

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Přírodovědecká fakulta**

Aspekty reprodukční biologie mechu *Helodium blandowii*

Diplomová práce

Bc. Jitka Bradáčová

Školitel: Mgr. Jan Kučera, Ph.D.

Konzultant: RNDr. Táňa Štechová, Ph.D.

České Budějovice 2014

Bradáčová J. (2014): Aspekty reprodukční biologie mechu *Helodium blandowii* [Aspects of reproduction biology of the moss *Helodium blandowii*. Mgr. Thesis, in Czech] – 90 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace:

Regeneration from stem and branch fragments of the moss *Helodium blandowii* was examined in common garden and field experiments. The treatments included one cm long terminal stem fragments and branches of one cm and half cm length with and without the terminal and their regeneration was observed in course of 3 months in the common garden experiment and 15 months in the field. Dynamics of *Helodium* patches was observed in course of 2 years in permanent plots of the nature reserve Ruda.

Genetic structure of all recent Czech populations of *Helodium blandowii* was investigated and compared with a pilot survey of populations from Scandinavia and Lithuania using the microsatellite markers developed for this study.

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

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

České Budějovice, 12. 12. 2014

.....

Jitka Bradáčová

Poděkování

Velký dík patří mému školiteli za všechny cenné rady a hlavně za to, že si v posledních týdnech před odevzdáním mé práce pořídil další nádrž optimismu, a když už mě síly opouštěly, stále věřil, že práci stihnu dopsat. Navíc si vždycky našel čas odpovídat na mé všetečné dotazy.

Dále bych ráda poděkovala Táně Štechové, za to, že mi byla konzultantkou, a za pomoc se zakládáním terénních experimentů. Jirkovi Košnarovi, který mi byl téměř konzultantem, patří nemalý dík za pomoc s prací v laborce i genetickými analýzami. Elišce Vicherové bych ráda poděkovala za pomoc se zakládáním pokusů v klimaboxu. Kouřovi patří velký dík za to, že vymyslel, jak vyhodnotit regenerační experimenty, a donutil to zrádné R spočítat výsledky. Dále bych mu ráda poděkovala za zasvěcení do tajů cytometrie, jejíž výsledky byly vzhledem k jejich cimrmanovské povaze zahrnuty jen okrajově. A Standovi Grillovi bych ráda poděkovala za konzultace ohledně práce s GISem.

Za sběr vzorků bych ráda poděkovala Magdě Zmrhalové, Elišce Vicherové, Vidasovi Ambrazevičiusovi a Karimu Minkinenovi. Také jsem vděčná za možnost účastnit se Mezioborových exkurzí, kde byly mnohé vzorky sesbírány. Zvláštní poděkování patří vyučujícím kurzu Elektronová mikroskopie pro biology I. za možnost podívat se zkoumanému mechu na papílu a pořídit jeho fotografie.

V neposlední řadě bych ráda poděkovala těm, kteří se mnou navštívili některou z lokalit, ochotným knihovnicím za sehnané články, obyvatelům naší pracovny (jmenovitě Bety a Peťovi Blažkovi) a Evče Holé za veškeré rady a mé rodině za to, že mě psychicky i finančně podporovala během celého mého studia. Závěrem bych chtěla poděkovat všem, na které jsem případně zapoměla, nebylo to záměrem...

Obsah

1	Úvod	1
1.2	Charakteristika studovaného druhu	3
1.2	Specifika nepohlavního rozmnožování mechorostů.....	6
1.3	Regenerace	7
1.4	Genetická struktura populací mechorostů.....	8
1.5	Cíle práce	10
2	Metodika	11
2.1	Lokalita NPP Ruda.....	11
2.2	Regenerace	13
2.2.1	Regenerace úlomků větviček v terénu.....	13
2.2.2	Regenerace v klimaboxu.....	15
2.2.3	Růst předpěstovaných lodyžek v terénu	18
2.3	Sledování dynamiky porostu.....	20
2.4	Genetická struktura populací.....	21
3	Výsledky	30
3.1	Regenerace	30
3.1.1	Regenerace úlomků větviček v terénu.....	30
3.1.2	Regenerace v klimaboxu.....	32
3.1.3	Růst předpěstovaných lodyžek v terénu	37
3.2	Sledování dynamiky porostu.....	39
3.3	Genetická struktura populací.....	41
4	Diskuse	48
4.1	Regenerace	48
4.2	Sledování dynamiky porostu.....	51
4.3	Genetická struktura populací.....	52
5	Závěr	56
6	Literatura.....	57
7	Přílohy	67

1 Úvod

Pro účinnou ochranu ohrožených druhů je důležité poznat detaily jejich biologie, tedy podmínky prostředí, které jednotlivým druhům vyhovují, způsoby jejich rozmnožování a šíření, ale také genetickou diverzitu jejich populací. Ta totiž odráží procesy, které na populaci působily v minulosti i které lze očekávat v budoucnosti. Intenzivním využíváním většiny biotopů člověkem v posledních stoletích docházelo a stále dochází k degradaci přírodních biotopů a jejich fragmentaci v krajině. Jedním z nejhroženějších biotopů intenzivně využívané krajiny jsou rašeliniště, zejména pak minerotrofní rašeliniště, které většinou označujeme jako slatiniště. Již od 19. století totiž docházelo v Evropě k jejich odvodňování a přeměně na zemědělskou půdu, přičemž tyto změny byly nejintenzivnější v okrajových částech přirozeného areálu těchto biotopů, tedy ve střední a západní Evropě. Slatiniště jsou i ve zcela přirozených podmínkách dynamickým biotopem, který podléhá sukcesním změnám v důsledku přirozené acidifikace, na níž se podílejí kalcitolerantní rašeliničky (Rocheffort 2000). Vlivem lidské činnosti se však tyto procesy urychlují nebo směřují k eutrofizaci či porušení hydrologického režimu lokalit. Tyto negativní změny se obvykle v první řadě dotýkají mechorostů, z nichž na bohatších slatiništích ekologicky nejvýznamnější skupinu tvoří tzv. hnědé mechy. Tímto termínem jsou souborně označovány slatiništní nebo rašeliništní mechy, systematicky většinou řazené do čeledi Amblystegiaceae s. l. Významným ohroženým hnědým mechem je i studovaný druh *Helodium blandowii* z čeledi Thuidiaceae.

Biologické vlastnosti ohrožených hnědých mechů začaly být podrobněji zkoumány v 90. letech 20. století, takže dosud byly publikovány práce pouze na několika druzích. Kooijman (1992, 1993) studovala příčinu nahrazení ohroženého mechu *Scorpidium scorpioides* běžným druhem *Calliergonella cuspidata* a zjistila, že degradace bohatých slatinišť v západní Evropě je dána pravděpodobně eutrofizací fosforem. Velká pozornost byla věnována mechu *Hamatocaulis vermicosus*, u kterého bylo zjištěno, že potřeba managementu na jeho lokalitách závisí na hladině podzemní vody a z chemismu byl prokázán pouze vliv obsahu železa (Štechová 2005, Štechová & Kučera 2007, Štechová et al. 2012). Dále byla zkoumána schopnost slatiništních mechů regenerovat z fragmentů a po vysušení (Manukjanová 2011, Manukjanová et al. 2014). Druhem *Helodium blandowii*, kterému je věnována následující práce, se zabývá několik prací ze Slovenska, ve kterých se autoři (Šoltés 2004, Šoltés et al. 2004) snažili zjistit, s jakými druhy rostlin se vyskytuje a jaký chemismus vody mu vyhovuje na slovenských lokalitách. V posledních letech byly publikovány obdobné údaje i ze současných českých lokalit (Štechová et al. 2010). V Rusku byl studován jeho růst

a produkce biomasy v závislosti na teplotě, srážkách a zastínění v různých typech prostředí (Goncharova 2006, 2008, Goncharova & Benkov 2005, Goncharova & Sobachkin 2013). Další zmínky o ohrožených druzích hnědých mechů jsou v rámci komplexních studií některých rašelinišť. Omezené množství literárních údajů o druhu *Helodium blandowii* může být dáno tím, že v některých zemích (Skandinávské země, Rusko a Kanada) jsou rašeliniště a slatiniště stále ještě běžnou součástí krajiny a druh je tam poměrně běžný, a jinde naopak nezbývá dostatek lokalit k jejich ucelenému výzkumu vyžadujícímu manipulační experimenty, které stávající populace mohou poškozovat.



Obr. 1: *Helodium blandowii*.

1.2 Charakteristika studovaného druhu

Helodium blandowii (plstnatec rašelinný) je jednodomý bokoplodý mech z čeledi *Thuidiaceae*, někdy řazený do samostatné čeledi *Helodiaceae* (Smith 2004). Zpeřeně větvené, vystoupavé až vzpřímené lodyžky dosahují až 15 cm (viz obr. 1), u báze listů na nich vyrůstají větvené parafylie (viz obr. 3). Na široce vejčitých listech najdeme jednoduché slabé žebro končící pod špičkou, buňky listů jsou protáhlé a výrazně papilnaté (Hradílek 2011, viz obr. 4). Speciální vegetativní rozmnožovací částice nejsou známy. Druh je jednodomý (autoický), často plodný. Nachýlené tobolky na poměrně dlouhém štětu (viz obr. 2) dozrávají na přelomu jara a léta a doklady o jejich pozorování pocházejí i z okraje areálu rozšíření tohoto mechu (Lewinski & Mogensen 1979, Šoltés 1998, Manzke & Wentzel 2004, Štechová et al. 2010). Výtrusy jsou 10–16 µm velké, hladké, hnědozelené (Ignatov & Ignatova 2004, Hradílek 2011). Chromozomové číslo je 12 (Fritsch 1983, Holmen 1958).

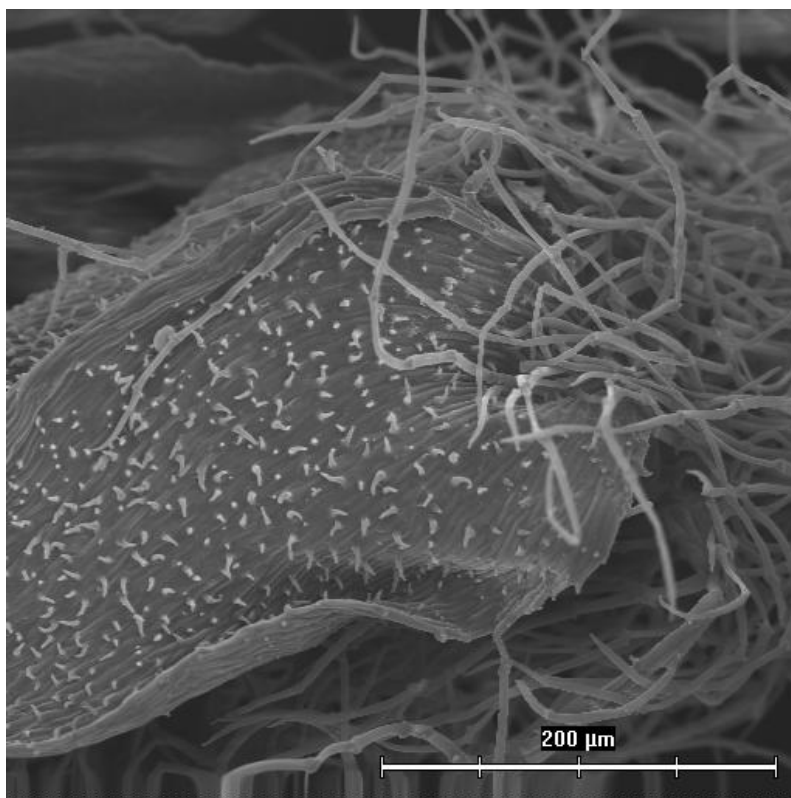
Helodium blandowii je cirkumboreální druh, který vyznívá v nižší arktické a temperátní zóně. V Grónsku i jinde dosahuje cca 70° severní šířky (Lewinsky & Mogensen 1979, Ochyra et al. 1988). V Evropě je běžný ve střední a severní Skandinávii kromě Dánska, v Pobaltí, na Islandu a na severu evropské části Ruska (Smith 2004, Hedenäs 2014), vyznívá do západní, střední a jižní Evropy až po Bosnu a Hercegovinu, Bulharsko a Rumunsko (Ros et al. 2013). V Asii je rozšířen zejména v její severní části, na jihozápadě existují údaje z Turecka (Ros et al. 2013), ve střední Asii jsou zmínky o jeho přítomnosti ještě z Kazachstánu (Allen 1999), Kyrgyzstánu, Tádžikistánu (Ignatov et al. 2006) a severního Mongolska (Tsegmed 2001). V Číně již nebyl v současné době potvrzen (Peng-cheng et al. 2002). Ze Severní Ameriky je znám na Aljašce, v Kanadě a severní části USA a po úbočí Skalistých hor zasahuje na jih až do Arizony a Kalifornie, dále roste v Georgii a Severní Karolíně (Eckel 2012) a v Grónsku (Smith 2004).

V Evropě celkově není řazen mezi zvláště ohrožené mechorosty (ECCB 1995), ale mimo Skandinávii a Pobaltí se mu dostává různého stupně ochrany (např. Anonymus 2012). Ve středoevropských zemích je všeobecně vzácný a považovaný za glaciální relikv (např. Herzog 1926, Rybníček 1966, Frahm & Quandt 1999, Šoltés et al. 2004). V České republice je řazen do kategorie ohrožených (Kučera et al. 2012). Ve většině zemí západní Evropy je považován za vyhynulý – ve Velké Británii byl naposled pozorován v roce 1894 (Smith 2004), v Belgii v roce 1980 (Sotiaux et al. 2007) a v Nizozemí v roce 1988 (Siebel et al. 2005, Siebel et al. 2013) a vyhynulý je také ve Švýcarsku (NISM 2004) a v Maďarsku (Papp et al. 2010).

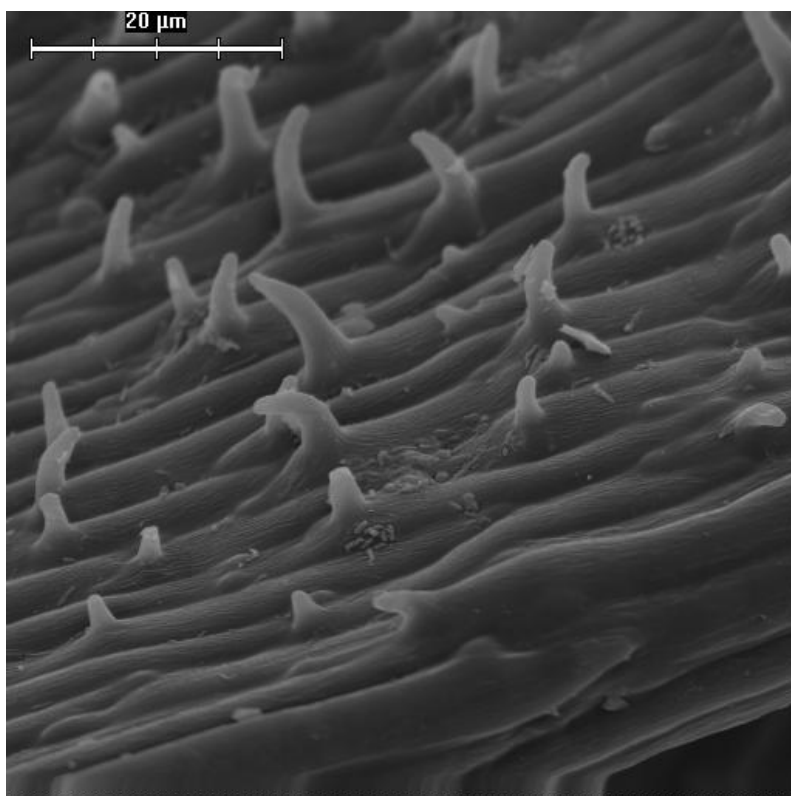
Helodium blandowii obývá hlavně nevápnitá slatiniště (přechodová rašeliniště, rašelinné louky) a přetrvává i v pokročilejších sukcesních stádiích, kdy zarůstají různými dřevinami (Ochyra et al. 1988, Šoltés et al. 2004, Rusińska et al. 2009) ve svazech *Alnion glutinosae*, *Alnion incanae*, a zejména *Salicion cinereae* (Dítě & Šoltés 2002). V severní Evropě a Asii se běžně vyskytuje v podmáčených řídkých březových lesích a řidčeji v jehličnatých a smíšených lesích, dokonce i na klestí a vývratech stromů (Ignatov & Ignatova 2004). Je tam jedním z indikačních druhů podmáčených borů s vývěry podzemních vod bohatých na železo svazu *Betulo-Tomentypnion*, podsvazu *Betulo-Tomentypnenion* a asociace *Tomentypno-Pinetum sylvestris* (Smagin 1999). Je považován také za indikační druh zachovalého vodního režimu na lokalitách (Gustafsson et al. 2005), avšak může růst i na sekundárních stanovištích, jako jsou silničních příkopy a lomy (Ignatov & Ignatova 2004, Moose-Deutschland.de 2012). U nás roste *Helodium blandowii* nejčastěji spolu s mechy *Sphagnum teres*, *Sphagnum* sect. *Sphagnum* a *Straminergon stramineum*, *Calliergonella cuspidata*, *Aulacomnium palustre* a *Climacium dendroides* a *Sarmentypnum exannulatum* (Štechová et al. 2010), ale severněji se potkává i s mechy *Tomentypnum nitens* a *Paludella squarrosa* (Pawlikowski 2006). Roste většinou na bultech nad hladinou vody (Navrátilová & Navrátil 2005), kde tvoří hustší polštáře s kratší zelenou částí lodyžky (Goncharova 2006, 2008), ale občas ho lze najít i mezi bulty (Rusińska et al. 2009). Jeho životní strategie je podle DierBena (2001) označována jako „perennial“, tedy vytrvalý druh setrvávající dlouho na jednom místě. Nejedná se však o typický příklad, neboť u něj lze pozorovat vysoké reprodukční úsilí, zatímco obecnou vlastností této strategie je reprodukční úsilí nízké.



Obr. 2: Sporofyty mechu *Helodium blandowii*.



Obr. 3: Větvené parafylie vyrůstající na bázi listu mechu *Helodium blandowii* (foceno na SEM JOEL JSM-6300).



Obr. 4: Protáhlé buňky listu mechu *Helodium blandowii* s výraznými papilami (foceno na SEM JOEL JSM-6300).

1.2 Specifika nepohlavního rozmnožování mechorostů

Téměř všechny mechorosty jsou schopné rozmnožovat se pohlavně pomocí spor (Pauliuk et al. 2011), ale mnohé tvoří sporofyty jen zřídka. Například ve Velké Británii nejsou známé sporofyty u 19 % mechů (Longton 1992) a 30 % játrovek (Laaka-Lindberg et al. 2000). Důvodů, proč nedochází k pohlavnímu rozmnožování, může být více. Jedním je dvoudomost, která snižuje pravděpodobnost dostatečné blízkosti samčích a samičích gametangií. Nicméně dvoudomost je u mechorostů poměrně běžná (více než polovina mechorostů; Wyatt 1982) a mnohem častější než u cévnatých rostlin (cca 5 %; Kumar et al. 2014). Dalším důvodem může být výskyt na okraji areálu rozšíření v neoptimálních podmínkách (Longton 1992) a k poklesu pohlavního rozmnožování může dojít také v důsledku znečištění prostředí (Greven 1992). Pohlavní rozmnožování mechorostů je tak velmi často doplňováno nebo zcela nahrazeno nepohlavním rozmnožováním, které často probíhá pomocí specializovaných částic, avšak zahrnuje i klonální růst a fragmentaci lodyžek (Frey & Kürschner 2011).

Obvykle se uvádí, že spory slouží k šíření na delší vzdálenosti než vegetativní částice (Laaka-Lindberg et al. 2003). Pravděpodobně však záleží hlavně na velikosti částic a jejich tvaru (Söderström & Herben 1997). Velké množství malých spor (s průměrem do cca 15 μm) dopadne v okruhu jednoho metru od rodičovské kolonie (Kimmerer 1991, Miles & Longton 1992), avšak velké množství také doletí dále. Pravděpodobně záleží na momentálních podmínkách na stanovišti, protože různí autoři zjistili různé množství spor stejné velikosti dopadlých do jednotlivých vzdáleností (srov. Miles & Longton 1990, 1992, Stoneburner et al. 1992). Snadnou šířitelnost mají i stejně velké nepohlavně vzniklé gemy (Pohjamo et al. 2006, Holá 2008), ale většina gem je větších (obvykle 20–200 μm) a jiné vegetativní diaspory (lámavé lístky, větvičky) mohou dosahovat délky přes jeden cm. Velké spory (s průměrem nad cca 20 μm) se do vzdáleností přesahujících 1 m dostávají mnohem obtížněji (McQueen 1985, Söderström & Jonsson 1989).

Šíření na velké vzdálenosti u větších vegetativních diaspor bylo prokázáno v řadě případů a jeho intenzita může být podceňována. Z abiotických činitelů bylo prokázáno například šíření větrem po sněhu v nelesnatých arktických a alpských oblastech (Miller & Ambrose 1976, McDaniel & Miller 2000, Robinson & Miller 2013) či roznošením vodou (Dalen & Söderström 1999), většina prací však studovala přenos za pomoci zvířat. Na nejkratší vzdálenosti mohou vegetativní částice mechorostů dopravit bezobratlí jako mravenci (Heinken et al. 2007, Rudolphi 2009), nosatci (Gressitt et al. 1968), žížaly (van Tooren & During 1988) a slimáci (Kimmerer & Young 1995) nebo menší obratlovci jako veverka,

hraboši a křečící (Pfeiffer et al. 2006, Barbé et al. 2014) a želvy (McGregor 1961). Na větší vzdálenosti pak mohou diaspory přenášet obratlovci jako kaloni (Parsons et al. 2007), ptáci (McGregor 1961, Breil & Moyle 1976, Davison 1976), ovce (Pauliuk et al. 2011), srnci nebo divoká prasata (Heinken et al. 2001). Úlomky mechorostů se na zvířata dostanou většinou náhodně, při pohybu nebo odpočinku, ale některá zvířata mechorosty využívají ke stavbě hnízd (Breil & Moyle 1976, Heinken et al. 2007). Někdy dokonce úlomky mechorostů projdou i trávicím traktem, ale bylo dokázáno, že i poté mohou růst dále (van Tooren & During 1988, Parsons et al. 2007).

Výhodou vegetativních částic je rychlejší uchycení (Schneider & Sharp 1962, Kimmerer 1991, Korpelainen et al. 2011). Díky tomu jsou schopné rychleji kolonizovat uvolněné místo a někdy se uchytí i v trsu jiného mechu (Mishler & Newton 1988). Vegetativní diaspory také lépe snášejí pobyt ve vodě. V pokusu autorů Dalen a Söderström (1999) fragmenty lodyžek pěti druhů mechů rostoucích v alespoň mírně vlhkém prostředí regenerovaly po šesti měsících ve vodě stejně dobře jako ty, co ve vodě nebyly. Zatímco spory mechů kromě druhu *Racomitrium aciculare* po jednom dni ve vodě klíčily v asi o čtvrtinu menším počtu případů. Navíc nepohlavní rozmnožování je energeticky méně náročné, protože jedinec nemusí vytvořit sporofyt. Vegetativní diaspory jsou tedy mnohem operativnější a tak může být nepohlavní rozmnožování výhodné i pro pohlavně se množící druhy (Mathias et al. 2001).

1.3 Regenerace

Mechorosty mají velké schopnosti regenerace z téměř všech buněk gametofytu (Correns 1899). Regenerovat z listů jsou schopny i mechů čeledi Polytrichaceae, které mají vysoce diferencovaná pletiva (Heald 1898, Westerdijk 1907, Chopra & Sharma 1958, Ward 1960, Selkirk 1980). Schopnost regenerace byla pozorována i u hnědých, zdánlivě mrtvých částí stélek, které mohou být staré až 60 let a běžně kolem 10 let (Clymo & Duckett 1986, Duckett & Clymo 1988, Manukjanová 2011) nebo z místa řezu na čepičce a štětu (Mayer 1942). Přidáním růstových hormonů lze dosáhnout i tvorby rhizoidů na sporofytu mezi zuby peristomu (La Rue 1942).

Pokusy v klimaboxech jsou prováděny za účelem pozdějšího vysazení ohrožených mechorostů do jejich obnovených biotopů. Jsou zaměřené na regeneraci malých fragmentů lodyžek nebo lístky s optimalizací podmínek pro každý druh (Rowntree et al. 2011). Snadnější je pěstování ze spor, protože povrch tobolek lze bez ovlivnění jejich klíčivosti

dezinfikovat, ale pěstování z fragmentů má význam u druhů, které netvoří sporofyty nebo je tvoří velmi vzácně. Dezinfekci úlomků lze provádět jen krátkou dobu a velmi zředěnými roztoky, ale ukazuje se, že i pak mechy nemusí být schopné vytvářet z protonemat lodyžky a na lodyžkách gemy, protože potřebují ke svému růstu některé fytohormony, které získávají od symbiotických bakterií (Hornschuh et al. 2006, Ares et al. 2014).

Praktický význam má také studium regenerace mechorostů k obnově rašelinišť (Price et al. 1998, Price & Whitehead 2001, Rochefort et al. 2003, Gunnarsson & Söderström 2007). Vzhledem k tomu, že většinu biomasy rašelinišť tvoří rašeliníky, lze použít i poměrně velké fragmenty těchto mechů bez rizika poškození původního místa. Hnědé mechy bývají, zřejmě vzhledem k nižšímu podílu na biomase, při obnově rašelinišť používány jen málo, ale i ony se podílí na biodiverzitě rašelinišť, a tak by neměly být opomíjeny. V terénních regeneračních pokusech s hnědými mechy se většinou využívají úlomky lodyžek dlouhé 2–10 mm (Li & Vitt 1994, Mälson & Rydin 2007, Gunnarsson & Söderström 2007). Pilotní výzkumy regenerace hnědých mechů mohou probíhat v klimaboxech (Poschlod & Schrag 1990, Manukjanová 2011) nebo ve skleníku (Li & Vitt 1994, Campeau & Rochefort 1996), ale na rašeliništi se navíc projevují vlivy prostředí a kompetice (Li & Vitt 1994).

1.4 Genetická struktura populací mechorostů

Genetickou strukturu populací ovlivňuje například velikost a hustota populací, populační dynamika, podíl pohlavního a nepohlavního rozmnožování a autogamie a v neposlední řadě šířitelnost a úspěšnost uchycení diaspor. Pohlavní rozmnožování je jedním ze základních zdrojů genetické diverzity, protože při něm dochází k rekombinaci alel a vzniku nových rekombinantních genotypů. U mechorostů je pohlavní rozmnožování ztíženo potřebou vodního prostředí k šíření samčích gamet, které proto probíhá pouze na malou vzdálenost (Wilson & Provan 2003) a zároveň častou dvoudomostí gametofytů (viz výše). Na druhou stranu se meiospory díky své velikosti mohou šířit na velké vzdálenosti, což vede k nižší genetické diferenciaci mezi populacemi. Frekvence dálkových přenosů je ovšem poměrně nízká; Hutsemékers et al. (2008a) odhadují, že k takovým událostem dochází asi jednou za 10 let. Proto je mnohem častějším způsobem genetické komunikace šíření po krátkých vzdálenostech (step-by-step dispersal), které však vyžaduje poměrně hustou síť vhodných biotopů v krajině a volný substrát, nutný k uchycení spor. Vhodná místa propojující jednotlivé populace však v krajině ubývají (Söderström & Herben 1997), což je označováno jako fragmentace biotopů. Dochází k ní zejména v posledních asi dvou stoletích stále intenzivnější

lidskou činností (Gunnarsson & Söderström 2007, Mälson & Rydin 2007). Pokles genetické diverzity populací může souviset s nižší intenzitou tvorby sporofytů, a proto nižším podílem rekombinantně vzniklých genotypů, vlivem zhoršujících se podmínek prostředí dokonce i u hojně plodných mečů (Wilson & Provan 2003). V populacích s malým množstvím genotypů pak dochází k nárůstu podílu křížení blízce příbuzných linií (inbreedingu). U mechorostů oproti většině cévnatých rostlin neexistují mechanismy bránící příbuzenskému křížení, včetně tzv. intragametofytického selfingu (Shaw 2000). Převládající nebo výhradní nepohlavní rozmnožování mechorostů však nemusí znamenat úplnou absenci nově generované diverzity. Nové genotypy pravděpodobně překvapivě často vznikají procesem somatických mutací, které se účinně a rychle šíří do dalších generací, protože mechorosty rostou meristemickou činností z jediné apikální buňky (Newton & Mishler 1994).

Ke zjištění struktury genetické variability populací je možné použít různé metody, vycházející z dědičné genetické informace zapsané v DNA. Podmínkou je pouze dostatečná variabilita zvolených markerů, která se musí projevit na vnitrodruhové a vnitropopulační úrovni. Nejdéle používanými markery jsou isozymy, což jsou enzymy katalyzující stejnou reakci, ale lišící se v sekvenci aminokyselin, která je detekována pomocí rozdílné migrační rychlosti enzymů na gelu. Jedná se o kodominantní markery a jejich nevýhodou je potřeba živého rostlinného materiálu, v případě mechorostů navíc umocněná nutností poměrně velkého množství vzhledem k velikosti analyzovaných rostlin (Shaw et al. 2008). Největším problémem pro populačně genetické studie bývá, že isozymy jsou často málo polymorfní (van der Velde et al. 2001). Přesto byly úspěšně použity např. ke zjištění genetické variability uvnitř populací druhů a mezi příbuznými druhy mečů rodu *Polytrichum* (van der Velde & Bijlsma 2000) nebo k rozlišení klonů dvou druhů mečů rodu *Philonotis* (Buryová & Hradílek 2006). Metody využívající přímo DNA nevyžadují živý rostlinný materiál, ale zejména u některých metod nebo v případě konkrétních druhů jsou čerstvé vzorky velkou výhodou, protože degradovaná DNA se může projevit absencí skórovaných znaků, mylně pak interpretovanou jako jiný genotyp (Vanderpoorten & Tignon 2000, Shaw et al. 2008). Mezi nejčastěji používané DNA metody v populační genetice patřily v poslední době metody založené na amplifikaci (PCR) specifických či nespecifických fragmentů genomické DNA jako AFLP a analýza mikrosatelitů (SSR, ISSR), přestože v současnosti začíná přibývat metod založených na tzv. *sekvenování příští generace* (next-generation sequencing). Metoda AFLP (amplified fragment length polymorphism) byla u mechorostů vzhledem k potřebě poměrně velkého množství kvalitní DNA zatím použita velmi vzácně – např. Pfeiffer et al.

(2006) zkoumali klonální strukturu populací mechu *Rhytidium rugosum*. Metodou ISSR (inter-simple sequence repeats), která nevyžaduje náročný vývin specifických primerů, byla zkoumána např. genetická diverzita populací rašeliníku *Sphagnum angermanicum* ve Švédsku (Gunnarsson et al. 2005) a játrovky *Trichocolea tomentella* ve Finsku, Litvě, Velké Británii a Kanadě (Pohjamo et al. 2008).

