

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**

**Přírodovědecká fakulta**

**Experimentální vyhodnocení role biotických  
interakcí při stanovování zásobníku druhů  
společenstev**

Diplomová práce

**Eva Švamberková**

Školitel: Prof. RNDr. Jan Lepš, CSc.

České Budějovice 2015

**Švambergová E.** (2015): Experimentální vyhodnocení role biotických interakcí při stanovování zásobníku druhů společenstev. [Experimental assessment of the role of biotic interactions in community species pool delimitation. Mgr. Thesis, in Czech]. – 83 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

**Anotace:**

Seed addition experiment was conducted on the moisture gradient with aim to demonstrate that many species not accounted by current measures of species pools in a site should be included because they are in fact able to establish successfully if biotic filter is removed. Transplant experiment was established to compare the sensitivity of seedling recruitment and survival of transplants in the field. Recruitment of seedlings in field was observed and compared with germination of seeds under different chilling treatments in laboratory.

This study was supported by grant GAČR 41-P505/12/1296.

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 jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích, dne 22. 4. 2015

.....

Eva Švambergová

## **Poděkování**

Na tomto místě bych chtěla poděkovat především Šuspovi za jeho obrovskou podporu, čas, který mi věnoval, a pomoc s jakoukoliv záležitostí týkající se nejenom této práce, ale celého mého studia. Velké díky bych také chtěla vyjádřit své rodině a nejbližším přátelům za jejich důvěru a velkou podporu v jakékoliv situaci. Moc děkuji Áje Vítové za její ochotnou spolupráci při experimentech a Piňosovi za umožnění založit experiment právě na lokalitě Strašovský rybník, za poskytnutí mnohých podkladů o lokalitě a především za jeho vřelou pohostinnost kdykoliv bylo potřeba. Dále také děkuji Pavlovi Fibichovi za pomoc s výpočty Bealsova indexu, všem dobrovolníkům, kteří mi pomáhali v terénu a mnohým dalším lidem, kteří celou dobu stáli při mně.

# Obsah

1 Úvod.....	1
2 Cíle práce .....	8
3 Metodika .....	9
3. 1 Popis lokality.....	9
3. 2 Uspořádání pokusu.....	10
3. 2. 1 Vysévací experiment .....	10
3. 2. 2 Sazenicový experiment.....	12
3. 2. 3 Test klíčivosti .....	13
3. 2. 4 Sběr dat o stanovištích.....	14
3. 3 Statistické zpracování a vyhodnocení dat .....	17
3. 3. 1 Vysévací experiment .....	17
3. 3. 2 Sazenicový experiment.....	19
3. 3. 3 Klíčivost semen v terénu vzhledem k testu klíčivosti .....	20
4 Výsledky .....	21
4. 1 Vysévací experiment.....	21
4. 1. 1 Klíčení a přežívání vysetých druhů .....	21
4. 1. 2 Porovnání jednotlivých metod stanovení zásobníku druhů na základě vysévacího experimentu .....	36
4. 2 Sazenicový experiment .....	46
4. 3 Test klíčivosti .....	56

4. 3. 1 Klíčivost druhů v laboratorních podmínkách .....	56
4. 3. 2 Klíčivost semen v terénu vzhledem k testu klíčivosti .....	57
5 Diskuze .....	59
5. 1 Vysévací experiment.....	59
5. 1. 1 Klíčení a přežívání vysetých druhů .....	59
5. 1. 2 Porovnání jednotlivých metod stanovení zásobníku druhů na základě vysévacího experimentu .....	63
5. 2 Sazenicový experiment .....	66
5. 3 Test klíčivosti.....	68
6 Závěr .....	70
7 Literatura.....	72
8 Příloha.....	83

# 1 Úvod

Jedním z hlavních cílů ekologie společenstev je porozumět mechanismům, pomocí kterých druhy vytvářejí rostlinná společenstva na různých prostorových škálách. Každé rostlinné společenstvo má svůj zásobník druhů („species pool“). Otázkou, která doposud zůstává ne zcela jasně zodpovězená, však je, jaké druhy daný zásobník druhů vytvářejí. Teorie zásobníku druhů je přitom v současnosti velmi důležitým konceptem pro studium utváření lokálního druhového složení společenstev a druhové diverzity (Houseman & Gross 2011, Carstensen et al. 2013).

Teorie zásobníku druhů („species pool hypothesis“) byla poprvé prezentována ve studii Taylor et al. (1990), kde je pomocí ní vysvětlována lokální diverzita společenstev na základě odlišnosti stanovišť různých historických a regionálních oblastí. Samotný termín zásobník druhů však byl použit již v teorii ostrovní biogeografie (MacArthur & Wilson 1963) jako soubor druhů, které se mohou potenciálně dostat na studovaný ostrov a osídlit ho. Zobel (1992) zdůrazňuje, že v konceptu teorie zásobníku druhů jsou kromě evolučních faktorů (tj. speciace) také důležité faktory historické a ekologické. Přestože definice zásobníku druhů je dosud nejednotná, teorie zásobníku druhů zastupuje v ekologii v posledních letech velmi důležitou roli.

Celkový zásobník druhů, který Pärtel et al. (1996) nazývají regionálním zásobníkem druhů, zahrnuje všechny druhy vyskytující se v dané oblasti bez ohledu na jakékoliv geografické vazby (Kelt et al. 1995, Belyea & Lancaster 1999, Butaye et al. 2001). Tento regionální zásobník druhů je dán především historickými procesy včetně evoluce, to znamená místem, kde se druhy vyvinuly a zda byly po době ledové schopny migrovat na určité stanoviště (Zobel 1997, Swenson 2011, Lambers et al. 2012, Lepš 2013). Regionální zásobník druhů dále prochází filtrem rozšiřování, kterým může být například uspořádání krajiny a vzájemná vzdálenost příhodných stanovišť (Houseman & Gross 2006). Výsledkem je pak geografický neboli lokální zásobník druhů, který zahrnuje druhy schopné rozšířit se do lokálních společenstev (Kelt et al. 1995, Pärtel et al. 1996, Helm et al. 2014). Tyto druhy následně

