantní vliv populace ($F = 40,41$; $P > 0,108$). Opět je signifikantní termín odběru ($F = 34,18$; $P < 0,05$). Nalezla jsem interakci mezi populací a termínem odběru ($F = 19,88$; $P < 0,05$). Interakce mezi termínem odběru a ploidíí nebyla nalezena ($F = 0,25$; $P > 0,094$).

Z obrázku 14 můžeme vyčíst, že při prvním odběru všichni jedinci ve všech ploidiích měly nejkratší kořeny. Při druhém odběru jsou si opět všechny ploidy rovny, ovšem při třetím odběru již jedinci z populace 4x výrazně převyšují ostatní. Tento trend pokračuje až k poslednímu odběru. Při posledním odběru 18.5. jsou rovněž 4x jedinci s nejdelšími kořeny.

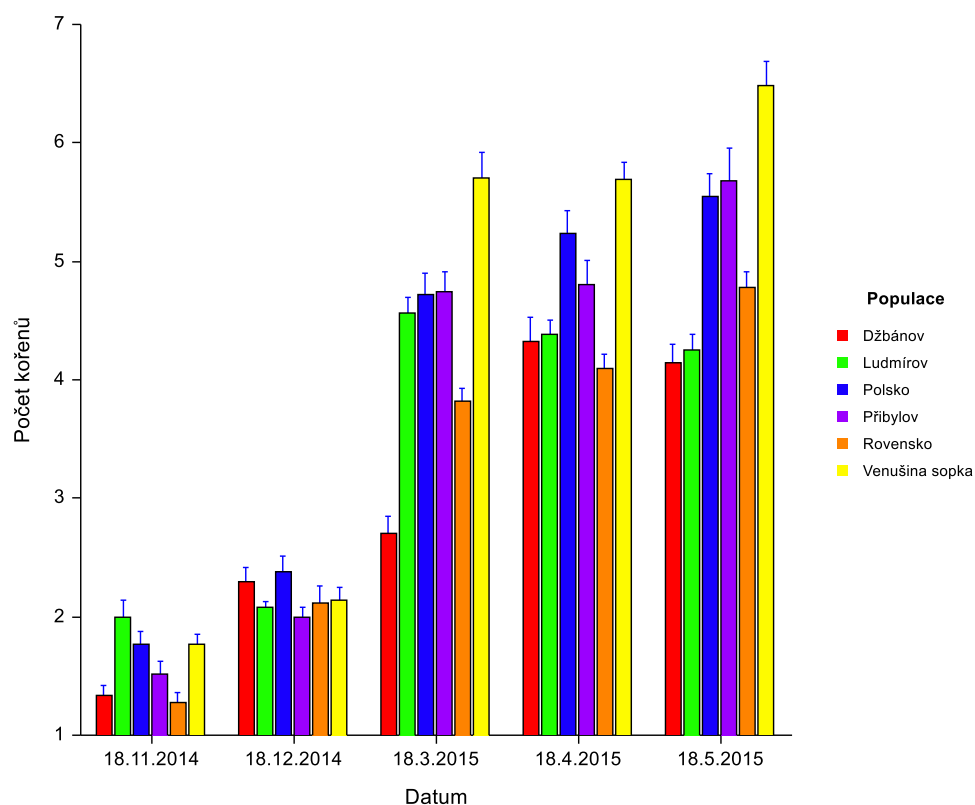
Pokud se podíváme na obrázek 15, který nám ukazuje počet kořenů u jednotlivých lokalit, u třetího, čtvrtého a pátého odběru je vidět, že populace Venušina sopka přesahuje ostatní. Nejméně úspěšní jsou jedinci z populace Rovensko. Z obrázku je vidět pozitivně stoupající trend u všech populací. Jak se od sebe liší jednotlivé odběry je porovnáno v tabulce 7.



Obrázek 14: Počet kořenů na rostlinu ve vztahu k ploidii a termínu odběru.

Odběr	Průměr	Odlíšné od
18.11	1,235	18.3, 18.4, 18.5.
18.12.	1,445	18.3, 18.4, 18.5.
18.3.	2,044	18.1, 18.12.
18.4.	2,141	18.11, 18.12.
18.5.	2,220	18.11, 18.12.

Tabulka 7: Výsledky Tukey – Kramer testu, které porovnávají, jak se odlišují jednotlivé termíny odběrů ve velikostní nadzemní části ($\alpha = 0,05$; DF = 12; kritická hodnota = 4,5145).



Obrázek 15: Počet kořenů na rostlinu pove vztahu k termínu odběru a jednotlivým lokalitám. Populace: Džbánov – 5x, Ludmírov – 4x, Polsko – 6x, Příbylov – 5x, Rovensko – 6x, Venušina sopka – 4x.

5. 6 Celková klíčivost/pučivost semen/pacibulek v klíčidlech

Analýza byla provedena GLM ANOVA testem, zásah a propagule byly označeny jako fixní efekt, populace byla vnořena do ploidie.

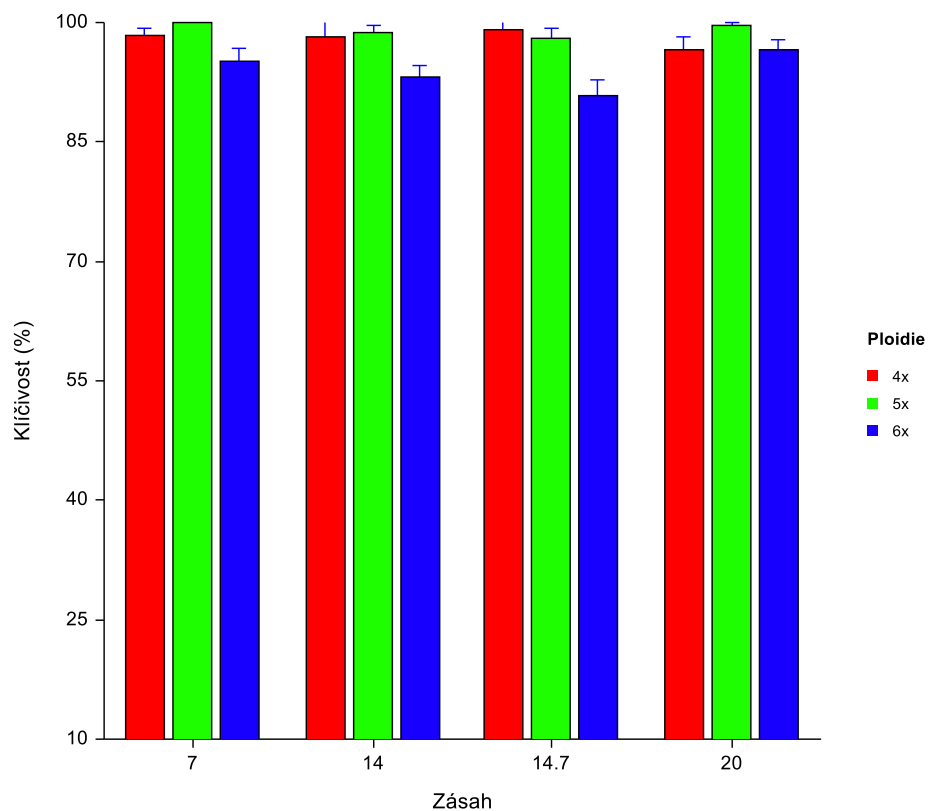
Byl nalezen signifikantní vliv zásahu, populace a interakce mezi zásahem a ploidii, populací a propagulí, zásahem a propagulí. Interakce mezi ploidii a propagulí nebyla prokázána ($F = 1,08$; $P > 0,10$) (tabulka 8; příloha 8).

U semen nalezneme větší rozdíly, obecně platí, že mají tendenci mít o něco nižší klíčivost než pacibulky (není signifikantní). Zajímavé je, že zatímco u teploty 20 °C špatně klíčí semena z populací 4x a 5x, u 6x semen je klíčivost výrazně lepší (obrázek 16). Pro ostatní platí, že optimem je spíše 14 °C nebo střídavý režim 14/7 °C. U teploty 20 °C jsou hodnoty výrazně jiné. Jak se od sebe odlišují jednotlivé režimy klíčení a propagule je ukázáno v tabulce 8.

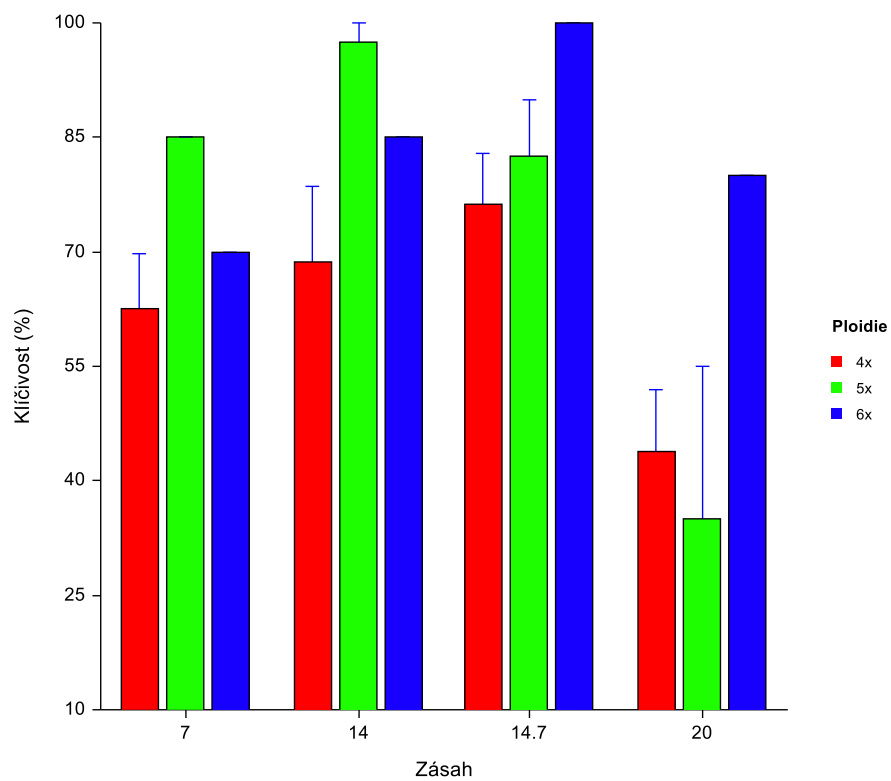
U pacibulek klíčí skoro všichni jedinci z populace stejně a vždy je populace 6x nejhorší v pučivosti pacibulek (obrázek 17).