Mikrosatelity (simple sequence repeats, SSR, také short tandem repeats, STR) jsou opakování 1 až cca 5 bázevých motivů DNA. K analýzám se používají většinou dvou až čtyř bázevých motivy (Jarne & Lagoda 1996), které mají do 10 opakování, protože delší bývají příliš variabilní. Výhodou je nízká potřeba DNA, vysoká specificita primerů, která zajišťuje minimální možnost kontaminace vzorků, a kodominantní projev umožňující rozlišit heterozygoty od homozygotů (Shaw et al. 2008). Tuto skutečnost lze u mechorostů využít při studiu druhů, u kterých probíhá polyploidie, jako je tomu např. u rašeliníků (Karlin et al. 2009, Karlin et al. 2010 ad.). Analýza však patří k dražším a časově náročnějším zvláště kvůli nutnosti vývoje specifických primerů. Další nevýhodou mikrosatelitů je, že nízký počet jejich možných mutací vede k časté homoplázii, kdy alely jsou identické stavem, ale nikoli původem (Jarne & Lagoda 1996, Shaw et al. 2008). Mikrosatelity mají poměrně vysokou mutační rychlost, pravděpodobnost mutací se pohybuje v řádech 10^{-6} až 10^{-3} (Schug et al. 1997, Sun et al. 2012). Kromě rašeliníků byly populační studie u mechorostů publikovány ještě u játrovky *Barbilophozia attenuata* (Korpelainen et al. 2011) a mechů *Polytrichum formosum* (Van der Velde et al. 2001) a *P. commune* (Wilson & Provan 2003), *Platyhypnidium riparioides* (Hutsemékers et al. 2010), *Acanthorrhynchium papillatum* (Leonardía et al. 2013) a *Scorpidium cossonii* a *S. revolvens* (Kophimai et al. 2014), ale mikrosatelitní primery byly vyvinuty ještě pro další mechorosty (Korpelainen et al. 2007, Ramaiya et al. 2010, Forrest et al. 2011, Brzyski et al. 2012).

1.5 Cíle práce

1. Srovnat schopnost regenerace a uchycení mechu *Helodium blandowii* z různě velkých fragmentů lodyžek a postranních větví s růstovým vrcholem a bez něj v klimaboxu a v terénu.
2. Zaznamenat růstovou dynamiku trsů mechu *Helodium blandowii* v trvalých plochách v terénu.
3. Na základě analýzy mikrosatelitů zjistit genetickou strukturu populací zkoumaného druhu v ČR a v pilotní studii ji srovnat s populacemi v centru rozšíření druhu v severní Evropě.

2 Metodika

Jména mechorostů, cévnatých rostlin a fytoocenologických jednotek byla sjednocena podle prací Kučera et al. (2012), Danihelka et al. (2012) a Chytrý (2011, 2013).

2.1 Lokalita NPP Ruda

Národní přírodní památka Ruda se nachází 4 km JJZ od Veselí nad Lužnicí. Leží na hranici okresů České Budějovice a Tábor, na JV okraji Horusického rybníka (viz obr. 5 a obr. 6). Území spadá do fytochorionu Třeboňská pánev (Skalický 1988) a nadmořská výška je 415–417 m n. m. NPP Ruda byla vyhlášena v roce 1950 a dále rozšířena v letech 1991 (Albrecht et al. 2003) a 2009. Současná rozloha je 70,3 ha (Hlásek et al. 2009).

V této oblasti se průměrná roční teplota vzduchu pohybuje v rozmezí 8–9 °C, průměrné roční srážky kolem 600 mm/rok (Rolčík 2014). Toto rašeliniště se vyznačuje vysokou konduktivitou (kolem 250 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), pH 5,8–7,0 (Štechová 2005, Navrátilová & Navrátil 2005), vysokým obsahem Ca^{2+} (kolem 16 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$), K^+ (kolem 2 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$), Mg^{2+} (kolem 4 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) a vysokou hladinou vody (Navrátilová & Navrátil 2005).

Jedná se o mezotrofní rašeliniště asociace *Agrostio caninae-Caricetum diandrae* s výskytem reliktních boreálních druhů rostlin i mechorostů, které místy přechází v jezírka s vegetací svazu *Sphagno-Utricularion* (Navrátil & Navrátilová 2007). Na okrajích zvláště za posledních 30 let, podpořen suchými roky konce 20. století (Albrecht et al. 2003), zarůstá dřevinami jako *Salix cinerea*, *S. pentandra*, *Alnus glutinosa*, *Betula pubescens* a *Frangula alnus*, čímž dochází k úbytku druhů otevřených slatinišť. Dále se zde projevuje eutrofizace a sukcese směrem k druhům odolnějším k okyselení (Navrátil & Navrátilová 2007). Tento vývoj bohužel pokračuje i nadále.

Z nejvýznamnějších rostlin se tu nachází např. *Liparis loeselii*, *Sparganium natans*, *Hottonia palustris*, *Calamagrostis phragmitoides*, *Eriophorum gracile*, *Trichophorum alpinum*, *Rhynchospora alba* a *Carex chordorrhiza* (Albrecht et al. 2003). Z mechorostů tvoří dominantu rašeliničky *Sphagnum teres*, *S. flexuosum*, *S. palustre* a *S. subsecundum*, dále jsou zde běžné mechy *Calliergonella cuspidata*, *Calliergon cordifolium*, *Sarmentypnum exannulatum*, *Pseudocampylium radicale* a *Polytrichum commune* agg. Ze vzácných druhů tu rostou *Helodium blandowii*, *Hamatocaulis vernicosus* (Štechová 2005), *Drepanocladus polygamus* (Štechová 2012), *Sphagnum affine*, *S. obtusum* a *S. contortum* (Štechová et al. 2013). Pro druh *Helodium blandowii* je navíc NPP Ruda největší z pěti lokalit v České republice a jediná dostatečně velká na to, aby nebyla ohrožena prováděním pokusů.



Obr. 5: NPP Ruda před zásahem (20. 10. 2013).



Obr. 6: NPP Ruda po vysekání a vyřezání středu severní části lokality (21. 4. 2014).

2.2 Regenerace

2.2.1 Regenerace úlomků větviček v terénu

Cílem pokusu bylo porovnat schopnost regenerace úlomků větviček o délkách 1 cm a 0,5 cm v návaznosti na výsledky předchozího pokusu (Bradáčová 2011). Během něj bylo zjištěno, že mech *Helodium blandowii* v gapech poměrně dobře roste z úlomků lodyžek, ale problémem je zarůstání gapů okolní vegetací, zejména rašeliníky. Proto byly gapy v tomto pokusu do výšky cca 20 cm ohrazeny sklosíťovinou s PVC povrchem a rozměrem ok $1,4 \times 1,2$ mm.

Na konci dubna roku 2013 bylo vytyčeno 15 míst vzdálených od zdrojové populace sledovaného druhu nejméně 20 m a mezi sebou cca 10 m (viz obr. 15). Každé místo bylo označeno velkým dřevěným kolíkem s jedinečnou kombinací červených a modrých pruhů z PVC elektroizolační lepicí pásky pro snadnou identifikaci jednotlivých opakování. Na každém místě byly vytvořeny dva gapy (mezery v porostu rostlin a mechorostů – dále gapy) velikosti 20×20 cm ve vzdálenosti 20–100 cm od sebe, které byly ohrazeny výše popsanou síťovinou přichycenou k menším dřevěným kolíkům vždy dvěma připínáčky (nahore a dole u substrátu). Do jednoho z každé dvojice gapů bylo vsypáno 20 větviček o délce 1 cm a do druhého gapu stejný počet větviček či jejich částí o délce 0,5 cm. Plochy s kratšími úlomky byly na koncích dřevěných kolíků označeny červenými pruhy (viz obr. 7 a 8). V každém gapu byla měřena průměrná hladina podzemní vody pomocí změny zbarvení PVC elektroizolační lepicí pásky na bambusové tyčce (Belyea 1999, Booth et al. 2005, Navrátilová & Hájek 2005).

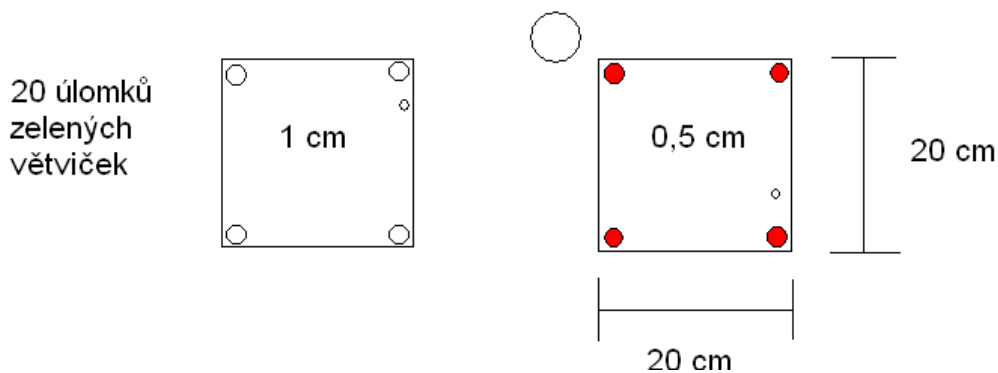
Po prvním odečtu na konci června 2013 byly cca po čtvrt roce (konec října 2013, dubna a července 2014) počítány rostoucí lodyžky a měřena průměrná délka jednotlivých lodyžek. Pro účel tohoto pokusu byly za lodyžku považovány všechny části, které měly zelený rostoucí vrchol. Během návštěv byly také vytrhávány ostatní mechorosty rostoucí v plochách a později i rašeliníky z těsné blízkosti sítě, aby nepřerůstaly a nestínily plochy. Cévnaté rostliny byly ponechány v omezeném množství, aby lehce zastíňovaly plochy, ale nevytvářely příliš velký stín bránící růstu mechů. Při poslední návštěvě byla odečtena i hladina vody od povrchu rašeliny.

Statistické zpracování

Základní statistiky byly spočteny ze všech dat, ale pro další analýzy musely být vyřazeny plochy, kde buď zkoumaný druh nerostl vůbec, nebo v průběhu pokusu vymizel. Počty lodyžek ve čtvercích jsou malá celá čísla, jejich variance roste s průměrem rychleji, a tudíž mají quasipoissonovo rozdělení. Použití tohoto rozdělení spolu se smíšenými efekty však modely neumožňují, tak byly počty lodyžek v 9 párových opakováních porovnány zobecněným lineárním modelem se smíšenými efekty, který pracuje s daty s Poissonovým rozdělením, pomocí funkce `glmer` v R knihovně `lme4` (Bates et al. 2014a,b). Hodnotit přežívání lodyžek v gapech nemělo smysl, protože většina přežila, a vymizení jsou v datech náhodná. Protože růst se v průběhu sezony mění, byl čas zařazen jako kategoriální proměnná.

Protože hodnoty průměrné délky narostlých lodyžek mají normální rozdělení, byly porovnány lineárním modelem se smíšenými efekty pomocí funkce `lme` v R knihovně `nlme` (Pinheiro et al. 2014), kdy byly postupně vytvářené složitější modely testovány likelihood-ratio testem. Zahrnutí čísla čtverce, ze kterého data pochází, jako náhodný faktor nemá průkazný vliv ($L\text{-ratio}=1,92156$; $p=0,2826$), ale z důvodu zachování charakteru pokusu byl ponechán v modelu. V programu R (R Core Team 2012) byly vytvořeny grafy jak na relativní tak absolutní časové ose.

Pro zjištění vlivu výšky hladiny vody na růst úlomků byly opět vyřazeny plochy, kde buď zkoumaný druh nerostl, nebo v průběhu pokusu zmizel. Kvůli velkým rozdílům ve výšce hladiny vody mezi čtverci v rámci páru nemělo smysl zachovávat párové uspořádání pokusu při statistickém vyhodnocení, tak nebylo nutné zařazovat náhodné faktory a bylo možno zhodnotit 22 ploch. Pomocí zobecněného lineárního modelu za použití funkce `glm` v programu R (R Core Team 2012), počítaného s quasipoissonovým rozdělením, bylo zjištěno, jestli počet lodyžek závisí na výšce hladiny vody. Totéž bylo zjištěno pro průměrnou délku lodyžek pomocí obecného lineárního modelu za použití funkce `lm` (R Core Team 2012).



Obr. 7: Uspořádání jednoho opakování pokusu na regeneraci úlomků větviček v terénu.



Obr. 8: Regenerace úlomků v terénu při zakládání (22. 4. 2013).

2.2.2 Regenerace v klimaboxu

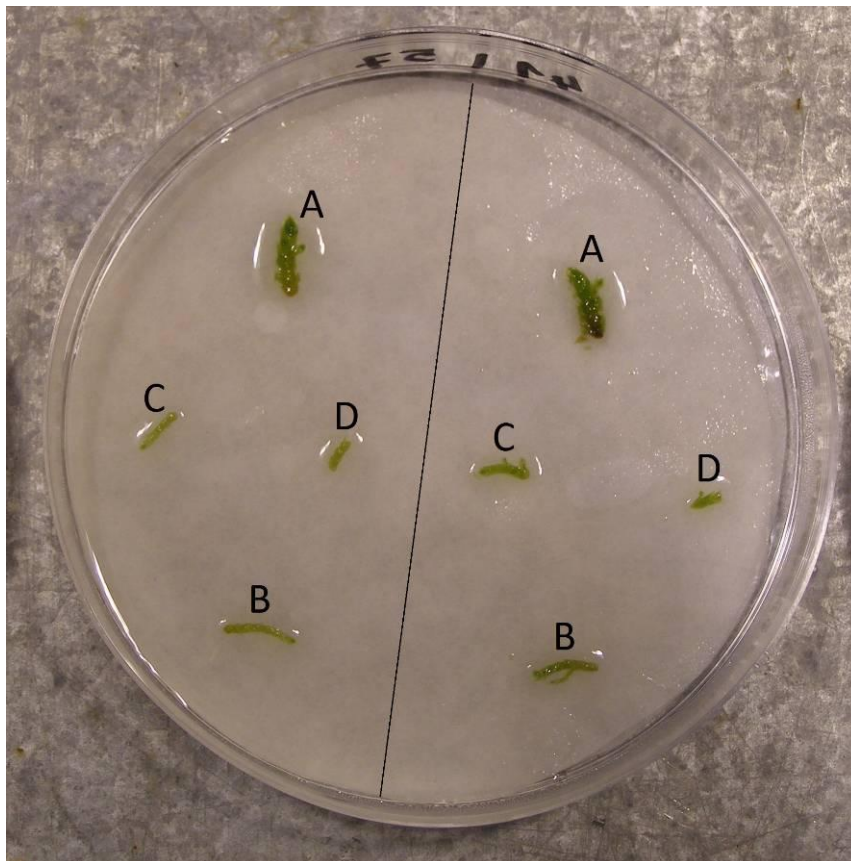
Cílem tohoto pokusu bylo porovnat úspěšnost regenerace jednotlivých typů a délek úlomků za kontrolovaných podmínek v klimaboxu, protože bylo očekáváno, že působením mikroklimatických a klimatických podmínek v terénu mohou být výsledky zkreslené.

Dva dny před založením pokusu byl mech *Helodium blandowii* nasbíráán na 60 místech vzdálených od sebe minimálně 1 m na ploše cca 40 × 40 m do samostatných čistých mikrotenových sáčků. Zároveň zde byly odebrány 2 l vody na zalévání experimentu. Voda byla přefiltrována přes látkový filtr, filtrační papír a skelný mikrovláknový filtr (velikost ok 1,2 μm) a vyklákována.

Pokus byl založen 8. 5. 2013. Do sterilně zabalенých plastových Petriho misek byly vloženy 2 kolečka filtračního papíru (Poschlod & Schrag 1990), sterilizovaného 30 minut pod UV světlem. Z každé lodyžky byly odštířeny následující fragmenty několika typů a velikostí (viz obr. 9): 1 cm koncové části lodyžky zbavené větví, 1 cm postranní větvičky s koncovou částí, 0,5 cm koncové části postranní větvičky a 0,5 cm postranní větvičky bez koncové části. Fragmenty byly opláchnuty v destilované vodě a umístěny na Petriho misky ve dvou náhodných opakováních (viz obr. 10). Misky byly zaklopeny a z boku přelepeny parafilmem, aby se zabránilo nadměrnému odparu. Příprava pokusu byla provedena rychle se snahou o co nejmenší kontaminaci (rukavice, nástroje čištěné ethanolem).



Obr. 9: Příklady umístění odstřižených fragmentů (A – 1 cm koncové části lodyžky, B – 1 cm postranní větvičky s koncovou částí, C – 0,5 cm koncové části postranní větvičky, D – 0,5 cm postranní větvičky bez koncové části).



Obr. 10: Rozmístění úlomků lodyžek na Petriho miskách, 9. 5. 2014 (A – 1 cm koncové části lodyžky, B – 1 cm postranní větvičky s koncovou částí, C – 0,5 cm koncové části postranní větvičky, D – 0,5 cm postranní větvičky bez koncové části).

Mechy byly pěstovány v klimaboxu na katedře botaniky PřF JU při teplotě 19–24°C, světelné periodě 14 hodin světla a 10 hodin tmy a ozáření 83–100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$. Poprvé byl pokus zalit neředěnou přefiltrovanou vodou z NPP Ruda (viz výše), dále pak byla voda na zalévání ředěna 1 : 1 vyklávanou destilovanou vodou, aby nedocházelo ke kumulaci živin při vyšším odparu.

Výsledky byly odečítány po týdnu (16. 5.), dále po dalších dvou týdnech (31. 5. / 1. 6.) a po dalších 4 týdnech (27. 6.). Po dalších pěti týdnech (2. 8.) byly ještě přeměřeny původně 0,5 cm dlouhé větve s koncovou částí i bez ní. Změřeny byly přírůstky úlomků včetně větví (navíc nad počáteční délku), počet větví (mimo hlavní vrchol) a čísla 0–4 bylo kvantifikováno množství rhizoidů. Vzhledem k pozorovaným zárodkům plísni mezi filtračními papíry byly fragmenty na přelomu května a června a na konci června přesazeny na nové filtrační papíry a Petriho misky byly znovu sterilizovány 30 minut pod UV světlem. Na přelomu května a června byly Petriho misky kvůli přerůstajícím fragmentům lodyžek také otevřeny a umístěny do beden překrytých potravinářskou folií a pruhem parafilmu pro lepší větrání.

Po skončení pokusu byla spočtena celková délka větví každého úlomku. Aby mohl být vyjádřen celkový nárůst biomasy, byly přírůstky lodyžek přepočítány na váhu větviček, jak doporučuje i Rincon (1988) pokud nelze vážit biomasu. Za tímto účelem bylo několik zbylých lodyžek ze zakládání experimentu rozřezáno na větvičky a lodyžky a byla změřena jejich délka. Dále byly sušeny v papírových sáčcích 48 hodin při teplotě 70 °C (Kooijman 1993, Mälson & Rydín 2007) a ihned po usušení váženy na analytických vahách Kern ABJ 80-4NM. Z těchto údajů bylo spočítáno, kolikrát jsou lodyžky těžší než větvičky, a tímto číslem byly délky lodyžek vynásobeny.

Statistické zpracování

Celkové délky přírůstků a čas byly před statistickým vyhodnocením logaritmovány dekadickým logaritmem (v případě přírůstků podle vzorce $\log_{10}(100 \cdot \text{délka} + 1)$), protože data měla pozitivně šikmé rozdělení a variabilitu závislou na průměru. Pomocí lineárního modelu se smíšenými efekty počítaného funkcí lme v R knihovně nlme (Pinheiro et al. 2014) byly postupně vytvářeny složitější modely a ty byly testovány likelihood-ratio testem. Zahrnutí čísla lodyžky, ze které úlomek pochází, jako náhodný faktor má ve všech analýzách průkazný vliv. Tímto postupem byly porovnány délky všech typů úlomků v prvních třech měřeních, úlomků větvíček v prvních třech měřeních a 0,5 cm dlouhé fragmenty větvíček ve všech

čtyřech měřeních. Grafy byly vytvořeny také v programu R (R Core Team 2012) s použitím netransformovaných dat.

Podobně byly porovnány počty větví všech typů úlomků a úlomků větviček v prvních třech měřeních a 0,5 cm dlouhé fragmenty větviček ve všech čtyřech měřeních. Počty větviček však mají Poissonovo rozdělení, proto bylo nutné použít zobecněný lineární model počítaný funkcí `glmer` v R knihovně `lme4` (Bates et al. 2014a,b).

Množství rhizoidů jednotlivých úlomků na přelomu května a června bylo porovnáno pomocí Kruskal-Wallisova testu provedeného v programu Statistica 12 (StatSoft, Inc. 2013). Pozdější data nebylo možné použít, protože při přesazování na nové filtrační papíry byly rhizoidy některých úlomků poničeny. Dále byla provedena mnohonásobná porovnání a Kruskal-Wallisův test s vyřazením fragmentů lodyžek.

2.2.3 Růst předpěstovaných lodyžek v terénu

Cílem tohoto pokusu bylo porovnat přežívání a růst v klimaboxu vypěstovaných 1 cm dlouhých konců lodyžek a větviček. Na konci června roku 2013 bylo vždy 6 lodyžek stejného původu přivázáno silnou polyesterovou nití ke špejli v deseti párech gapů, které byly vytvořeny 20–80 cm od gapů výše popsaného experimentu (viz obr. 11). Za měsíc byly k vysázeným úlomkům přidány ohrádky ze sklosíťoviny s PVC povrchem do tvaru rovnostranného trojúhelníku o hraně 10 cm (viz obr. 12) a konec kolíku gapu s předpěstovanými větvičkami byl označen PVC elektroizolační lepicí páskou. Vzrostlé úlomky byly navíc přitlačeny více k podkladu, protože usychaly. Na konci října roku 2013 a dubna a července roku 2014 byly počítány lodyžky (rostoucí vrcholy) a měřena průměrná délka lodyžek.

Statistické zpracování

Počty lodyžek ve čtvercích jsou malá celá čísla, jejich variance roste s průměrem rychleji, a tudíž mají quasipoissonovo rozdělení. Použití tohoto rozdělení spolu se smíšenými efekty však modely neumožňují, tak byly počty lodyžek porovnány pomocí zobecněného lineárního modelu se smíšenými efekty, který pracující s daty s Poissonovým rozdělením, pomocí funkce `glmer` v R knihovně `lme4` (Bates et al. 2014a,b). Protože růst se v průběhu sezony mění, byl čas zařazen jako kategoriální proměnná.

Hodnoty průměrné délky narostlých lodyžek byly porovnány pomocí lineárního modelu se smíšenými efekty počítaného funkcí `lme` v R knihovně `nlme` (Pinheiro et al. 2014), kdy byly postupně vytvářené složitější modely testovány likelihood-ratio testem. Zde má

zahrnutí čísla čtverce, ze kterého data pochází, jako náhodný faktor průkazný vliv (L -ratio=13,86125; $p=0,001$). V programu R (R Core Team 2012) byly vytvořeny grafy jak na relativní tak absolutní časové ose.



Obr. 11: Vzrostlé úlomky při vysazování do terénu – vlevo původně 1 cm dlouhé větvičky, vpravo konce lodyžek (28. 6. 2013).



Obr. 12: Uspořádání pokusů v terénu po vysazení předpěstovaných 1 cm fragmentů lodyžek a větviček (28. 7. 2013).

2.3 Sledování dynamiky porostu

Účelem tohoto pokusu bylo sledovat změny pokryvnosti trsů na vymezené ploše a jejich případné posuny. Na konci srpna roku 2012 byly v NPP Ruda vyměřeny 2 čtverce o velikosti 2×2 m a označeny velkými dřevěnými kolíky omotanými PVC lepicí páskou (viz obr. 13). Všechny trsy i samostatné lodyžky sledovaného druhu, nalezené v těchto čtvercích, byly zakresleny na milimetrový papír v měřítku 1 : 10. Trsy i lodyžky byly označeny brčky přiipevněnými špejlí ke snadnějšímu nalezení při příští kontrole a porovnání výsledků.

Čtverce byly kontrolovány v dubnu 2013 a znovu zakreslovány po 3 měsících kromě zimy (tj. na konci dubna, července a října) až do října 2014. Bylo tedy pořízeno celkem 7 záznamů.

Před analýzou dat byl jeden ze čtverců vyřazen z důvodu malé pokryvnosti sledovaného druhu (<5 %). Zákresy byly naskenovány a v programu ArcGis (Esri Inc. 2012) georeferencovány a překresleny. Pro výpočet plochy pokryté sledovaným druhem byly případy, kdy byl vrostlý v jiném druhu, počítány jako 50% pokryvnost (plocha dělena dvěma). Podrobněji procenta pokryvnosti (Štechová 2005) nemělo smysl zaznamenávat, protože zkoumaný druh tvoří v NPP Ruda poměrně kompaktní trsy. Dodatečně byly zákresy rozděleny na čtvrtiny a plocha pokrytá sledovaným druhem byla spočítána pro každou čtvrtinu zvlášť. Levá dolní čtvrtina byla vyřazena ze stejného důvodu jako druhý čtverec.



Obr. 13: Sledovaný čtverec při zakládání (26. 8. 2012).

2.4 Genetická struktura populací

Cílem tohoto pokusu bylo zjistit genetickou strukturu a diferenciaci ohrožených reliktních populací mechu *Helodium blandowii* v České republice a v omezené míře ji porovnat se situací na několika lokalitách v Evropě, u kterých bylo možné předpokládat, že na nich populace žijí v ± ideálních podmínkách pro růst a rozmnožování druhu.

Sběr vzorků

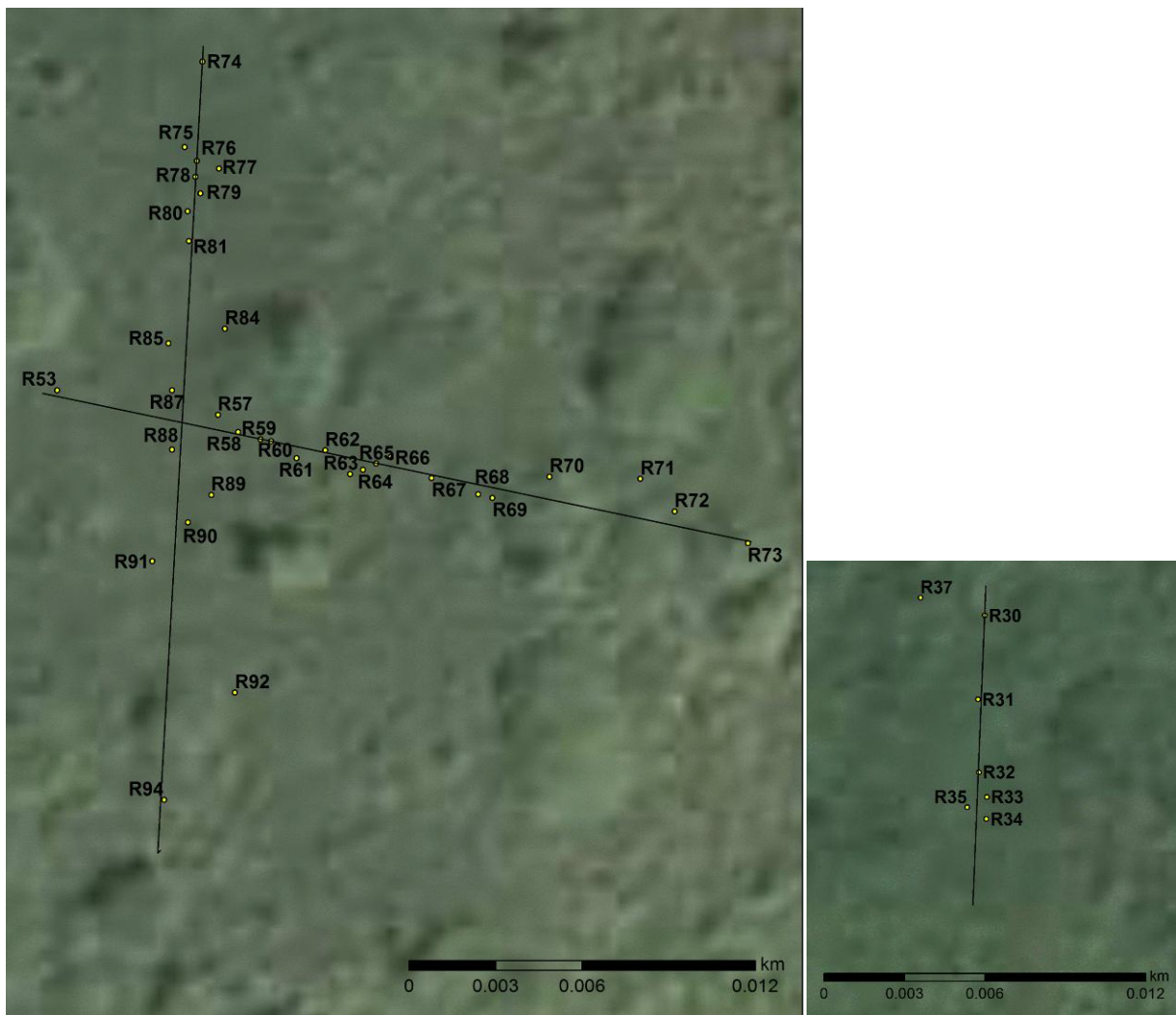
Vzorky pro tento pokus byly sbírány v České republice, Litvě, Norsku a Švédsku (viz tab. I a obr. 14). Z České republiky byly sesbírány a analyzovány vzorky ze všech pěti známých recentních lokalit – NPP Ruda v jižních Čechách, PP Urbánkův palouk na Vysočině, Salajna u Mariánských lázní, Ráj v PR Kokořínský důl a PR Vidnavské mokřiny v okrese Jeseník. Odběr vzorků na českých lokalitách byl plánován tak, aby byla s ohledem na finanční možnosti v maximální míře postížena možná variabilita, proto počet vzorků přibližně odrážel známou velikost populací (tab. I; Štechová et al. 2010). V NPP Ruda byly vzorky sbírány ve dvou známých mikropopulacích vzdálených od sebe cca 700 m. Ve větší (severní, RS) byly pro sběr vzorků vytyčeny dva křížící se transekty o délce 25,5 a 25 m v místě největší populační hustoty druhu na lokalitě (viz obr. 15 a 16), z nichž byly sbírány vzorky ze všech trsů a změřeny vzdálenosti mezi trsy. Další vzorky byly sbírány z obvodu kružnice, která přibližně vymezuje hranici souvislého rozšíření druhu na lokalitě (viz obr. 15). Na menší, jižní mikrolokalitě (RJ) byl vytyčen jeden transekt o délce 9,4 m přes oblast souvislého výskytu a rovněž odebrány vzorky ze všech na něm se vyskytujících trsů a sebrán vzorek z jediného dalšího nalezeného odlehlého trsu (viz obr. 15 a 16). V ostatních českých populacích byl sebrán jeden vzorek z každého nalezeného trsu na lokalitě. V litevské a skandinávských populacích byly odběry přizpůsobeny aktuálním možnostem. Byly sbírány vzorky z trsů vzdálených od sebe 5–200 m, vždy 3 vzorky do trojúhelníku se stranou 10–40 cm. Mapy byly vytvořeny v programu ArcGis (Esri Inc. 2012)



Obr. 14: Umístění jednotlivých lokalit (zkratky viz tab. I).



Obr. 15: Místa sběru vzorků pro genetické analýzy v NPP Ruda (žluté body) a umístění regeneračního pokusu (modré body).



Obr. 16: Detaily transektů v NPP Ruda (vlevo – severní, vpravo – jižní).

Molekulární protokoly

Před izolací DNA byly lodyžky skladovány v lednici při teplotě 4 °C a části lodyžek, ze kterých byla DNA izolována, byly opláchnuty v destilované vodě. DNA byla pro většinu analýz získána pomocí extrakce v NaOH (Werner et al. 2002), vzorek na vytvoření obohacené knihovny mikrosatelitů byl izolován pomocí cetyltrimethylamonium bromidu (Doyle & Doyle 1987). V tomto případě byla pletiva cca 7 minut drcena třepáním za použití cca 5 ocelových kuliček a výsledný pelet DNA byl rozpuštěn v 35 µl TE.