procházejí přes filtr společenstva, který zahrnuje abiotický a biotický filtr. Abiotickým filtrem projdou jen ty druhy, které mají vhodné fyziologické vlastnosti k tolerování stanovištních podmínek konkrétního místa (Zobel et al. 1998, Cornwell & Ackerly 2009, Vellend 2010, Cornell & Harrison 2014). Tím vzniká stanovištní zásobník druhů (Kelt et al. 1995, Helmet al. 2014), který je dále omezován biotickým filtrem, tj. vzájemnou interakcí jednotlivých druhů nalézajících se ve společenstvech (Chase 2003, Houseman & Gross 2006, de Bello et al. 2009, Götzenberger et al. 2012, Lambers et al. 2012). Pärtel et al. (1996) označuje druhy, které prošly jak abiotickým, tak biotickým filtrem jako skutečný zásobník druhů, tj. druhy, které jsou přítomné v daném společenstvu. A právě na úrovni filtru společenstva se setkáváme s největšími nejasnostmi v definování zásobníku druhů. Důležitou otázkou je, jestli oddělíme vliv biotických interakcí od abiotického vlivu prostředí anebo jestli budeme používat zásobník druhů ovlivněný jak abiotickým, tak biotickým filtrem.

Na problém s nejednotným definováním zásobníku druhů mnozí vědci začali poukazovat již v počátcích užívání tohoto termínu (Simberloff 1970). Graves & Gotelli (1983) si uvědomovali nedostatečnost definice zásobníku druhů jako druhy přítomné v dané biogeografické oblasti, a proto navrhli nový přístup, kdy pro každé ptačí společenstvo studovaného ostrova definovali vlastní zásobník druhů (tj. lokální zásobník druhů). Carstensen et al. (2013) upozorňují, že, přestože jimi užitá metoda stanovení zásobníku druhů je používána dodnes, takto definovaný zásobník druhů nemusí vždy skutečně zahrnovat všechny druhy, které by byly schopny dané lokální společenstvo kolonizovat. V současnosti většina ekologů považuje dříve obvyklou definici zásobníku druhů jako souboru druhů, do které druh buďto náleží nebo nenáleží, za nedostačující a velmi zjednodušenou. Již Eriksson (1993) upozorňuje na potřebu studovat na jakou vzdálenost jsou schopny se potenciální druhy obývající dané společenstvo rozšířit. Pravděpodobnost, že druh projde filtrem společenstva se zvyšuje s počtem rozmnožovacích částic, které vstupují do společenstva, tj. s počtem rozmnožovacích částic vyskytujících se v okolních společenstvech (Vellend 2010, Lepš 2013). Absence druhů ve společenstvu tedy může být způsobena tím, že potenciální kolonizující druhy nejsou schopny vyprodukovat pomocí semen dostatek jedinců, kteří by prošli filtrem společenstva (Vítová & Lepš 2011). Touto úvahou se

rozšiřuje definice zásobníku druhů z druhů, které se ve společenstvu vyskytují na druhy, které jsou schopny potenciálně existovat na daném stanovišti. Takto formulovaný zásobník druhů je dosud asi nejhojněji používanou definicí (Houseman & Gross 2011, Cornell & Harrison 2014, Moor et al. 2015).

K zpřesnění definice zásobníku druhů hojně přispívá také problematika zabývající se tzv. „dark diverzity“. Pärtel et al. (2011) definují „dark diversity“ jako druhy, které se nevyskytují ve studovaném společenstvu, ale přitom patří do jeho zásobníku druhů, to znamená všechny druhy v regionu, které mohou potenciálně osídlit konkrétní ekosystém s danými ekologickými podmínkami. De Bello et al. (2012) na to navazují navržením přístupu, který klade důraz na funkční zásobník druhů definovaný množinou hodnot funkčních vlastností druhů, které v něm mohou být potenciálně zahrnuty. Zásobník druhů tak může být definován nezávisle pro každé stanoviště zahrnutím všech druhů, které by potenciálně mohly koexistovat na místě daném řídicími abiotickými procesy a filtrem rozšiřování. Potřebu definovat zásobník druhů individuálně pro každé společenstvo zdůrazňují ve své práci také Lessard et al. (2012) a upozorňují, že většina studií ignoruje druhy, které se mohou potenciálně rozšířit do cílového společenstva, i když zde nebyly zaznamenány. Pärtel (2014) pak doplňuje pojem „dark diversity“ ještě o tzv. skrytou diverzitu („hidden diversity“) a ostatní nepřítomné druhy. Skrytá diverzita zahrnuje druhy, které jsou přítomné ve studovaném společenstvu, ale nebyly pozorovatelem zaznamenány (například vzácné druhy nebo dormantní stádia). Mezi ostatní nepřítomné druhy pak patří takové druhy, které ve společenstvu chybí, ale na rozdíl od druhů náležejících do „dark diverzity“ jsou to druhy, které se ekologickými nároky zcela odlišují od studovaného stanoviště. Podobnou skupinou druhů se zabývají také Helm et al. (2014), kteří nepůvodní i původní druhy netypické pro dané společenstvo nazývají odvozenou diverzitou („derived diversity“). Takový přístup může mít důležitý přínos například pro ekologickou obnovu společenstev nebo v odvětvích zabývajících se šířením invazivních druhů (Pärtel et al. 2013).

Jak je vidět, je vždy opravdu velmi důležité, jak je používán zásobník druhů definovaný. Při porovnávání složení společenstva se zásobníkem druhů může odlišně definovaný zásobník druhů zcela ovlivnit výsledky naší studie (de Bello et al. 2012, Grman & Brudvig 2014). Například Zobel (1997) i Butaye et al. (2001) sice oba



porovnávají složení společenstva se zásobníkem druhů, ale ten je definovaný naprosto odlišným způsobem. Zásadní rozdíl je v tom, že Butaye et al. (2001) oddělují působení abiotického filtru od biotických vztahů, takže zásobník druhů s kterým porovnávají složení společenstva je výsledkem těch druhů, které prošly filtrem rozšiřování a abiotickým filtrem, ale není ovlivněn biotickými interakcemi. Naopak Zobel (1997) působení abiotického a biotického filtru nijak neodděluje a pro srovnání složení společenstva používá zásobník druhů jako druhy, které byly schopny projít jak abiotickým filtrem, tak odolat působení biotických vztahů. Jestliže však budeme porovnávat složení pozorovaného společenstva z hlediska biotických vztahů se složením zásobníku druhů, který již prošel biotickým filtrem, dospějeme k vysvětlení kruhem, protože dané druhy vyskytující se v takto uvažovaném zásobníku druhů jsou pouze ty druhy, které biotickým filtrem již prošly.