Skupina	Počet	Průměr	Odlišné od
7, P	25	9,9	20,S
7, S	7	8,5	
14, P	24	9,8	20,S
14, S	7	9,1	20,S
14,7, P	24	9,8	20,S
14, 7, S	7	9,2	20,S
20, P	23	9,9	20,S
20, S	7	7,1	7,P; 14,P; 14,S; 14.7,P; 14.7,S; 20,P

Tabulka 8: Výsledky Tukey – Kramer testu, které porovnávají, jak se odlišují jednotlivé režimy klíčení a propagule ($\alpha = 0,05$; $DF = 6$; $MSE = 0,58$; kritická hodnota = 6,13).



Obrázek 16: Porovnání klíčivosti jednotlivých ploidí u semen s ohledem na zásah.



Obrázek 17: Porovnání klíčivosti jednotlivých ploidí u pacibulek s ohledem na zásah.

5. 7 Vliv hmotnosti propagule na pučivost/klíčivost

Vzhledem k výraznému rozdílu v hmotnostech semen a pacibulek jsem provedla zvlášť analýzu s pacibulkami (příloha 9; obrázek 18) a zvlášť se semeny (příloha 10; obrázek 19, 20). U tohoto testu se pracuje opět pouze s pacibulkami. Použila jsem ANCOVA, průměrná velikost propagule je kovariáta, ploidie a zásah jsou fixní faktory.

Byl prokázán vliv hmotnosti propagule, ploidie a zásahu na pučivost pacibulek. Tetraploidní populace jsou hůře klíčivé než pentaploidní a hexaploidní populace (tabulka 9; obrázek 16).

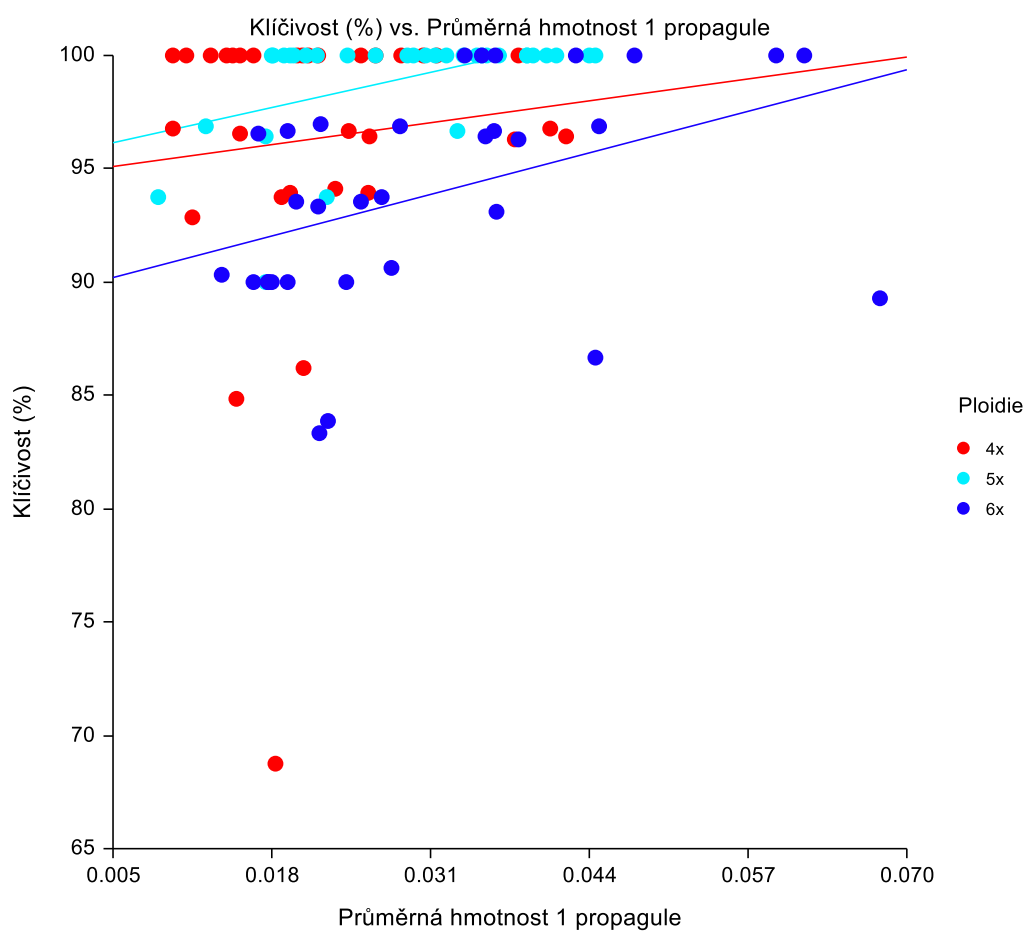
Skupina	Počet	Průměr	Odlišné od
4x	32	9,87	6x
5x	32	9,96	6x
6x	32	9,69	4x, 5x

Tabulka 9: Výsledky Tukey – Kramer testu, které porovnávají, jak se liší průměry klíčivosti pacibulek vzhledem k jednotlivým ploidiím.

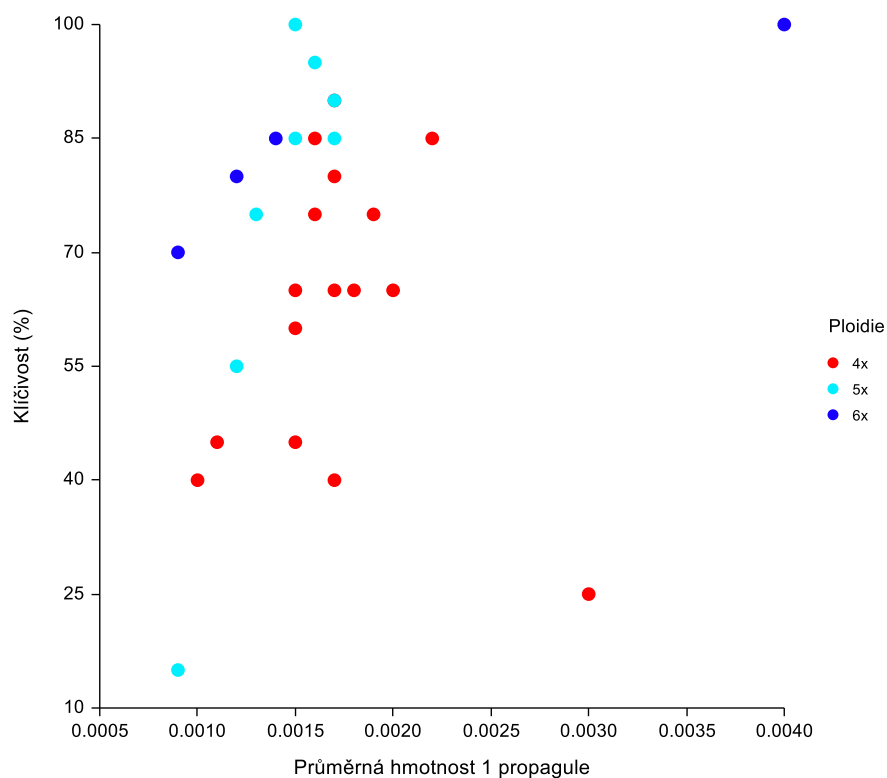
Pro semena platí, že i když se z obrázku 17 zdá, že by tam mohla být nějaká pozitivní závislost klíčivosti na velikosti semene, není signifikantní (příloha 10; tabulka 10). Zdá se, že tento fakt ovlivňuje odlehlá hodnota vpravo dole, jinak by zde zdá se byla pozitivní závislost. Řešením by bylo větší množství vzorků, protože analýzu patrně narušují odlehlé hodnoty. Výsledkem robustní analýzy je však pozitivní závislost (obrázek 18). V tomto případě jde o tzv. mediánovou metodu (median method, weighted pair-group method using centroids, weighted centroid clustering), která zahrnuje tzv. shlukovací postup, který je nezávislý na velikosti fúzovaných skupin. Při této metodě se fúzované skupiny považují za stejně velké, a pozice centroidu nové skupiny bude vždy přesně v polovině vzdálenosti mezi centroidy spojovaných skupin (Marhold & Suda 2001).