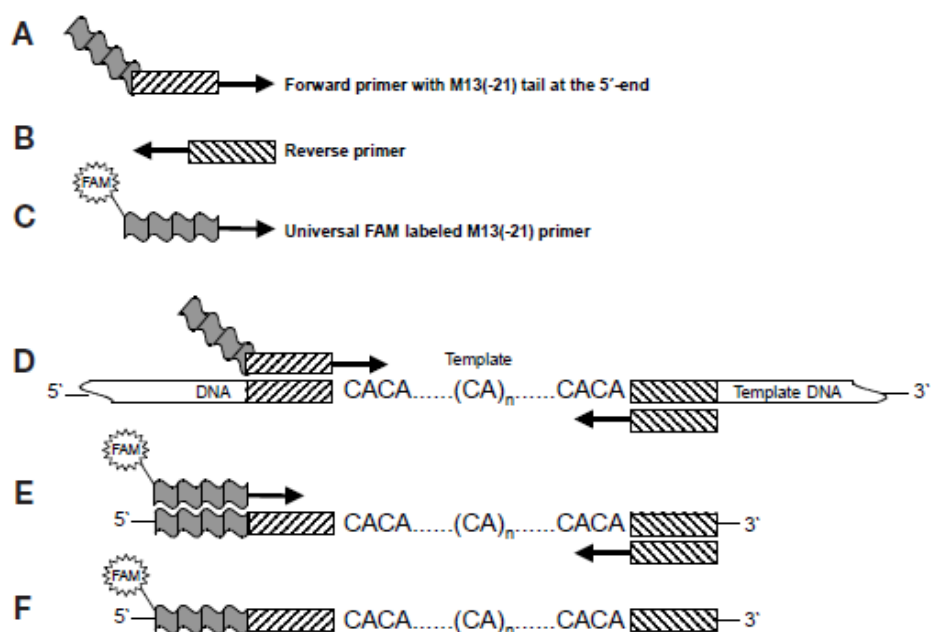
Nejprve byla vytvořena obohacená knihovna mikrosatelitů (Nunome et al. 2006). Ta byla následně přečtena s pomocí metody 454 pyrosekvencování provedené na přístroji GS Junior System (454 Life Sciences, Branford, USA). Poté byly za použití programu Primer3 (Koressaar et al. 2007, Untergrasser et al. 2012) navrženy specifické primery. Pro finální analýzu bylo vybráno sedm polymorfních a nejlépe fungujících SSR markerů (viz tab. II)

Tab. I: Podrobné informace k jednotlivým lokalitám (velikost populací v ČR podle Štechová et al. 2010).

Stát	Popis lokality	Velikost populace	Zkratka	Střed populace	Nadmořská výška	Počet vzorků	Počet trsů
Česká republika	Horusice: NPP Ruda, severní část (RS), jižní část (RJ)	10–15 m ²	RS	N49° 09' 05,8" E14° 41' 23,8"	416	46	46
			RJ	N49° 08' 43,6" E14° 41' 24,2"	416	8	8
	Olešno: PR Kokořínský důl, Ráj, rašelinná louka	0,25 m ²	Ko	N50° 27' 51,4" E14° 36' 37,3"	250	6	6
	Dolní Žandov: Salajna – prameniště u mostu pod železniční tratí	několik dm ²	S	N50° 01' 16,2" E12° 30' 35,1"	539	4	3
	Vidnava: PR Vidnavské mokřiny – rašelinná louka	55,6 dm ²	V	N50° 22' 47,9" E17° 11' 51,8"	220	2	2
	Kněžice: PP Urbánkův palouk – rašelinná louka	85 cm ²	U	N49° 16' 44,0" E15° 42' 05,1"	620	1	1
Litva	Utena: Mokyliai, rašeliniště u jezera Šventišius		L	N55° 24' 19,1" E25° 11' 33,9"	140	9	3
Norsko	Troms: NP Øvre Dividal – vlhké březiny v údolí řeky Divielva (O1, O2) a východní svah hory Dreggfjellet (O3)		O1	N68° 42' 47,6" E19° 45' 32,6"	303	9	3
			O2	N68° 43' 45,3" E19° 44' 23,2"	285	9	4
			O3	N68° 43' 24,6" E19° 41' 51,9"	720	9	3
	Nordland, Fauske: rezervace Fauskeidet na J břehu jezera Kvitblikvatnet		F	N67° 19' 17,8" E15° 28' 16,0"	60	14	5
Švédsko	Norrboten: NP Abisko – slatiniště mezi ř. Abiskojákka a jez. Vuolip Njáhkájávri		A	N68° 20' 20,5" E18° 45' 59,0"	402	18	6
	Norrboten: Kiruna, Rautas, Homuskáidi – vlhký příkop u silnice		Ki	N68° 00' 29,2" E19° 50' 51,2"	480	15	5

Tab. II: Popis osmi analyzovaných lokusů s mikrosatelity (F = forward primer, R = reverse primer; lokus AC9 rozdělen na motiv G a AC).

Pořadí lokusu	Lokus	Sekvence primerů (5'-3')	Motiv repetice	Délka PCR produktu (bp)	Počet alel	T _a (°C)	Délka elongace (s)	Barva M13 primeru
1	AC3	F: TACCCGCAAACGAAA R: TTCAAACAGATAAGAAAAATCACT	(AC) ₁₃	162–180	7	52	15	NED
2	AC4	F: TTAAAGTTGAAAGCATAACCTA R: TCCCTACAAAGTGAAGTAGAATG	(CA) ₁₃ (TA) ₉	229–289	19	52	15	6-FAM
3–4	AC9	F: ATAGGCGATTGGAAAGTTGTAG R: TTGTGCGGTAAGTTTGAATGGA	(G) ₁₀ N(AC) ₁₀	138–144	4 / 4	52	15	VIC
5	GT15	F: GGAGAAGCCCACAGTGAT R: ACCTCACCTCACCCACATTC	(GT) ₁₄	176–184	5	57	15	PET
6	GT49	F: TTCATTCATTCATAGGCTACTTTTG R: CTTTGGTACGACGCTCTA	(GT) ₁₁	178–188	6	52	15	6-FAM
7	CT104	F: ATTCCATCAACTCGTAAGCA R: TTTTGTCTCTCCTTTTCC	(CA) ₈ (CT) ₁₁	114–124	5	52	15	6-FAM
8	CT141	F: TTTCATTTCTCGGTGCA R: AACAGCAACATTCTAAATTCAC	(TC) ₁₂	381–409	9	49	25	6-FAM



Obr. 17: Amplifikační schéma PCR s fluorescenčně značeným univerzálním primerem (šrafované obdélníky – specifické primery, zvlněné šedé obdélníky – M13 sekvence, hvězdy – fluorescenční značky) (Schuelke 2000).

Při amplifikaci byly sekvence fluorescenčně značeny (viz tab. II a obr. 17; Schuelke 2000). Směs (5 μ l) tedy obsahovala 0,53 μ l DNA, 0,3 μ M reverse primer (viz tab. II) i fluorescenčně značený M13 primer a 0,075 μ M forward primer s M13-koncem (viz tab. II), 2,5 μ l Plain PP master mixu (2,5 mM NaCl₂, po 200 μ M dNTP 0,25 U *Taq* polymerázy; Top-Bio Praha) a 0,62 μ l vody. Po počáteční tří minutové denaturaci při 94°C probíhala amplifikace v 33 cyklech s 30 s denaturací při 94°C, 30 s primerově specifického annealingu (viz tab. II) a 15-25 s (viz tab. II) elongací při 72°C v cyklerech XP (Bioer technology Hangzhou), dále pokračovala 11 cykly pro nasedání M13 primeru (30 s při 94°C, 30 s při 46°C a 60 s při 72°C) a závěrečnou 10 min. elongací při 72°C. Výsledky amplifikace byly testovány na 1,2% agarózovém gelu v 1 \times TBE pufru. Produkty PCR byly smíchány a fragmentační analýza proběhla v Genomickém centru BC AV ČR v Českých Budějovicích na přístroji ABI 3730xl s užitím velikostního standardu GeneScan 600 LIZ (Applied Biosystems). Alely byly manuálně odečítány v programu GeneMarker v1.80 (SoftGenetics, LLC, USA) a kódovány jako počet opakování mikrosatelitního motivu. Lokus AC9, složený z opakování motivů G a AC, byl osekvenován pro všechny délky na každé lokalitě a následně byl použit jako dva lokusy (viz tab. II).

Analýza dat

Ukazatele genetické diverzity v jednotlivých populacích – počet genotypů (N_g), průměrný počet alel na lokus (n_a), Shannonův index (H), Simpsonův index (D) – byly spočítány v programech GenClone 2.0 (N_g , H a D ; Arnaud-Haond & Belkhir 2007) a Arlequin ver. 3.5.1.2 (n_a ; Excoffier & Lischer 2010), pro který byla data připravena v programu MSA 4.05 (Dieringer & Schlötterer 2003). Pro výpočty v programu GenClone nebyly použity vzorky s chybějícími daty. Struktura genetické variability byla testována pomocí analýzy molekulární variance (AMOVA) na těchto úrovních: mezi geografickými oblastmi (Česká republika, Skandinávie, Pobaltí), mezi populacemi a uvnitř populací a poté zvláště mezi populacemi a uvnitř populací v České republice a severní Skandinávii (O1, O2, O3, A a Ki). Pro výpočet míry genetické diference mezi populacemi byly použity párové hodnoty fixačních indexů (F_{ST}), kdy odhad vzdáleností mezi haplotypy byl počítán na základě součtu mocnin rozdílů ve velikosti alel (R_{ST} -like) a 1000 permutací a výsledný graf byl vytvořen v programu Statistica 12 (StatSoft, Inc. 2013). Pro vyjádření rozlišovací schopnosti použitých lokusů na získaných datech bylo na základě 120 vzorků, které neměly chybějící data, spočítáno, kolik přibude s každým použitým lokusem nových MLG (multilokusových genotypů). Výpočet byl proveden opět v programu GenClone a za užití 1000 permutací. Stejným způsobem byl proveden odhad míry odhalených unikátních MLG v populacích, kdy bylo pro jednotlivé populace spočítáno, kolik přibude nových MLG s každým dalším vzorkem.

Pro ilustraci vztahů mezi populacemi na základě matice genetických vzdáleností mezi nimi byla použita analýza hlavních koordinát (PCoA). Do této analýzy mohly být zařazeny i vzorky z Vidnavských mokřin a Urbánkova palouku, které na populační úrovni v ostatních uvedených analýzách nemohly být použity pro malé množství dat. Analýza byla spočítána v programu GenAlEx 6.5 (Peakall & Smouse 2012) na základě standardního nastavení (s použitím kovarianční matice a standardizace dat). Chybějící data nebyla interpolována vzhledem k absenci všech dat v jednom lokusu na lokalitě Ráj.

Ke zjištění izolovanosti populací podle vzdáleností (isolation by distance) byl použit Mantelův test pro korelaci mezi maticemi genetických a geografických vzdáleností, spočítaný v programu *zt* (Bonnet & Van de Peer 2002) za použití 1000 permutací. Vzdálenosti mezi populacemi byly spočítány v programu QGIS (QGIS Development Team 2014), kdy parametry elipsoidu byly odvozeny od souřadnicového systému ETRS89 / ETRS-LAEA. Pro vyjádření míry genetické diference byla použita matice párových R_{ST} .

Test byl spočítán pro všechny populace (kromě V a U) a pak zvlášť pro geograficky blízké skandinávské populace O1, O2, O3, A a Ki.

Pro zjištění ukazatelů podílu pohlavního rozmnožování na jednotlivých lokalitách byl proveden výpočet vazebné nerovnováhy v programu MultiLocus 1.3 (Agapow & Burt 2001), který používá upravený index asociace (r_d), pro odstranění vlivu počtu analyzovaných lokusů. Průkaznost byla zjištěna srovnáním reálných dat a nulové hypotézy o neomezeném množství pohlaví a rekombinací po provedení 1000 permutací. Analýza byla provedena zvlášť s jednotlivými mikrosatelity v lokusu AC9 a zaznamenány byly obě hodnoty, pokud se lišily.

Ke zjištění prostorové genetické struktury (SGS) populací v NPP Ruda byla použita prostorová autokorelační analýza v programu SPAGeDi 1.4 (Hardy & Vekemans 2002), která počítá multilokusový párový koeficient příbuznosti (F_{ij}) založený na Nasonově koeficientu příbuznosti (Loiselle et al. 1995). Průkaznost F_{ij} byla testována pro každou distanční třídu (horní hranice 5, 10, 20, 50, 200 a 1000 m) za použití 1000 permutací. Průměrné hodnoty F_{ij} byly vyneseny do poloviny distanční třídy. Dále byla spočítána párová porovnání zahrnující stejné genotypy a zobrazena jako procento klonů spadajících do jednotlivých distančních tříd. Vzdálenosti mezi trsy v NPP Ruda byly spočítány v programu QGis (QGis Development Team 2014).

3 Výsledky

3.1 Regenerace

3.1.1 Regenerace úlomků větviček v terénu

První rostoucí úlomky byly zaznamenány po dvou měsících od založení pokusu. Během dalších čtyř měření v průběhu 15 měsíců počet lodyžek v plochách přibýval (viz tab. IV). V žádné ploše však nevyrostly všechny vysazené úlomky. Ve třetím měření vyrostlo z 20 původně vysazených fragmentů maximálně 18 lodyžek z jednocentimetrových větviček a 13 lodyžek z půlcentimetrových větviček (viz tab. III). Tato čísla mohou být ještě nadhodnocena odnožováním úspěšně rostoucích lodyžek. Z jednocentimetrových větviček rostlo průkazně více lodyžek než z půlcentimetrových větviček, ale tvar růstové křivky průkazně odlišný není (viz tab. IV a obr. 18).

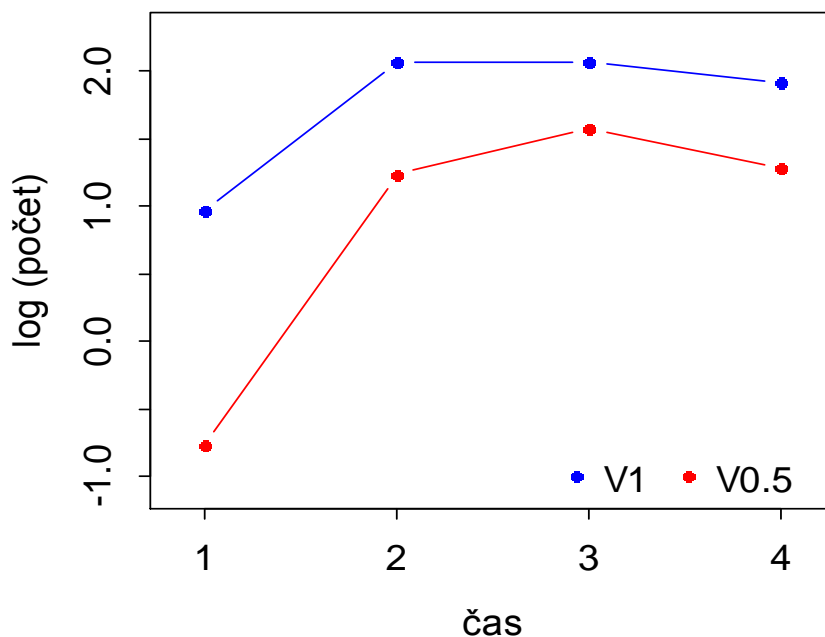
Lodyžky rostly v průběhu celého pokusu (viz tab. IV). Průměrně byly trochu delší lodyžky z jednocentimetrových úlomků větviček (viz tab. III), ale délka ani charakter růstu mezi oběma typy úlomků nebyly průkazně odlišné (viz tab. IV a obr. 19). Neprůkazný výsledek testu může být způsoben malým množstvím dat. Na začátku léta 2014 (mezi třetím a čtvrtým odečtem) došlo pravděpodobně kvůli extrémnímu suchu k úbytku lodyžek ve čtvercích. Lodyžky, které přežily, však rostly dále do délky. Vliv naměřené výšky hladiny vody na počet lodyžek rostoucích ve čtvercích ($F=0,8345$; $df=1, 20$; $p=0,3719$) ani na jejich délku ($F=1,0548$; $df=1, 20$; $p=0,3167$) nelze potvrdit (viz obr. 20).

Tab. III: Průměrné a maximální hodnoty počtu a průměrné délky lodyžek v jednotlivých měřeních a celkově.

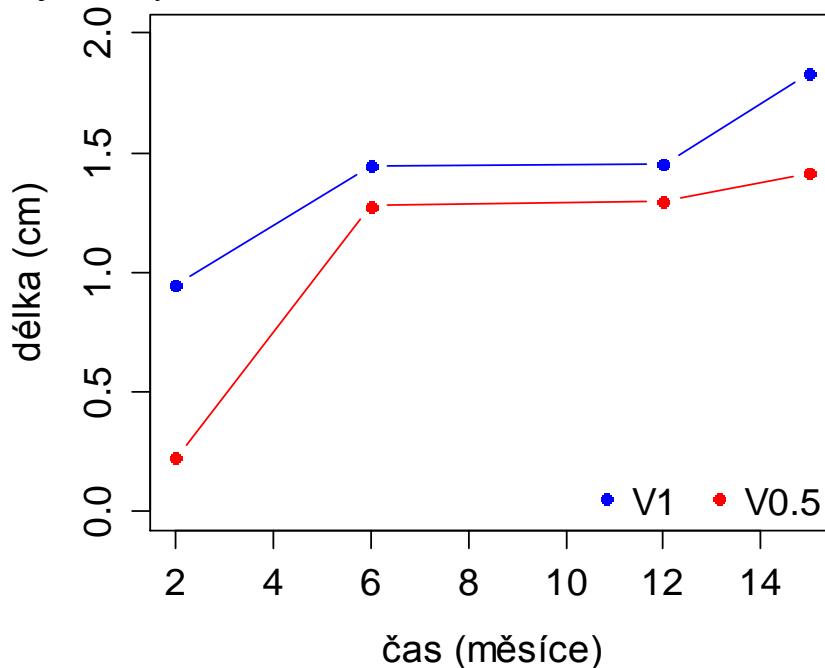
měsíců od začátku pokusu	V1				V0,5			
	počet		prům. délka [cm]		počet		prům. délka [cm]	
	průměr	max.	průměr	max.	průměr	max.	průměr	max.
2	3	8	0,7	2	1	4	0,2	1,5
6	6	15	1,1	3	3	10	1	2
12	6	18	1,1	2	5	13	1	1,8
15	6	17	1,5	3,5	3	10	1,2	4
celkem	5	18	1,1	3,5	3	13	0,9	4

Tab. IV: Výsledky statistických analýz pro porovnání počtu lodyžek a průměrné délky lodyžek (průkazné hodnoty znázorněny tučně).

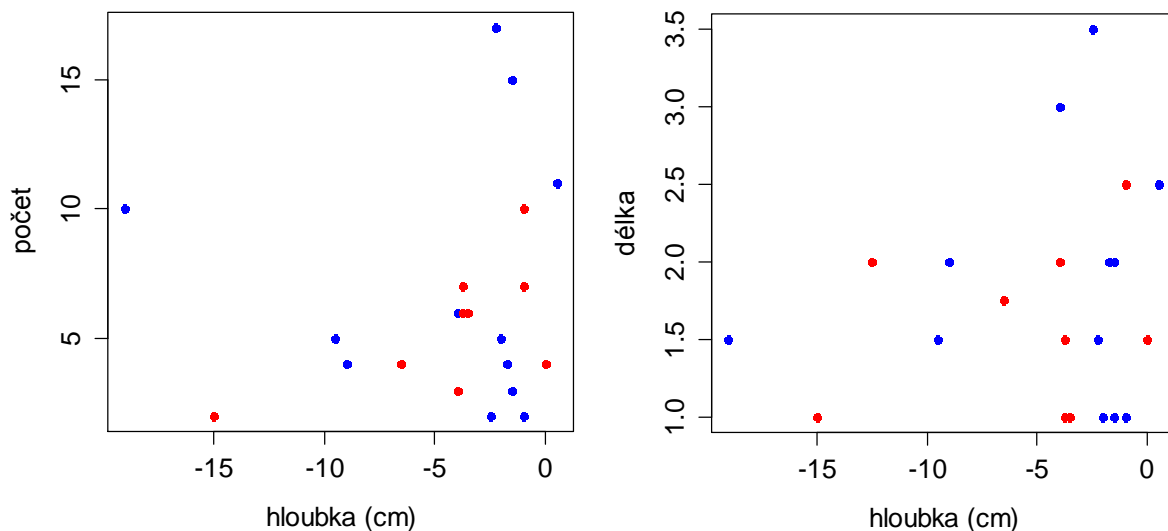
	počet lodyžek			průměrná délka lodyžek	
	χ^2	df	p	L-ratio	p
čas	77,76	3	<2,2 · 10⁻¹⁶	29,3303	<0,0001
typ fragmentu	5,3639	1	0,02056	3,51176	0,0609
typ fragmentu*čas	7,6338	3	0,05422	7,023563	0,1346



Obr. 18: Změna počtu lodyžek, vyrostlých z 1 cm (V1) a 0,5 cm dlouhých větviček (V0,5), v jednotlivých měřeních.



Obr. 19: Průměrná délka lodyžek vyrostlých z 1 cm (V1) a 0,5 cm větviček (V0,5) v jednotlivých měsících od založení pokusu.



Obr. 20: Závislost konečného počtu (vlevo) a průměrné délky (vpravo) lodyžek na výšce hladiny vody (V1 – modré, V0,5 – červené).

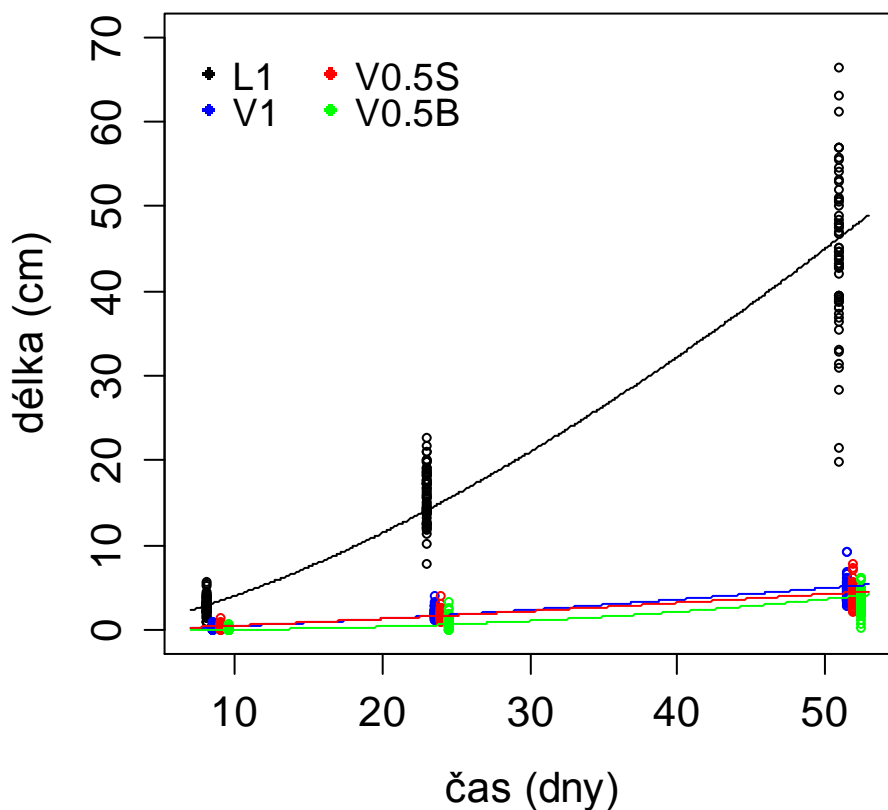
3.1.2 Regenerace v klimaboxu

Všechny pěstované kousky všech typů úlomků v klimaboxu regenerovaly. Aby byla zohledněna celkově vytvořená zregenerovaná biomasa mohutnějších lodyžek oproti větvičkám, byla délka lodyžek přepočítána na odpovídající délku větviček (průměrná hmotnost stejně dlouhého fragmentu lodyžky byla $6,984 \times$ těžší než hmotnost fragmentu větvičky). Největší nárůst délky je patrný u úlomků lodyžek (viz obr. 21 a tab. V). I po jejich vyřazení zůstává rozdíl v délkách i charakteru narůstání mezi třemi typy úlomků větviček průkazný (viz tab. V), přestože 1 cm větvičky rostly až do druhého měření stejně jako 0,5 cm větvičky s koncem. Potom však delší fragmenty přirůstají více (viz obr. 22). Naopak 0,5 cm dlouhé větvičky bez konce rostou nejprve pomaleji, ale později dorůstají větvičky s koncem (viz obr. 23). Všechny rozdíly v průměrné délce i charakteru růstu jsou průkazné, ale rozdíl v průměrné délce přírůstků 0,5 cm větviček s koncem a bez konce je na hranici průkaznosti (viz tab. V).

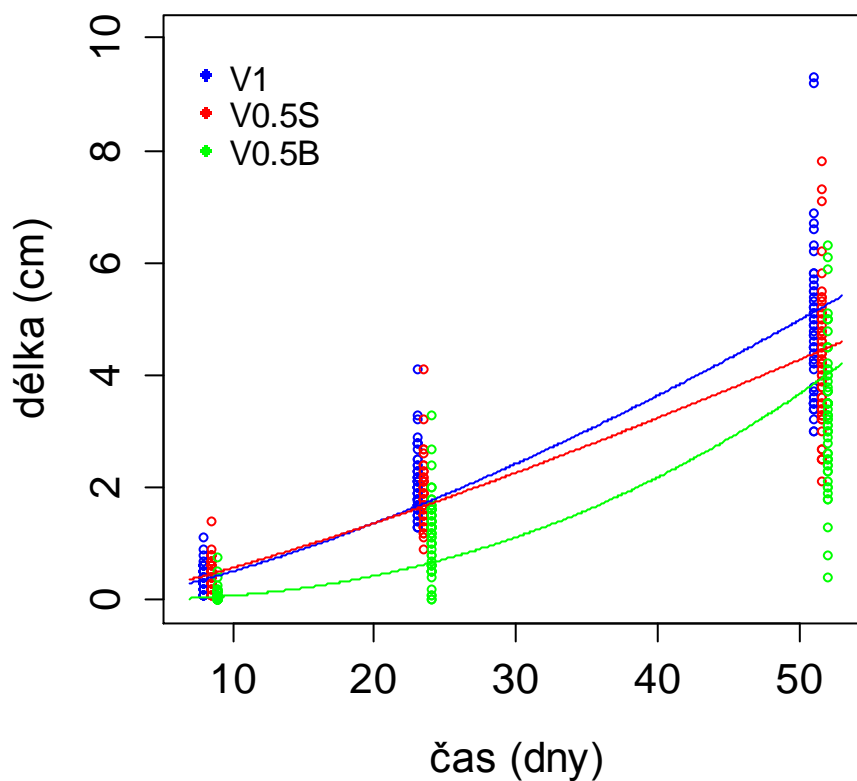
Regenerující fragmenty konců lodyžek mají také výrazně více vytvořených větviček než ostatní typy úlomků (viz obr. 24 a tab. V). I po odstranění úlomků konců lodyžek je test stále vysoce průkazný (viz tab. V). Také zde je pozorovatelný obdobný vývoj jednocentimetrových větviček a půlcentimetrových větviček s koncem (viz obr. 25). Ovšem půlcentimetrové větvičky bez konce tvořily více větviček než větvičky obou délek s koncovou částí (viz tab. V), ale na konci pokusu byl počet větviček srovnatelný (viz obr. 26).

Tab. V: Výsledky statistických analýz pro porovnání počtu větviček a průměrné délky přírůstků (průkazné hodnoty znázorněny tučně).

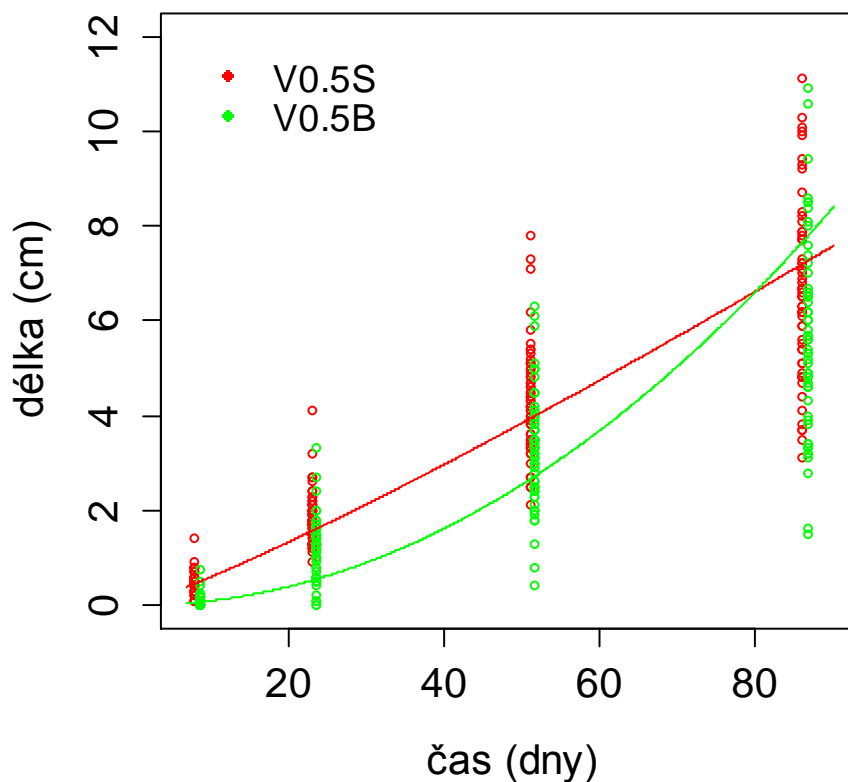
		počet větviček			délka lodyžek	
		χ^2	df	p	L-ratio	p
4 typy úlomků	typ fragmentu	416,77	3	$<2,2 \cdot 10^{-6}$	528,2126	$<0,0001$
	typ fragmentu*čas	54,83	3	$7,466 \cdot 10^{-12}$	158,2268	0,0001
3 typy úlomků	typ fragmentu	20,993	2	$2,764 \cdot 10^{-5}$	29,62331	$<0,0001$
	typ fragmentu*čas	48,938	2	$2,362 \cdot 10^{-11}$	121,0964	$<0,0001$
2 typy úlomků	typ fragmentu	22,981	1	$1,636 \cdot 10^{-6}$	4,42802	0,0354
	typ fragmentu*čas	23,555	1	$1,214 \cdot 10^{-6}$	90,82606	$<0,0001$



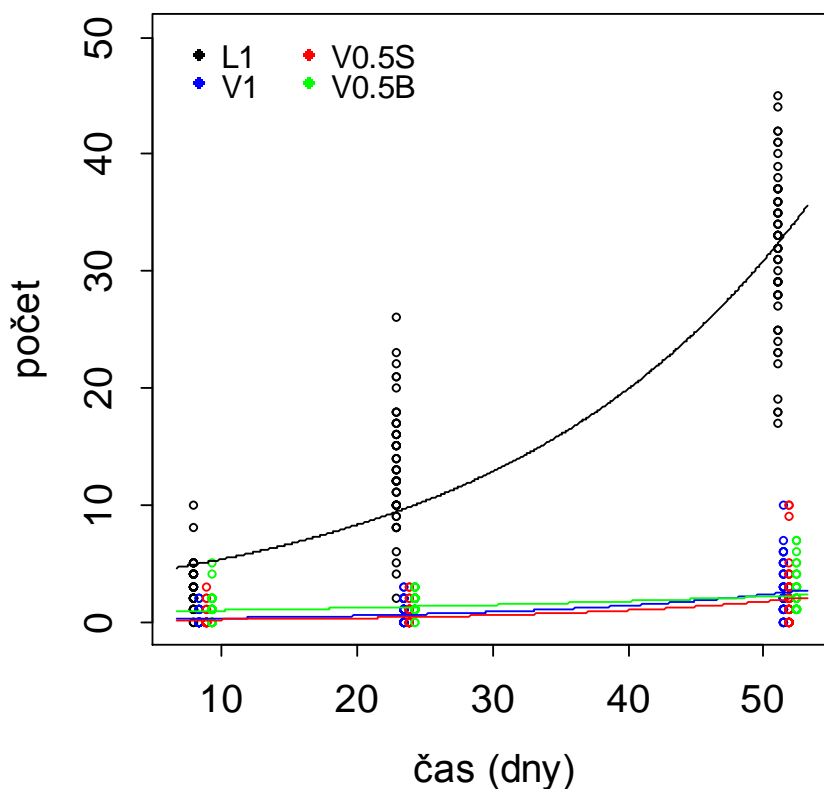
Obr. 21: Křivky nárůstu celkové délky všech typů fragmentů v prvních třech měřeních (L1 – 1 cm konec lodyžky, V1 – 1 cm větvičky, V0.5S – 0,5 cm větvičky s koncem, V0.5B – 0.5 cm větvičky bez konce).