Zásobník druhů může být stanovován na základě znalostí lokálních expertů (Sádlo et al. 2007). To však vyžaduje vytvoření rozsáhlého seznamu druhů a stanovištních typů ve studované oblasti, což může být velmi obtížné (Eriksson 1993, Losvik 2007), i když dnes existují mnohé metody, které mohou tuto práci alespoň částečně usnadnit – např. modelováním dat v GIS (Guisan and Rahbek 2011) nebo použitím metody dispersních polí (Carstensen et al. 2013). Kromě fytoecologických přístupů lze zásobník druhů stanovit také na základě podobnosti ekologického chování druhů (Ellenbergovy indikační hodnoty (Pärtel et al. 1996, Zobel 1997, Zobel et al. 1998) nebo Bealsův index (Ewald 2002, Münzbergová & Herben 2004, Botta-Dukát 2012)) nebo funkčních vlastnostech rostlin (Sonnier et al. 2010, de Bello et al. 2012, Moor et al. 2015). Všechny zde uvedené metody stanovení zásobníku druhů jsou však založené na společném výskytu jednotlivých druhů ve společenstvu, takže již zahrnují působení biotického filtru. Jedná se tedy o druhy, které jsou ve společenstvu schopny přežít a tím pádem i odolávat kompetici.

Ellenbergovy indikační hodnoty (Ellenberg et al. 1991) jsou často používány jako vhodné indikátory pro odhadnutí požadavků jednotlivých druhů na životní prostředí ve studované oblasti (Pärtel et al. 1996, Butaye et al. 2001). Je to semikvantitativní škála hodnot založená na stanovištní preferenci druhů podél určitého gradientu prostředí (Zobel et al. 1998, de Bello et al. 2012). Problémem však je, že

Ellenbergovy indikační hodnoty jsou vlastně výsledkem znalostí experta na danou krajinu. Jsou založené na předpokladu ekologických optim a relativně úzkých amplitud jednotlivých druhů a jenom pro velmi široké amplitudy jsou druhy uvažovány jako indiferentní (Zobel et al. 1998, Ewald 2002). Navíc Ellenbergovy indikační hodnoty jsou určeny jen pro několik málo ekologických faktorů, které ovlivňují složení druhů ve společenstvech (Zobel et al. 1998). Pokud do zásobníku druhů zahrneme pouze druhy s odpovídajícími Ellenbergovými indikačními hodnotami průměru zkoumaného společenstva, může být výsledkem nerealisticky malý zásobník druhů (de Bello et al. 2012). Ewald (2002) navíc upozorňuje, že použití této metody je omezené pouze na střední Evropu a její bezprostřední okolí, tj. oblasti, které mají své seznamy Ellenbergových indikačních hodnot (obvykle pouze pro cévnaté rostliny). Počet takových oblastí se ovšem postupem času zvyšuje, například od roku 1999 mají svoje Ellenbergovy indikační hodnoty i Britské ostrovy (Hill et al. 1999).

Další metodou pro stanovení zásobníku druhů je použití Bealsova indexu. Ten byl původně navržen jako způsob transformace dat k odstranění nadbytečných nulových hodnot (Beals 1984, McCune 1994). Dnes se Bealsův index používá především pro odhady vhodných stanovišť založených na společném výskytu druhů (Münzbergová & Plačková 2010, Frei et al. 2012, Mudrák et al. 2014). Bealsův index vyjadřuje pravděpodobnost (hodnoty od nuly do jedné), že se druhy na stanovišti setkají bez závislosti na tom, zda se tam druhy skutečně vyskytují nebo ne (Münzbergová & Herben 2004). Zatímco výše zmíněné přístupy pro stanovení velikosti zásobníku druhů závisí buď na fytoecologických znalostech expertů nebo na modelech odpovídajících na gradienty prostředí, metoda využívající Bealsův index využívá informace založené na mnohorozměrné struktuře skutečných dat (Ewald 2002). Výpočet je založen na porovnávání společného výskytu studovaného druhu s dalšími druhy z fytoecologických snímků daného stanoviště pomocí databáze mnoha fytoecologických snímků (Münzbergová & Herben 2004). Přestože použití Bealsova indexu je ve své podstatě také fytoecologická metoda, není zde používána žádná klasifikace ani předem stanovené gradienty prostředí. Tím se mění pohled na zásobník druhů z přesně vymezeného souboru druhů na zásobník druhů, u kterého jsme schopni pouze určit pravděpodobnost výskytu daného druhu (Botta-Dukát 2012).

Helm et al. (2014) i Pärtel (2014) se ve svých studiích zmiňují o druzích, které jsou pro dané společenstvo netypické, protože se běžně vyskytují na stanovištích zcela jiného typu. Zatímco Pärtel (2014) tyto druhy nepovažuje za tolik důležité pro studované společenstvo, Helm et al. (2014) naopak jejich význam silně zdůrazňují. Ve skutečnosti pravděpodobně existuje mnoho druhů, které jsou schopny se na stanoviště dostat, a v daných abiotických podmínkách by byly schopny růst (tj. nejsou omezeny ani rozšiřováním ani abiotickými faktory), ale ve společenstvu se nemohou vyskytovat, protože nevydrží v kompetici s ostatními druhy (Butaye et al. 2001, Vítová & Lepš 2011). Určit „species pool“ definovaný jako soubor druhů schopných se na stanoviště dostat a přežít v daných abiotických podmínkách tedy není možné pomocí jakýchkoliv metod založených na společném výskytu druhů v přirozených společenstvech. Jedinou možností jsou zde pravděpodobně vysévací experimenty kombinované s experimentálním odstraněním kompetice (Lambers et al. 2012, Lessard et al. 2012, Cornell & Harrison 2014). Ty jsou založené na dodávání semen různých druhů do společenstva, čímž experimentálně rozšiřujeme zásobník druhů a můžeme tak sledovat jeho vliv na složení společenstva. Přestože ve společenstvu probíhají i jiné biotické interakce (z pozitivních například mykorhizy nebo interakce s opylovači, z negativních potom herbivorie (Bruehl & Scheidel 1999)), kompetice je většinou považována za nejdůležitější typ biotických interakcí ovlivňující společenstva (Pärtel et al. 2013).