Skupina	Počet	Průměr	Odlišné od
7	32	9,21	14, 7, 20
14	31	9,48	20
14.7	31	9,55	7, 20
20	30	8,48	7, 14, 14.7

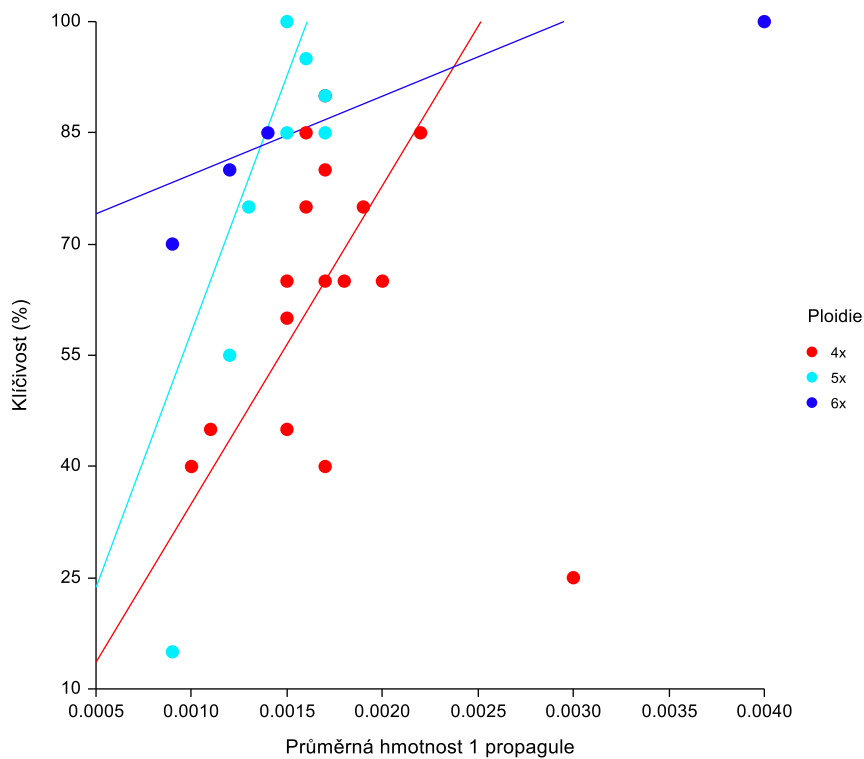
Tabulka 10: Výsledky Tukey – Kramer testu, které porovnávají, jak se liší průměry klíčivosti semen vzhledem k jednotlivým zásahům ($\alpha = 0.05$; $DF = 9$; $MSE = 0,14$; kritická hodnota = 4,22).



Obrázek 18: Klíčivost pacibulek (v %) vs. průměrná hmotnost jedné propagule.



Obrázek 19: Klíčivost semen (v %) vs. průměrná hmotnost jedné propagule.



Obrázek 20: Výsledek robustní analýzy – pozitivní závislost mezi průměrnou hmotností jedné propagule a klíčivostí.

6. Diskuze

6.1 Laboratorní experiment

Provedla jsem experiment s klíčením a pučením semen a pacibulek z různých lokalit sesbíraných v České republice. V první části experimentu bylo cílem detekovat nejvhodnější podmínky pro klíčení/pučení semen/pacibulek a následně určit živá/dormantní/mrtvá semena a pučivé/nepučivé pacibulky. Jelikož se experiment prováděl po delší době než byl jeden měsíc, nelze detekovat vliv after-ripening periody (Finch-Savage et al. 2006). Zjistila jsem signifikantní vliv hmotnosti propagule a ploidie; tetraploidní jedinci klíčily hůře než jedinci z pentaploidní a hexaploidní populace. Stejný signifikantní vliv byl nalezen při experimentech s polyploidními jedinci *Vicia cracca*, konkrétně tetraploidy (Eliášová & Münzbergová 2014).

Experiment v klíčidlech byl založen na poznacích, které přinesly práce Åstrom & Haggstrom (2004) a Fialová (2014). Experimenty byly většinou ve všech pracích navrhovány při režimu 7 °C a za naprosté tmy. Měly se tak simulovat přírodní podmínky. Já jsem si pro zjištění nejvhodnějšího teplotního režimu podle Baskina & Baskina (2014) zvolila ještě další tři režimy a střídání světla a tmy pro navození denního rytmu. Při porovnávání nejvhodnější teploty pro klíčení jsem našla ideální teplotu pro tetraploidy a pentaploidy. Nejvíce se jim dařilo při střídavém režimu 14/7 °C. Naopak hexaploidní jedinci preferovaly teplotní režim 20 °C, ovšem ostatní cytotypy zde klíčily špatně. Pacibulky pučely ve všech teplotních režimech podobně a celkově více než semena. Fialová (2014) rovněž zjistila lepší pučivost pacibulek, než klíčivost semen, ve všech cytotypech. Můžeme proto uvažovat, že zde není žádný složitý mechanismus jako u semen, pučení pravděpodobně závisí pouze na růstovém vrcholu.

I přes tyto skutečnosti část semen na konci experimentu nevyklíčila, ovšem nebyla ani mrtvá. Tetrazoliový test detekoval živou tkáň zbarvením embrya (Ellis et al. 1985). Není ovšem jasné, zda by semena byla schopna ještě vyklíčit. Rosheim (1994) se ve své práci zabývala klíčením morfologicky podobného druhu *Allium vineale*. Zjistila, že semena uchovávaná v laboratoři mohou vyklíčit ještě po třech letech, ovšem v přírodních podmínkách semenné banky si udržují klíčivost pouze jeden rok. U pacibulek většina vyklíčila, pokud nastala opačná situace, většinou to bylo kvůli napadení pacibulky patogenem (plísní).

6.2 Pokusná plocha na pozemku

Na pozemku byl založený experiment, který měl otestovat klíčení/pučení semen/pacibulek a růst biomasy vzhledem k době odběru. Pozorovala se nadzemní část rostliny, délka a počet kořenů rostliny. Při srovnání pučivosti pacibulek byl zjištěn pouze signifikantní vliv času.

Při srovnání pučivosti pacibulek a klíčivosti semen byl zjištěn signifikantní vliv populace u tetraploidů a pentaploidů. To znamená, že se klíčivost/pučivost liší uvnitř ploidie. Rovněž jsem identifikovala nejúspěšnější populaci v klíčení/pučení. Byla jí tetraploidní populace z lokality Venušina sopka – u pacibulek to bylo 95 % a u semen rovněž 95 %. Zajímavé je, že při identifikaci nejhůře klíčivé populace mi vyšla rovněž tetraploidní populace, tentokrát z lokality Ludmírov. Proto je velmi důležité experiment zopakovat.

Při hodnocení parametrů biomasy – velikosti nadzemní části, délky a počtu kořenů jsem ve všech případech detekovala signifikantní vliv populace. Při měření délky nadzemní části jedinci dosahovaly nejvyšší výšky při březnovém odběru, naopak nejmenší při prvním, listopadovém odběru. Z pohledu populace se odběry moc nelišily, jednotlivé cytotypy se velice vzájemně přibližovaly.

Zajímavé by bylo hodnotit úspěšnost vyklíčení s ohledem na hloubku pohřbení propagule. Například Lazenby (1962) studoval vliv hloubky pohřbení na růst a klíčivost pacibulek a dceřinných cibulí u *Allium vineale*. Zajímavé je, že délka růstové sezóny u hlouběji pohřbených propagulí je kratší než u mělčeji položených. Rovněž hloubka pohřbení ovlivňuje dormanci jedinců. U příkladu *Allium vineale*, pokud je pacibulka těsně pod povrchem v půdě bez konkurenčních rostlin, vyklíčilo 100 % na podzim a v zimě (Lazenby 1962).

Tato práce byla víceméně přípravou na diplomovou práci, kde bude nutné experiment rozšířit o další populace jednotlivých cytotypů.

7. Závěr

Výsledky provedeného experimentu jsou nejvíce ovlivněny malým množstvím použitých semen a pacibulek z populací a rovněž malým množstvím populací jednotlivých cytotypů. Tato skutečnost se bohužel nedala ovlivnit. Přes všechny nedostatky lze uvést, že v průběhu experimentu jsem došla k následujícím závěrům:

1. Při srovnávání pučivosti/klíčivosti pacibulek/semenn na pozemku byl zjištěn signifikantní vliv populace u tetraploidů a pentaploidů. Populace semen/pacibulek se tedy liší klíčením/pučením uvnitř ploidie. U tetraploidů i pentaploidů lépe pučí pacibulky. Z pohledu populace byla největší klíčivost i pučivost u propagulí sesbíraných z lokality Venušina sopka.
2. Porovnáním velikostí nadzemní části, délky kořenů a počtu kořenů u vypučených pacibulek jsem došla vždy ke stejnému výsledku – ve všech případech byl signifikantní vliv populace.
3. U semen umístěných do experimentu v laboratoři bylo nalezeno teplotní optimum při střídavém režimu 14/7 °C. Hexaploidní jedinci klíčily v teplotním režimu 20 °C výrazně lépe než tetraploidní a pentaploidní jedinci.
4. U pacibulek, které byly umístěny do experimentu v laboratoři, bylo zjištěno, že tetraploidi a pentaploidi pučí ve všech teplotních režimech podobně, u hexaploidů byla naopak detekována pučivost špatná.
5. Byl zjištěn signifikantní vliv hmotnosti propagule na klíčení/pučení propagulí. Při tomto porovnání populace tetraploidní klíčí hůře než pentaploidní a hexaploidní.

V diplomové práci bude nutné provedení experiment s klíčením/pučením semen/pacibulek zopakovat ve větším měřítku, sesbírat více populací z různých míst a zajistit z nich dané propagule. Pro robustní analýzu na úrovni ploidie jsou dvě populace od každé ploidie velmi málo - i to je důvod pro zopakování experimentu.