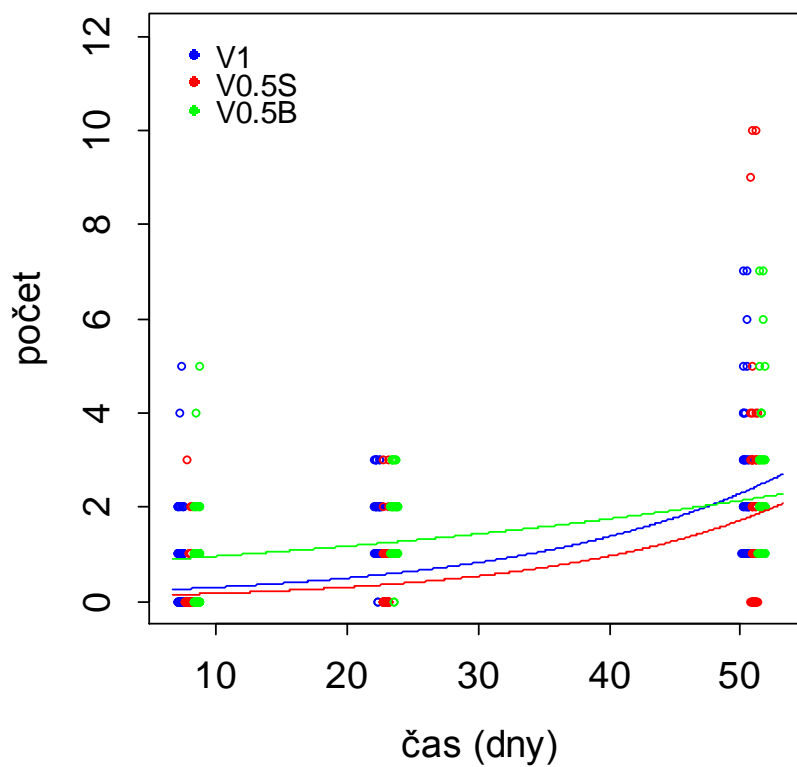
Obr. 22: Křivky nárůstu délky větviček v prvních třech měřeních (V1 – 1 cm větvičky, V0.5S – 0,5 cm větvičky s koncem, V0.5B – 0.5 cm větvičky bez konce).



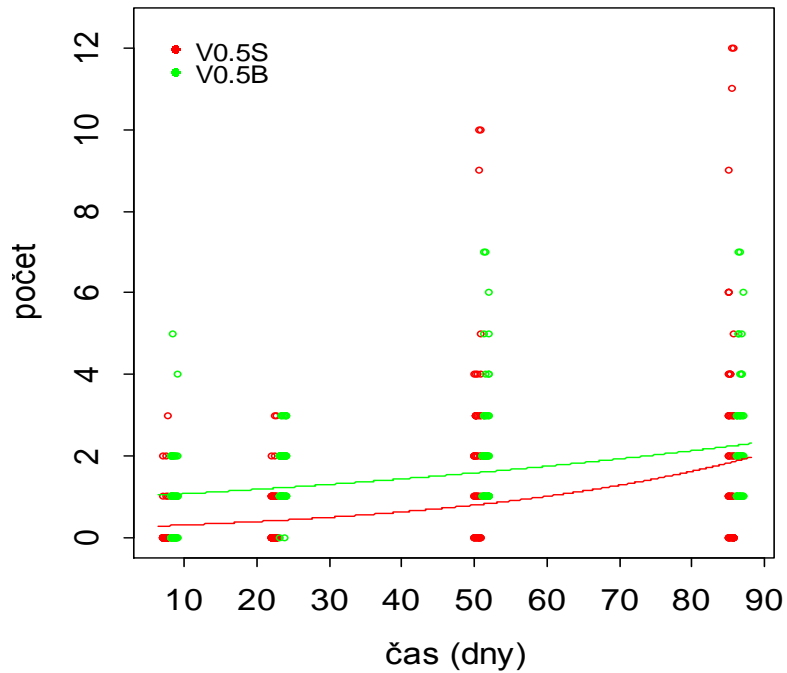
Obr. 23: Křivky nárůstu délky 0,5 cm fragmentů větviček s (V0.5S) a bez (V0.5B) koncové části ve všech čtyřech měřeních.



Obr. 24: Křivky nárůstu počtu větviček všech typů fragmentů v prvních třech měřeních (L1 – 1 cm konec lodyžky, V1 – 1 cm větvičky, V0.5S – 0,5 cm větvičky s koncem, V0.5B – 0.5 cm větvičky bez konce).

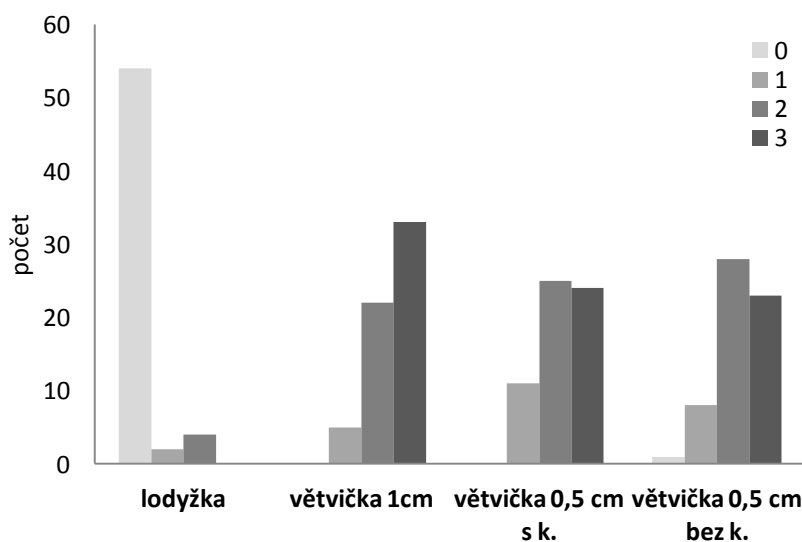


Obr. 25: Křivky nárůstu počtu postranních větviček v prvních třech měřeních (V1 – 1 cm větvičky, V0.5S – 0,5 cm větvičky s koncem, V0.5B – 0.5 cm větvičky bez konce).



Obr. 26: Křivky nárůstu počtu větviček odbočujících z původně 0,5 cm fragmentů větviček s a bez konce ve všech čtyřech měřeních (V0.5S – 0,5 cm větvičky s koncem, V0.5B – 0.5 cm větvičky bez konce).

Konce lodyžek vytvářejí odlišné množství rhizoidů než fragmenty ostatních částí ($H=133,7628$; $df=3$; $N=240$; $p<0,0001$). Rhizoidy u nich téměř vůbec nerostly (viz obr. 27), nebo rostly až později, zatímco ostatní fragmenty vytvářely rhizoidy od počátku hojně. Půlcentimetrové fragmenty větviček bez koncové části vytvářely pouze rhizoidy, dokud nebyl vytvořen růstový vrchol, potom přirůstaly větvičky i rhizoidy. Po vyřazení lodyžek byl rozdíl v množství rhizoidů jednotlivých úlofků neprůkazný ($H=4,789462$; $df=2$; $N=180$; $p=0,0912$).



Obr. 27: Počet pozorování jednotlivých množství rhizoidů (0, 1, 2, 3) u každého typu úlofků.

3.1.3 Růst předpěstovaných lodyžek v terénu

Nárůst počtu ani délky lodyžek není statisticky průkazný (viz tab. VI). Část jich uschla patrně kvůli špatnému kontaktu s vlhkým povrchem rašeliny, ale ty, které měly optimální podmínky, opět hojně odnožovaly, a tak maximální počet lodyžek ve všech měřeních i průměrný počet narostlých konců lodyžek je vyšší než počet vysazených lodyžek (6; viz tab. VII). Lodyžek vyrostlých z konců lodyžek bylo v gapech napočítáno výrazně více než vyrostlých z konců větviček (viz tab. VI), ale na konci pokusu jich mírně ubývalo (viz obr. a obr.), zatímco lodyžek z konců větviček na konci přibývá (viz obr. 28). Popsané rozdíly v trendu jsou však statisticky neprůkazné (viz tab. VI).

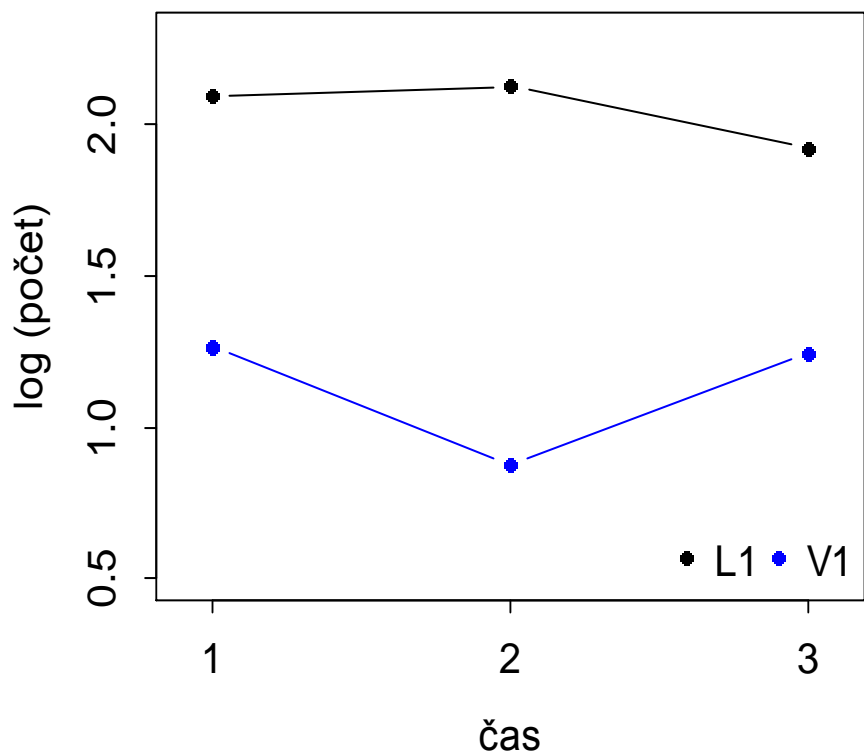
Také průměrná délka lodyžek vyrostlých z různých typů úlomků se liší (viz tab. VI a VII), ale rozdíly v charakteru přirůstání lodyžek průkazné nejsou (viz tab. VI a obr. 29) a lodyžky dorůstaly téměř stejné maximální délky (viz tab. VII).

Tab. VI: Výsledky statistických analýz pro porovnání počtu lodyžek a průměrné délky lodyžek (průkazné hodnoty znázorněny tučně).

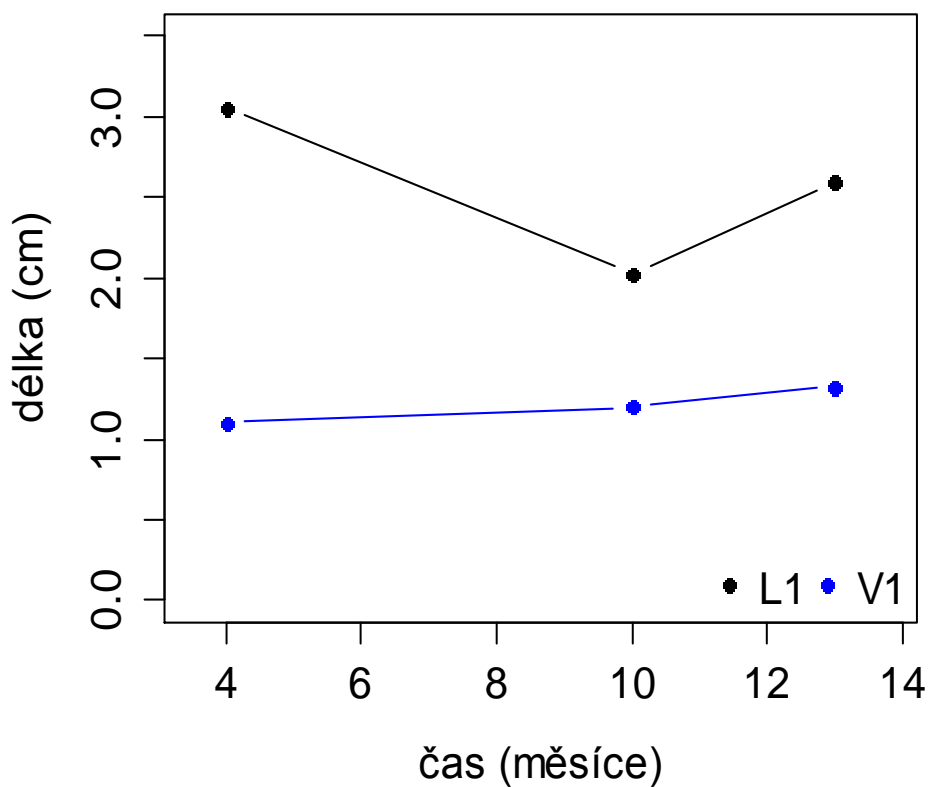
	počet lodyžek			průměrná délka lodyžek	
	χ^2	df	p	L-ratio	p
čas	0,9785	2	0,6131	3,001755	0,2229
typ fragmentu	9,5066	1	0,002047	11,62365	0,0007
typ fragmentu*čas	5,3531	4	0,25	7,589371	0,1078

Tab. VII: Průměrné a maximální hodnoty počtu a průměrné délky lodyžek v jednotlivých měřeních a celkově.

měsíců od začátku pokusu	L1				V1			
	počet		prům. délka [cm]		počet		prům. délka [cm]	
	průměr	max.	průměr	max.	průměr	max.	průměr	max.
4	9	15	3,1	4	4	10	1,1	2
10	9	16	2	3,5	3	7	1,2	2,5
13	7	14	2,6	5	4	13	1,3	4,5
celkem	8	16	2,6	5	4	13	1,2	4,5



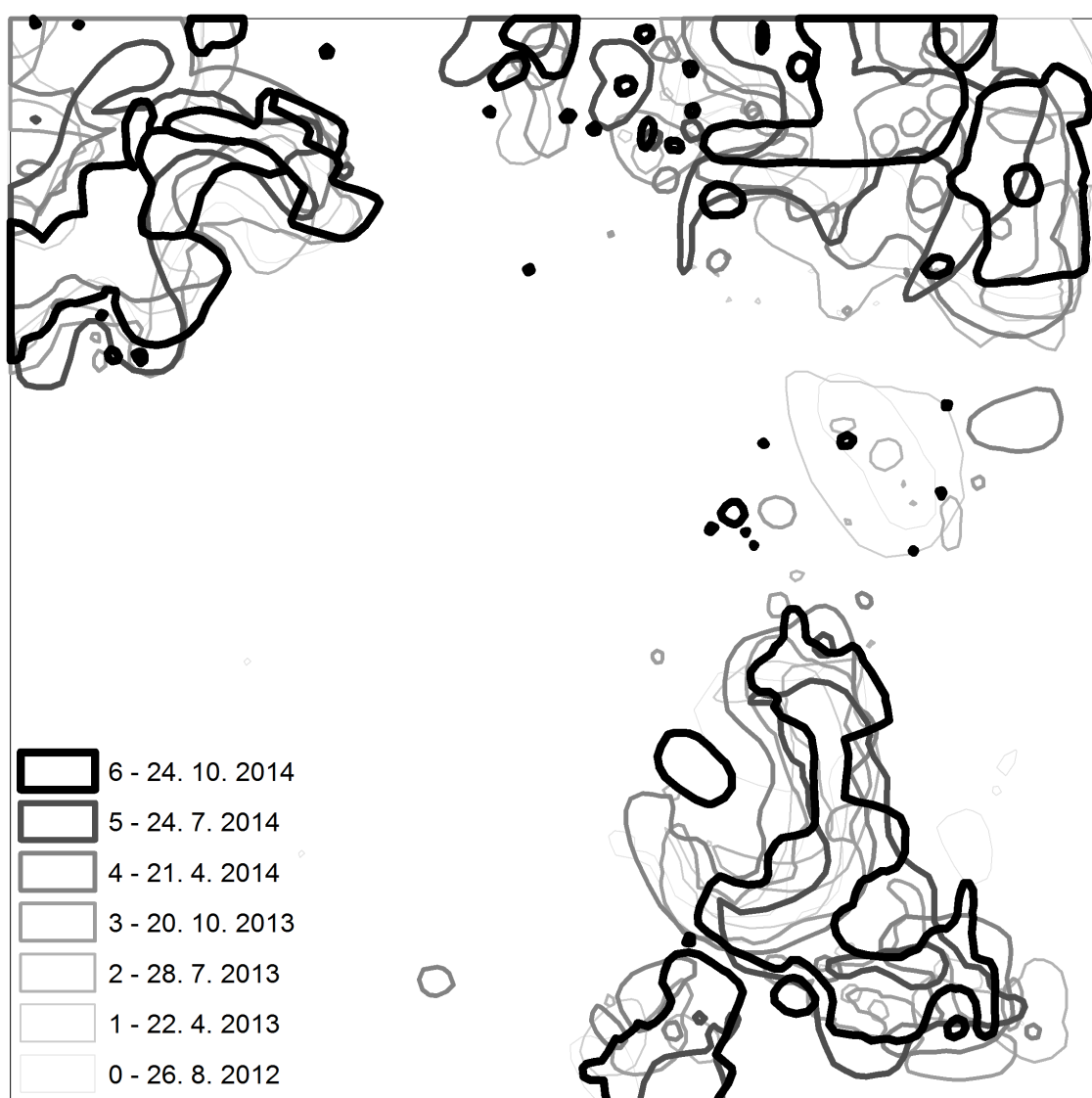
Obr. 28: Změna počtu přežívajících lodyžek, vyrostlých v klimaboxu z 1 cm konců lodyžek (L1) a větviček (V1), v jednotlivých měřeních.



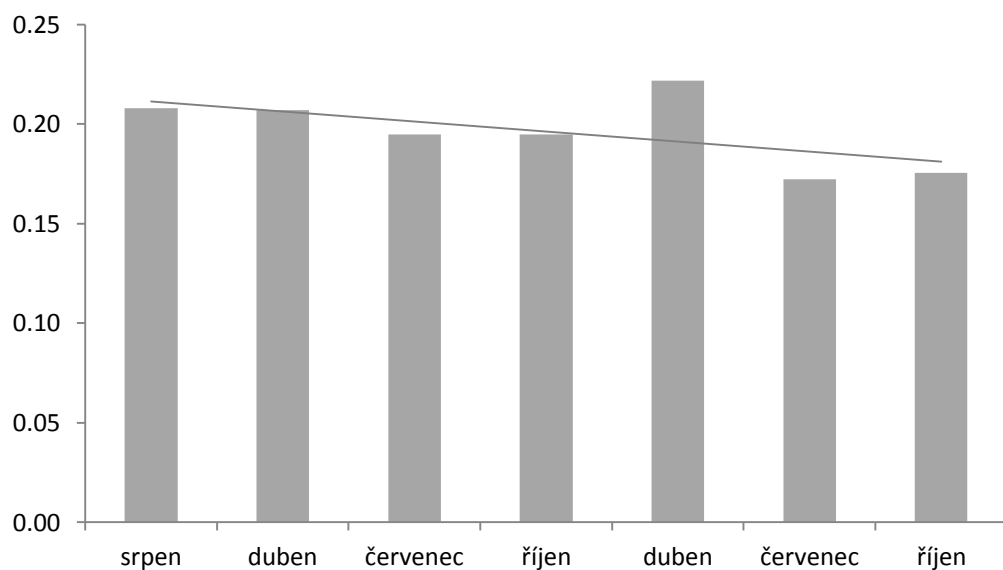
Obr. 29: Průměrná délka lodyžek, vyrostlých v klimaboxu z 1 cm konců lodyžek (L1) a větviček (V1), v jednotlivých měsících od založení pokusu.

3.2 Sledování dynamiky porostu

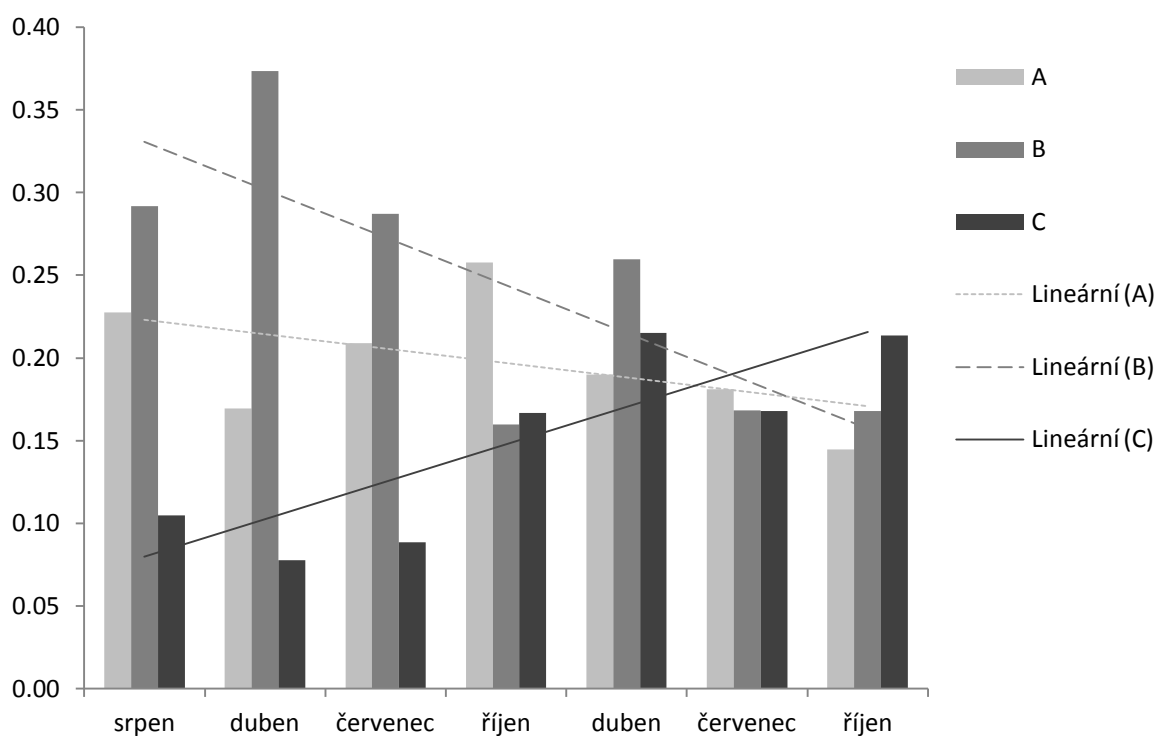
Ve sledovaném čtverci v NPP Ruda lze pozorovat poměrně rychle se měnící polohu trsů (viz obr. 30). Větší trsy se trochu posunují, rozdělují a opět slučují s jinými a menší trsy vznikají a opět zanikají. Výsledná plocha obsazená zkoumaným druhem se za dva roky sledování zmenšila o 16 % (viz obr. 31), přičemž v dílčích plochách o velikosti 1 m² byl pozorován růst, pokles i setrvalý stav (viz obr. 32). Data vzhledem k počtu pozorování nelze statisticky vyhodnotit.



Obr. 30: Změny polohy trsů a plochy porostu mechu *Helodium blandowii* ve sledovaném čtverci (každé pozorování zvlášť viz příloha 1).



Obr. 31: Plocha obsazená sledovaným druhem v celém čtverci se znázorněním trendu vývoje.

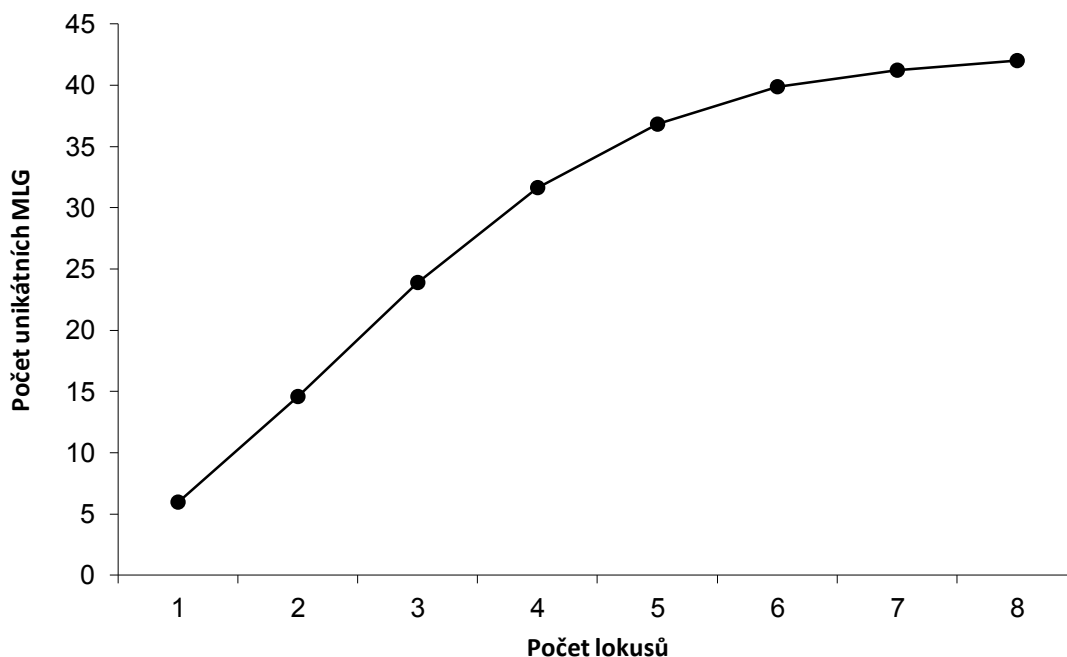


Obr. 32: Plocha obsazená sledovaným druhem v jednotlivých čtvrtinách čtverce (A – levá horní, B – pravá horní, C – pravá dolní) se znázorněním tendence vývoje.

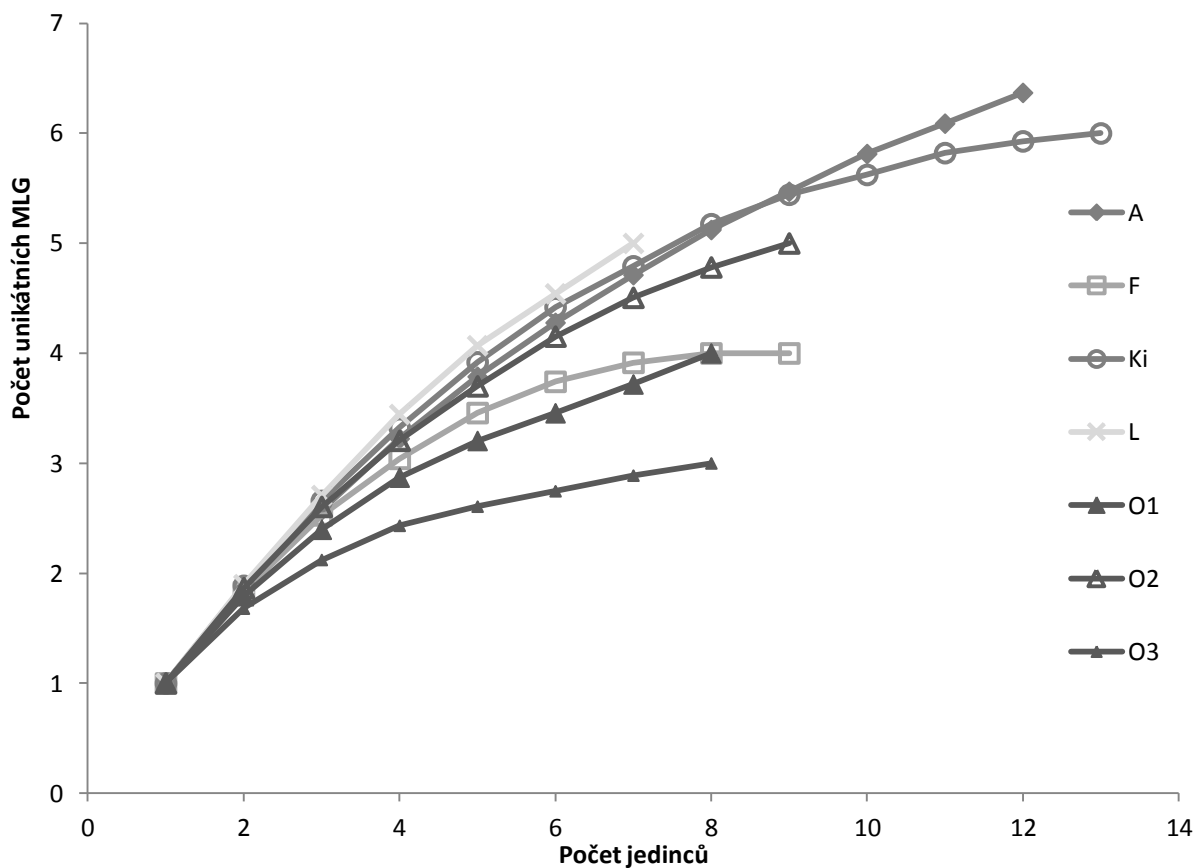
3.3 Genetická struktura populací

Genetická struktura populací byla charakterizována za pomoci osmi polymorfních mikrosatelitních lokusů (viz tab. II). Tyto lokusy obsahovaly 4–19 alel. Ze 166 vzorků bylo 150 úspěšně analyzováno (1–46 vzorků na populaci; viz tab. I). Z nich u 27 vzorků chyběla data v jednom ze tří obtížněji amplifikovatelných lokusů. Protože každý vzorek měl ve všech nalezených lokusech jen jedinou alelu, lze zkoumaný druh považovat za haploidní. Variabilita ve zjištěné ploidii nebyla prokázána ani průtokovou cytometrií provedenou na cca 100 vzorcích z NPP Ruda.

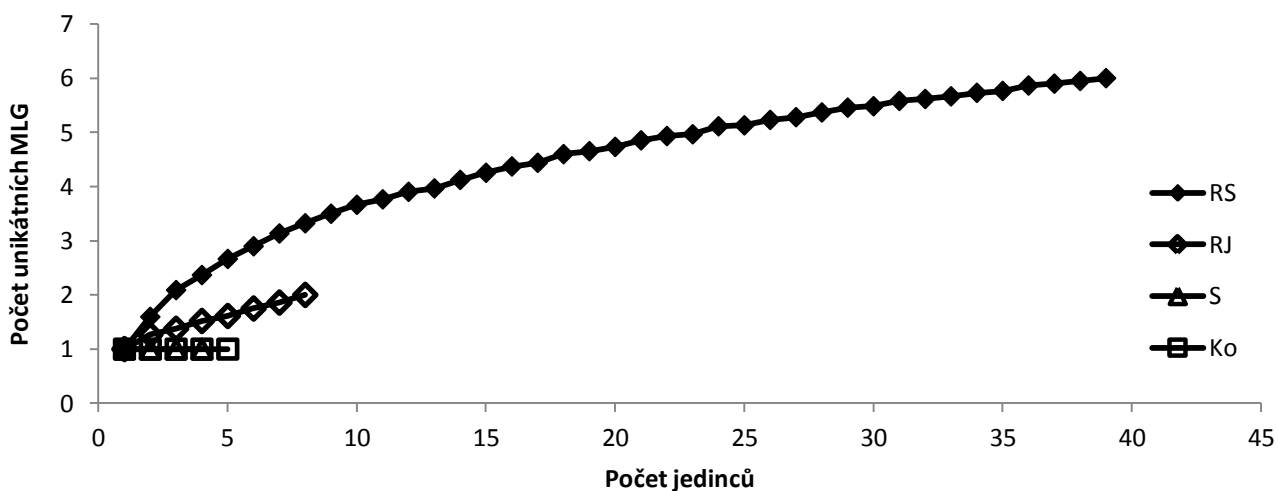
Počet lokusů se v analyzovaném souboru jeví pro zkoumání genetické struktury populací tohoto mechu dostatečný (viz obr. 33). Naproti tomu z grafů vyjadřujících nárůst odhalených genotypů na lokalitách s přibývajícemi vzorky (viz obr. 34 a 35) vyplývá, že téměř na všech lokalitách, včetně nejdůkladněji prosbírání lokality Ruda, by s dalšími analyzovanými vzorky docházelo k nárůstu zjištěných genotypů.