K experimentálnímu odstranění kompetice ze společenstva mohou sloužit uměle vytvořené mezery („gapy“). Mezery mají velký význam pro uchycení semenáčků nejenom ve vysévacích experimentech (Kotorová & Lepš 1999, Tofts & Silvertown 2002, Lemke et al. 2015), ale také v přirozených ekosystémech (Puerta-Pinero et al. 2013). V přírodě jsou mezery výsledkem určitého typu disturbance a umožňují mnoha druhům dostat se do společenstva právě uvolněním prostoru od potenciálních kompetitorů. V mezerách se snižuje kompetice o světlo, živiny, vodu a prostor (Grubb 1977, Frei et al. 2012, Lemke et al. 2015), ale na druhou stranu jsou zde druhy mnohem více vystaveny extrémním podmínkám prostředí, jako je například vysychání (Kotorová & Lepš 1999, Vítová & Lepš 2011). Lemke et al. (2015) také upozorňuje, že semenáčky v mezerách jsou mnohem více vystaveny vlivu herbivorů než semenáče rostoucí v zapojené vegetaci. Pro uchycení semenáčků nových druhů je

důležitá jednak velikost mezery, ale také čas kdy mezera vznikla. To může ovlivnit, jaký druh bude prvním kolonizátorem mezery. Záleží přitom nejenom na fenologii klíčení semen (Kotorová & Lepš 1999), ale také na mnoha náhodných procesech (Hubbell 2001, Lepš 2013). Druh, který se v mezeře uchytí první má potom mnohem větší kompetiční výhodu než druhy, které se sem dostanou až později (Kotorová & Lepš 1999).

Uchycení semenáčků ve společenstvu tedy závisí na vhodných lokálních podmínkách (Pärtel et al. 1996) a ve své podstatě je to velmi nepravděpodobný jev, protože z velkého množství semen se obvykle uchytí jen omezené množství semenáčků a i těch dospěje do reprodukčního stádia jen velmi málo (Zobel 1997, Lepš 2013). Uchycení semenáčků je nejcitlivější část životního cyklu rostliny a závisí na podmínkách prostředí a na kompetici mnohem víc než přežití již uchycené rostliny (Losvik 2007, Vítová & Lepš 2011). Často se stává, že semena mnohých druhů sice vyklíčí a ve společenstvu přežívají ve stádiu semenáčků i několik let, ale životaschopnou populaci nikdy nevytvoří (Vítová & Lepš 2011, Gustafsson et al. 2002). I když je klíčení semen ve studovaném prostředí úspěšné, mohou zde být ještě mnohé další stochastické a deterministické faktory, které brání přežívání a růstu semenáčků (Lemke et al. 2015). Jedním z takových faktorů je herbivorie, která ovlivňuje přežívání semenáčků i v pozdějších letech vývoje (Gustafsson et al. 2002). Citlivost semenáčků na jednotlivé faktory ve společenstvu se u různých druhů liší, což je nezbytné pro udržení druhové diverzity ve společenstvu (Kotorová & Lepš 1999).

## 2 Cíle práce

Pro tuto práci byly stanoveny následující cíle práce:

- Na základě vysévacího experimentu kombinovaného s experimentálním odstraněním kompetice prověřit, jaký je vliv biotického filtru (zde zastoupeného kompeticí) na uchycování semenáčků různých druhů na vlhkostním gradientu prostředí.
- Porovnat jednotlivé metody stanovení zásobníku druhů na základě vysévacího experimentu. Výsledky z vysévacího experimentu porovnat s metodami stanovení zásobníku druhů různými komparativními metodami. V této práci jsme se zaměřili především na porovnání stanovení zásobníku druhů pomocí vysévacího experimentu se stanovováním zásobníku druhů založeným na Ellenbergových indikačních hodnotách a Bealsově indexu.
- Pomocí sazenicového experimentu prověřit, zda vynecháním nejcitlivější životní fáze rostliny, kterou je vyklíčení semenáčku ze semene, bude ovlivněno uchycení daného druhu v přítomnosti a bez přítomnosti kompetice.
- Porovnat klíčivost různě stratifikovaných semen v laboratorních podmínkách (tj. test klíčivosti) s klíčivostí semen přímo v terénu.

### 3 Metodika

Terénní částí práce byl vysévací experiment na vlhkostním gradientu prováděný na lokalitě Strašovský rybník doplněný o experiment s vysazováním sazenic a test klíčivosti.

#### 3. 1 Popis lokality

Strašovský rybník je významná botanická lokalita nacházející se v pardubickém kraji přibližně 8 km severozápadně od Přelouče (50°6'N, 15°31'E). Terén tvořený převážně mokřadními a lučními společenstvy o velikosti přibližně 16.5 ha leží v nadmořské výšce 217 m. Průměrná roční teplota za rok 2013 byla 9.5°C a za rok 2014 11.1°C. Průměrný úhrn srážek za rok 2013 byl 559.8 mm a za rok 2014 548 mm. Údaje o klimatických datech byly převzaty od Českého hydrometeorologického ústavu z meteorologické stanice Mokošín, která se nachází přibližně 11 km jihozápadně od Strašovského rybníka. Podloží území je tvořeno převážně slínovci a jílovcí s pleistocenními říčními písky a šterky. Na kvartérních náplavových usazeninách jsou vyvinuty nivní půdy (Faltysová 2001).