Seznam použité literatury

- ALSOS I. G, MÜLLER E, EIDSEN P. B. (2013): Germinating seeds or bulbils on 87 of 113 tested Arctic species indicate potential for ex situ seed bank storage (in press). – Polar Biol: DOI 10.1007/s00300-013-1307-7.
- ANDREUZZA S, SIDDIQI I. (2008): Spindle positioning, meiotic nonreduction, and polyploidy in plants. – PLoS Genet 4(11): e1000272. DOI 10.1371/journal.pgen.1000272.
- ÅSTRÖM H., HÆGGSTRÖM C. A. (2004): Generative reproduction in *Allium oleraceum* (*Alliaceae*) – Ann. Bot. Fennici 41: 1 – 14.
- BAKER H. G. (1967): Support for Baker's law – as a rule – notes and comments. – Evolution 21 (4): 853 – 856.
- BASKIN C. C, BASKIN J. M. (2003): When breaking seed dormancy is a problem. – Native plants 4 (1): 17 – 21.
- BASKIN C. C, BASKIN J. M. (2014): Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of dormancy and germination. – Department of Biology, ISBN 978 – 0124166776.
- BASKIN J. M, BASKIN C. C. (1998): Greenhouse and laboratory studies on the ecological life cycle of *Dalea foliosa* (*Fabaceae*), a federal – endangered species. – Natural Areas Journal 18 (1): 54 - 62.
- BASKIN J. M, BASKIN C. C. (2004): A classification system for seed dormancy. – Seed Science Research 14 (1): 1 – 16.
- BEAULIEU J. M, LEITCH I. J, KNIGHT CH. A. (2007): Genome size evolution in relation to leaf strategy and metabolic rates revisited. – Annals of Botany 99 (3): 495 – 505.
- BEAULIEU J. M, LEITCH I. J, PATEL S, PENDHARKAR A, KNIGHT CH. A. (2008): Genome size is a strong predictor of cell size and stomatal density in angiosperms. – New Phytologist 4, 975 – 986.
- BEKKER, R. M. (1998): The Ecology of Soil Seed Banks in Grassland Ecosystems. Van Denderen, Groningen.
- BEWLEY J. D. (1997): Seed germination and dormancy. – The Plant Cell 9: 1055 – 1066.

- BRETAGNOLE F, THOMPSON J. D, LUMARET R. (1995): The influence of seed size variation on seed germination and seedling vigour in diploid and tetraploid *Dactylis glomerata* L. – *Annals of Botany* 76: 607 – 615.
- BRIGGS D, WALTERS S. M. (2001): Proměnlivost a evoluce rostlin. – 3. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého, 2002, 531 s, ISBN 80-244-0186-X.
- BROWNLIE G. (1957): Chromosome numbers in New Zealand Ferns. – *Transaction of the Royal Society of New Zealand*, 213 – 216.
- BUREŠOVÁ V. (2012): Srovnávací morfologie cytotypů česneku planého (*Allium oleraceum*) [Master thesis] – dostupné v: Knihovna katedry botaniky, PřF UP Olomouc.
- CARTA A., PROBERT R., PUGLIA G., PERUZZI L. & BEDINI G. (2015): Local climate explains degrees of seed dormancy in *Hypericum elodes* L. (*Hypericaceae*) (in press). – *Plant biology*: DOI: 10.1111/plb.12310.
- CLAUSEN R. E, GOODSPEED T. H. (1925): Intraspecific hybridization in *Nicotiana*. II. hypothesis. – *Genetics* 10 (3): 278 – 284.
- D'SOUZA T., MICHIELS N. K. (2010): The Costs and Benefits of Occasional Sex: Theoretical Predictions and a Case Study. – *Journal of Heredity* 101: 31- 42.
- DE SARKER D, JOHNSON M. A. T, REYNOLDS A. BRANDHAM P. E. (2008): Cytology of the highly polyploid disjunct species, *Allium dregeanum* (Alliaceae), and of some Eurasian relatives. – *Botanical Journal of the Linnean Society* 124 (4): 361 – 373.
- DE VRIES H. (1914): The probable origin of *Oenothera Lamarckiana* ser. – *Botanical Gazette* 57: 345 – 361.
- DOBEŠOVÁ E. (2012): Závislost transkripční aktivity ribosomálních RNA genů na vývojových a metabolických podmínkách u rostlinných alloplodních druhů. – [Master thesis].
Dostupné z http://is.muni.cz/th/269592/prif_m/Eva_Dobesova_DP.txt.
- DUCHOSLAV M, STAŇKOVÁ H. (2014): Population genetic structure and clonal diversity of *Allium oleraceum* (*Amaryllidaceae*), a polyploid geophyte with common asexual but variable sexual reproduction (in press). – *Folia Geobotanica*: DOI: 10.1007/s12224-015-9213-0

- DUCHOSLAV M, ŠAFÁŘOVÁ L, JANDOVÁ M. (2013): Role of adaptive and non-adaptive mechanism forming complex patterns of genome size variation in six cytotypes of polyploid *Allium oleraceum* (*Amaryllidaceae*) on a continental scale. – *Annals of Botany* 111: 419 - 431.
- DUCHOSLAV M, ŠAFÁŘOVÁ L, KRAHULEC F. (2010): Complex distribution patterns, ecology and coexistence of ploidy levels of *Allium oleraceum* (*Alliaceae*) in the Czech Republic. – *Annals of Botany* 105: 719 – 735.
- DUCHOSLAV M. (2001): *Allium oleraceum* and *A. vineale* in the Czech Republic: distribution and habitat differentiation. – *Preslia, Praha* 73: 173-184.
- DUCHOSLAV M. (2009): Effect of contrasting habitats on the phenology seasonal growth, and dry-mass allocation pattern of two bulbous geophytes (*Alliaceae*) with partly different geographic ranges. – *Polish journal of ecology* 57: 15 -32.
- DUCHOSLAV M., BÁRTOVÁ V., KRAHULEC F. (2007): Rozšíření druhů rodu česnek (*Allium*) v České republice. II. Druhy sekce *Rhizirideum* (*A. angulosum*, *A. senescens* subsp. *montanum*). *Zprávy Čes. Bot. Společ.* 42, Praha: 25 – 64.
- DUCHOSLAV M., KRAHULEC F. (2009): Rozšíření druhů rodu česnek (*Allium*) v České republice. IV. Druhy sekce *Allium* (*A. scorodoprasum*, *A. rotundum*). – *Zprávy Čes. Bot. Společ.*, Praha, 44: 53 - 88.
- DUCHOSLAV M., KRAHULEC F. (2012): Rozšíření druhů rodu česnek (*Allium*) v České republice. V. Druhy sekce *Allium* (*A. sphaerocephalon*, *A. vineale*). – *Zprávy Čes. Bot. Společ.*, Praha, 47: 11 – 41.
- DUCHOSLAV M., KRAHULEC F., BÁRTOVÁ V. (2007): Rozšíření druhů rodu česnek (*Allium*) v České republice. III. Druhy sekcí *Schoenoprasum* a *Cepa* (*A. schoenoprasum*, *A. cepa*, *A. fistulosum*, *A. × proliferum*). – *Zprávy Čes. Bot. Společ.*, Praha, 42: 231 – 245.
- DUCHOSLAV M., ŠAFÁŘOVÁ L., KRAHULEC F. (2010): Complex distribution patterns, ecology and coexistence of ploidy levels of *Allium oleraceum* (*Alliaceae*) in the Czech Republic. – *Annals of Botany* 105: pp 719 – 735.
- EHRLÉN J., ERIKSSON O. (2000): Dispersal limitation and patch occupancy in forest herbs – *Ecological Society of America, Ecology* 81: 1667 – 1674.
- ELIÁŠOVÁ A, MŮTZBERGOVÁ Z. (2014): Higher seed size and germination rate may favour autotetraploids of *Vicia cracca* L. (*Fabaceae*). – *Biological Journal of the Linnean Society* 113 (1).

- ELIÁŠOVÁ A, TRÁVNÍČEK P, MANDÁK B, MÚTZBERGOVÁ Z. (2014):
Autotetraploids of *Vicia cracca* show a higher allelic richness in natural populations and a higher seed set after artificial selfing than diploids. – *Annals of Botany* 113 (1): 159 – 170.
- ELLIS R. H., HONG T. D., ROBERTS E. H. (1985): Handbook of seed technology for genebanks – International board for plant genetic resources, Rome, 456 s.
ISBN 92-9043-119-9
- FENNER M, THOMPSON K. (2005): The ecology of seed. – Cambridge University Press.
- FERRERAS A. E., FUNES G., GALOTTO L. (2014): The role of seed germination in the invasion process of Honey locust (*Gleditsia triacanthos* L., *Fabaceae*): comparison with a native congeneric – *Plant Species Biology* (in press):
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/1442-1984.12041>
- FIALOVÁ, M., DUCHOSLAV, M. (2014): Response to competition of bulbous geophyte *Allium oleraceum* differing in ploidy levels. - *Plant Biology* 16:186-196.
- FIALOVÁ, M., JANDOVÁ, M., OHRYZEK, J., DUCHOSLAV, M. (2014): Biology of the polyploid geophyte *Allium oleraceum* (Amaryllidaceae): variation in size, sexual and asexual reproduction and germination within and between tetra-, penta- and hexaploid cytotypes. - *Flora* 209: 312-324
- FIALOVÁ M., DUCHOSLAV M. (2014): Response to competition of bulbous geophyte *Allium oleraceum* differing in ploidy level – *Plant Biology* 16: 186-196.
- FIALOVÁ R. (1996): Variabilita reprodukčních parametrů sexuálně a asexuálně vzniklého potomstva *Allium oleraceum* [Master thesis]. – Dostupné v: Knihovna katedry botaniky, PřF UP Olomouc.
- FINCH-SAVAGE W. E., LEUBNER-METZGER G. (2006): Seed dormancy and the control of germination (Tansley review) – *New Phytologist* 171 (3): 501-23.
- FINCH-SAVAGE W. E., PHELPS K. (1993): Onion (*Allium cepa* L.) seedling emergence patterns can be explained by the influence of soil temperature and water potential on seed germination – *Journal of Experimental Botany* 44 (2): 407 – 414.
- FRANCIS D, DAVIES M. S, BARLOW P. W. (2008): A strong nucleotypic effect on the cell cycle regardless of ploidy level. – *Annals of Botany* 101 (6): 747 – 757.
- FREISEN N, FRITSCH R. M, BLATTNER F. R. (2006): Phylogeny and new intrageneric classification of *Allium* (*Alliaceae*) based on nuclear ribosomal DNA ITS sequences. – *Aliso* 22: 372 – 395.