Obr. 33: Znázornění počtu přibývajících unikátních MLG s přibývajícemi prozkoumanými lokusy.



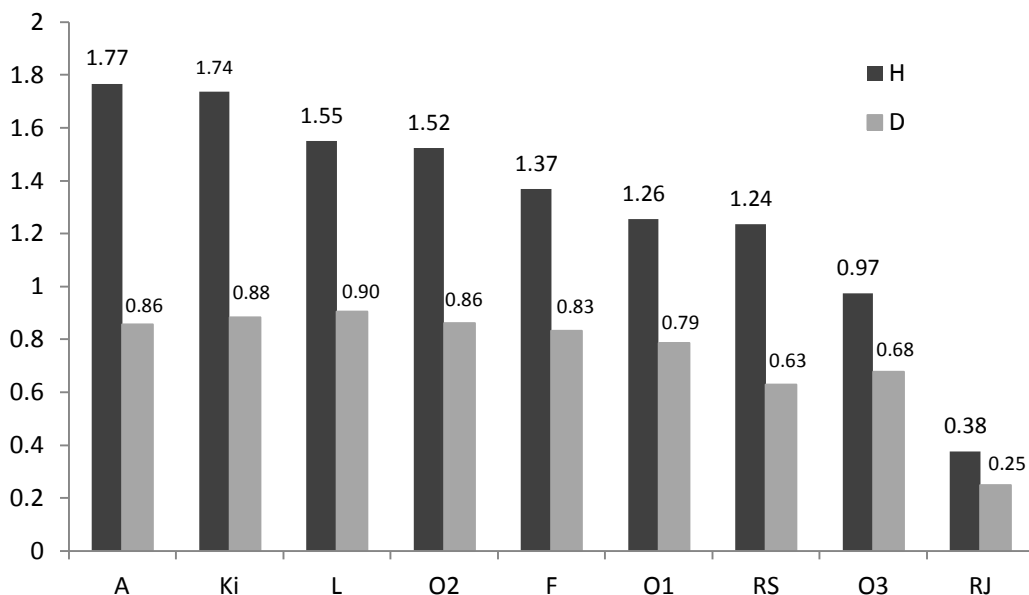
Obr. 34: Nárůst odhalených unikátních MLG na jednotlivých lokalitách ve Skandinávii a Litvě znázorňující prozkoumanost populací (zkratky názvů lokalit viz tab. I).



Obr. 35: Nárůst odhalených unikátních MLG na jednotlivých lokalitách v ČR znázorňující prozkoumanost populací (zkratky názvů lokalit viz tab. I).

V analyzovaných vzorcích bylo nalezeno 45 různých multilokusových genotypů. Jejich počet na lokalitách se pohyboval mezi jedním (v populacích na Ráji, Salajně, Vidnavských mokřinách a Urbánkově palouku) a sedmi. V největší z českých populací (RS) bylo zjištěno 6 MLG, v ostatních českých 1–2. Oproti tomu již omezený sběr

ve skandinávských populacích zjistil 3–7 MLG na populaci (viz tab. VIII) Průměrný počet pozorovaných alel na lokus byl na lokalitách s $N_g > 1$ od 2,00 do 3,67 (viz tab. VIII). Simpsonův index diverzity se pohyboval od 0,250 do 0,905 a Shannonův index od 0,377 do 1,767 (viz tab. VIII a obr. 36). Mezi populacemi byl nalezen identický genotyp jen mezi severní a jižní částí NPP Ruda.

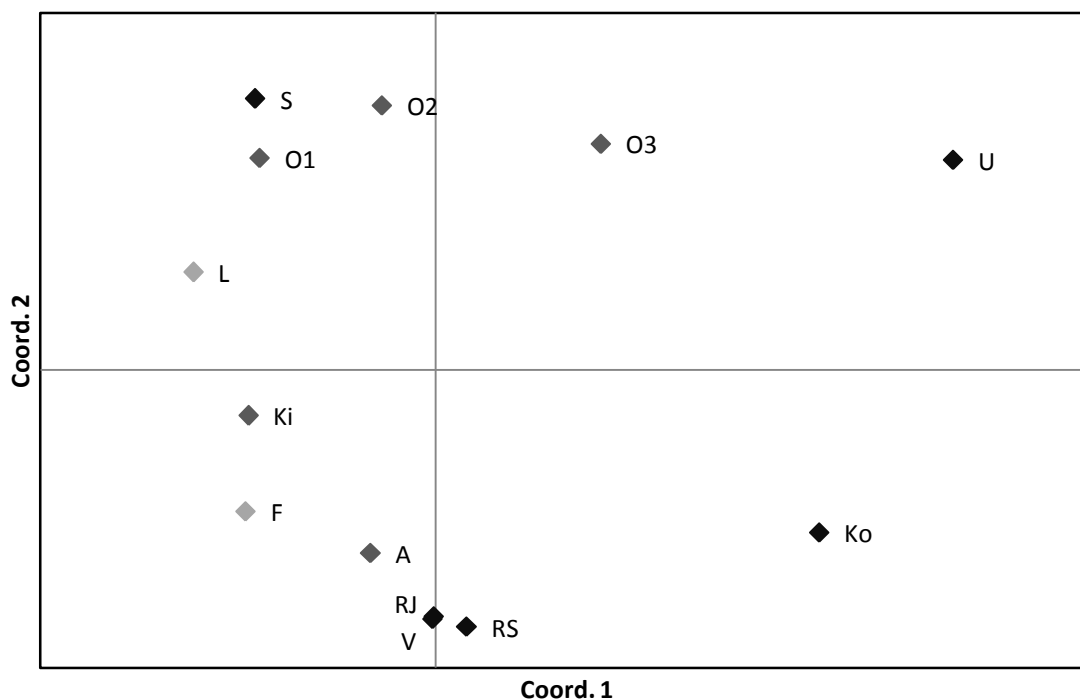


Obr. 36: Hodnoty Shannonova indexu (H) a Simpsonova indexu (D) v jednotlivých populacích s $N_g > 1$ (zkratky názvů lokalit viz tab. I).

Tab. VIII: Základní charakteristika vnitrodruhové variability jednotlivých populací (N – počet vzorků (v závorce počet vzorků zahrnutý do analýzy pokud je odlišný od celkového), N_g – počet genotypů, % unik. – procentuální zastoupení unikátních multilokusových genotypů z počtu vzorků zahrnutých do analýzy, n_a – průměrný počet pozorovaných alel na lokus, H – Shannonův index, D – Simpsonův index, g / ac – lokus primeru AC9 použitý pro výpočet vazebné nerovnováhy, průkaznost hodnot – *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$, zkratky názvů populací viz tab. I).

Populace	N / N_g	% unik.	$n_a \pm SD$	H	D	Vazebná nerovnováha
RS	46 (39) / 6	15	2,667 ± 1,033	1,235	0,630	0,250*** (g), 0,366*** (ac)
RJ	8 / 2	25	2,0 ± 0	0,377	0,25	1
Ko	6 (5) / 1	20	–	–	–	–
S	4 / 1	25	–	–	–	–
L	9 (7) / 5	71	2,857 ± 0,9	1,55	0,905	0,281*** (g), 0,238*** (ac)
O1	9 (8) / 4	50	2,571 ± 0,535	1,255	0,786	0,423*** (g), 0,377*** (ac)
O2	9 / 5	56	3,167 ± 0,753	1,523	0,861	0,571***
O3	9 (8) / 3	38	2,8 ± 0,447	0,974	0,679	0,822***
F	14 (9) / 4	44	3,0 ± 0,632	1,369	0,833	0,118**
A	18 (15) / 7	47	2,714 ± 0,951	1,767	0,857	0,113*** (ac), 0,147*** (g)
Ki	15 (13) / 6	46	3,667 ± 0,516	1,738	0,885	0,329***

Vztahy mezi populacemi na základě výsledků analýzy hlavní koordinát jsou zobrazeny na obr. 37. Podle 1. osy, vysvětlující 70,5 % variability v souboru dat, se na ordinačním diagramu do značné míry oddělily skandinávské populace spolu s litevskou k jedné straně a české k druhé. Populace O3 se v ordinačním prostoru nachází blíže k českým populacím, což může být způsobeno vnitropopulační variabilitou této populace při nedostatečném množství dat. Genotyp populace nacházející se na Vidnavských mokřinách je v ordinačním prostoru blízko genotypu populace v NPP Ruda (stejně v 7 lokusech s jedním z RS), zatímco kokořínská populace je bližší genotypu populace na Urbánkově palouku na Vysočině (stejně v 6 lokusech). Nejdlehlěji z českých populací se v ordinačním prostoru zobrazil genotyp populace na západočeské Salajně, který se přiřadil k centroidům skandinávských populací (kromě populace A), což koreluje i s hodnotami párových F_{ST} (viz tab. X).



Obr. 37: Vztahy mezi populacemi (viz tab. I) na základě analýzy PCoA. (1. osa vysvětluje 70,49 % pozorované variability a první 2 osy dohromady 89,36 %).

Analýza molekulární variance celého souboru dat ukázala přibližně vyrovnaný podíl variability na úrovni vnitropopulační, mezipopulační i meziregionální (viz tab. IX). Struktura variability v jednotlivých regionech (ČR, severní Skandinávie) je však výrazně odlišná. Zatímco v ČR drtivý podíl variability představuje genetická variabilita mezi populacemi (95,1 %) a uvnitř je variabilita malá (4,9 %), mezi skandinávskými populacemi z přibližně stejně velké oblasti je podíl vnitropopulační variability téměř 70 % i přes to, že

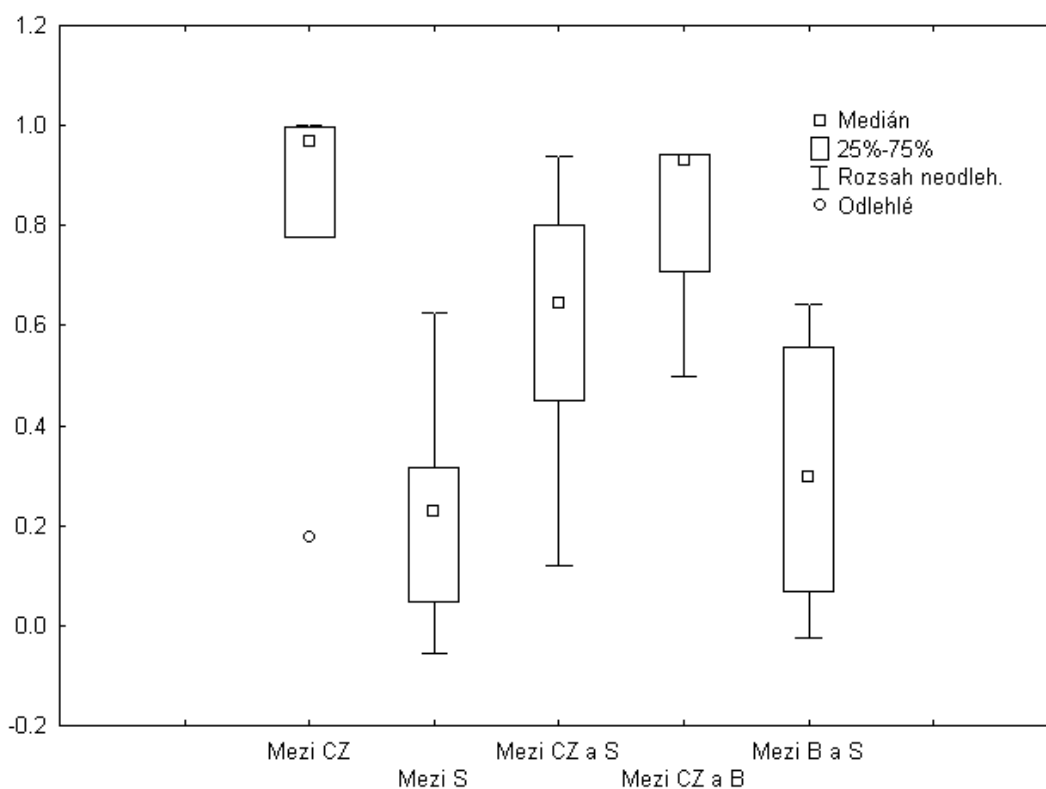
ve Skandinávii bylo analyzováno více vzorků z jednotlivých trsů. Vysoké párové hodnoty fixačních indexů (F_{ST} , resp. R_{ST} ; viz tab. X) byly nalezeny mezi českými a litevskou populací a českými a skandinávskými populacemi (viz obr. 38), což odpovídá zeměpisné vzdálenosti mezi oblastmi (viz obr. 14). Stejně velké i vyšší hodnoty F_{ST} však byly nalezeny i mezi jednotlivými českými populacemi, což svědčí o zanedbatelném genovém toku mezi českými populacemi. Na malé vzdálenosti však genový tok probíhá, jak potvrzuje nízká hodnota párového F_{ST} mezi populacemi RS a RJ (severní a jižní část NPP Ruda, jejichž centroidy od sebe leží cca 700 m). Mezi jednotlivými skandinávskými populacemi a dokonce i mezi skandinávskými a litevskou populací jsou hodnoty F_{ST} nižší.

Tab. IX: Výsledky Analýzy molekulární variance (AMOVA) (zkratky názvů lokalit viz tab. I).

Zdroj variance	df	Komponenty variance	Variance %	Fixační index
Mezi skupinami populací	2	10,693	34,28	$F_{CT} = 0,343^*$
Mezi populacemi uvnitř skupin	8	10,038	32,17	$F_{SC} = 0,490^{***}$
Uvnitř populací	136	10,468	33,55	
Celkem	146	31,199		
Mezi populacemi v ČR	3	32,307	95,12	$F_{ST}=0,951^{***}$
Uvnitř populací v ČR	60	1,659	4,88	
Mezi populacemi O1–3, A, Ki	4	8,774	30,47	$F_{ST}=0,305^{***}$
Uvnitř populací O1–3, A, Ki	55	20,021	69,53	

Tab. X: Hodnoty párových F_{ST} mezi populacemi (zkratky názvů populací viz tab. I, * označuje průkaznost na hladině $p < 0,05$).

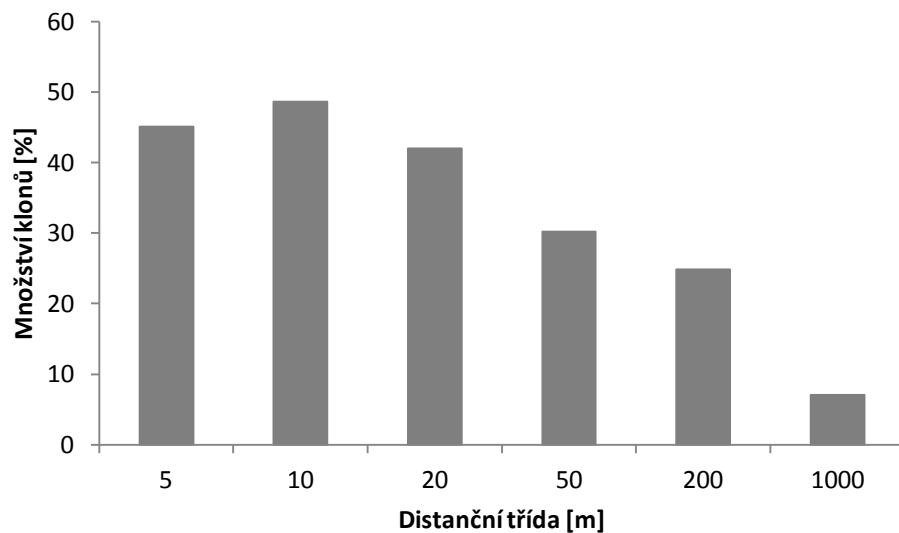
	S	Ko	RJ	RS	L	A	Ki	F	O1	O2
S										
Ko	1*									
RJ	0,997*	0,976*								
RS	0,963*	0,777*	0,178*							
L	0,498*	0,941*	0,918*	0,940*						
A	0,678*	0,439*	0,122*	0,270*	0,644*					
Ki	0,368*	0,647*	0,482*	0,692*	0,273*	0,229*				
F	0,525*	0,804*	0,677*	0,801*	0,321*	0,315*	-0,054			
O1	0,460*	0,939*	0,915*	0,938*	-0,025	0,627*	0,227*	0,300*		
O2	0,273	0,803*	0,725*	0,859*	0,068	0,435*	0,054	0,032	0,016	
O3	0,643*	0,641*	0,416*	0,631*	0,555*	0,047	0,103	0,146	0,550*	0,257*



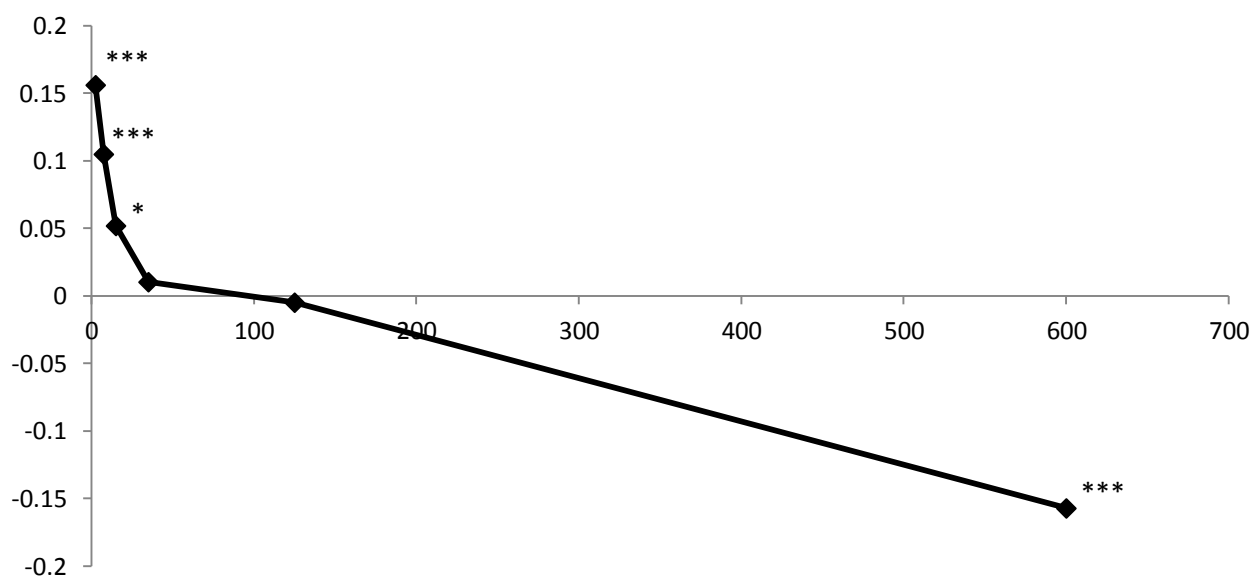
Obr. 38: Genetická diferenciace mezi populacemi založená na párových F_{ST} hodnotách (viz tab. X; CZ – populace v ČR, S – skandinávské populace, B – baltská populace v Litvě).

Mantelův test korelace genetických a geografických vzdáleností prokázal existenci izolace s rostoucí vzdáleností ($r=0,283347$; $p=0,026973$). Naopak mezi skandinávskými lokalitami O1–3, A a Ki na základě analyzovaného souboru dat genetická diferenciace s rostoucí vzdáleností prokazatelně neroste ($r=-0,173783$; $p=0,391667$). Genetická vazba byla prokázána téměř na všech lokalitách (mimo RJ; viz tab. VIII), i když její vysoké hodnoty na některých skandinávských lokalitách budou spíše důsledkem malého množství analyzovaných vzorků. Nižší hodnoty vazebné nerovnováhy, naznačující výměnu genetické informace pohlavním rozmnožováním, se podařilo prokázat pouze v NP Abisko, a to i přes sběr více vzorků z jednoho trsu.

S rostoucí vzdáleností v NPP Ruda klesá množství stejných genotypů. V 1. – 3. distanční třídě (do 20 m) se vyskytuje poměrně velké množství klonů (40–50 %) a dále množství klonů klesá (viz obr. 39). Poměrně velké množství klonů v poslední distanční třídě je dáno přítomností nejčastějšího genotypu ze severní populace v jednom trsu v jižní populaci. Větší než pravděpodobné množství stejných genotypů bylo nalezeno do páté distanční třídy (mezi 50 a 200 m) (viz obr. 40).



Obr. 39: Procenta párových porovnání zahrnující stejné genotypy, které náležejí do jednotlivých distančních tříd.



Obr. 40: Prostorová genetická struktura populací mechu *Helodium blandowii* v NPP Ruda (průměrné hodnoty F_{ij} vyneseny vždy do poloviny distanční třídy, průkaznost hodnot – *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$).

4 Diskuse

4.1 Regenerace

V klimaboxu regenerovaly úplně všechny zkoumané úlomky. U podobných dříve prováděných studií se jistá mortalita projevila. Manukjanová (2011) zjistila úmrtnost jednocentimetrových větviček druhů *Hamatocaulis vernicosus* a *Calliergonella cuspidata* do 4 %, zatímco jednocentimetrové konce lodyžek druhů *Hamatocaulis vernicosus*, *Calliergonella cuspidata*, *Meesia triquetra* a *Paludella squarrosa* regenerovaly všechny. Poschlod a Schrag (1990) zjistili úmrtnost stejně dlouhých konců lodyžek mechů *Calliergon giganteum*, *Straminergon stramineum*, *Campylium stellatum*, *Scorpidium revolvens*, *S. scorpioides* a *Aulacomnium palustre* do 2 %, ovšem u větviček mechu *Campylium stellatum* dosahovala mortalita 23 % a u druhu *Scorpidium revolvens* 11 %. To může být dáno jak regeneračními schopnostmi zkoumaných druhů, tak odlišnými světelnými, tepelnými a vlhkostními podmínkami jednotlivých pokusů. K odlišným výsledkům regeneračních schopností jednoho druhu dospěla Manukjanová (2011) při opakování pokusu s mechy nasbíranými na jiných lokalitách a drobnými změnami v uspořádání prostoru klimaboxu. Proto není možné činit závěry o úspěšnosti regenerace jednotlivých druhů jednoduchým porovnáním uvedených rozdílů. Zajímavé by bylo také zjistit, zda je zkoumaný druh schopen vyrůst i z hnědých částí lodyžky, jako to u jiných druhů hnědých mechů zkoumali Poschlod & Schrag (1990) a Manukjanová (2011).

Ze srovnání přírůstků jednocentimetrových konců lodyžek a stejně dlouhých větviček v klimaboxu vyplynulo, že lodyžky přirůstaly v přepočtu na biomasu rychleji než větvičky (viz obr. 21) a také v terénu byly lodyžky delší a přežilo jich více (viz kap. 3.1.3). Stejně dlouhé fragmenty lodyžek mají tedy značnou převahu biomasy, z níž vyrostlé úlomky pravděpodobně v terénu využívají většího množství uskladněných živin. Délka větevních fragmentů měla vliv na délku přírůstků na konci pokusu v klimaboxu (viz obr. 22). Naopak Rincon (1988) rozdíl v přírůstku biomasy úlomků lodyžek různé délky (0,3–4,5 cm) nenašel. Důvodem může být doba sledování přírůstků, protože v uvedené práci byly úlomky pěti studovaných druhů mechorostů sledovány pouze 30 dní. Po této době měly i fragmenty větviček mechu *Helodium blandowii* ještě téměř stejnou délku. Důvodem větších přírůstků delších fragmentů snad může být to, že po měsíci úlomky vyčerpaly živiny z okolí a pak se projevily zásoby obsažené v biomase dvojnásobné délky. V terénu se vliv délky úlomků větviček na jejich délkový přírůstek neprojevil, ale jednocentimetrových větviček

regenerovalo více (viz kap. 3.1.1). Úspěšnější regeneraci delších fragmentů v terénu naopak neprokázali autoři obdobných studií na různých druzích rašeliníků při délkách fragmentů 0,5, 1 a 2 cm (Campeau & Rochefort 1996, Rochefort et al. 2003). Pokusné plochy tohoto pokusu však obsahovaly stejnou biomasu jen rozdělenou na jiný počet fragmentů, zatímco v mém pokusu se v každém gapu nacházel stejný počet fragmentů, ale s poloviční biomasou, tak pokusy nelze zcela srovnat. Menší úlomky mohou mít vzhledem ke své ploše větší pravděpodobnost, že se budou celé nacházet na místě nepříznivém k růstu. Úspěšnější regenerace centimetrových fragmentů může v případě mého pokusu souviset také s přítomností růstového vrcholu, který půlcentimetrové fragmenty obsahovaly jen někdy. V klimaboxu byl i přes očekávaný vliv přítomnosti růstového vrcholu na přírůstek v případě půlcentimetrových fragmentů výsledek na hranici průkaznosti, ale způsob růstu byl výrazně odlišný (viz kap. 3.1.2). Fragmenty bez koncové části byly na začátku zdrženy tvorbou apikální růstové iniciály, avšak po třech měsících dosáhly téměř stejných délek. V terénu však zdržení může nastat v okamžiku dlouhodobého zaplavení, které brání fragmentům v růstu (Graf & Rochefort 2010), a tím je vyřadit z regenerace. Naopak fragmenty bez koncové části se více větví a mají pak větší počet větvíček, ze kterých mohou odnožovat. Vzhledem k tomu, že bylo nakonec porovnáváno v terénu jen 9 opakování srovnání jednocentimetrových a půlcentimetrových úlomků, nelze z terénního experimentu dělat větší závěry.

Zajímavým výsledkem pokusu v klimaboxu byl rozdíl v míře tvorby rhizoidů mezi vrcholky lodyžek a postranními větvíčkami (viz obr. 27). To by mohlo být v postranních větvíčkách, které mají menší biomasu, způsobeno relativně rychlejším přesunem auxinu nebo dalších hormonů. Stimulující vliv auxinu na tvorbu rhizoidů u mechorostů byl pozorován v práci La Rue (1942). V klimaboxu byly pozorovány i rhizoidy vytvářené odlomenými lístečky, které se na filtrační papíry dostaly spolu s úlomky, další stadia regenerace těchto fragmentů však již nemohla být pozorována. Stejně jako v pokusu Manukjanové (2011) se jednalo pravděpodobně o regenerující buňky pokožky lodyžky, která zůstala na spodní straně lístků. Skutečná regenerace z lístků (cca 50 %) byla z hnědých mechů prokázána jen u některých druhů čeledi Calliergonaceae, např. *Calliergon giganteum* a *Straminergon stramineum* (Poschlod & Schrag 1990).

Při regeneraci v klimaboxu byly narůstající větvíčky často tenčí než původní fragment a méně větvené než fragmenty pěstované v terénu. To mohlo být způsobeno jak vyšší teplotou oproti přírodním podmínkám, jak pozorovali Sabovljević et al. (2012), tak

nižší intenzitou světla (Schneider & Sharp 1962), případně kombinací obou faktorů. Zkoumaný druh byl v klimaboxu pěstován při 19–24 °C, zatímco Poschlod a Schrag (1990) uvádějí pro své pokusy teplotní rozpětí 14–22 °C a Manukjanová (2011) pěstovala slatiništní druhy při 18 °C. Dalším faktorem, který mohl mít vliv na nepřírozený růst sledovaného druhu v klimaboxu, je limitace živinami (Schneider & Sharp 1962, Furness & Grime 1982). Přestože úlomky byly zalévány vodou ze svého původního prostředí, koncentrace jednotlivých iontů se kvůli ředění mohly od přírodních podmínek lišit. Navíc různé populace různých druhů mechorostů mohou vyžadovat jiné podmínky, protože mechorosty mají schopnost značných lokálních adaptací (Vitt et al. 1993).

Zatímco v klimaboxu regenerovalo 100 % fragmentů, v terénním experimentu vyrostly lodyžky průměrně z méně než čtvrtiny úlomků (viz kap. 3.1.1 a 3.1.2). Část fragmentů mohla odplavat, jak se stalo v práci Mälsona a Rydina (2007), ale pravděpodobnější je zvýšená mortalita úlomků způsobená podmínkami prostředí, protože odplavení bránily ohrádky ze sítí, přiléhající až k povrchu substrátu. Přestože se nepodařilo vliv výšky hladiny vody na regeneraci fragmentů v terénu prokázat, bylo možné pozorovat, že větší počet a větší lodyžky narostly téměř výhradně v gapech s hladinou vody těsně pod povrchem (viz obr. 20). Tato výška hladiny vody údajně mechům, které nerostou přímo ve vodě, vyhovuje (Campeau & Rochefort 1996, Mälson & Rydin 2007, Graf & Rochefort 2010). Fragmentům, které ani na místech s pravděpodobně příznivou hladinou vody nerostly dobře, mohlo vadit kolísání hladiny vody, které použitou metodou a typem pásek nelze spolehlivě zjistit. Zkušenosti z obdobných terénních experimentů říkají, že i malé výkyvy hladiny vody mohou mechorosty značně ovlivnit (Mälson & Rydin 2007, Mälson et al. 2008, Štechová et al. 2012).

Ukázalo se, že kompetice převážně s dalšími druhy mechorostů je pro *Helodium blandowii* pravděpodobně významným problémem. Přestože zarůstání gapů rašeliníky, jejichž rychlosti růstu zkoumaný druh stejně jako jiné hnědé mechy (Gignac 1992, Kooijman et al. 1994) není schopen konkurovat, bylo zabráněno pomocí sítí a důsledného odstraňování regenerujících lodyžek, problémem se stala konkurence játrovek *Chiloscyphus profundus* a *Pellia* sp. V gapu dokážou pokrýt celý povrch, čímž znemožní regeneraci zkoumaného druhu, a jejich odstranění bez poškození regenerujících fragmentů je prakticky nemožné.

Dalším problémem terénního experimentu může být nedostatek stínu v gapech, protože zvláště v časných stádiích, kdy hustota trsu ještě neumožňuje kapilární vedení vody mezi lodyžkami v trsu, potřebují být mechorosty chráněné před vyschnutím (Mälson &

Rydin 2007, Graf & Rochefort 2010). Stín v průběhu pokusu vytvářely cévnaté rostliny ponechané v gapech, na začátku však mohl chybět, i když v této době měly patrně pozitivní efekt i samotné ochranné sítě. Vyšší mortalita byla na začátku pokusu (v létě 2013) pozorována u předpěstovaných lodyžek, patrně nejenom vlivem chybějícího stínu, ale i nedostatečného kontaktu s vlhkou rašelinou. Nepříznivý vliv vyšších teplot a vyschnutí se zřejmě projevil také v červenci 2014, kdy v době extrémně nízkých úhrnů srážek klesl počet lodyžek předpěstovaných v klimaboxu i obou typů úlomků pěstovaných v terénu. Podle některých autorů (Graf & Rochefort 2010) mají příznivý vliv na růst mechů na rašelinistiších vysoké rostliny vytvářejících trsy, ale pomoci může i pokryv slámou (Price et al. 1998, Cobbaert et al. 2004, Graf & Rochefort 2010). Lepší růst druhu *Helodium blandowii* ve stínu potvrzuje i několik studií (Goncharova 2006, 2008, Goncharova & Sobachkin 2013), ve kterých autoři zjistili největší délkové a váhové přírůstky pod korunami stromů. Na druhou stranu byla v terénu i v klimaboxu pozorována schopnost lodyžek obnovit růst po kratší době sucha. Tolerance k vyschnutí je mezi mechy rostoucími v převážně vlhkém prostředí rašelinistiš' patrně poměrně široce rozšířena (Manukjanová et al. 2014).