Podle fyto geografického členění patří Strašovský rybník do Českého termofytika – Pardubické Polabí. Na lokalitě převažují mokřadní a luční biotopy. Největší plochu tvoří litorální pásmo Strašovského rybníka zastoupené monodominantními porosty rákosin s *Phragmites australis* (svaz *Phragmition australis*), na které navazují porosty vysokých ostřic (svaz *Caricion gracilis*). Luční biotopy jsou tvořeny především mezofilními ovsíkovými loukami (svaz *Arrhenatherion*), střídavě vlhkými bezkolencovými loukami (svaz *Molinion caeruleae*) a v menším zastoupení aluviálními psárkovými loukami (svaz *Alopecurion pratensis*). Mezi nej cennější společenstva této lokality patří

vápnomilné slatiny (svaz *Caricion davalianae*, asociace *Seslerietum uliginosae*) s dominujícím kriticky ohroženým druhem *Sesleria uliginosa*. Z dalších chráněných a ohrožených druhů se zde vyskytují např. *Allium angulosum*, *Blysmus compressus*, *Carex davalliana*, *Dactylorhiza incarnata*, *Dactylorhiza majalis*, *Ophioglossum vulgatum* nebo *Ranunculus lingua*.

V minulosti se na lokalitě dlouho neprováděl žádný management, a proto mnohá stanoviště začala postupně degradovat. Vápnomilná slatiniště byla ohrožena zejména zarůstáním druhů z kontaktních společenstev (rákosiny, ostřice) a bezkolencových luk. Dlouhodobé nekosení lokality se také projevilo hromaděním stařiny a s ním spojeným zvýšením úživnosti jinak oligotrofních stanovišť. Negativní vliv na lokalitu má také hnojení rybníku a manipulace s vodní hladinou kvůli chovu ryb. V 90. letech minulého století byla na východním okraji lokality podmnuta slatinná louka a podobně nevhodný zásah byl proveden také na části severní slatinné louky v roce 2006. Tím došlo k nadměrnému vysychání a mineralizaci substrátu a současně k výraznému poklesu ohrožených a chráněných rostlinných druhů. Od roku 2008 se začal na nejcennějších částí lokality provádět pravidelný management zaměřený na obnovu původních polopřirozených společenstev a v roce 2010 byl rozšířen i na další části lokality. Umístění pokusných ploch v našem experimentu se vyhýbalo ochránářsky cenným částem lokality.

## **3. 2 Uspořádání pokusu**

### **3. 2. 1 Vysévací experiment**

Na lokalitě Strašovský rybník byla pomocí vysévacího experimentu testována schopnost 30 druhů rostlin klíčit a přežít jak v prostředí bez kompetice, tak ve společenstvu se všemi biotickými interakcemi. Biotické interakce v tomto experimentu vztahujeme především na kompetici, i když není vyloučeno, že ve společenstvu mohou probíhat i biotické interakce pozitivního typu.

Pro vysévací experiment byla vybrána tři *Stanoviště* na vlhkostním gradientu prostředí. První nejvlhčí stanoviště (*Stanoviště 1*: 50°6'0.805"N, 15°31'0.485"E) bylo zvoleno na části lokality s převažujícími společenstvy vysokých ostříc s přechodem k lučním společenstvům. *Stanoviště 2* (50°5'59.397"N, 15°31'11.280"E) bylo umístěno na ovsíko-psárkové louce s přechody k nízkým kostřavovo-kopretinovým trávníkům (v minulosti zde bývalo slatiniště). Jako *Stanoviště 3* (50°5'57.586"N, 15°31'14.393"E) pak byla vybrána druhově bohatá krátkostébelná louka (bývalé slatiniště, dnes spíše prvky bezkolencové louky).

Na každém *Stanovišti* bylo na podzim roku 2012 vytvořeno 30 mezer ve dvou opakováních. Každá mezeza o velikosti 40 x 40 cm byla pořízena tak, že rýčem byl stržen svrchní drn vegetace a vzniklá prohlubeň byla vyplněna zeminou z blízkého okolí bloku. Zemina byla navršena mírně nad úroveň hrany mezery s okolním prostředím, aby se slehnutím půdy v průběhu zimy na jaře nevytvořil z mezery „bazének“. Mezery byly vytvořeny za účelem odstranění druhů běžně rostoucích na lokalitě a konkurujících rostlinám, které sem následně byly vysety. Vedle každé mezery byla vytyčena přirozená kontrola o stejné velikosti jako mezeza, kde byl naopak sledován vývoj semenáčků v prostředí ovlivněném kompeticí.

K výsevu byla použita semena 30 druhů rostlin (od firmy Planta Naturalis) – 12 druhů, které se na lokalitě Strašovský rybník běžně vyskytují (na obrázcích nazývané jako „původní druhy“) a 18 druhů, jejichž ekologické optimum lokality neodpovídá (na obrázcích nazývané jako „nepůvodní druhy“). Všechny tyto druhy však patří do studovaného regionu, takže by se na lokalitu potenciálně mohly dostat. Takto uvažovaná kategoriální skupina původnosti druhů byla vymezena vzhledem k celé lokalitě a ne k jednotlivým *Stanovištím*. Semena těchto druhů byla zaseta na jaře roku 2013 a to jeden druh do plochy 30 x 30 cm jedné mezery a její přirozené kontroly. Počet potřebných semen k vysetí byl stanoven jako podíl potřebné váhy semen a váhy jednoho semene. Průměrná hmotnost jednoho semene byla vypočtena ze skutečné hmotnosti deseti semen určených k výsevu. Potřebná váha semen v mg k výsevu byla vypočítána podle empirického vzorce  $x = 200 * (1 - \text{Log } m)$ , kde  $m$  je váha jednoho semene v mg. Semena o hmotnosti 1 mg a větší byla v použitém vzorci uvažována jako semena s maximální hmotností a potřebné množství na vysetí těchto druhů bylo stanoveno na 200 semen. Tento vzorec je kompromisem mezi vysetím konstantního počtu semen a



konstantní váhy. Semen s malou hmotností je potřeba vysít více než semen s větší hmotností, protože velká semena obsahují více zásobních látek umožňujících rostlině přežít, a proto i v přírodě jsou malá semena produkována rostlinou většinou ve větším počtu než velká semena, což však nezvyšuje jejich samotnou reprodukční schopnost (Cornelissen et al. 2003). Při vysetí konstantního počtu semen by byla tato skutečnost ignorována. Naopak při vysetí konstantní váhy semen bychom se v případě hodně malých semen dostaly k obrovskému množství, které by bylo potřeba vysít. Všechna semena byla vážena na analytických laboratorních vahách KERN ABJ ( $\pm 10^{-5}$  g). Úspěšnost výsevu pak byla vždy vztahována ke skutečnému počtu vysetých semen.