- GENEVE R. L. (2005): Common misconceptions about seed dormancy. – Combined proceedings international plant propagators' society 55: 327 – 330.
- Geografie kvalitně [online], cit [2015-7-17].
Dostupné z: <http://www.geografie.kvalitne.cz/ceska.htm>
- GRANT V. (1982): Periodicities in the chromosome numbers of the Angiosperms. – Botanical Gazette 143: 379 – 389.
- HAHN M. A., LANZ T., FASEL D., MÜLLER-SCHÄRER H. (2013): Increased seed survival and seedling emergence in a polyploid plant invader – American Journal of Botany 100: 1555 – 1561.
- HANELT P., HAMMER K., KNÜPFER H. (1991): The genus *Allium* – Taxonomic problems and genetic resources. – Proceedings of an international symposium held at Gatersleben June 11 – 13: 1 – 180.
- JANDOVÁ M. (2010): Cytogenetická studie generativního potomstva polyploidního komplexu *Allium oleraceum* [Master thesis] - dostupné v: Knihovna katedry botaniky, PřF UP Olomouc.
- JÍROVÁ A. (2007): Reprodukční biologie a fenologie polyploidního komplexu *Allium oleraceum* [Master thesis] – dostupné v: Knihovna katedry botaniky, PřF UP Olomouc.
- KAMENETSKY R., RABINOWITCH H. D. (2006): The genus *Allium*: A developmental and horticultural analysis. – Horticultural Reviews 32: 329 – 378.
- KARPAVIČIENĚ B. (2012): Morphological, reproductive and karyological variability in *Allium oleraceum* in Lithuania. – Biologia: 278 – 283.
- KARPAVIČIENĚ B., KARANAUSKAITĚ D. (2010): Variation in reproductive modes of *Allium oleraceum*, *A. scorodoprasum* and *A. vineale* in field collectios – Acta Biol. Univ. Daugavp 10 (1): 1 - 6.
- KNIGHT CH. A., BEAULIEU J. M. (2008): Genome size scaling through phenotype space. – Annals of Botany 101 (6): 759 – 766.
- KNIGHT CH. A., CLANCY R. B., GÖTZENBERGER L., DANN L., BEAULIEU J. M. (2010): On the relationship between pollen size and genome size. – Journal of Botany 98 (3): 1 – 10.
- KNIGHT CH. A., MOLINARI N. A., PETROV D. A. (2005): The large genome constraint hypothesis: Evolution, ecology and phenotype. – Annals of Botany 95: 177 – 190.

- KONVIČKA O. (1998): Česnek (*Allium sativum* L.) – Základy biologie a pěstování, obsahové látky a léčivé účinky. – Vlastní náklad, Olomouc.
- KOVÁČIK A. (1983): Genetika roslin. – SZN, 488 s.
- KRAHULEC F., DUCHOSLAV M. (2011): 180. *Alliaceae* J. AGARDH – česnekovité. In: ŠTĚPÁNKOVÁ J. (ed), Květena České republiky, Vol. 8, Academia, Praha: 647 - 585.
- KRAHULEC F., DUCHOSLAV M., BÁRTOVÁ V. (2006): Rozšíření druhů rodu česnek (*Allium*) v České republice I. Druhy sekcí *Reticulato-bulbosa*, *Butomissa* a *Anguinum* (*A. strictum*, *A. tuberosum*, *A. victorialis*) – Zprávy Čes. Bot. Společ., Praha: 1 – 16.
- KROCHMAL A. (1960): Germination studies od aerial bulblets of *Allium vineale* L. and *A. canadense* L. – The University of Notre Dame: 1 – 13.
- LAZENBY A. (1962): Studies on *Allium vineale* L. III. Effect of depth of planting. – Journal of Ecology 50 (1): 97 – 109.
- LEVIN D. A. (1983): Polyploidy and novelty in flowering plants. – The American Naturalist 122: 1 – 25.
- LUŠTINEC J, ŽÁRSKÝ V. (2003): Úvod do fyziologie vyšších rostlin. – Praha : Karolinum, 261 s.
- MABLE B. K, ALEXANDROU M. A, TAYLOE M. I. (2011): Genome duplication in amphibians and fish: ad extended synthesis. – Journal of Zoology: 1 – 32.
- MABLE B. K. (2004): Why polyploidy is rarer in animals than in plants: myths and mechanisms. – Biological Journal of the Linnean Society 82: 453 – 466.
- MADLUNG A. (2013): Polyploidy and its effect on evolutionary success: old questions revisited with new tools (review) - Heredity 110: 99 – 104.
- MASTERSON J. (1994): Stomatal size in fossil plants: evidence for polyploidy in majority of angiosperm. – Science 264 (5157): 421 – 424.
- McCARTHY M, ABECASIS GR, CARDON LR, GOLDSTEIN DB, LITTLE J, IOANNIDIS JP, HIRSCHHIRN JN. (2008): Genome – wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges. – Nat. Rev. Genet 9: 356 – 369.
- MOGE G. D, SHIU S. H. (2014): The causes and molecular consequences of polyploidy in flowering plants. – New York Academy of Sciences 1320: 16 – 34.

- MOLES A. T, WESTOBY M. (2004): Seedling survival and seed size: a synthesis of the literature. – *Journal of Ecology* 92: 372 – 383.
- MONDONI A, ORSENIGO S, ROSSI G. (2013): Ecophysiology of embryo development and seed germination of the european woodland herbaceous perennial *Corydalis cava* (L.) Schweigg. & Körte subsp. *cava* (*Fumariaceae*). – *Plant species biology* 28 (3): 215 – 223.
- NIKOLAEVA M. G. (1969): Physiology of deep dormancy in seeds. – Izdatel 'stvo Nauka, Leningrad.
- OHRYZEK J. (2007): Srovnávací biologie cytotypů česneku planého (*Allium oleraceum* L.). [Master thesis] – dostupné v: Knihovna katedry botaniky, PŘF UP Olomouc.
- OTTO S. P, WHITTON J. (2000): Polyploid incidence and evolution. – *Annual Review of Genetics* 34: 401 – 437.
- PANNELL J. R., BARRETT S. C. H. (1998): Baker's Law Revisited: Reproductive assurance in a metapopulation – *Evolution* 52: 657-668.
- PAZ H, RAMOS M. M. (2003): Seed mass and seedling performance within eight species of *Psychotria* (*Rubiaceae*). – *Ecology* 84: 439 – 450.
- PEGTEL D. M. (1999): Effect of ploidy level on fruit morphology, seed germination and juvenile growth in scurvy grass (*Cochlearia officinalis* L. s.l., *Brassicaceae*). – *Plant Species Biology* 14 (3): 201 – 215.
- QU L, WIDRLECHNER M. P, RIGBY S. M. (2010): Analysis of breeding systems, ploidy, and the role of hexaploids in three *Hypericum perforatum* L. populations. – *Industrial Crops and Products* 32: 1 – 6.
- RAMSEY J, SCHEMSKE D. W. (1998): Annual review of ecology and systematics. – *Annual Reviews* 29: 467 – 501.
- RAMSEY J., RAMSEY T. S. (2014): Ecological studies of polyploidy in the 100 years following its discovery (Review) - *Philosophical Transactions B of the Royal Society* 369 (1648).
- RANAL M. A, SANTANA D. G. (2006): How and why to measure the germination process?. – *Revista Brasil. Bot* 29 (1): 1 – 11.
- RONSHHEIM M. L. (1994): Dispersal distances and predation rates of sexual and asexual propagules of *Allium vineale* L. – *The University of Notre Dame*: 131 (55): 55 - 64.

- SCHNITTLER M, PETERSON A, PETERSON J, BEISENOVA S, BERSIMBAEV R. I, PFEIFFER T. (2013): Minor differences with big consequences: Reproductive patterns in the genus *Gagea* (*Liliaceae*). – *Flora* 8 (436): 1 – 8.
- SCHNITTLER M, PFEIFFER T, HARTER D. (2009): Bulbils contra seeds: reproductive investment in two species of *Gagea* (*Liliaceae*). – *Plant syst. evol.* 279 (29):29 – 40.
- SLAVÍKOVÁ J. (1986): *Ekologie rostlin*. – SPN, Praha.
- SOLTIS D. E, BUGGS R. J. A, DOYLE J. J, SOLTIS P. S. (2010): What we still don't know about polyploidy. – *Taxon* 59 (5): 1387 – 1403.
- SOLTIS D. E, SOLTIS P. S, TATE J. A. (2004): Advantages in the study of polyploidy since plant speciation. – *New Phytologist* 161 (1): 173 – 191.
- SOLTIS D. E, VISGER C. J, SOLTIS P. S. (2014): The polyploidy revolution then...and now: Stebbins revisited. – *American Journal of Botany*: 1057 – 1078.
- SOLTIS P. S, SOLTIS D. E, CHASE M. W. (1999): Angiosperm phylogeny inferred from multiple genes as a tool for comparative biology. – *Nature* 402 (6760): 402 – 404.
- SPECHT C. E, KELLER E. R. J. (1997): Temperature requirements for seed germination in species of the genus *Allium* L. – *Genetic Resources and Crop Evolution* 44 (6): 509 – 517.
- STEARNS W. T. (1980): *Allium* – In: TUTIN T. G., HEYWOOD V. H., BURGESS N. A., MOORE D. M., VALENTINE D. H., WALTERS S. M. & WEBB D. A [eds.] *Flora Europaea* 5: 49 - 69, Cambridge University Press, Cambridge.
- STEBBINS G. L. (1947): Types of polyploids: their classification and significance. – *Advances in Genetics* 1: 403 – 429.
- STEVENS, P. F. (2001). Angiosperm Phylogeny Website. Version 12, July 2012. Dostupné z <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.
- SUDA J. (2005): Co se skrývá za rostlinnou průtokovou cytometrií. - *Živa* č. 1: 46. Dostupný z <http://ziva.avcr.cz/files/ziva/pdf/co-se-skryva-za-rostlinnou-prutokovou-cytometrii.pdf>.
- ŠAFÁŘOVÁ L, DUCHOSLAV M, JANDOVÁ M, KRAHULEC F. (2011): *Allium oleraceum* in Slovakia: cytotype distribution and ecology. – *Preslia*, 513 – 527.
- ŠAFÁŘOVÁ L, DUCHOSLAV M. (2010): Cytotype distribution in mixed populations of polyploid *Allium oleraceum* measured at a microgeographic scale. – *Preslia*, pp 107 - 126.