Úspěšnost regenerace je z dlouhodobého hlediska možné měřit až vytvořením trsu, protože až takto mohou mechy na lokalitě dlouhodobě konkurovat ostatním mechorostům (Gunnarsson & Söderström 2007). Po roce a půl sledování se však v gapech, kde alespoň některé úlomky regenerovaly, trsy teprve začínají tvořit a zvláště délka a počet lodyžek předpěstovaných v klimaboxu se stále rychle mění.

4.2 Sledování dynamiky porostu

Ve sledovaném čtverci byla pozorována během dvou let poměrně výrazně se měnící poloha trsů (viz obr. 30). To odpovídá dřívějším sledováním jiných druhů rašelinistišních mechů prováděným na plochách 50 × 50 cm obdobnou metodikou (Štechová 2005, Velehradská 2013). Podle pravidelného pozorování se zdá, že mech *Helodium blandowii* migruje podle výšky hladiny vody a vlhkosti v závislosti na klimatických podmínkách daného období. Svou roli pravděpodobně hraje i kompetice s ostatními druhy rostlin a mechorostů. Pozorovaný pokles celkové plochy zkoumaného druhu ve čtverci (viz obr. 31) může být způsoben populačními výkyvy nebo chybou pozorování, která je dána jak ne zcela dokonalou fixací trvalé plochy a vegetací zakrývající trsy, tak samotnou metodikou zákresu, kdy překreslení trsů na milimetrový papír je zatíženo subjektivním zkreslením.

Pro přesnější zjištění trendu vývoje populace zkoumaného druhu v NPP Ruda by bylo třeba vytyčit více ploch o velikosti maximálně 1×1 m, přesněji je zafixovat a zaznamenávat je častěji (jednou za měsíc). Lze si pomoci také označením jednotlivých trsů. Přesnější zákres by bylo možné pořídit pomocí digitálních snímků porostu, rozděleného na malé čtverce, jak prováděli např. Bien (1999) nebo Benavides a Jesús (2009). Vzhledem k patrovitosti vegetace by však bylo nutné plochy před snímkováním posekat, což dynamiku sledovaného druhu může ovlivnit a snížit tak výpovědní hodnotu získaných dat o populaci zkoumaného druhu.

4.3 Genetická struktura populací

Počet variabilních mikrosatelitových lokusů, které se podařilo úspěšně vyvinout a analyzovat, odpovídá podobným studiím (např. Hutsemékers et al. 2008b, Leonardía et al. 2013, Kophimai et al. 2014) a zdá se být pro analyzovaný dataset dostatečný. Pro lokus AC3 se nepodařilo analyzovat všechny vzorky z populace z Kokořínského dolu a část vzorků z NPP Ruda, proto je pravděpodobné, že se u nich nachází mutace v místě nasedání primeru. Lokusy obsahovaly pouze 4–9 alel s výjimkou jediného, u kterého bylo zjištěno 19 alel (viz tab. II) a průměrný počet pozorovaných alel na lokus se v jednotlivých populacích pohyboval mezi 2,0–3,7 (viz tab. VIII). Tyto hodnoty tvoří nižší část rozsahu hodnot většiny ostatních srovnatelných studií populační genetické variability u mechorostů (van der Velde et al. 2001, Kophimai et al. 2011, Korpelainen et al. 2011, Leonardía et al. 2013, Kophimai et al. 2014, Liu et al. 2014), ale při studiu populací mechu *Platyhypnidium riparioides* byly zjištěny nižší hodnoty obou výše zmíněných charakteristik (Hutsemékers et al. 2008b, Hutsemékers et al. 2010). Důvodem poměrně nízké genetické variability v populacích mechu *Helodium blandowii* může být poměrně malý počet analyzovaných vzorků z geneticky variabilnějších populací v centru rozšíření druhu, ale i charakter vyvinutých mikrosatelitů, protože např. mikrosatelity, které mají více opakování, jako vyvinuli Leonardía et al. (2006), jsou variabilnější.

Na všech českých populacích kromě populací na Rudě (Ko, S, U, V) byl nalezen jen jeden unikátní multilokusový genotyp (MLG), což může znamenat, že celá populace je tvořena klonem jedné rostliny, ale zvláště na Vidnavských mokřinách by bylo třeba toto tvrzení podpořit více vzorky. V populacích v NPP Ruda (severní i jižní) bylo v 39 vzorcích použitých k této analýze nalezeno pouze 7 MLG, a tento počet by se pravděpodobně o mnoho nezvýšil ani po analýze dalších vzorků (viz obr. 35). Oproti tomu

v severoskandinávských populacích bylo zjištěno srovnatelné množství (4–7 genotypů) při 8–15 analyzovaných vzorcích z populace a je pravděpodobné, že jejich počet by s dalšími analyzovanými vzorky narůstal (viz obr. 34). Celkově bylo v populacích v NP Øvre Dividal zjištěno 12 MLG ve 24 vzorcích, navzdory analýze více vzorků z trsu. Procento zjištěných unikátních MLG u mechu *Helodium blandowii* (viz tab. VIII) je srovnatelné se studií na mechu *Scorpidium cossonii* (Kophimai et al. 2014). I v největší české populaci (RS) dosahuje pouze 15 %, zatímco ve Skandinávii se pohybovalo mezi 38 a 56 %, což odpovídá hodnotě nejhudší lokality studie na lokalitách tropického jednodomého mechu *Acanthorrhynchium papillatum* (Leonardía et al. 2013). Naopak švýcarské populace jednodomého druhu *Scorpidium revolvens* mají pouze 6–12 % MLG (Kophimai et al. 2014), což odpovídá českým populacím mechu *Helodium blandowii*, a může to být dáno přítomností těchto lokalit obou druhů na okraji areálů. Ve většině srovnatelných studií o struktuře populací mechů autoři našli 50–100 % MLG na populaci (van der Velde et al. 2001, Leonardía et al. 2013, Liu et al. 2014), některé ze zkoumaných mechů jsou však dvoudomé, a tudíž u nich nehrozí autogamie v rámci téhož gametofytu (Shaw 2000, Kophimai et al. 2014).

Rovněž indexy genetické diverzity jsou u českých populací nižší než u skandinávských (viz tab. VIII) a tento rozdíl by se s dalšími analyzovanými vzorky u skandinávských populací pravděpodobně dále zvyšoval kromě lokalit Fauskeidet a Kiruna, které se jeví být dostatečně prosbírání (viz obr. 34). Hodnoty Simpsonova indexu u českých populací jsou nižší také ve srovnání s jihoasijskými populacemi mechu *Acanthorrhynchium papillatum* (Leonardía et al. 2013), avšak v případě populace RS dosahují podobných hodnot (mezi 0,5 a 0,6) jako v řadě ostatních studií (van der Velde et al. 2001, Korpelainen et al. 2011, Kophimai et al. 2014). Populace játrovky *Crossocalyx hellerianus* (E. Holá, nepubl. data) mají větší množství a vyrovnanější zastoupení genotypů, proto hodnoty Shannonova indexu dosahují až 4 oproti maximální hodnotě 1,8 v analyzovaných populacích mechu *Helodium blandowii* (viz tab. VIII).

Vysoká mezipopulační a nízká vnitropopulační genetická variabilita, zjištěná v českých populacích zkoumaného druhu, svědčí o izolovanosti českých populací a prakticky chybějícím genovém toku mezi nimi. V izolovaných malých populacích dochází také k fixaci alel z populací náležejících původně do většího souvislého areálu (Templeton et al. 1990, Gunnarsson et al. 2005) a k rychlé fixaci nově vzniklých alel. Naopak hodnoty fixačních indexů mezi švýcarskými populacemi mechu *Scorpidium revolvens*, které jsou také

na okraji areálu zkoumaného druhu, byly nižší (okolo hodnoty 0,2), což svědčí alespoň o menším přetrvávavícím genovém toku mezi těmito populacemi (Kophimai et al. 2014). Izolovanost většiny populací je možné vidět jak z výsledků PCoA na získaných datech (viz obr. 37), tak z téměř maximálních hodnot párových fixačních indexů mezi českými lokalitami (viz tab. X). Blízkost centroidů lokalit Salajna a skandinávských populací i centroidu skandinávské lokality Abisko a centroidů populací z Rudy a Vidnavy v ordinačním prostoru PCoA, stejně jako poměrně nízké hodnoty párových F_{ST} populací z Rudy a Abiska může být dána homoplázií, což je vzhledem k vysoké mutační rychlosti mikrosatelitů pravděpodobné (Schug et al. 1997, Sun et al. 2012).

Rozdělení vnitropopulační a mezipopulační genetické variability skandinávských populací mechu *Helodium blandowii* je srovnatelné s jinými studii u jednodomých (Leonardía et al. 2013, Kophimai et al. 2014) i dvoudomých mechů (Kophimai et al. 2014; Liu et al. 2014) a svědčí o tom, že genový tok mezi populacemi existuje, pravděpodobně převážně díky šíření spor na delší vzdálenosti a jejich úspěšným uchycením, což je u běžně plodných mechů časté (Kophimai et al. 2014). Výrazně nižší hodnota párových F_{ST} mezi skandinávskými a litevskou populací než mezi stejně vzdálenými populacemi českými a litevskou (viz tab. X a obr. 38) svědčí o vyšší genetické příbuznosti pobaltské a skandinávských populací a přetrvávajícím genovém toku mezi nimi, jak lze očekávat u populací nacházejících se v centru areálu rozšíření. Tomu bezpochyby napomáhá dostatek vhodných biotopů, které umožňují šíření po krátkých úsecích (step-by-step dispersal).

U geograficky blízkých skandinávských populací nebyla zjištěna rostoucí genetická vzdálenost s rostoucí geografickou vzdáleností, což může svědčit o dobré šířitelnosti spor, avšak vzhledem k nedostatečnému sběru dat v oblasti je potřeba výsledky interpretovat opatrně. Oproti tomu fragmentace biotopů v jižní části areálu druhu již zřejmě přesáhla hodnotu, kdy k efektivnímu genovému toku může docházet. Mezi těmito extrémy se nachází populace mechu *Scorpidium revolvens* ve Švýcarsku, kde byla zjištěna poměrně vysoká avšak těsně průkazná korelace mezi genetickými a geografickými vzdálenostmi (Kophimai et al. 2014). Spory se sice šíří na velkou vzdálenost, ale musí se dostat vysoko do atmosféry, což je pro pozemní druhy obtížné (Frahm 2008), a dopadnout na holý substrát. Tyto události, přestože prokazatelně existují, jsou náhodné a velmi vzácné, vyskytující se jednou za desítky let (Hutsemékers et al. 2008a).

V populacích mechu *Helodium blandowii* v NPP Ruda byla nalezena zřetelná prostorová genetická struktura (viz obr. 40). Ve srovnání s podobnými studii, které však

dosud byly prováděny pouze na játrovkách *Barbilophozia attenuata* (Korpelainen et al. 2011) a *Crossocalyx hellerianus* (E. Holá, nepubl. data) jsou blízce příbuzné genotypy rozšířeny dále (koeficienty příbuznosti F_{ij} se blížily k nule ve vzdálenostech cca 100 m, zatímco u zkoumané játrovky jen do 10 m). To může znamenat šíření klonů na velkou vzdálenost. Vzhledem k absenci tvorby specifických rozmnožovacích částic je toto šíření možné buď postupným rozrůstáním existujících lodyžek nebo odlomených fragmentů nebo šířením pomocí spor, vzniklých samooplozením, které je tím pravděpodobnější, čím blíže jsou sobě klony a u jednodomých druhů mechů se běžně předpokládá i v rámci jediného gametofytu (Shaw 2000). To může vysvětlit i vyšší hodnotu vazebné nerovnováhy na této lokalitě. Větší množství klonů může dále vést k inbrední depresi a omezené schopnosti druhu rychle se adaptovat k měnícím se životním podmínkám (Longton 1992) a následně k dalšímu negativnímu ovlivnění početnosti populace.

Přítomnost malého počtu MLG, vysoká míra klonality na českých lokalitách a absence prokazatelného genového toku mezi nimi svědčí o nepříznivých procesech z hlediska populační genetiky, které v těchto populacích proběhly nebo stále ještě probíhají. Může se jednat o výrazné zmenšení původní velikosti populací, které mohlo být způsobeno zarůstáním či okyselováním lokalit, ale také snižování podílu allogamie vzhledem k prostorové separaci klonů či snížení reprodukčního úsilí vlivem suboptimálních podmínek. Tyto procesy mohou mít za následek nedostatečnou adaptabilitu mechů v těchto populacích na změněné podmínky prostředí. Odlišnost a izolovanost českých genotypů mechu *Helodium blandowii* podtrhuje význam ochrany všech stávajících populací a jejich biotopů, protože jednotlivé populace již mohou vykazovat rozdíly v adaptaci na místní podmínky, jako je tolerance na zamokření či zastoupení jednotlivých iontů v prostředí (Vitt et al. 1993).

5 Závěr

Byly prokázány výborné regenerační schopnosti ohroženého mechu *Helodium blandowii* v klimaboxu i v terénu. Ze zkoumaných typů fragmentů regenerují nejlépe konce lodyžek. Větvičky regenerují o něco lépe, pokud mají zachovanou koncovou část a jsou delší. Zásadním problémem případných pokusů o rozšíření zkoumaného druhu v rámci jeho současných lokalit jsou však vhodné podmínky k uchycení a zabránění kompetici. Důležitý je tedy výběr místa pro gap a jeho tvorba a hlavně odstraňování konkurenčních druhů, dokud se nevytvoří konkurenceschopné trsy.

Populace zkoumaného mechu v České republice jsou ve většině případů tvořeny jediným klonem a na každé z nich se nachází odlišné genotypy. Pravděpodobně kvůli fragmentaci slatiništních biotopů jsou zcela izolované a genový tok mezi nimi neprobíhá. Omezená genetická variabilita i dosud probíhající genový tok byl prokázán pouze v naší největší populaci v NPP Ruda, tvořené dvěma subpopulacemi. I tato populace však má nižší genetickou diverzitu, než se podařilo prokázat na omezeném vzorku z populací ve Skandinávii a Litvě, u kterých genový tok probíhá a jejichž struktura genetické variability odpovídá více ostatním dosud publikovaným studiím.

6 Literatura

- Agapow P.-M. & Burt A. (2001): Indices of multilocus linkage disequilibrium. – *Molecular Ecology Notes* 1: 101–102.
- Albrecht et al. (2003): Českobudějovicko. – In: Mackovčín P. & Sedlářek M. (eds), *Chráněná území ČR, svazek VIII*, p. 546–547, AOPK ČR a EkoCentrum Brno, Praha.
- Allen B. (1999): *Conspectus of the mosses of Central Asia*. – *Monographs in Systematic Botany from Missouri Botanical Garden*.
- Anonymus (2012): Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 5 stycznia 2012 roku w sprawie gatunków dziko występujących roślin objętych ochroną. *Dz. U. Nr 151, poz. 1220*. (non vidi)
- Arnaud-Haond S. & Belkhir K. (2007): GENCLONE: a computer program to analyse genotypic data, test for clonality and describe spatial clonal organization. – *Molecular Ecology Notes* 7: 15–17.
- Barbé M., Chavel E. E., Fenton N. J., Imbeau L., Mazerolle M., Drapeau P. & Bergeron Y. (2014): Bryophyte dispersal by small mammals: from assumption to certitude. – *Botany-Botanique* 92: 641.
- Bates D., Maechler M., Bolker B. M. & Walker S. (2014a): lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and S4. R package version 1.1-7. – In: <http://CRAN.R-project.org/package=lme4> [návštěva 23. 10. 2014].
- Bates D., Maechler M., Bolker B. M. & Walker S. (2014b): lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and S4. – *Journal of Statistical Software*. (in press)
- Belyea L. R. (1999): A novel indicator of reducing conditions and water-table depth in mires. – *Functional Ecology* 13: 431–434.
- Benavides J. C. & Jesús I. S. de (2009): Digitized images provide more accuracy and efficiency to estimate bryophyte cover. – *The Bryologist* 112: 12–18.
- Bien W. F. (1999): Ecological factors influencing spatial patterns in *Sphagnum flavicomans* and *Sphagnum pulchrum* from the New Jersey pine barrens. – Ms. [disertační práce; depon in: Drexel University, Philadelphia.]
- Bonnet E. & Van de Peer Y. (2002): zt: a software tool for simple and partial Mantel tests. – *Journal of Statistical software* 7: 1–12.
- Booth R. K., Hotchkiss S. C. & Wilcox D. A. (2005): Discoloration of polyvinyl chloride (PVC) tape as a proxy for water-table depth in peatlands: validation and assessment of seasonal variability. – *Functional Ecology* 19: 1040–1047.
- Bradáčová J. (2011): Ekologie a rozšíření mechu *Helodium blandowii* v České republice. – Ms. [Bakalářská práce; depon. in: Jihočeská univerzita, České Budějovice.]
- Breil D. A. & Moyle S. M. (1976): Bryophytes used in construction of bird nests. – *The Bryologist* 79: 95–98.
- Brzyski J. R., Adams K. J., Walter Ch. M., Gale K. H. & McLetchie D. N. (2012): Characterization of 12 polymorphic microsatellite markers in the liverwort *Marchantia inflexa* (Marchantiaceae). – *American Journal of Botany* 99: e440–e442.
- Buryová B. & Hradílek Z. (2006): Clonal structure, habitat age and conservation value of the moss *Philonotis marchica* in Kotouč quarry (Czech Republic). – *Cryptogamie, Bryologie* 27: 375–382.
- Campeau S. & Rochefort L. (1996): *Sphagnum* regeneration on bare peat surfaces: field and greenhouse experiments. – *Journal of Applied Ecology* 33: 599–608.
- Clymo R. S. & Duckett J. G. (1986): Regeneration of *Sphagnum*. – *New Phytologist* 102: 589–614.

- Cobbaert D., Rochefort L. & Price J. S. (2004): Experimental restoration of a fen plant community after peat mining. – *Applied Vegetation Science* 7: 209–220.
- Correns C. (1899): Untersuchungen über die Vermehrung der Laubmoose durch Brutorgane und Stecklinge. – *Bryophytorum Bibliotheca* 7: 1–472.
- Dalen L. & Söderström L. (1999): Survival ability of moss diaspores in water – an experimental study. – *Lindbergia* 24: 49–58.
- Danihelka J., Chrtek J. J. & Kaplan Z. (2012): Checklist of vascular plants of the Czech Republic. – *Preslia* 84: 647–811.
- Davison G. W. H. (1976): Role of birds in moss dispersal. – *British Birds* 69: 65–66.
- Dieringer D. & Schlötterer Ch. (2003): Microsatellite analyser (MSA): a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. – *Molecular Ecology Notes* 3: 167–169.
- Dierßen K. (2001): Distribution, ecological amplitude and phytosociological characterization of European bryophytes. – *Bryophytorum Bibliotheca* 56: 1–289.
- Dítě D. & Šoltés R. (2002): Nová lokalita glaciálních relikto machorastov v Blatnej doline (Podtatranská brázda, Slovensko). – *Bulletin Slovenskej botanickej spoločnosti* 24: 39–41.
- Doyle J. J. & Doyle J. L. (1987): A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. – *Phytochemical Bulletin* 19: 11–15.
- Duckett J. G. & Clymo R. S. (1988): Regeneration of bog liverworts. – *New Phytologist* 110: 119–127.
- ECCB (1995): Red data book of european bryophytes. – The European Committee for Conservation of Bryophytes, Trondheim. – In: <http://www.nt.ntnu.no/users/soder/ECCB/RDBTaxon.php> [návštěva 15. 11. 2014].
- Eckel P. M. (2012): *Helodiaceae* Ochyra. Verze 1 (3. 4. 2012). – In: Bryophyte Flora of North America, Provisional – Missouri Botanical Garden – <http://www.mobot.org/plantscience/bfna/V2/HeloHelodium.htm> [návštěva 6. 12. 2014].
- Esri Inc. (2012): ArcGIS 10.1 Service Pack 1 (Language Packs), www.esri.com.
- Excoffier L. & Lischer H. E. L. (2010): Arlequin suite ver. 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. – *Molecular Ecology Resources* 10: 564–567.
- Forrest L. L., Wickett N. J., Cox C. J. & Goffinet B. (2011): Deep sequencing of *Ptilidium* (Ptilidiaceae) suggest evolutionary stasis in liverwort plastid genome structure. – *Plant Ecology and Evolution* 144: 29–43.
- Frahm J.-P. & Quandt D. (1999): Molekularsystematisch Untersuchungen zur Klärung der Frage von Xerotherm- und Glazialrelikten in der Moosflora Europas. – *Bryologische Rundbriefe* 29: 1–9.
- Frahm J.-P. (2008): Diversity, dispersal and biogeography of bryophytes (mosses). – *Biodiversity Conservation* 17: 277–284.
- Frey W. & Kürschner H. (2011): Asexual reproduction, habitat colonization and habitat maintenance in bryophytes. – *Flora* 206: 173–184.
- Fritsch R. (1983): Chromosome numbers of some mosses and liverworts from northern Poland. – *Lindbergia* 9: 160–162.
- Furness S. B. & Grime J. P. (1982): Growth rate and temperature responses in bryophytes. – *Journal of Ecology* 70: 525–536.
- Gignac L. D. (1992): Niche structure, resource partitioning, and species interactions of mire bryophytes relative to climatic and ecological gradients in western Canada. – *The Bryologist* 95: 406–418.

- Goldberg I. & Mogensen G. S. (2006): *Helodium blandowii*. – In: Goldberg I., Mogensen G. S., Jørgensen A., Larsen R. S., Andersen J. S. & Hviid T., Røddlistede mosser og laver i Storstrøms Amt 2006, p. 35, Storstrøms Amt, Nykøbing.
- Goncharova I. A. (2006): Some mosses species productivity in areas with redundant moistening in Tomsk region [in Russian]. – *Rastitel'nye Resursy* 42: 35–43.
- Goncharova I. A. (2008): Features of moss mat structure and productivity in forest-bog complexes of west Siberia. – *Contemporary Problems of Ecology* 1: 467–475.
- Goncharova I. A. & Benkov A. V. (2005): Dynamics of increment in green mosses of forest-boggy complexes in southern western Siberia [in Russian]. – *Lesovedenie* 1: 43–51.
- Goncharova I. A. & Sobachkin R. S. (2013): Annual increases and annual production of green mosses *Helodium blandowii* (Thuidiaceae) and *Hylocomium splendens* (Hylocomiaceae) in forests of Angara region [in Russian]. – *Rastitel'nye Resursy* 49: 490–497.
- Graf M. D. & Rochefort L. (2010): Moss regeneration for fen restoration: field and greenhouse experiments. – *Restoration Ecology* 18: 121–130.
- Gressitt J. L., Samuelson G. A. & Vitt D. H. (1968): Moss growing on living Papuan moss-forest weevils. – *Nature* 217: 765–767.
- Greven H. C. (1992): Changes in the moss flora of The Netherlands. – *Biological Conservation* 59: 133–137.
- Gunnarsson U. & Söderström L. (2007): Can artificial introductions of diaspore fragments work as a conservation tool for maintaining populations of the rare peatmoss *Sphagnum angermanicum*. – *Biological Conservation* 135: 450–458.
- Gunnarsson U., Hassel K. & Söderström L. (2005): Genetic structure of the endangered peat moss *Sphagnum angermanicum* in Sweden: A result of historic or contemporary processes? – *The Bryologist* 108: 194–203.
- Gustafson L., Appelgren L. & Nordin A. (2005): Biodiversity value of potential forest fertilisation stands, as assessed by red-listed and „signal“ bryophytes and lichens. – *Silva Fennica* 39: 191–200.
- Hardy O. J. & Vekemans X. (2002): SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. – *Molecular Ecology Notes* 2: 618–620.
- Heald F. de F. (1898): A study of regeneration as exhibited by mosses. – *Botanical Gazette* 26: 169–210.
- Hedenäs L. (2014): *Helodium blandowii* kärrkammossa. – In: Hedenäs L., Reisborg C. & Hallingbäck T., Nationalnyckeln till Sveriges flora och fauna, Bladmossor: Skirmossor–baronmossor, Bryophyta: Hookeria–Anomodon, p 163, ArtDatabanken, Uppsala.
- Heinken T., Lees R., Raudnitschka D. & Runge S. (2001): Epizoochorous dispersal of bryophyte stem fragments by roe deer (*Capreolus capreolus*) and wild boar (*Sus scrofa*). – *Journal of Bryology* 23: 293–300.
- Heinken T., Rohner M.-S. & Hoppert M. (2007): Red wood ants (*Formica rufa* group) disperse bryophyte and lichen fragments on a local scale. – *Nova Hedwigia* 131: 147–163.
- Herzog T. (1926): *Geographie der Moose*. – Gustav Fischer, Jena. [439 pp.]
- Hlásek J., Bureš J., Koupec B. & Rektoris L. (2009): Plán péče o zvláště chráněné území na období let 2009–2018, Národní přírodní památka Ruda. – Třeboň. [Depon. in: AOPK ČR – Správa chráněné krajinné oblasti Třeboňsko.]
- Holá E. (2008): Ekologická studie epixylických druhů *Lophozia ascendens* a *Anastrophyllum hellerianum* (Lophoziales). – Ms. [Diplomová práce; depon. in: Jihočeská univerzita, České Budějovice.]

- Holmen K. (1958): Cytotaxonomical studies in some Danish mosses. – *Botanisk Tidsskrift* 54: 23–43.
- Hornschuh M., Grotha R. & Kutschera U. (2006): Moss-associated methylobacteria as photosymbionts: an experimental study. – *Naturwissenschaften* 93: 480–486.
- Hradílek Z. (2011): *Helodium blandowii* (F. Weber & D. Mohr) Warnst. – plstnatec rašelinný. Verze 1.1 (6. 5. 2011). – In: Kučera J. (ed.), *Mechorosty České republiky – on-line klíče, popisy a ilustrace*. – <http://botanika.prf.jcu.cz/bryoweb/klic/genera/helodium.html> [návštěva 15. 11. 2014].
- Hutsemékers V., Dopagne C. & Vanderpoorten A. (2008a): How far and how fast do bryophytes travel at the landscape scale? – *Diversity and Distributions* 14: 483–492.
- Hutsemékers V., Hardy O. J., Mardulyn P., Shaw A. J. & Vanderpoorten A. (2010): Macroecological patterns of genetic structure and diversity in the aquatic moss *Platyhypnidium riparioides*. – *New Phytologist* 185: 852–864.
- Hutsemékers V., Risterucci A. M., Ricca M., Boles S., Hardy O. J., Shaw A. J. & Vanderpoorten A. (2008b): Identification and characterization of nuclear microsatellite loci in the aquatic moss *Platyhypnidium riparioides* (*Brachytheciaceae*): *Molecular Ecology Resources* 8: 1130–1132.
- Chopra R. S. & Sharma P. D. (1958): Regeneration in *Polytrichaceae*. – *Journal of the Indian Botanical Society* 37: 353–357.
- Chytrý M. (ed.) (2011): *Vegetace České republiky 3. Vodní a mokřadní vegetace*. – Academia, Praha. [828 pp.]
- Chytrý M. (ed.) (2013): *Vegetace České republiky 4. Lesní a křovinná vegetace*. – Academia, Praha. [551 pp.]
- Ignatov M. S. & Ignatova E. A. (2004): Moss flora of the Middle European Russia. Vol. 2. *Fontinalaceae–Amblystegiaceae* [in Russian]. – KMK Scientific Press, Moscow.
- Ignatov M. S., Afonina O. M. & Ignatova E. A. (2006): Check-list of mosses of east Europe and north Asia. – *Arctoa* 15: 1–130.
- Jarne P. & Lagoda P. J. L. (1996): Microsatellites, from molecules to populations and back. – *Trends in Ecology and Evolution* 11: 424–429.
- Karlin E. F., Boles S. B., Ricca M., Temsch E. M., Greilhuber J. & Shaw A. J. (2009): Three-genome mosses: complex double allopolyploid origins for triploid gametophytes in *Sphagnum*. – *Molecular Ecology* 18: 1439–1454.
- Karlin E. F., Giusti M. M., Lake R. A., Boles S. B. & Shaw A. J. (2010): Microsatellite analysis of *Sphagnum centrale*, *S. henryense* and *S. palustre* (*Sphagnaceae*). – *The Bryologist* 113: 90–98.
- Kimmerer R. W. & Young C. C. (1995): The role of slugs in dispersal of the asexual propagules of *Dicranum flagellare*. – *The Bryologist* 98: 149–153.
- Kimmerer R. W. (1991): Reproductive Ecology of *Tetraphis pellucida* II. Differential success of sexual and asexual propagules. – *The Bryologist* 94: 284–288.
- Kooijman A. M. (1992): The decrease of rich fen bryophytes in The Netherlands. – *Biological Conservation* 59: 139–143.
- Kooijman A. M. (1993): Causes of the replacement of *Scorpidium scorpioides* by *Calliergonella cuspidata* in eutrophicated rich fens 1. Field studies. – *Lindbergia* 18: 78–84.
- Kooijman A. M., Beltman B. & Westhoff V. (1994): Extinction and reintroduction of the bryophyte *Scorpidium scorpioides* in a rich-fen spring site in The Netherlands. – *Biological Conservation* 69: 87–96.

- Kophimai Y., Cornejo C., Peintinger M., Bergamini A. & Scheidegger Ch. (2011): Characterization of nuclear microsatellite loci in the calcareous fen specialist *Scorpidium cossonii* (Calliergonaceae). – American Journal of Botany: e290–e292.
- Kophimai Y., Peintinger M., Werth W., Cornejo C., Scheidegger Ch. & Bergamini A. (2014): Ploidy level, genetic diversity, and differentiation in two closely related mosses, *Scorpidium cossonii* and *S. revolvens* (Calliergonaceae). – Journal of Bryology 36: 33–43.
- Koressaar T. & Remm M. (2007): Enhancements and modifications of primer design program Primer3. – Bioinformatics 23: 1289–1291. – In: <http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/primer3/> [návštěva 15. 11. 2014].
- Korpelainen H., Cräutlein M. von, Laaka-Lindberg S. & Huttunen S. (2011): Fine-scale spatial genetic structure of a liverwort (*Barbilophozia attenuata*) within a network of ant trails. – Evolutionary Ecology 25: 45–57.
- Korpelainen H., Kostamo K. & Virtanen V. (2007): Microsatellite marker identification using genome screening and restriction-ligation. – BioTechniques 42: 479–486.
- Kučera J., Váňa J. & Hradílek Z. (2012): Bryophyte flora of the Czech Republic: updated checklist and Red List and a brief analysis. – Preslia 84: 813–850.
- Kumar S., Kumari R. & Sharma V. (2014): Genetics of dioecy and causal sex chromosomes in plants. – Journal of Genetics 93: 241–277.
- La Rue C. D. (1942): The effect of wounding, of wound hormones and of growth hormones on rhizoid formation in mosses and liverworts. – The Bryologist 45: 35–39.
- Laaka-Lindberg S., Korpelainen H. & Pohjamo M. (2003): Dispersal of asexual propagules in bryophytes. – Journal of Hattori Botanical Laboratory 93: 319–330.
- Laaka-Lindberg S., Hedderson T. A. & Longton R. E. (2000): Rarity and reproductive characters in the British hepatic flora. – Lindbergia 25: 78–84.
- Leonardía A. A. P., Kumar P. P. & Tan B. C. (2006): Development of microsatellite markers for the tropical moss, *Acanthorrhynchium papillatum*. – Molecular Ecology Notes 6: 396–398.
- Leonardía A. A. P., Tan B. C. & Kumar P. P. (2013): Population genetic structure of the tropical moss *Acanthorrhynchium papillatum* as measured with microsatellite markers. – Plant Biology 15: 384–394.
- Lewinski J. & Mogensen G. S. (1979): Distribution maps of bryophytes in Greenland 6. – Lindbergia 5: 105–108.
- Li Y. & Vitt D. H. (1994): The dynamics of moss establishment: temporal responses to nutrient gradients. – The Bryologist 97: 357–364.
- Liu Y., Ah-Peng C., Wilding N., Bardat J., Devos N., Carter B. & Shaw A. J. (2014): Population structure in the tropical peatmoss, *Sphagnum tumidulum* Besch. (*Sphagnaceae*). – The Bryologist 117: 329–335.
- Loiselle B. A., Sork V. L., Nason N. & Graham C. (1995): Spatial genetic structure of a tropical understory shrub, *Psychotria officinalis* (Rubiaceae). – American Journal of Botany 82: 1420–1425.
- Longton R. E. (1992): Reproduction and rarity in British mosses. – Biological Conservation 59: 89–98.
- Mälson K., Backéus I. & Rydin H. (2008): Long-term effects of drainage and initial effects of hydrological restoration on rich fen vegetation. – Applied Vegetation Science 11: 99–106.
- Mälson K. & Rydin H. (2007): The regeneration capabilities of bryophytes for rich fen restoration. – Biological Conservation 135: 435–442.