Počet přítomných semenáčků jednotlivých druhů vyskytujících se v každé mezeře a její přirozené kontrole byl pravidelně zaznamenáván v průběhu roku 2013 a 2014. Pro větší přesnost byl každý čtverec (30 x 30 cm) rozdělen na čtyři menší, v kterých byly počítány uchycené semenáčky, a následně jednotlivé počty v malých čtvercích sečteny pro jeden velký. V analýzách pak bylo počítáno s průměrným počtem semenáčků v mezerách nebo kontrolních plochách ze dvou opakování.

Aby bylo zamezeno působení kompetice mezi vysetými rostlinnými druhy a přirozenou vegetací v zarůstajících mezerách v průběhu sezón, byly mezery pravidelně dvakrát do roka plety. Plochy byly také pravidelně dvakrát do roka koseny (konec června a polovina října) a to ručně pomocí křovinořezů. Pokosená biomasa byla z ploch odstraněna.

### **3. 2. 2 Sazenicový experiment**

Vysévací experiment byl rozšířen o vysazení předpěstovaných sazenic do prostředí bez kompetice a do zapojené vegetace. Tímto experimentem došlo k vynechání jedné z nejcitlivějších fází rostliny, tj. vyklíčení semenáčku ze semene přímo v terénu, a bylo sledováno, jak by se rostliny chovaly po překonání právě této fáze, která může velmi významně ovlivnit uchycení daného druhu na lokalitě.

Sazenice stejných druhů, které byly použity ve vysévacím experimentu, byly předpěstovány v klimaboxu nejprve na Petriho miskách na vodou navlhčovaném filtračním papíru a poté byly přesazeny do „Jiffy pots“, ve kterých byly následně přesazeny přímo do terénu. Do každé mezery a kontrolní plochy (na *Stanoviště 1 – 3*) s daným vysetým druhem, byly zasazeny tři sazenice stejného druhu do prostoru mimo vysetá semena. Protože ne všechny druhy se v klimaboxu podařilo naklíčit a napěstovat v dostatečném množství do požadovaného stádia, některé druhy nebyly do terénu vysazovány (*Bistorta major*, *Bupleurum falcatum*, *Lycopus europeus*, *Melica nutans*, *Scutellaria galericulata*). *Thymus pulegioides*, *Malva neglecta*, *Cirsium acaule* a *Filipendula ulmaria* byly vysazeny pouze na *Stanovišti 2* a *3* v počtu tří sazenic na mezeru nebo kontrolní plochu, jen u *Stanoviště 2* byly sazenice pro druh *Malva neglecta*, *Cirsium acaule* a *Filipendula ulmaria* vysazeny jen po dvou. U vysazovaných sazenic byla pro charakteristiku dané rostliny změřena výška sazenice a počet listů. Sazenice byly na lokalitu vysazovány na konci května roku 2013. Pro náhlé přívalové deště a následné povodně však musela být práce přerušena, takže sazenice na *Stanovišti 1* byly dosázeny až v druhé polovině června roku 2013.

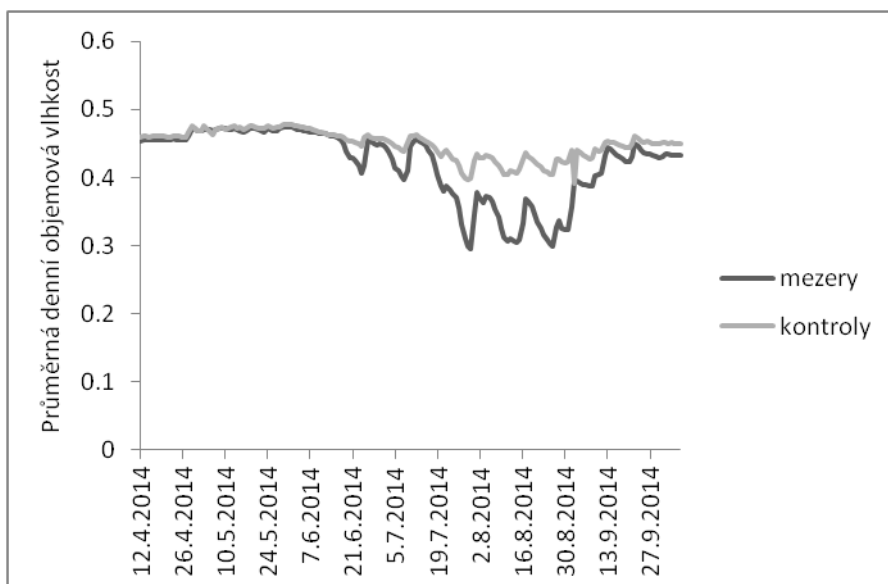
### **3. 2. 3 Test klíčivosti**

Pro ověření schopnosti semen vyklíčit a pro následné porovnání klíčivosti v laboratorních podmínkách s klíčivostí v přírodě byl v průběhu roku 2013 proveden test klíčivosti.