- ŠAFAŘOVÁ L. & DUCHOSLAV M. (2010): Cytotype distribution in mixed populations of polyploid *Allium oleraceum* measured at a microgeographic scale. – *Preslia* 82: 107–126.
- ŠAFÁŘOVÁ L. (2011): Polyploidní komplex *Allium oleraceum* L. v Evropě [PhD thesis] – dostupné v: Knihovna katedry botaniky, PřF UP Olomouc.
- ŠAFÁŘOVÁ L., DUCHOSLAV M., JANDOVÁ M. & KRAHULEC F. (2011): *Allium oleraceum* in Slovakia: cytotype distribution and ecology. – *Preslia* 83: 513–527.
- ŠŤASTNÝ P. (2014): Populační struktura a reprodukce populací česneku planého (*Allium oleraceum*) a česneku viničného (*Allium vineale*) podél sukcesního gradientu [Master thesis] – dostupné v: Knihovna katedry botaniky, PřF UP Olomouc.
- THOMPSON, K., BAKKER, J. P., BEKKER, R. M. (1997): *The Soil Seed Banks of North West Europe: methodology, density and longevity*. Cambridge University Press.
- WALCK J. L., COFER M. S., HIDAYATI S. N. (2010): Understanding the germination of bulbils from an ecological perspective: a case study on Chinese yam (*Dioscorea polystachya*). – *Annals of Botany* 11 (2): 1 – 11.
- WANG CH. N., MÖLLER M., CRONK Q. C. B. (2004): Population genetic structure of *Titanotrichum oldhamii* (*Gesneriaceae*), a subtropical bulbiferous plant with mixed sexual and asexual reproduction. – *Annals of Botany*: 201 – 209.
- WEITBRECHT K., MÜLLER K., LEUBNER-METZGER G. (2011): First off the mark: early seed germination (Darwin review) – *Journal of Experimental Botany* 62 (10): 3289 – 3309.
- WOOD R. E., TAKEBAYASHI N., BARKER M. S., MAYROSE I., GREENSPOON P. B., RIESEBERG L. H. (2009): The frequency of polyploid speciation in vascular plants. – *Proceedings of the Academy of Sciences U.S.A.*: 280 – 284.

Přílohy

Příloha 1: Přehledová tabulka populací a počtů semen a pacibulek umístěných do experimentu v laboratoři. Zkratky populací: DŽ – Džbánov, LU – Ludmírov, PL – Polsko, PŘ – Příbylov, R – Rovensko, VS – Venušina sopka.

Populace	Číslo vzorku	Ploidie	Počet propagulí	Pacibulka/Semeno	Zásah
DZ	1	5x	29	P	14
DZ	2	5x	30	P	14
DZ	3	5x	32	P	14
DZ	4	5x	32	P	14
DZ	5	5x	32	P	14,7
DZ	6	5x	32	P	14,7
DZ	7	5x	31	P	20
DZ	8	5x	31	P	20
DZ	9	5x	32	P	7
DZ	10	5x	32	P	7
DZ	11	5x	31	P	7
DZ	12	5x	32	P	7
DZ	13	5x	32	P	14,7
DZ	14	5x	30	P	14,7
DZ	15	5x	35	P	20
DZ	16	5x	28	P	20
DZ	17	5x	20	S	7
DZ	18	5x	20	S	20
DZ	19	5x	20	S	14,7
DZ	20	5x	20	S	14

Populace	Číslo vzorku	Ploidie	Počet propagulí	Pacibulka/Semeno	Zásah
LU	1	4x	32	P	14,7
LU	2	4x	29	P	14,7
LU	3	4x	33	P	14,7
LU	4	4x	29	P	14,7
LU	5	4x	28	P	7
LU	6	4x	29	P	7
LU	7	4x	29	P	7
LU	8	4x	31	P	7
LU	9	4x	30	P	20
LU	10	4x	28	P	20
LU	11	4x	32	P	20
LU	12	4x	34	P	20
LU	13	4x	32	P	14
LU	14	4x	31	P	14
LU	15	4x	30	P	14
LU	16	4x	34	P	14
LU	17	4x	20	S	20
LU	18	4x	20	S	20
LU	19	4x	20	S	7
LU	20	4x	20	S	7
LU	21	4x	20	S	14,7
LU	22	4x	20	S	14,7
LU	23	4x	20	S	14
LU	24	4x	20	S	14

Populace	Číslo vzorku	Ploidie	Počet propagulí	Pacibulka/Semeno	Zásah
PL	1	6x	29	P	7
PL	2	6x	32	P	7
PL	3	6x	29	P	7
PL	4	6x	27	P	7
PL	5	6x	29	P	14,7
PL	6	6x	28	P	14,7
PL	7	6x	30	P	14,7
PL	8	6x	32	P	14,7
PL	9	6x	32	P	14
PL	10	6x	30	P	14
PL	11	6x	29	P	14
PL	12	6x	32	P	14
PL	13	6x	28	P	20
PL	14	6x	27	P	20
PL	15	6x	27	P	20
PL	16	6x	28	P	20
PL	17	6x	20	S	20
PL	18	6x	20	S	14,7
PL	19	6x	20	S	7
PL	20	6x	20	S	14
PR	1	5x	32	P	14,7
PR	2	5x	31	P	14,7
PR	3	5x	31	P	14,7
PR	4	5x	30	P	14,7
PR	5	5x	29	P	20
PR	6	5x	30	P	20
PR	7	5x	30	P	20
PR	8	5x	30	P	20
PR	9	5x	31	P	7
PR	10	5x	31	P	7
PR	11	5x	30	P	7
PR	12	5x	29	P	7

Populace	Číslo vzorku	Ploidie	Počet propagulí	Pacibulka/Semeno	Zásah
PR	13	5x	30	P	14
PR	14	5x	30	P	14
PR	15	5x	31	P	14
PR	16	5x	31	P	14
PR	17	5x	20	S	20
PR	18	5x	20	S	14,7
PR	19	5x	20	S	14
PR	20	5x	20	S	7
R	1	6x	31	P	20
R	2	6x	33	P	20
R	3	6x	30	P	20
R	4	6x	30	P	20
R	5	6x	30	P	14
R	6	6x	30	P	7
R	7	6x	30	P	7
R	8	6x	31	P	14
R	9	6x	32	P	14
R	10	6x	32	P	14
R	11	6x	31	P	14,7
R	12	6x	30	P	14,7
R	13	6x	31	P	14,7
R	14	6x	30	P	14,7
R	15	6x	31	P	7
R	16	6x	30	P	7

Populace	Číslo vzorku	Ploidie	Počet propagulí	Pacibulka/Semeno	Zásah
VS	1	4x	31	P	20
VS	2	4x	29	P	20
VS	3	4x	30	P	20
VS	4	4x	28	P	20
VS	5	4x	27	P	14,7
VS	6	4x	31	P	14,7
VS	7	4x	29	P	14,7
VS	8	4x	32	P	14,7
VS	9	4x	30	P	14
VS	10	4x	33	P	14
VS	11	4x	28	P	14
VS	12	4x	31	P	14
VS	13	4x	32	P	7
VS	14	4x	33	P	7
VS	15	4x	31	P	7
VS	16	4x	29	P	7
VS	17	4x	20	S	14,7
VS	18	4x	20	S	14,7
VS	19	4x	20	S	14
VS	20	4x	20	S	14
VS	21	4x	20	S	20
VS	22	4x	20	S	20
VS	23	4x	20	S	7
VS	24	4x	20	S	7

Příloha 2: Přehledová tabulka populací a počtů semen a pacibulek umístěných do experimentu na pozemku. Zkratky populací: DŽ – Džbánov, LU – Ludmírov, PL – Polsko, PŘ – Příbylov, R – Rovensko, VS – Venušina sopka.

Populace	Číslo vzorku	Ploidie	Počet propagulí	Pacibulka/Semeno	Dat. odběru
DŽ	1	5x	30	P	18.3.2015
DŽ	2	5x	29	P	18.12.2014
DŽ	3	5x	30	P	18.4.2015
DŽ	4	5x	30	P	18.11.2014
DŽ	5	5x	30	P	18.5.2015
DŽ	6	5x	30	P	18.4.2015
DŽ	7	5x	28	P	18.5.2015
DŽ	8	5x	30	P	18.12.2014
DŽ	9	5x	29	P	18.11.2014
DŽ	10	5x	30	P	18.4.2015
DŽ	11	5x	34	P	18.3.2015
DŽ	12	5x	31	P	18.5.2015
DŽ	13	5x	20	S	18.11.2014
DŽ	14	5x	20	S	18.12.2014
LU	1	4x	31	P	18.12.2014
LU	2	4x	29	P	18.3.2015
LU	3	4x	32	P	18.4.2015
LU	4	4x	30	P	18.3.2015
LU	5	4x	28	P	18.4.2015
LU	6	4x	29	P	18.5.2015
LU	7	4x	29	P	18.3.2015
LU	8	4x	28	P	18.12.2014
LU	9	4x	30	P	18.4.2015
LU	10	4x	31	P	18.11.2014
LU	11	4x	30	P	18.5.2015
LU	12	4x	30	P	18.5.2015
LU	13	4x	20	S	18.12.2014