- Manukjanová A. (2011): Vybrané ekologické charakteristiky mechu *Hamatocaulis vernicosus* (*Calliergonaceae*). – Ms. [Diplomová práce; depon. in: Jihočeská univerzita, České Budějovice.]
- Manukjanová A., Štechová T. & Kučera J. (2014): Drought survival test of eight fen moss species. – *Cryptogamie, Bryologie* 35: 397–403.
- Manzke W. & Wentzel M. (2004): Zur akuten Gefährdung von *Helodium blandowii* (Web. & Mohr) Warnst. (Bryophyta) in Hessen. – *Limprichtia* 24: 163–168.
- Mathias A., Kisdi É. & Olivieri I. (2001): Divergent evolution of dispersal in a heterogenous landscape. – *Evolution* 55: 246–259.
- Mayer S. L. (1942): Physiological studies on mosses. IV. Regeneration in *Physcomitrium turbinatum*. – *Botanical Gazette* 104: 128–132.
- McDaniel S. F. & Miller N. G. (2000): Winter dispersal of bryophyte fragments in the Adirondack Mountains, New York. – *The Bryologist* 103: 592–600.
- McGregor R. L. (1961): Vegetative propagation of *Riccia rhenana*. – *The Bryologist* 64: 75–76.
- McQueen C. B. (1985): Spatial pattern and gene flow distances in *Sphagnum subtile*. – *The Bryologist* 88: 333–336.
- Miles C. J. & Longton R. E. (1990): The role of spores in reproduction in mosses. – *Botanical Journal of the Linnean Society* 104: 149–173.
- Miles C. J. & Longton R. E. (1992): Deposition of moss spores in relation to distance from parent gametophytes. – *Journal of Bryology* 17: 355–368.
- Miller N. G. & Ambrose L. J. H. (1976): Growth in culture of wind-blown bryophyte gametophyte fragments from Arctic Canada. – *The Bryologist* 79: 55–63.
- Mishler B. D. & Newton A. E. (1988): Influences of mature plants and desiccation on germination of spores and gametophytic fragments of *Tortula*. – *Journal of Bryology* 15: 327–342.
- Moose-Deutschland.de (2012): *Helodium blandowii*. Verze (27. 2.2012) – In: Internetplattform der Zentralstelle Deutschland, Dienstleistungszentrum für die Darstellung biologischer – http://www.moose-deutschland.de/gis2011/Suche_Moose_Deutschland.html [návštěva 4. 12. 2014]
- Navrátil J. & Navrátilová J. (2007): Wetland's succession in Ruda Nature Reserve, Czech Republic. – In: Okruszko T., Maltby E., Szatylowicz J., Swiatek D. & Kotowski W. (eds), *Wetlands: Monitoring, Modelling and Management*, p. 27–36, Taylor & Francis Group, London.
- Navrátilová J. & Hájek M. (2005): Recording relative water table depth using PVC tape discolouration: advantages and constraints in fens. – *Applied Vegetation Science* 8: 21–26.
- Navrátilová J. & Navrátil J. (2005): Stanovištní nároky některých ohrožených a vzácných rostlin rašelinišť Třeboňska. – *Zprávy České botanické společnosti* 40: 279–299.
- Newton A. E. & Mishler B. D. (1994): The evolutionary significance of asexual reproduction in mosses. – *Journal of Hattori Botanical Laboratory* 76: 127–145.
- NISM (2014): Online atlas of Swiss bryophytes. – In: http://www.nism.uzh.ch/map/map_en.php [návštěva 15. 11. 2014].
- Nunome T., Negore S., Miyatake K., Yamaguchi H. & Fukuoka H. (2006): A protocol for the construction of microsatellite enriched genomic library. – *Plant Molecular Biology Reporter* 24: 305–312.
- Ochyra R., Szmajda P., Bednarek H. & Bocheński W. (1988): M 484. *Helodium blandowii* (Web. & Mohr) Warnst. – In: Tobolewski Z. & Wojterski T. (eds), *Atlas of the geographical distribution of spore plants in Poland, Series V. Mosses (Musci), Part 3*, p. 27–33 + 1 mapa, Państwowe wydawnictwo naukowe, Warszawa, Poznań.

- Papp B., Erzberger P., Ódor P., Hock Zs., Szövényi P., Szurdoki E. & Tóth Z. (2010): Updated checklist and red list of Hungarian bryophytes. – *Studia Botanica Hungarica* 41: 31–59.
- Parsons J. G., Cairns A., Johnson C. N., Robson S. K. A., Shilton L. A. & Westcott D. A. (2007): Bryophyte dispersal by flying foxes: a novel discovery. – *Oecologia* 152: 112–114.
- Parsons J. G., Cairns A., Johnson C. N., Robson S. K. A., Shilton L. A. & Westcott D. A. (2007): Bryophyte dispersal by flying foxes: a novel discovery. – *Oecologia* 152: 112–114.
- Pauliuk F., Müller J. & Heinken T. (2011): Bryophyte dispersal by sheep on dry grassland. – *Nova Hedwigia* 92: 327–341.
- Pawlikowski P. (2006): Habitat preferences and indicator value of eight threatened brown moss species in rich fens of the Lithuanian Lake District (NE Poland). – *Polish Journal of Environmental Studies* 15: 232–237.
- Peakall R. & Smouse P. E. (2012): GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. – *Bioinformatics* 28: 2537–2539.
- Peng-cheng W., Mei-zhi W. & Ben-gu Z. (2002): *Helodium*. – In: Peng-cheng W., Crosby M. R. & He S. (eds.), Moss flora of China, english version, volume 6. Hookeriaceae-Thuidiaceae, p. 185, Science Press, Beijing; Missouri Botanical Garden Press, St. Louis.
- Pfeiffer T., Fritz S., Stech M. & Frey W. (2006): Vegetative reproduction and clonal diversity in *Rhitiidum rugosum* (Rhitiidiaceae, Bryopsida) inferred by morpho-anatomical and molecular analyses. – *Journal of Plant Research* 119: 125–135.
- Pinheiro J., Bates D., DebRoy S., Sarkar D. & R Core Team (2014): nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-118, <http://CRAN.R-project.org/package=nlme>. [návštěva 23. 10. 2014]
- Pohjamo M., Korpelainen H. & Kalinauskaitė N. (2008): Restricted gene flow in the clonal hepatic *Trichocolea tomentella* in fragmented landscapes. – *Biological Conservation* 141: 1204–1217.
- Pohjamo M., Laaka-Lindberg S., Ovaskainen O. & Korpelainen H. (2006): Dispersal potential of spores and asexual propagules in the epixylic hepatic *Anastrophyllum hellerianum*. – *Evolutionary Ecology* 20: 415–430.
- Poschlod P. & Schrag H. (1990): Regeneration vegetativer Teilchen von „Braunmoosen“. – *Telma* 20: 291–300.
- Price J. S. & Whitehead G. S. (2001): Developing hydrologic thresholds for *Sphagnum* recolonization on an abandoned cutover bog. – *Wetlands* 21: 32–40.
- Price J. S., Rochefort L. & Quilty F. (1998): Energy and moisture considerations on cutover peatlands: surface microtopography, mulch cover, and *Sphagnum* regeneration. – *Ecological Engineering* 10: 293–312.
- QGIS Development Team (2014): QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. – In: <http://qgis.osgeo.org> [návštěva 23. 10. 2014].
- R Core Team (2012): R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. – In: <http://www.R-project.org/> [návštěva 23. 10. 2014].
- Ramaiya M., Johnson M. G., Shaw B., Heinrichs J., Hentschel J., Konrat M. von, Davison P. G. & Shaw J. A. (2010): Morphologically cryptic biological species within the liverwort *Frullania asagrayana*. – *American Journal of Botany* 97: 1707–1718.
- Rincon E. (1988): Effect of initial shoot size on growth rates of five British grassland bryophytes. – *The Bryologist* 91: 219–222.

- Robinson S. C. & Miller N. G. (2013): Bryophyte diversity on Adirondack alpine summits is maintained by dissemination and establishment of vegetative fragments and spores. – *The Bryologist* 116: 382–391.
- Rochefort L. (2000): *Sphagnum* – A keystone genus in habitat restoration. – *The Bryologist* 103: 503–508.
- Rochefort L., Quinty F., Campeau S., Johnson K. & Malterer T. (2003): North American approach to the restoration of *Sphagnum* dominated peatlands. – *Wetlands Ecology and Management* 11: 3–20.
- Rolčík I. (ed.) (2014): Měsíční souhrny z amatérských meteostanic. – In: <http://www.pocasi-volary.cz/volary/stations/> [návštěva 6. 12. 2014].
- Ros R. M., Mazimpaka V., Abou-Salama U., Aleffi M., Blockeel T. L., Brugués M., Cros R. M., Dia M. G., Dirkse G. M., Draper I., El-Saadawi W., Erdağ A., Ganeva A., Gabriel R., González-Mancebo J. M., Granger C., Herrnstadt I., Hugonnot V., Khalil K., Kürschner H., Losada-Lima A., Luís L., Mifsud S., Privitera M., Puglisi M., Sabovljević M., Sérgio C., Shabbara H. M., Sim-Sim M., Sotiaux A., Tacchi R., Vanderpoorten A. & Werner O. (2013): Mosses of the Mediterranean, an annotated checklist. – *Cryptogamie, Bryologie* 34: 99–283.
- Rowntree J. K., Pressel S., Ramsay M. M., Sabovljević A. & Sabovljevic M. (2011): *In vitro* conservation of European bryophytes. – *In Vitro Cellular & Developmental Biology* 47: 55–64.
- Rudolphi J. (2009): Ant-mediated dispersal of asexual moss propagules. *The Bryologist* 112: 73–79.
- Rusińska A., Górski P., Gąbka M., Stebel A., Fudali E., Szczepański M., Rosadziński S., Wolski G., Pisarek W., Zubel R., Staniaszek-Kik M., Pawlikowski P., Wilhelm M., Salachna A. & Zalewska-Gałosz J. (2009): Bryoflora of the spring fen „Makaty“ in north-western Wielkopolska region. – *Botanika – Steciana* 13: 155–166.
- Rybníček K. (1966): Glacial relics in the bryoflora of the highlands Českomoravská vrchovina (Bohemian-Moravian Highlands); their habitat and cenotaxonomic value. – *Folia Geobotanica et Phytotaxonomica Bohemoslovaca* 1: 101–119.
- Sabovljević A., Vujičić M., Skorić M., Bajić-Ljubičić J. & Sabovljević M. (2012): Axenically culturing the bryophytes: establishment and propagation of the pleurocarpous moss *Thamnobryum alopecurum* Nieuwland ex Gangulee (Bryophyta, *Neckeraceae*) in *in vitro* conditions. – *Pakistan Journal of Botany* 44: 339–344.
- Sabovljević M., Natcheva R., Dihoru G., Tsakiri E., Dragičević S., Erdağ A. & Papp B. (2008): Check-list of the mosses of SE Europe. – *Phytologia Balcanica* 14: 207–244.
- Selkirk P. M. (1980): Regeneration from *Dawsonia* leaves. – *The Bryologist* 83: 542–544.
- Shaw A. J. (2000): Population ecology, population genetics, and microevolution. – In: Shaw A. J. & Goffinet B. (eds), *Bryophyte biology*, p. 369–402, Cambridge University Press, Cambridge.
- Shaw A. J., Cao T., Wan L.-S., Flatberg K. I., Flatberg B., Shaw B., Zhou P., Boles S. & Terracciano S. (2008): Genetic variation in three Chinese peat mosses (*Sphagnum*) based on microsatellite markers, with primer information and analysis of ascertainment bias. – *The Bryologist* 111: 271–281.
- Schneider M. J. & Sharp A. J. (1962): Observations on the reproduction of the gametophyte of *Tetraphis pellucida* in culture. – *The Bryologist* 65: 154–166.
- Schuelke M. (2000): An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. – *Nature Biotechnology* 18: 233–234.
- Schug M. D., Mackay T. F. C. & Aquadro Ch. F. (1997): Low mutation rates of microsatellite loci in *Drosophila melanogaster*. – *Nature Genetics* 15: 99–102.

- Siebel H. N., Bijlsma R. J. & Sparrius L. B. (2013): Basisrapport voor de Rode Lijst Mossen 2012. – In: Naamlijst van de Nederlandse mossen <http://www.verspreidingsatlas.nl/soortenlijst/mossen> [návštěva 15. 11. 2014].
- Siebel H. N., During H. J. & van Melick H. M. H. (2005): Standaardlijst van de Nederlandse blad-, lever- en hauwmossen. – In: Naamlijst van de Nederlandse mossen <http://www.verspreidingsatlas.nl/soortenlijst/mossen> [návštěva 15. 11. 2014].
- Skalický V. (1988): Regionálně fytogeografické členění. – In: Hejný S. & Slavík B. (eds), Květena ČR, vol. 1., p. 103–121, Academia, Praha.
- Smagin V. A. (1999): Vegetation of eutrophic fens in the north of european Russia [in Russian]. – *Botanicheskii Zhurnal* 84: 75–86.
- Smith A. J. E. (2004): *Helodium blandowii*. – In: Smith A. J. E., The moss flora of Britain and Ireland, p. 754, Cambridge University Press, Cambridge.
- Söderström L. & Herben T. (1997): Dynamics of bryophyte metapopulations. – *Advances in Bryology* 6: 205–240.
- Söderström L. & Jonsson B. G. (1989): Spatial pattern and dispersal in the leafy hepatic *Ptilidium pulcherrimum*. – *Journal of Bryology* 15: 793–802.
- Sotiaux A., Stieperaere H. & Vanderpoorten A. (2007): Bryophyte checklist and european red list of the Brussels-Capital region, Flanders and Wallonia (Belgium). – *Belgian Journal of Botany* 140: 174–196.
- StatSoft Inc. (2013): Statistica (data analysis software system), version 12. www.statsoft.com.
- Stoneburner A., Lane D. M. & Anderson L. E. (1992): Spore dispersal distances in *Atrichum angustatum* (Polytrichaceae). – *The Bryologist* 95: 324–328.
- Sun J. X., Helgason A., Masson G., Ebenesersdóttir S. S., Li H., Mallick S., Gnerre S., Patterson A. K., Reich D. & Stefansson K. (2012): A direct characterization of human mutation based on microsatellites. – *Nature Genetics* 44: 1161–1165.
- Šoltés R. (1998): Glacial relic moss species *Helodium blandowii* in Poprad Basin. – *Biologia* 53: 140.
- Šoltés R. (2004): Glaciálne reliktý machorastov na Slovensku – charakteristika stanovišť, multivariantná analýza. – *Biosozológia* 2: 13–29.
- Šoltés R., Hrivnák R. & Dítě D. (2004): *Helodium blandowii* (Bryophyta) na Slovensku, chorológia, ekológia a cenológia. – *Bulletin Slovenskej botanickej spoločnosti* 10: 101–105.
- Štechová T. (2005): Ekologická studie druhu *Hamatocaulis vernicosus* (Amblystegiaceae, Bryophyta) a návrh managementu na jeho lokalitách. – Ms. [Diplomová práce; depon. in: Jihočeská univerzita, České Budějovice.]
- Štechová T. (2012): Výskyt ohroženého rašeliništního mechu *Drepanocladus polygamus* v jižních Čechách. – *Sborník Jihočeského muzea v Českých Budějovicích, Přírodní vědy* 52: 112–118.
- Štechová T. & Kučera J. (2007): The requirements of the rare moss, *Hamatocaulis vernicosus* (Calliergonaceae, Musci), in the Czech Republic in relation to vegetation, water chemistry and management. – *Biological Conservation* 135: 443–449.
- Štechová T., Kučera J. & Šmilauer P. (2012): Factors affecting population size and vitality of *Hamatocaulis vernicosus* (Mitt.) Hedenäs (Calliergonaceae, Musci). – *Wetlands Ecology and Management* 20: 329–339.
- Štechová T., Manukjanová A., Holá E., Kubešová S., Novotný I. & Zmrhalová M. (2010): Současný stav populací druhů *Helodium blandowii* (Thuidiaceae) a *Scorpidium scorpioides* (Calliergonaceae) v České republice. – *Bryonora* 46: 24–33.

- Štechová T., Manukjanová A., Vicherová E. & Kučera J. (2013): Výskyt vzácných a ohrožených druhů rašeliníků na Třeboňsku. – Sborník Jihočeského muzea v Českých Budějovicích, Přírodní vědy 53: 120–127.
- Templeton A. R., Shaw K., Routman E. & Davis S. K. (1990): The genetic consequences of habitat fragmentation. – *Annals of the Missouri Botanical Garden* 77: 13–27.
- Tsegmed T. (2001): Checklist and distribution of mosses in Mongolia. – *Arctoa* 10: 1–18.
- Untergrasser A., Cutcutache I., Koressaar T., Ye J., Faircloth B. C., Remm M. & Rozen S. G. (2012): Primer3 – new capabilities and interfaces. – *Nucleic Acids Research* 40: e115. – In: <http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/primer3/> [návštěva 15. 11. 2014].
- van der Velde M. & Bijlsma R. (2000): Amount and structure of intra- and interspecific genetic variation in the moss genus *Polytrichum*. – *Heredity* 85: 328–337.
- van der Velde M., van de Zande L. & Bijlsma R. (2001): Genetic structure of *Polytrichum formosum* in relation to the breeding system as revealed by microsatellites. – *Journal of Evolutionary Biology* 14: 288–295.
- van Tooren B. F. & During H. J. (1988): Viable plant diaspores in the guts of earthworms. – *Acta Botanica Neerlandica* 37: 181–185.
- Vanderpoorten A. & Tignon M. (2000): Amplified fragments length polymorphism between populations of *Amblystegium tenax* exposed to contrasting water chemistries. – *Journal of Bryology* 22: 257–262.
- Velehradská T. (2013): Vliv managementu na vybrané druhy mechů rašelinných luk (*Breidleria pratensis*, *Sphagnum warnstorffii*, *Tomentypnum nitens*) – Ms. [Diplomová práce; depon in: Jihočeská univerzita, České Budějovice.]
- Vitt D. H., van Wirdum G., Halsey L. & Zoltai S. (1993): The effects of water chemistry on the growth of *Scorpidium scorpioides* in Canada and The Netherlands. – *The Bryologist* 96: 106–111.
- Ward M. (1960): Vegetative propagation from intact leaves of *Polytrichum commune* Hedw. – *Phytomorphology* 10: 325–329.
- Werner O., Ros R. M. & Guerra J. (2002): Direct amplification and NaOH extraction: Two rapid and simple methods for preparing bryophyte DNA for polymerase chain reaction (PCR). – *Journal of Bryology* 24: 127–131.
- Westerdijk J. (1907): Zur Regeneration der Laubmoose. – *Recueil Travaux Botanique Néerlandaise* 3: 1–66.
- Wilson P. J. & Provan J. (2003): Effect of habitat fragmentation on levels and patterns of genetic diversity in natural populations of the peat moss *Polytrichum commune*. – *Proceedings of the Royal Society of London B* 270: 881–886.
- Wyatt R. (1982): Population ecology of bryophytes – *Journal of Hattori Botanical Laboratory* 52: 179–198.

7 Přílohy

Příloha 1: Sledování dynamiky porostu.

Příloha 2: Regenerace úlomků větviček v terénu – primární data.

Příloha 3: Růst předpěstovaných lodyžek v terénu – primární data.

Příloha 4: Doplnující grafy k pokusům v terénu.

Příloha 5: Regenerace fragmentů v klimaboxu – primární data.

Příloha 6: Genetická struktura populací – primární data.

Příloha 7: Fotografie.

Příloha 1: Sledování dynamiky porostu.



Obr. P1: Stav čtverce při zakládání 26. 8. 2012.



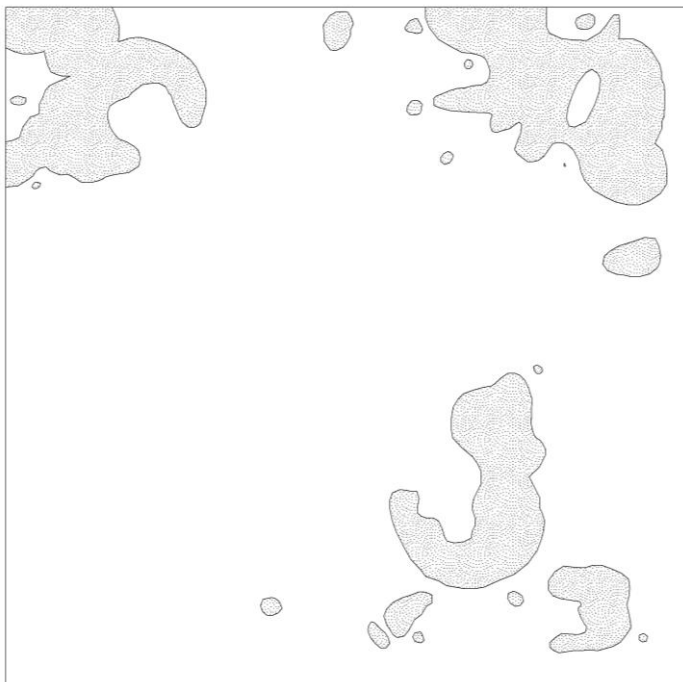
Obr. P2: Stav čtverce 22. 4. 2013.



Obr. P3: Stav čtverce 28. 7. 2013.



Obr. P4: Stav čtverce 20. 10. 2013.



Obr. P5: Stav čtverce 21. 4. 2014.



Obr. P6: Stav čtverce 24. 7. 2014.



Obr. P7: Stav čtverce 24. 10. 2014.

Příloha 2: Regenerace úlomků větviček v terénu – primární data.

	část	1 - 28. 6. 2013		2 - 20. 10. 2013		3 - 21. 4. 2014		4 - 24. 7. 2014		
		počet	prům. délka [cm]	počet	prům. délka [cm]	počet	prům. délka [cm]	počet	prům. délka [cm]	výška hladiny vody [cm]
1	V1	0	0	0	0	4	0,5	2	1	-1
2	V1	4	1	13	1,5	9	1,8	11	2,5	0,5
3	V1	7	1,5	15	2	16	1,5	5	1	-2
4	V1	5	0,5	6	1	5	1,7	6	3	-4
5	V1	2	1	0	0	0	0	0	0	-6,75
6	V1	2	1	2	1,5	2	2	2	3,5	-2,5
7	V1	5	2	12	3	13	1,5	15	2	-1,5
8	V1	0	0	2	1	0	0	0	0	-5
9	V1	5	0,5	2	1	3	0,5	4	2	-9
10	V1	0	0	9	1,5	10	2	4	2	-1,75
11	V1	8	1	14	1	18	1,25	17	1,5	-2,25
12	V1	1	1	13	1	7	0,75	10	1,5	-19
13	V1	0	0	0	0	0	0	0	0	-0,5
14	V1	0	0	0	0	5	1	5	1,5	-9,5
15	V1	1	1	6	1,5	4	1,25	3	1	-1,5
průměr		2,67	0,7	6,27	1,07	6,40	1,05	5,6	1,5	-4,38

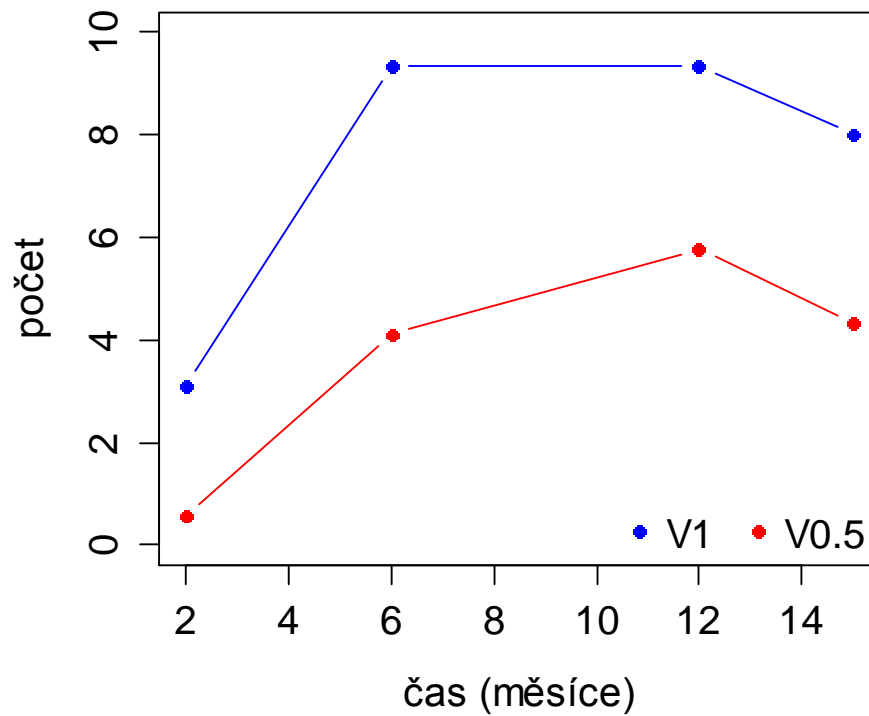
1	V0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	-0,5
2	V0,5	0	0	7	2	9	1,5	6	1	-3,5
3	V0,5	3	1	6	1	7	1,5	6	1	-3,75
4	V0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	-1,5
5	V0,5	0	0	2	1	4	1,5	4	1,5	0
6	V0,5	0	0	4	1	12	1	10	2,5	-1
7	V0,5	0	0	6	1,5	6	1	3	2	-4
8	V0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	-13
9	V0,5	0	0	2	0,5	0	0	0	0	-7,5
10	V0,5	0	0	3	1	4	1,25	0	0	1
11	V0,5	2	1	8	2	8	1,8	7	1,5	-3,75
12	V0,5	0	0	0	0	2	0,5	2	1	-15
13	V0,5	4	1,5	10	2	13	1,3	7	4	-1
14	V0,5	0	0	2	1	3	1,6	4	1,75	-6,5
15	V0,5	0	0	1	2	1	1,5	1	2	-12,5
Průměr		0,6	0,23	3,4	1	4,6	0,96	3,33	1,22	-4,83

Příloha 3: Růst předpěstovaných lodyžek v terénu – primární data.

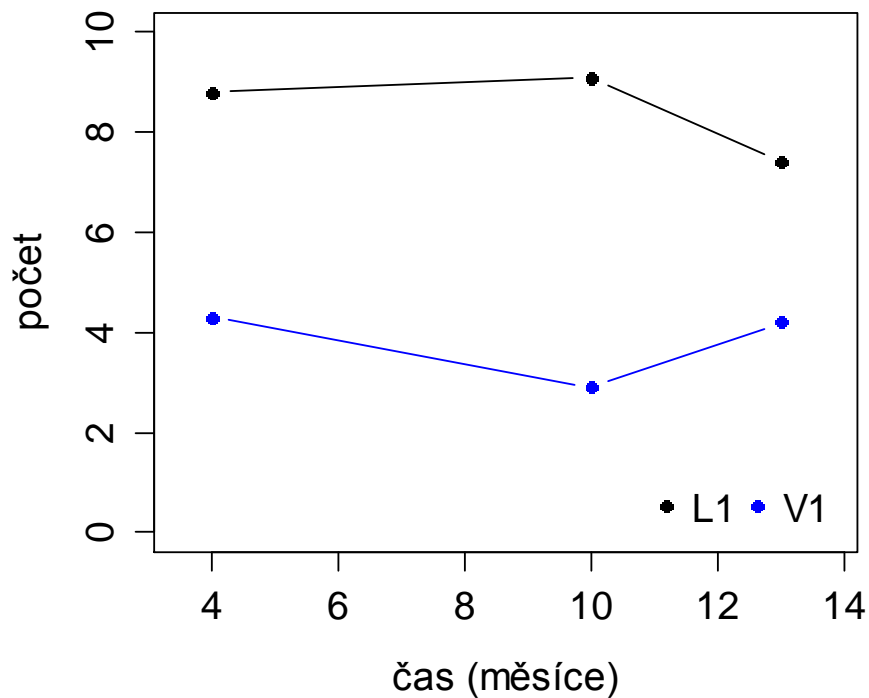
	část	1 - 20. 10. 2013		2 - 21. 4. 2014		3 - 24. 7. 2014	
		počet	prům. délka [cm]	počet	prům. délka [cm]	počet	prům. délka [cm]
1	L1	7	1,5	8	1,5	4	1,5
2	L1	15	2,5	16	1,5	14	4
3	L1	11	4	13	3	5	2,4
4	L1	5	4	6	3,25	8	4
5	L1	9	4	3	0,5	6	2
6	L1	5	2,5	2	1	3	2
7	L1	8	3	8	3	7	1,5
8	L1	9	4	15	1	11	1,5
9	L1	13	3	14	3,5	10	5
10	L1	6	2	6	2	6	2
průměr		8.8	3,05	9,1	2,03	7,4	2,59

1	V1	3	0,5	0	0	7	2
2	V1	5	1,5	3	0,5	0	0
3	V1	7	0,5	4	1	4	0,75
4	V1	2	0,5	3	1,5	2	2
5	V1	10	2	5	2,5	13	4,5
6	V1	0	0	1	0,5	0	0
7	V1	3	1,5	3	1,5	3	2
8	V1	2	1	2	0,5	3	0,5
9	V1	2	1,5	1	2	0	0
10	V1	9	2	7	2	10	1,5
průměr		4.3	1,1	2,9	1,2	4,2	1,33

Příloha 4: Doplnující grafy k pokusům v terénu.



Obr. P8 : Průměrný počet lodyžek vyrostlých v terénu z 1 cm větvíček (V1) a 0,5 cm větvíček (V0,5) v jednotlivých měsících od založení pokusu.



Obr. P9: Průměrný počet přežívajících lodyžek, vyrostlých v klimaboxu z 1 cm konců lodyžek (L1) a větvíček (V1), v jednotlivých měsících od založení pokusu.

Příloha 5: Regenerace fragmentů v klimaboxu – primární data.