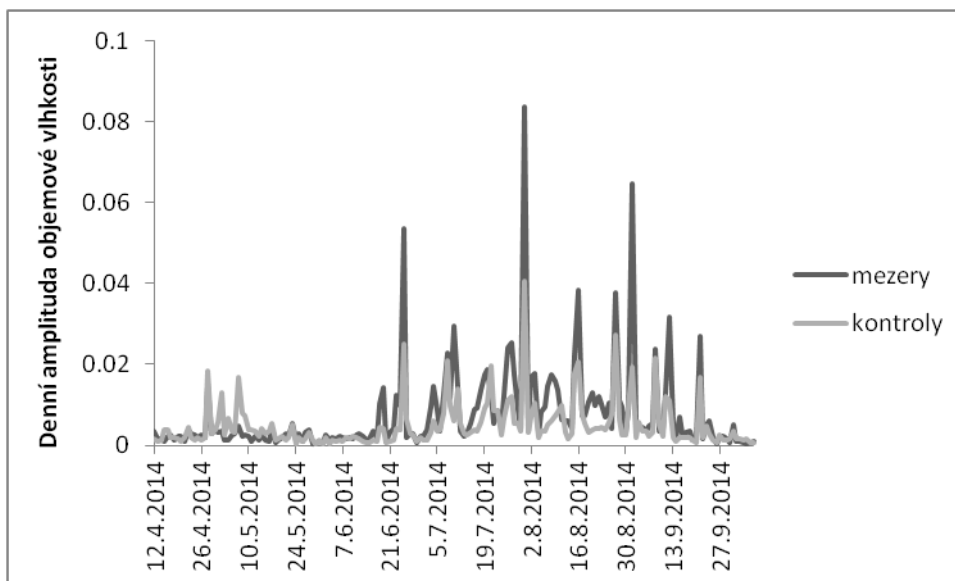
Pro test byla použita semena stratifikovaná tři týdny v suchu při teplotě  $-14^{\circ}\text{C}$  a  $+4^{\circ}\text{C}$ . Takto stratifikovaná semena (35 semen od každého druhu pro daný typ stratifikace) pak byla ponechána v klimaboxu k vyklíčení na Petriho miskách (průměr 5 cm) na vodou navlhčovaném filtračním papíru. Stejným způsobem bylo zároveň ponecháno v místnosti při běžné pokojové teplotě (kolem  $20^{\circ}\text{C}$ ) k vyklíčení od každého druhu 35 semen, která neprošla stratifikací.

### 3. 2. 4 Sběr dat o stanovištích

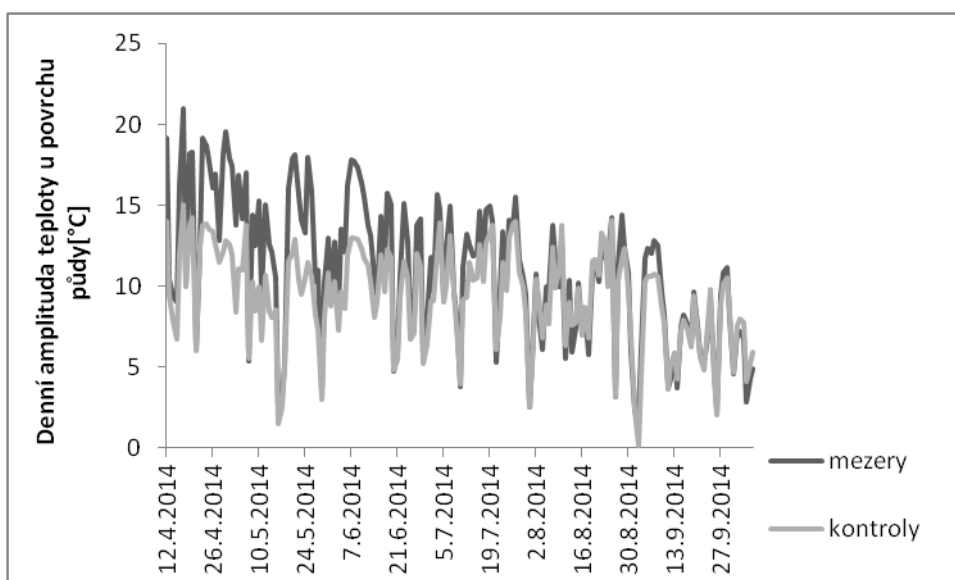
Na začátku července roku 2013 byly na jednotlivá *Stanoviště* umístěny do vegetace (kontrolní plochy) datalogery na měření půdní vlhkosti a teploty. Na jaře 2014 byly přidány také do mezer. Použity byly datalogery TMS3 od firmy TOMST, které měří teplotu 6 cm pod povrchem půdy, teplotu při povrchu půdy, vzdušnou teplotu ve výšce 12 cm a objemovou vlhkost půdy. Měření bylo nastaveno na patnáctiminutovou periodu. Pro kalibraci dat byl použit kalibrační software TMS3Calibr (TOMST 2013). Plnohodnotná data byla získána pouze ze *Stanoviště 3* (Obr. 1 - 4), u zbylých dvou *Stanovišť* si nejsme jisti spolehlivostí fungování datalogerů, a proto data z nich neuvádíme. Uvedené obrázky (Obr. 1 - 4) slouží hlavně jako ilustrace skutečnosti, že odstranění vegetace v mezerách způsobí kromě odstranění kompetice i změny v abiotických podmínkách – vysychání půdy v povrchové vrstvě v letních měsících, zvětšení denních výkyvů teploty i vlhkosti.