Populace	Číslo vzorku	Ploidie	Počet propagulí	Pacibulka/Semeno	Dat. odběru
LU	14	4x	20	S	18.11.2014
LU	15	4x	20	S	18.3.2015
PL	1	6x	28	P	18.3.2015
PL	2	6x	27	P	18.12.2014
PL	3	6x	30	P	18.4.2015
PL	4	6x	28	P	18.5.2015
PL	5	6x	33	P	18.11.2014
PL	6	6x	31	P	18.4.2015
PL	7	6x	30	P	18.5.2015
PL	8	6x	27	P	18.3.2015
PL	9	6x	30	P	18.4.2015
PL	10	6x	30	P	18.12.2014
PL	11	6x	27	P	18.5.2015
PL	12	6x	33	P	18.11.2014
PR	1	5x	27	P	18.4.2015
PR	2	5x	29	P	18.11.2014
PR	3	5x	31	P	18.5.2015
PR	4	5x	30	P	18.3.2015
PR	5	5x	30	P	18.3.2015
PR	6	5x	29	P	18.12.2014
PR	7	5x	28	P	18.12.2014
PR	8	5x	28	P	18.5.2015
PR	9	5x	30	P	18.4.2015
PR	10	5x	32	P	18.11.2014
PR	13	5x	20	S	18.3.2015
PR	14	5x	20	S	18.12.2014
PR	15	5x	20	S	18.11.2014
PR	16	5x	20	S	18.4.2015

Populace	Číslo vzorku	Ploidie	Počet propagulí	Pacibulka/Semeno	Datum odběru
R	1	6x	33	P	18.4.2015
R	2	6x	30	P	18.3.2015
R	3	6x	34	P	18.12.2014
R	4	6x	29	P	18.5.2015
R	5	6x	28	P	18.11.2014
R	6	6x	30	P	18.4.2015
R	7	6x	30	P	18.3.2015
R	8	6x	28	P	18.12.2014
R	9	6x	30	P	18.5.2015
R	10	6x	33	P	18.4.2015
R	11	6x	31	P	18.5.2015
R	12	6x	30	P	18.11.2014
VS	1	4x	30	P	18.11.2014
VS	2	4x	31	P	18.4.2015
VS	3	4x	30	P	18.3.2015
VS	4	4x	29	P	18.5.2015
VS	5	4x	30	P	18.12.2014
VS	6	4x	28	P	18.4.2015
VS	7	4x	30	P	18.11.2014
VS	8	4x	32	P	18.3.2015
VS	9	4x	31	P	18.5.2015
VS	10	4x	28	P	18.12.2014
VS	11	4x	32	P	18.5.2015
VS	12	4x	28	P	18.4.2015
VS	13	4x	20	S	18.11.2014
VS	14	4x	20	S	18.4.2015
VS	15	4x	20	S	18.3.2015
VS	16	4x	20	S	18.12.2014

Příloha 3: Výsledky GLM ANOVA pro srovnání pučivosti pacibulek na pozemku ve vztahu k termínu odběru a ploidii

ANOVA tabulka

	DF	SS	MS	F	P	Síla testu
A: Ploidie	2	1.528215	0.7641076	0.04	0.962823	0.052491
B(A): Populace	3	59.74498	19.91499	0.86	0.467644	
C: Termín odběru	4	1678.57	419.6424	21.21	0.000023*	0.999998
AC	8	99.53593	12.44199	0.63	0.740164	0.180678
BC(A)	12	237.445	19.78708	0.86	0.593076	
S	40	921.9147	23.04787			
Celkem (upravené)	69	3056.787				
Celkem	70					

Sekce průměr a SE

	Počet	Průměr	SE
Vše	70	94.16438	
A: Ploidie			
4x	24	94.34114	0.9109288
5x	22	94.17675	0.9514341
6x	24	93.97523	0.9109288
C: Termín odběru			
18.11.	11	91.29358	1.341203
18.12.	12	89.09903	1.284104
18.3.	13	90.42927	1.233727
18.4.	17	100	1.078863
18.5.	17	100	1.078863
AC: Ploidie, datum			
4x,18.11.	3	94.62366	2.568208
4x,18.12.	4	89.03033	2.224133
4x,18.3.	5	88.05173	1.989326
4x,18.4.	6	100	1.815997
4x,18.5.	6	100	1.815997
5x,18.11.	4	89.11638	2.224133

5x,18.12.	4	89.70854	2.224133
5x,18.3.	4	92.05882	2.224133
5x,18.4.	5	100	1.989326
5x,18.5.	5	100	1.989326
6x,18.11.	4	90.14069	2.224133
6x,18.12.	4	88.5582	2.224133
6x,18.3.	4	91.17725	2.224133
6x,18.4.	6	100	1.815997
6x,18.5.	6	100	1.815997

Příloha 4: Výsledky GLM ANOVA pro srovnání pučivosti/klíčivosti pacibulek/semenn na pozemku ve vztahu k termínu odběru a ploidii.

ANOVA tabulka

	DF	SS	MS	F	P	Síla testu
A: Ploidie	1	0.09130344	0.09130344	0.00	0.985678	0.050019
B(A): Populace	2	445.016	222.508	8.41	0.002415*	
C: P_S	1	190.9415	190.9415	0.42	0.582400	0.069365
AC	1	0.09130344	0.09130344	0.00	0.989950	0.050009
BC(A)	2	903.9688	451.9844	17.09	0.000057*	
D: Termín odběru	3	905.8705	301.9568	10.75	0.007925*	0.934617
AD	3	44.54409	14.84803	0.53	0.678820	0.108068
BD(A)	6	168.4915	28.08191	1.06	0.418605	
CD	3	94.09105	31.36368			
ACD	3	217.7298	72.57661			
BCD(A)	3	0	0	0.00	1.000000	
S	19	502.4028	26.44225			
Celkem (upravené)	47	3903.598				
Celkem	48					

Sekce průměr a SE

	Počet	Průměr	SE
Vše	48	90.47434	
A: Ploidie			
4x	25	90.52571	2.983341
5x	23	90.42297	3.110347
C: P, S			
P	35	92.82368	3.593583
S	13	88.125	5.896442
D: Termín odběru			
18.11.	11	87.18501	1.59778
18.12.	12	86.55972	1.529758
18.3.	12	88.15263	1.529758
18.4.	13	100	1.469744
AC: Ploidie,P,S			
4x,P	18	92.92643	5.011012
4x,S	7	88.125	8.035496
5x,P	17	92.72093	5.156289
5x,S	6	88.125	8.679328
AD: Ploidie, termín odběru			
4x,18.11.	5	86.06183	2.369891
4x,18.12.	6	88.26517	2.163404

Sekce průměr a SE

	Počet	Průměr	SE
Vše	48	90.47434	
AD: Ploidie,termín odběru			
4x,18.3.	7	87.77586	2.002923
4x,18.4.	7	100	2.002923
5x,18.11.	6	88.30819	2.163404
5x,18.12.	6	84.85427	2.163404
5x,18.3.	5	88.52941	2.369891
5x,18.4.	6	100	2.163404
CD: P,S, termín odběru			
P,18.11.	7	91.87002	0

P,18.12.	8	89.36944	0
P,18.3.	9	90.05527	0
P,18.4.	11	100	0
S,18.11.	4	82.5	0
S,18.12.	4	83.75	0
S,18.3.	3	86.25	0
S,18.4.	2	100	0
ACD: Ploidie,P, S, termín odběru			
4x,P,18.11.	3	94.62366	0
4x,P,18.12.	4	89.03033	0
4x,P,18.3.	5	88.05173	0
4x,P,18.4.	6	100	0
4x,S,18.11.	2	77.5	0
4x,S,18.12.	2	87.5	0
4x,S,18.3.	2	87.5	0
4x,S,18.4.	1	100	0
5x,P,18.11.	4	89.11638	0
5x,P,18.12.	4	89.70854	0
5x,P,18.3.	4	92.05882	0
5x,P,18.4.	5	100	0
5x,S,18.11.	2	87.5	0
5x,S,18.12.	2	80	0
5x,S,18.3.	1	85	0
5x,S,18.4.	1	100	0

Příloha 5: Výsledky GLM ANOVA pro srovnání délky nadzemní části u vyklíčených/vypučených jedinců na pozemku.

ANOVA tabulka

	DF	SS	MS	F	P	Síla testu
A: Ploidie	2	423.2231	211.6115	2.04	0.275438	0.188016
B(A): Populace	3	310.6895	103.5632	46.78	0.000000*	
C: Termín odběru	4	17562.49	4390.623	130.12	0.000000*	1.000000
AC	8	215.8723	26.98403	0.80	0.614554	0.224410
BC(A)	12	404.9137	33.74281	15.24	0.000000*	
S	1955	4327.909	2.213764			
Celkem (upravené)	1984	23334.39				
Celkem	1985					

Sekce průměr a SE

	Počet	Průměr	SE
Vše	1985	8.087799	
A: Ploidie			
4x	680	8.162947	0.3902547
5x	620	7.470111	0.408702
6x	685	8.63034	0.3888278
C: Termín odběru			
18.11.2014	305	3.624915	0.3326141
18.12.2014	314	4.974468	0.3278127
18.3.2015	351	12.02345	0.3100538
18.4.2015	511	9.458739	0.2569686
18.5.2015	504	10.35743	0.258747
AC: Ploidie, Termín odběru			
4x, 18.11.2014	86	3.917814	0.626385
4x, 18.12.2014	104	4.763363	0.5696052
4x, 18.3.2015	132	12.18546	0.505596
4x, 18.4.2015	177	9.789518	0.4366203
4x, 18.5.2015	181	10.15858	0.4317688

5x,18.11.2014	107	2.906999	0.5615633
5x,18.12.2014	104	4.166248	0.5696052
5x,18.3.2015	114	10.91872	0.5440492
5x,18.4.2015	147	9.093483	0.4791063
5x,18.5.2015	148	10.2651	0.477485
6x,18.11.2014	112	4.049931	0.5488853
6x,18.12.2014	106	5.993792	0.5642059
6x,18.3.2015	105	12.96616	0.5668863
6x,18.4.2015	187	9.493217	0.4247856
6x,18.5.2015	175	10.6486	0.4391082

Příloha 6: Výsledky GLM ANOVA pro porovnání délky kořenů vyklíčených/vypučených jedinců z experimentu na pozemku.