	část	délka 1 [cm]	počet 1	rhizoidy 1	délka 2 [cm]	počet 2	rhizoidy 2	délka 3 [cm]	počet 3	rhizoidy 3	délka4 [cm]	počet 4	rhizoidy 4
1	L1	2,196752	3	0	10,28051	10	0	31,4529	17	0			
2	L1	3,095128	2	0	13,77402	11	0	35,54478	25	0			
3	L1	3,995128	8	0	19,87077	21	1	43,34641	37	2			
4	L1	2,895128	4	0	14,47239	6	0	51,02205	29	2			
5	L1	4,19188	2	0	17,16914	8	0	36,34966	23	1			
6	L1	5,645128	10	0	21,67239	26	0	52,03829	42	0			
7	L1	4,09188	3	0	15,57077	15	0	44,14316	37	0			
8	L1	3,79188	1	0	12,17402	4	0	46,73017	33	0			
9	L1	2,895128	3	0	17,26752	12	0	47,52692	33	2			
10	L1	2,895128	2	0	17,56752	13	0	39,35128	32	0			
11	L1	2,395128	2	0	15,76914	14	0	53,22205	35	1			
12	L1	2,395128	2	0	14,86914	8	0	44,04154	29	0			
13	L1	2,095128	0	0	11,87564	8	0	42,73017	24	2			
14	L1	2,795128	4	0	12,27564	9	0	21,46427	19	0			
15	L1	2,695128	3	0	15,57077	9	0	44,63017	28	0			
16	L1	3,145128	4	0	20,96427	17	0	44,73504	33	1			
17	L1	3,393504	4	0	17,46752	15	0	48,92692	38	0			
18	L1	3,096752	4	0	20,0659	17	0	50,53179	35	0			
19	L1	2,696752	5	0	18,86914	20	0	55,82367	40	1			
20	L1	2,245128	2	0	18,46427	13	0	47,82854	35	2			
21	L1	3,045128	3	0	16,17077	16	0	46,82854	36	1			
22	L1	3,195128	4	0	18,2659	16	0	63,10581	42	0			
23	L1	2,595128	3	0	12,17564	8	0	33,14803	23	0			
24	L1	2,196752	3	0	19,16752	16	0	46,93504	36	0			
25	L1	2,795128	2	0	12,67564	10	0	19,96752	22	0			
26	L1	5,490256	5	0	22,76102	18	0	56,9253	41	3			
27	L1	4,19188	3	0	20,0659	23	0	56,83017	45	2			
28	L1	3,79188	1	0	14,47239	12	0	47,92692	37	0			
29	L1	2,895128	2	0	14,17239	11	0	45,23179	34	0			
30	L1	1,396752	0	0	14,66914	10	0	48,02854	30	0			
31	L1	2,895128	2	0	18,56427	12	2	43,21068	18	0			
32	L1	1,698376	5	0	15,17564	17	2	42,84316	34	2			
33	L1	3,49188	0	0	17,16427	10	0	38,84803	27	0			
34	L1	4,59188	4	0	16,37077	14	0	38,04803	32	0			
35	L1	3,243504	3	0	18,16752	15	0	39,04966	29	0			
36	L1	1,6	2	0	11,38376	5	2	42,04641	29	2			
37	L1	1,996752	3	0	18,77239	22	2	39,34478	36	0			
38	L1	2,295128	1	0	19,16427	12	0	54,52042	36	0			
39	L1	1,5	2	0	7,888632	2	1	28,4594	18	0			
40	L1	3,093504	1	0	16,86752	12	0	50,82692	37	1			

41	L1	1,098376	1	0	14,47239	10	0	39,44641	28	0			
42	L1	2,895128	2	0	12,77564	10	0	37,34154	25	0			
43	L1	2,096752	4	0	12,47564	12	0	31,06265	28	0			
44	L1	3,693504	4	0	17,66752	15	0	44,72205	31	0			
45	L1	1,098376	2	0	13,37564	13	0	38,84641	25	2			
46	L1	2,495128	1	0	14,27402	15	0	53,02367	33	1			
47	L1	5,290256	4	0	14,07239	12	0	66,39606	44	0			
48	L1	2,896752	5	0	13,87726	11	0	43,64641	31	2			
49	L1	3,195128	3	0	20,96265	15	0	54,0253	34	2			
50	L1	2,196752	4	0	17,27239	21	0	48,43342	37	2			
51	L1	3,393504	4	0	13,67402	13	0	36,84803	29	0			
52	L1	3,195128	5	0	19,76427	16	0	61,21555	41	1			
53	L1	3,79188	1	0	16,7659	10	0	50,03342	29	1			
54	L1	2,545128	3	0	14,17564	16	0	38,04641	32	2			
55	L1	3,393504	3	0	13,87402	14	0	39,14803	31	2			
56	L1	3,445128	5	0	18,76752	17	0	57,02042	39	1			
57	L1	1,098376	2	0	12,57564	10	0	32,75453	28	0			
58	L1	3,99188	2	0	15,97402	18	0	42,94154	32	0			
59	L1	3,893504	4	0	16,57239	18	0	45,03829	35	0			
60	L1	3,193504	1	0	17,7659	12	0	55,61068	33	0			
1	V1	0,2	1	2	1,8	1	3	4,9	1	3			
2	V1	0,1	2	2	2,3	2	2	3,6	2	0			
3	V1	0,4	0	2	1,6	0	3	3,5	0	2			
4	V1	0,2	0	1	1,4	0	2	3,5	1	3			
5	V1	0,4	0	1	1,6	0	1	3,8	1	0			
6	V1	0,1	0	2	2,1	1	3	4,5	1	0			
7	V1	0,1	0	1	2,5	1	2	6,3	3	1			
8	V1	0,5	0	1	2,1	1	3	5,6	5	2			
9	V1	0,4	0	1	1,7	0	3	5,7	3	2			
10	V1	0,5	0	1	2,8	2	3	6,6	6	2			
11	V1	0,9	1	2	2,8	2	3	3,2	0	2			
12	V1	0,6	0	1	2,4	1	2	4,8	2	2			
13	V1	0,3	0	0	1,6	0	3	4,5	2	3			
14	V1	0,6	0	1	2	1	3	5,1	4	1			
15	V1	0,3	0	1	2,2	2	1	4,4	3	2			
16	V1	0,1	0	2	1,6	0	3	3,7	0	4			
17	V1	0,1	0	1	1,9	1	2	4,2	1	2			
18	V1	0,8	1	1	2,7	1	1	5,8	5	1			
19	V1	0,6	0	1	2,3	1	3	4,7	2	0			
20	V1	0,4	0	1	2	0	3	4,2	0	3			
21	V1	0,7	1	1	2,9	1	2	5,2	1	1			
22	V1	0,3	0	1	2,8	2	2	5,8	6	2			
23	V1	0,4	0	1	1,3	1	2	3,5	1	0			
24	V1	0,4	0	2	1,75	1	3	3,5	2	3			

25	V1	0,4	0	1	2,2	1	3	3,4	1	1			
26	V1	0,1	0	2	1,6	1	3	3,6	2	2			
27	V1	0,6	1	1	3,3	3	3	6,2	5	2			
28	V1	0,5	0	1	1,5	0	2	4,6	3	3			
29	V1	0,5	0	2	1,9	0	3	4,2	2	2			
30	V1	0,3	0	1	1,7	0	3	4,5	2	2			
31	V1	0,6	2	1	2,1	2	3	5,1	3	3			
32	V1	0,6	0	1	2	0	3	6,9	2	2			
33	V1	0,5	0	1	2	0	2	4,5	1	3			
34	V1	0,1	0	2	1,8	1	1	3,5	2	1			
35	V1	0,4	0	1	2	1	2	5,5	6	2			
36	V1	0,2	0	1	1,7	1	2	3,8	1	1			
37	V1	0,3	0	1	1,4	0	3	3,5	0	2			
38	V1	0,4	0	1	2,4	1	2	5,5	4	0			
39	V1	0,6	0	1	2,5	2	2	5,2	4	1			
40	V1	0,4	0	0	2,1	2	1	6,7	7	0			
41	V1	1,1	1	1	4,1	2	2	9,2	10	2			
42	V1	0,5	0	1	1,9	1	2	5,2	2	1			
43	V1	0,3	0	1	2	0	3	4,3	3	1			
44	V1	0,5	0	1	2,2	2	2	4,1	2	2			
45	V1	0,2	0	1	1,8	0	3	3	1	3			
46	V1	0,5	1	1	3,2	3	3	9,3	5	3			
47	V1	0,5	0	1	2	0	2	5,1	1	1			
48	V1	0,3	0	1	1,7	0	3	3,5	0	3			
49	V1	0,3	0	2	1,7	0	3	3,4	0	2			
50	V1	0,2	0	2	1,3	0	3	5,4	4	2			
51	V1	0,4	0	1	2,2	1	2	5	5	0			
52	V1	0,2	0	1	1,5	0	2	5,1	1	2			
53	V1	0,1	0	2	1,3	0	3	3	0	2			
54	V1	0,3	0	2	1,8	0	3	4,7	3	3			
55	V1	0,6	0	2	2,1	0	3	4,9	1	1			
56	V1	0,4	0	1	2,3	1	2	5,3	6	2			
57	V1	0,4	0	1	1,9	0	3	4,9	2	4			
58	V1	0,6	0	2	2,8	1	3	5	3	2			
59	V1	0,3	0	2	2,3	1	3	4,7	2	3			
60	V1	0,3	0	1	1,5	0	2	3,4	0	1			
1	V0.5S	0,3	0	1	1,7	0	3	4,5	1	3	8,3	1	2
2	V0.5S	0,4	0	1	2	1	1	5,4	4	1	6,2	0	4
3	V0.5S	0,8	1	2	1,8	1	3	5,1	4	3	6,9	4	3
4	V0.5S	0,5	0	1	1,5	0	1	3,4	1	2	6,2	1	2
5	V0.5S	0,1	0	1	0,9	0	2	2,7	0	1	3,7	0	1
6	V0.5S	0,5	0	1	2,6	0	1	3,5	2	2	7,7	3	1
7	V0.5S	0,4	0	1	2,1	2	2	4,5	2	1	7,2	3	1
8	V0.5S	0,5	0	1	1,5	0	3	3,4	0	4	5,4	0	3

9	V0.5S	0,4	0	1	1,9	0	3	5,5	4	3	10,1	9	1
10	V0.5S	0,6	0	1	1,9	0	3	4,6	0	2	7,2	0	3
11	V0.5S	0,2	0	2	1,4	1	3	5,1	2	4	9,9	2	3
12	V0.5S	0,5	0	2	1,7	0	2	3,3	0	2	4,1	0	2
13	V0.5S	0,4	0	1	2	0	3	4,6	2	3	7,8	2	2
14	V0.5S	0,8	0	1	2,4	0	3	4,4	3	1	7,1	6	2
15	V0.5S	0,3	0	1	1,2	0	1	2,5	0	1	3,8	0	2
16	V0.5S	0,4	0	0	1,7	0	2	4,2	4	2	6,7	4	2
17	V0.5S	0,6	0	1	2,2	1	2	3,5	3	2	7,7	0	3
18	V0.5S	0,4	0	1	1,7	0	1	4,4	3	1	6,3	4	2
19	V0.5S	0,8	0	1	3,2	2	3	7,3	9	2	11,1	11	2
20	V0.5S	0,3	0	1	1,5	0	2	2,7	2	4	5,5	3	3
21	V0.5S	0,4	0	1	1,8	0	2	3,3	0	2	4,8	0	2
22	V0.5S	0,1	0	1	1,3	0	2	3	0	3	4,8	0	3
23	V0.5S	0,5	0	1	1,7	0	2	3,8	1	2	5,9	1	2
24	V0.5S	0,6	0	1	2	1	3	3,9	2	3	6,8	2	2
25	V0.5S	0,4	0	1	1,5	0	3	5,2	5	4	9,2	5	2
26	V0.5S	0,8	0	1	2,4	1	2	4,1	1	2	6,6	1	1
27	V0.5S	0,5	0	1	1,8	0	2	4,7	3	2	6,5	3	2
28	V0.5S	0,5	0	1	1,3	0	1	3,3	0	3	5,4	0	2
29	V0.5S	0,7	0	2	2,3	1	3	4,4	1	2	7,9	1	2
30	V0.5S	0,7	0	1	2	0	2	5,4	3	2	7,7	4	2
31	V0.5S	0,8	1	0	2,1	1	3	4,8	0	4	6,7	3	2
32	V0.5S	1,4	3	1	4,1	3	3	7,1	10	0	9,4	12	2
33	V0.5S	0,7	0	1	1,8	0	3	5	1	4	8,7	1	3
34	V0.5S	0,4	0	1	1,7	0	2	3,2	0	4	3,1	0	2
35	V0.5S	0,4	0	1	1,3	1	3	4,2	3	2	6,2	4	1
36	V0.5S	0,1	0	2	1,2	0	2	2,5	0	3	4,7	0	3
37	V0.5S	0,4	0	1	1,9	1	2	4,3	1	1	6,5	1	2
38	V0.5S	0,6	0	1	2,1	0	1	5,1	3	3	10	3	3
39	V0.5S	0,1	2	1	1,1	1	3	4,2	3	2	6,7	3	2
40	V0.5S	0,3	0	0	1,7	0	2	4,1	1	2	6,1	2	1
41	V0.5S	0,9	2	0	2,7	3	2	7,8	10	2	14,5	12	1
42	V0.5S	0,4	0	1	1,6	0	2	4	3	2	7,9	3	2
43	V0.5S	0,3	0	1	1,8	0	2	4	0	1	6,3	1	1
44	V0.5S	0,4	0	1	1,9	0	2	3,4	1	4	4,9	1	4
45	V0.5S	0,3	0	1	2	0	3	3,2	0	3	4,8	0	2
46	V0.5S	0,2	0	1	1,9	1	1	6,2	2	2	9,3	1	3
47	V0.5S	0,4	0	0	2,1	1	1	5	1	2	5,1	1	3
48	V0.5S	0,4	0	1	1,6	0	3	2,5	1	4	3,7	0	3
49	V0.5S	0,2	0	1	1,8	0	3	2,1	0	3	3,5	0	2
50	V0.5S	0,3	0	1	1,7	0	3	4,8	2	2	8,1	6	3
51	V0.5S	0,4	0	1	1,5	0	2	3,9	2	2	7,1	2	1
52	V0.5S	0,5	0	1	2,2	0	2	4,7	0	2	7,3	0	3

53	V0.5S	0,6	0	1	1,7	0	3	3,6	0	4	5,6	0	4
54	V0.5S	0,3	1	1	2,3	1	2	5,8	3	2	10,3	3	3
55	V0.5S	0,5	0	2	1,7	0	3	4,3	0	3	6,5	0	2
56	V0.5S	0,4	0	1	2,7	1	1	4,9	3	1	7	2	2
57	V0.5S	0,5	0	1	1,8	0	2	3,8	0	3	5,9	0	2
58	V0.5S	0,7	0	1	1,5	0	2	5,3	2	3	8,2	6	2
59	V0.5S	0,3	0	2	1,3	0	3	4,2	2	3	4,4	2	3
60	V0.5S	0,5	0	1	1,7	0	1	3,6	0	1	5,1	0	1
1	V0.5B	0	0	1	1,8	2	2	4,8	2	3	7	2	2
2	V0.5B	0,15	1	1	0,6	1	2	3,7	1	3	6,4	5	0
3	V0.5B	0	0	0	0,5	1	1	2	1	4	3,3	1	4
4	V0.5B	0	0	0	0	0	3	4,5	2	1	8,1	3	2
5	V0.5B	0	0	0	0,9	1	1	2,5	1	2	3,8	1	2
6	V0.5B	0,1	1	1	1,4	1	2	3,4	3	1	5,7	2	2
7	V0.5B	0,1	1	1	1,1	1	2	3,5	2	2	5,1	2	2
8	V0.5B	0	0	0	1,6	3	2	4,1	3	2	7,2	3	3
9	V0.5B	0	0	0	1	1	3	3	1	2	4,6	2	2
10	V0.5B	0	0	1	0,8	1	3	2,8	1	3	4,6	1	4
11	V0.5B	0,15	1	1	1,5	1	3	3,5	1	4	7,4	2	4
12	V0.5B	0,1	1	0	1,6	2	2	3,5	2	3	6,5	3	3
13	V0.5B	0,05	1	0	0,8	1	1	2,4	1	2	4,3	1	1
14	V0.5B	0,1	1	1	1,3	1	3	2,9	1	2	4,7	1	3
15	V0.5B	0,1	2	0	1,3	2	1	2,5	2	1	4,6	2	2
16	V0.5B	0,15	2	0	1,6	2	2	3,5	3	4	6,2	3	3
17	V0.5B	0,1	2	0	2,7	3	3	6,3	3	3	10,6	3	2
18	V0.5B	0,4	5	1	1,3	2	2	6,1	7	4	6,6	7	3
19	V0.5B	0	0	0	0,5	2	3	3	3	4	6,2	4	3
20	V0.5B	0,15	2	0	2	2	3	3,8	2	4	6,5	2	4
21	V0.5B	0	0	0	0,6	2	3	2,3	2	2	3,9	2	1
22	V0.5B	0	0	0	0,5	1	1	2	1	3	3,4	1	4
23	V0.5B	0	0	1	1,1	1	2	2,6	1	2	4,8	1	3
24	V0.5B	0,15	2	0	1,7	2	3	4,5	2	3	8	2	3
25	V0.5B	0,25	4	0	1,7	3	2	3,7	4	4	8,5	3	3
26	V0.5B	0,1	1	1	1,2	1	3	5	7	2	9,4	7	2
27	V0.5B	0	0	1	1,3	3	2	3,5	5	3	4,8	4	2
28	V0.5B	0,2	2	0	1,3	2	3	3,9	2	2	5,7	2	2
29	V0.5B	0	0	1	0,5	2	3	1,9	2	4	4	5	3
30	V0.5B	0,05	1	0	1	1	2	3,2	2	2	5,8	2	2
31	V0.5B	0,05	1	0	0	0	1	0,4	1	2	5,3	1	3
32	V0.5B	0,75	1	1	3,3	2	3	5,9	3	0	13,2	3	0
33	V0.5B	0,15	2	0	1,4	2	2	3	2	2	4,9	2	3
34	V0.5B	0	0	0	1,8	3	3	4	3	2	5,4	3	2
35	V0.5B	0	0	0	0,7	2	1	2,4	2	4	2,8	2	5
36	V0.5B	0	0	0	0,1	1	3	0,8	1	3	1,5	1	3

37	V0.5B	0	0	1	0,6	1	3	4,2	2	2	6,7	3	0
38	V0.5B	0,2	2	0	1,6	2	2	3,3	1	4	8,5	2	5
39	V0.5B	0,15	1	1	1,4	1	3	4,1	3	3	6,5	2	3
40	V0.5B	0,15	1	0	1,5	1	2	5,1	3	2	5,6	3	4
41	V0.5B	0,5	1	0	1,6	1	2	3,3	2	4	6,5	2	4
42	V0.5B	0,1	1	0	1,2	1	1	3,2	1	2	5,2	1	2
43	V0.5B	0,15	1	0	1,3	1	0	3,1	1	0	5,6	1	2
44	V0.5B	0,15	2	1	1,2	2	2	2,6	2	2	3,1	2	1
45	V0.5B	0	0	0	0,4	2	3	2,5	1	4	5,3	2	3
46	V0.5B	0,15	1	0	1,3	1	2	5	4	3	8,6	4	3
47	V0.5B	0,15	2	0	2	2	3	5	2	3	10,9	2	3
48	V0.5B	0	0	0	1	1	2	2,1	1	4	3,2	1	3
49	V0.5B	0,1	1	0	1,3	1	2	2,3	1	1	3,4	1	2
50	V0.5B	0	0	0	0,1	1	3	1,8	1	3	3,3	1	4
51	V0.5B	0,15	2	0	1,6	2	2	3,1	2	4	7,6	3	1
52	V0.5B	0,05	1	1	2,4	2	2	3,5	1	3	4,9	1	3
53	V0.5B	0,1	1	0	1,5	3	2	3,7	5	0	6	5	2
54	V0.5B	0	0	1	1,3	2	2	4	6	2	6,5	6	3
55	V0.5B	0	0	2	1	1	3	3,5	1	3	6	1	2
56	V0.5B	0	0	0	0,2	1	2	1,3	1	4	1,6	1	5
57	V0.5B	0	0	0	0,6	3	2	3,5	4	4	4,6	4	4
58	V0.5B	0	0	0	1,4	2	2	4,5	2	4	8,4	2	3
59	V0.5B	0,05	1	0	1,3	1	3	3,3	1	3	6,6	1	3
60	V0.5B	0	0	0	0,5	1	2	1,8	1	3	3,2	1	1

Příloha 6: Genetická struktura populací – primární data (-1 = chybějící data).

Lokalita	Číslo vzorku	AC3	AC4	G-AC9	AC9-AC	GT15	GT49	CT104	CT141
U	U1	8	38	8	9	13	13	18	10
V	V1	10	23	10	10	14	11	16	12
V	V2	10	23	10	10	14	11	16	12
S	S2	13	23	10	8	14	12	19	22
S	S3	13	23	10	8	14	12	19	22
S	S4	13	23	10	8	14	12	19	22
S	S5	13	23	10	8	14	12	19	22
Ko	K2	-1	35	8	9	13	13	18	10
Ko	K3	-1	35	8	9	13	13	18	10
Ko	K4	-1	35	8	9	13	13	18	10
Ko	K5	-1	35	8	9	13	13	18	10
Ko	K6	-1	35	8	9	13	13	18	10
Ko	K7	-1	-1	8	9	13	13	18	10
L	L1.1	14	23	9	10	15	8	16	23
L	L1.1b	12	29	10	10	14	9	19	19
L	L1.1c	12	29	10	10	14	9	19	19
L	L1.2	11	-1	10	10	14	9	19	22
L	L1.2b	11	23	10	10	14	9	19	22
L	L1.2c	11	-1	10	10	14	9	19	22
L	L1.3	13	27	10	10	14	11	19	23
L	L1.3b	13	22	10	10	14	9	16	19
L	L1.3c	13	27	10	10	14	11	19	23
A	A1	12	23	10	10	15	10	19	12
A	A1b	12	23	10	10	15	10	19	12
A	A1c	12	23	10	10	15	10	19	12
A	A2	13	-1	10	11	15	13	16	12
A	A2b	13	24	10	11	15	13	16	12
A	A2c	12	33	10	10	17	9	16	12
A	A3	13	-1	10	10	15	11	16	22
A	A3b	13	34	10	10	15	11	16	22
A	A3c	13	34	10	10	15	11	16	22
A	A4	12	-1	10	10	15	11	19	12
A	A4b	12	30	10	10	15	11	19	12
A	A4c	12	30	10	10	15	11	19	12
A	A5	14	24	10	10	15	9	19	12
A	A5b	14	24	10	10	15	9	19	12
A	A5c	14	24	10	10	15	9	19	12
A	A6	14	24	10	10	15	9	19	12
A	A6b	14	24	10	10	15	9	19	12
A	A6c	17	24	10	10	15	11	16	12
Ki	C1	12	16	10	10	14	13	19	21
Ki	C1b	12	16	10	10	14	13	19	21
Ki	C1c	12	16	10	10	14	13	19	21
Ki	C2	13	-1	10	10	15	8	18	19
Ki	C2b	13	27	10	10	15	8	18	19

Ki	C2c	13	27	10	10	15	8	18	19
Ki	C3	14	23	10	10	15	9	19	12
Ki	C3b	14	23	10	10	15	9	19	12
Ki	C3c	14	23	10	10	15	9	19	12
Ki	C4	17	-1	10	10	16	8	19	21
Ki	C4b	17	30	10	10	16	8	19	21
Ki	C4c	17	30	10	10	16	8	19	21
Ki	C5	13	23	10	10	15	9	16	12
Ki	C5b	13	32	10	10	15	12	20	20
Ki	C5c	13	23	10	10	15	9	16	12
F	F1	14	-1	10	10	15	10	19	21
F	F1b	12	23	10	10	14	11	16	20
F	F1c	12	23	10	10	14	11	16	20
F	F2	13	-1	10	10	14	10	19	13
F	F2b	13	26	10	10	14	10	19	20
F	F3	13	-1	10	10	14	10	19	20
F	F3b	13	26	10	10	14	10	19	20
F	F3c	13	38	10	10	15	9	19	-1
F	F4	13	-1	10	10	14	9	19	13
F	F4b	13	29	10	10	14	9	19	13
F	F4c	13	29	10	10	14	9	19	13
F	F5	13	25	10	10	16	9	19	20
F	F5b	13	25	10	10	16	9	19	20
F	F5c	13	25	10	10	16	9	19	20
O1	O1	12	22	9	10	14	9	16	21
O1	O1b	12	22	9	10	14	9	16	21
O1	O1c	13	31	10	10	15	12	19	21
O1	O2	14	29	10	10	15	9	19	23
O1	O2b	14	29	10	10	15	9	19	23
O1	O2c	14	29	10	10	15	9	19	23
O1	O3	13	-1	10	10	15	11	19	19
O1	O3b	12	22	9	10	14	9	16	21
O1	O3c	13	23	10	10	15	11	19	19
O2	O6	13	31	10	10	16	12	15	21
O2	O6b	13	31	10	10	15	9	20	20
O2	O6c	13	31	10	10	16	12	15	21
O2	O7	13	23	10	10	15	9	19	22
O2	O8	12	26	10	10	14	11	16	13
O2	O8b	12	26	10	10	14	11	16	13
O2	O9	12	23	10	10	15	9	19	22
O2	O9b	12	23	10	10	15	9	19	22
O2	O9c	12	23	10	10	15	9	19	22
O3	O10	14	23	10	10	15	9	18	21
O3	O10b	11	44	10	10	15	9	19	12
O3	O10c	11	44	10	10	15	9	19	12
O3	O11	11	-1	10	10	15	9	19	12
O3	O11b	11	44	10	10	15	9	19	12
O3	O11c	11	44	10	10	15	9	19	12
O3	O12	12	29	10	10	15	11	16	19

O3	O12b	12	29	10	10	15	11	16	19
O3	O12c	12	29	10	10	15	11	16	19
RJ	R30	13	23	9	10	14	11	19	12
RJ	R31	13	23	9	10	14	11	19	12
RJ	R32	13	23	9	10	14	11	19	12
RJ	R33	13	23	9	10	14	11	19	12
RJ	R34	13	23	9	10	14	11	19	12
RJ	R35	13	23	9	10	14	11	19	12
RJ	R37	13	23	9	10	14	11	19	12
RJ	R39	13	23	10	10	14	12	19	12
RS	R40	11	22	10	10	15	9	19	12
RS	R41	13	23	10	10	14	12	19	12
RS	R42	11	25	10	10	15	8	19	12
RS	R43	11	25	10	10	15	8	19	12
RS	R45	-1	23	10	10	14	12	19	12
RS	R46	-1	25	10	10	14	12	19	12
RS	R47	-1	23	10	10	14	11	19	12
RS	R48	13	23	10	10	14	12	19	12
RS	R49	13	23	10	10	14	11	19	12
RS	R50	13	23	10	10	14	11	19	12
RS	R51	13	23	10	10	14	12	19	12
RS	R53	13	23	10	10	14	12	19	12
RS	R57	13	23	10	10	14	12	19	12
RS	R58	13	23	10	10	14	12	19	12
RS	R59	13	23	11	10	14	11	19	12
RS	R60	13	23	11	10	14	11	19	12
RS	R61	13	23	10	10	14	12	19	12
RS	R62	13	23	11	10	14	11	19	12
RS	R63	13	23	10	10	14	12	19	12
RS	R64	13	23	10	10	14	12	19	12
RS	R65	13	23	10	10	14	12	19	12
RS	R66	13	23	10	10	14	12	19	12
RS	R67	13	23	10	10	14	12	19	12
RS	R68	13	23	10	10	14	11	19	12
RS	R69	13	23	10	10	14	11	19	12
RS	R70	13	23	10	10	14	12	19	12
RS	R71	13	23	10	10	14	12	19	12
RS	R72	13	23	10	10	14	12	19	12
RS	R73	13	23	10	10	14	11	19	12
RS	R74	13	23	10	10	14	11	19	12
RS	R75	13	23	10	10	14	12	19	12
RS	R76	13	23	10	10	14	12	19	12
RS	R77	13	23	11	10	14	11	19	12
RS	R78	13	23	10	10	14	11	19	12
RS	R79	13	23	10	10	14	11	19	12
RS	R80	13	23	10	10	14	12	19	12
RS	R81	13	23	10	10	14	12	19	12
RS	R84	-1	23	10	10	14	12	19	12
RS	R85	-1	23	10	10	14	12	19	12

RS	R87	13	23	10	10	14	12	19	12
RS	R88	13	23	10	10	14	12	19	12
RS	R89	13	23	10	10	14	11	19	12
RS	R90	13	24	10	10	14	9	15	12
RS	R91	-1	23	11	10	14	11	15	12
RS	R92	13	23	10	10	14	12	19	12
RS	R94	-1	23	10	10	14	12	19	12

Příloha 7: Fotografie.



Obr. P10: Lodyžky narostlé z 1 cm větviček v terénu po 2 měsících (28. 6. 2013).



Obr. P11: Lodyžky narostlé z 1 cm větviček v terénu po 6 měsících (20. 10. 2013).



Obr. P12: Lodyžky narostlé z 0,5 cm větvíček v terénu po 6 měsících (20. 10. 2013).



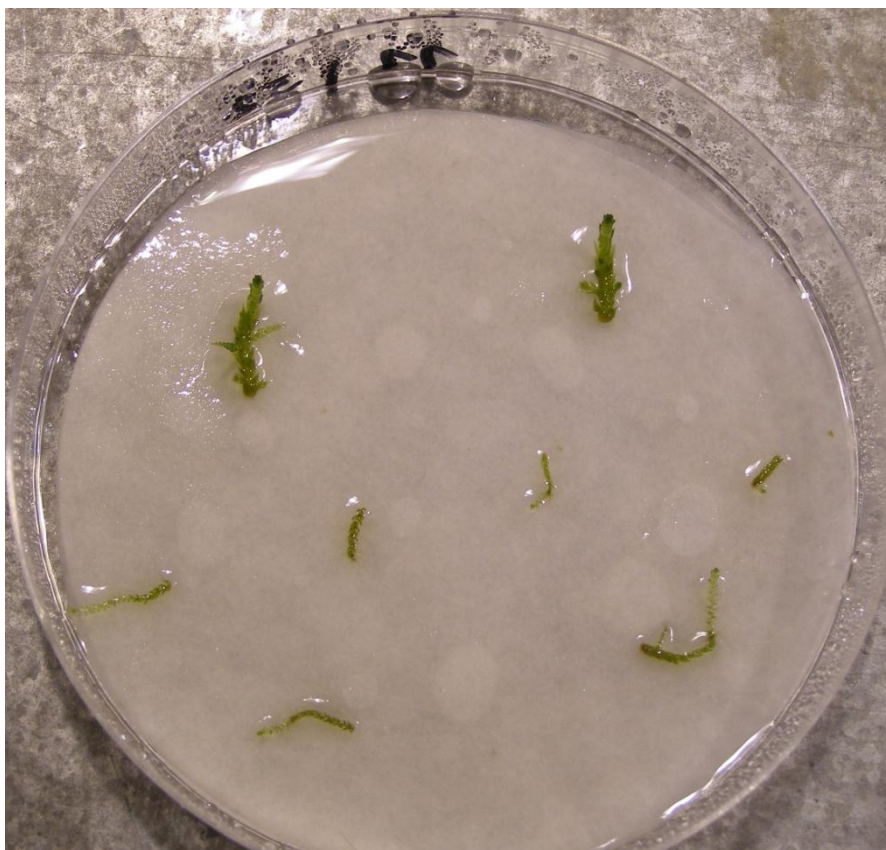
Obr. P13: Lodyžky narostlé z 1 cm větvíček v terénu po 12 měsících (21. 4. 2014).



Obr. P14: Lodyžky narostlé z 0,5 cm větvíček v terénu po 12 měsících (21. 4. 2014).



Obr. P15: Lodyžky narostlé z 1 cm větvíček v terénu po 15 měsících (24. 7. 2014).



Obr. P16: Pěstování fragmentů v klimaboxu po 8 dnech (16. 5. 2013).



Obr. P17: Pěstování fragmentů v klimaboxu po 23 dnech (31. 5. 2014).



Obr. P18: Pěstování fragmentů v klimaboxu po 23 dnech (31. 5. 2014).



Obr. P19: Pěstování fragmentů v klimaboxu po 51 dnech (27. 6. 2013).



Obr. P20: Přírůstky fragmentů po 51 dnech (27. 6. 2013).



Obr. P21: Přírůstky fragmentů původně 0,5 cm dlouhých větviček s a bez konce po 56 dnech v klimaboxu (2. 8. 2013 vpravo).



Obr. P22: Předpěstované lodyžky po 1 měsíci v terénu (28. 7. 2013).



Obr. P23: Předpěstované úlomky konců lodyžek po 4 měsících v terénu (20. 10. 2013).



Obr. P24: Předpěstované úlomky konců lodyžek po 10 měsících v terénu (21. 4. 2014).



Obr. P25: Předpěstované úlomky 1 cm dlouhých větviček po 13 měsících v terénu (24. 7. 2014).