ANOVA tabulka

	DF	SS	MS	F	P	Síla testu
A: Ploidie	2	1623.872	811.9362	1.49	0.355963	0.149947
B(A): Populace	3	1638.681	546.2271	173.24	0.000000*	
C: Termín odběru	4	3201.559	800.3898	9.07	0.001296*	0.986647
AC	8	571.7283	71.46604	0.81	0.607088	0.227182
BC(A)	12	1058.427	88.20222	27.97	0.000000*	
S	1955	6164.044	3.152964			
Celkem (upravené)	1984	14280.41				
Celkem	1985					

Sekce průměr a SE

	Počet	Průměr	SE
Vše	1985	8.828883	
A: Ploidie			
4x	680	9.469728	0.8962561
5x	620	7.502052	0.9386221
6x	685	9.514869	0.8929791
C: Termín odběru			
18.11.2014	305	6.741393	0.5377617
18.12.2014	314	7.924105	0.5299989
18.3.2015	351	9.214552	0.5012867
18.4.2015	511	9.996444	0.4154601
18.5.2015	504	10.26792	0.4183353
AC: Ploidie, Termín odběru			
4x,18.11.2014	86	7.548706	1.012723
4x,18.12.2014	104	8.567648	0.9209226
4x,18.3.2015	132	10.3272	0.8174342
4x,18.4.2015	177	10.71719	0.7059162
4x,18.5.2015	181	10.1879	0.6980724
5x,18.11.2014	107	5.663378	0.9079207
5x,18.12.2014	104	6.103472	0.9209226
5x,18.3.2015	114	6.855943	0.8796043
5x,18.4.2015	147	8.835785	0.7746065
5x,18.5.2015	148	10.05168	0.7719851
6x,18.11.2014	112	7.012096	0.8874232
6x,18.12.2014	106	9.101196	0.9121932
6x,18.3.2015	105	10.46052	0.9165267
6x,18.4.2015	187	10.43636	0.6867821
6x,18.5.2015	175	10.56418	0.7099385

Příloha 7: Výsledky GLM ANOVA pro porovnání počtu kořenů u vypučených jedinců na pozemku.

ANOVA tabulka

	DF	SS	MS	F	P	Síla testu
A: Ploidie	2	7.431028	3.715514	0.87	0.502141	0.108197
B(A): Populace	3	12.7487	4.249566	40.41	0.000000*	
C: Termín odběru	4	285.8129	71.45322	34.18	0.000002*	1.000000
AC	8	4.141679	0.5177099	0.25	0.971963	0.094334
BC(A)	12	25.0845	2.090375	19.88	0.000000*	
S	1955	205.6097	0.1051712			
Celkem (upravené)	1984	550.2199				
Total	1985					

Sekce průměr a SE

	Počet	Průměr	SE
Vše	1985	1.817644	
A: Ploidie			
4x	680	1.897098	0.0790529
5x	620	1.741859	0.08278973
6x	685	1.813974	0.07876386
C: Termín odběru			
18.11.2014	305	1.235568	0.082787
18.12.2014	314	1.445817	0.08159194
18.3.2015	351	2.044436	0.07717178
18.4.2015	511	2.141839	0.063959
18.5.2015	504	2.220559	0.06440162
AC: Ploidie, Termín odběru			
4x,18.11.2014	86	1.331595	0.155906
4x,18.12.2014	104	1.434825	0.1417736
4x,18.3.2015	132	2.220052	0.1258419
4x,18.4.2015	177	2.22204	0.1086739
4x,18.5.2015	181	2.276981	0.1074664

5x,18.11.2014	107	1.168568	0.139772
5x,18.12.2014	104	1.446333	0.1417736
5x,18.3.2015	114	1.873072	0.1354128
5x,18.4.2015	147	2.080968	0.1192486
5x,18.5.2015	148	2.140355	0.1188451
6x,18.11.2014	112	1.20654	0.1366165
6x,18.12.2014	106	1.456293	0.1404298
6x,18.3.2015	105	2.040184	0.1410969
6x,18.4.2015	187	2.122509	0.1057283
6x,18.5.2015	175	2.244342	0.1092932

Příloha 8: Výsledky GLM ANOVA pro cekovou klíčivost/pučivost semen/pacibulek v klíčidlech

ANOVA tabulka

	DF	SS	MS	F	P	Síla testu
A: Ploidie	2	3.945974	1.972987	2.08	0.271172	0.190543
B(A): Populace	3	2.845141	0.9483803	4.99	0.003185*	
C: Zásah	3	12.00734	4.002447	28.74	0.000061*	0.999998
AC	6	7.347785	1.224631	8.79	0.002389*	0.985997
BC(A)	9	1.253417	0.1392685	0.73	0.677852	
D: Propagule	1	31.70606	31.70606	11.16	0.079147	0.448501
AD	2	6.167599	3.083799	1.08	0.479618	0.100164
BD(A)	2	5.684464	2.842232	14.95	0.000003*	
CD	3	13.7019	4.567301	7.78	0.017227*	0.835560
ACD	6	7.004735	1.167456	1.99	0.211907	0.343369
BCD(A)	6	3.523973	0.5873289	3.09	0.008998*	
S	80	15.20819	0.1901023			
Celkem (upravené)	123	128.348				
Celkem	124					

Sekce průměr a SE

	Počet	Průměr	SE
Vše	124	9.186187	
A: Ploidie			
4x	48	8.889427	0.1405629
5x	40	9.231604	0.1539789
6x	36	9.437529	0.162308
C: Zásah			
7	32	9.215003	0.06597076
14	31	9.489799	0.06702636
14.7	31	9.55127	0.06702636
20	30	8.488671	0.06813431
D: P_S			
P	96	9.870367	0.1720656
S	28	8.502006	0.3186036
AC: Ploidie,Zásah			
4x,7	12	8.920935	0.1077298
4x,14	12	9.078956	0.1077298
4x,14.7	12	9.352767	0.1077298
4x,20	12	8.20505	0.1077298
5x,7	10	9.635643	0.1180121
5x,14	10	9.931556	0.1180121
5x,14.7	10	9.511256	0.1180121

Příloha 9: Výsledky ANCOVA analýzy pro pacibulky, testovala jsem vliv hmotnosti pacibulky na klíčivost.

ANCOVA tabulka

	DF	SS	MS	F	P	Síla testu
X:Hmotnost 1 pac	1	0.4893358	0.4893358	8.31	0.005016*	0.813110
A: Ploidie	2	1.197227	0.5986137	10.17	0.000112*	0.983504
B: Zásah	3	0.4711828	0.1570609	2.67	0.052979	0.631412
AB	6	0.2329635	0.03882725	0.66	0.682448	0.248572
S	83	4.886863	0.05887786			
Celkem (upravené)	95	7.110899				
Celkem	96					

Sekce průměr a SE

	Počet	Průměr	SE
Vše	96	9.841672	
A: Ploidie			
4x	32	9.873857	0.04289444
5x	32	9.961094	0.04289444
6x	32	9.690065	0.04289444
B: Zásah			
7	25	9.917855	0.04852952
14	24	9.763733	0.04953024
14.7	24	9.779691	0.04953024
20	23	9.905408	0.05059553
AB: Ploidie,Zásah			
4x,7	8	9.99447	0.08578888
4x,14	8	9.73425	0.08578888
4x,14.7	8	9.866324	0.08578888
4x,20	8	9.900382	0.08578888
5x,7	8	9.988171	0.08578888
5x,14	8	9.928549	0.08578888
5x,14.7	8	9.934073	0.08578888

5x,20	8	9.993583	0.08578888
6x,7	9	9.770927	0.08088253
6x,14	8	9.628402	0.08578888
6x,14.7	8	9.538674	0.08578888
6x,20	7	9.822259	0.09171218

Příloha 10: Výsledky ANCOVA analýzy pro semena, testovala jsem vliv hmotnosti pacibulky na klíčivost.

ANCOVA tabulka

	DF	SS	MS	F	P	Síla testu
X: Hmotnost 1 sem	1	0.5811127	0.5811127	0.44	0.517353	0.095299
A: Ploidie	2	6.6838	3.3419	2.53	0.113171	0.427814
B: Zásah	3	10.60394	3.534648	2.67	0.084779	0.533068
AB	6	7.167764	1.194627	0.90	0.517660	0.252248
S	15	19.82651	1.321768			
Celkem (upravené)	27	59.84816				
Celkem	28					

Sekce průměr a SE

	Počet	Průměr	SE
Vše	28	8.513644	
A: Ploidie			
4x	16	7.817707	0.2874204
5x	8	8.579948	0.4064738
6x	4	9.143278	0.5748408
B: Zásah			
7	7	8.644833	0.4345388
14	7	9.186043	0.4345388
14.7	7	9.002277	0.4345388
20	7	7.221425	0.4345388
AB: Ploidie,Zásah			

4x,7	4	7.881847	0.5748408
4x,14	4	8.294477	0.5748408
4x,14.7	4	8.622185	0.5748408
4x,20	4	6.472318	0.5748408
5x,7	2	9.242709	0.8129476
5x,14	2	9.918791	0.8129476
5x,14.7	2	9.151586	0.8129476
5x,20	2	6.006709	0.8129476
6x,7	1	8.80994	1.149682
6x,14	1	9.344862	1.149682
6x,14.7	1	9.233063	1.149682
6x,20	1	9.185247	1.149682