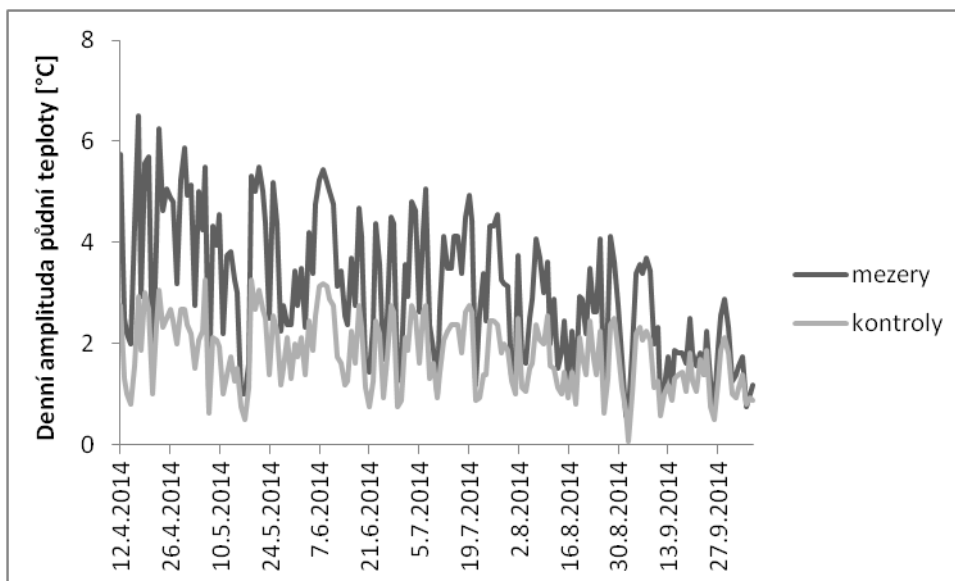
Obr. 1: Průměrná denní objemová vlhkost v mezerách a kontrolních plochách na *Stanovišti 3*.



Obr. 2: Denní amplituda objemové vlhkosti v mezerách a kontrolních plochách na *Stanovišti 3*.



Obr. 3: Denní amplituda teploty měřené u povrchu půdy v mezerách a kontrolních plochách na *Stanovišti 3*.



Obr. 4: Denní amplituda půdní teploty (měřené v 6 cm pod povrchem) v mezerách a kontrolních plochách na *Stanovišti 3*.

V červnu 2014 bylo na každém *Stanovišti* provedeno celkem pět fytoecologických snímků o velikosti 3 x 3 m. Odhadovány byly hodnoty pokryvnosti přítomných druhů ve snímku, které byly následně využity pro výpočet Bealsova indexu a váženého průměru společenstev Ellenbergových indikačních hodnot. Nomenklatura jednotlivých druhů rostlin používaných v celé práci byla sjednocena podle publikace Kubát et al. (2002).

Na konci srpna roku 2014 byly na lokalitě odebrány půdní vzorky. Na každém *Stanovišti* bylo vytyčeno šest ploch (3 plochy v rámci jednoho opakování) o velikosti 0,5 x 0,5 m. Z každé takové plochy bylo odebráno pět půdních sond (průměr 5 cm) do hloubky zhruba 20 cm. Odebrané půdní sondy z jedné takové plochy byly promíchány dohromady a dále laboratorně analyzovány. Výsledky analýz půd pro jednotlivá *Stanoviště* jsou zaznamenány v tabulce 1.

Tab. 1: Výsledky půdních analýz (průměr z 6 vzorků) pro jednotlivá *Stanoviště*.

	<i>Stanoviště 1</i>	<i>Stanoviště 2</i>	<i>Stanoviště 3</i>
<b>momentní sušina [%]</b>	55.39	75.25	62.65
<b>pH H<sub>2</sub>O</b>	7.61	7.76	7.99
<b>pH KCl</b>	7.17	7.32	7.55
<b>konduktivita [μS/cm]</b>	758.00	224.50	299.50
<b>stanovení organického podílu (ztráta žiháním) [%]</b>	25.31	18.79	18.91
<b>sušina [%]</b>	93.41	96.04	96.30
<b>N-NH<sub>4</sub> [mg/kg]</b>	10.355	2.583	17.010
<b>P-PO<sub>4</sub> [mg/kg]</b>	10.799	19.815	8.573
<b>celkový P [mg/kg]</b>	545.943	572.311	363.287
<b>N [%]</b>	1.20	1.03	1.22
<b>C [%]</b>	12.58	11.37	14.73
<b>K [mg/kg]</b>	245.700	313.083	107.290
<b>zrnitost [μm]</b>			
0-2 [%]	16.51	13.90	10.75
2-10 [%]	35.03	32.81	26.50
10-50 [%]	21.31	14.35	17.82
50-100 [%]	0.32	2.76	2.93
100-2000 [%]	26.83	36.68	42.14

### 3. 3 Statistické zpracování a vyhodnocení dat

#### 3. 3. 1 Vysévací experiment

Srovnání přežívání semenáčků v mezerách a v kontrolních plochách na konci experimentu mezi druhy běžnými pro lokalitu („původní druhy“) a druhy s odlišným ekologickým optimem („nepůvodní druhy“) bylo testováno pro každé *Stanoviště* pomocí dvouvýběrového t-testu v programu Statistica 12 (StatSoft 2013). Původnost druhu zde byla použita jako kategoriální proměnná a vztahovala se k celé lokalitě a ne

zvláště k jednotlivým *Stanovištím*. Protože ve dvou srovnávaných skupinách (tj. původní a nepůvodní druhy) nelze předpokládat schodu variancí, byla užita korekce na nehomogenitu variancí. Stejnou analýzou byl srovnáván i poměr přežívání semenáčků na konci experimentu v kontrolních plochách a v mezerách (tj. vliv mezery, který může do jisté míry vyjadřovat míru vlivu působení kompetice) mezi druhy běžnými pro lokalitu a druhy s jinými stanovištními nároky. Vždy byla použita arcsinová transformace průměrného počtu semenáčků ze dvou opakování v kontrolních plochách nebo v mezerách na konci experimentu standardizovaného na počet vyšetých semen (nebo jejich poměru).

Vliv mezery, vyjádřený pomocí poměru průměrného počtu přežívajících semenáčků ze dvou opakování standardizovaného na počet vyšetých semen v kontrolních plochách a v mezerách, přes celý průběh experimentu pro druhy pro lokalitu běžné a pro druhy s odlišným ekologickým optimem na všech třech *Stanovištích* byl hodnocen pomocí vícenásobné ANOVA pro opakovaná pozorování v programu Statistica 12 (StatSoft 2013). Identita vyšetého druhu byla uvažována jako faktor s náhodným efektem vnořený do faktoru původ (tj. druh běžný pro lokalitu nebo druh s odlišným ekologickým optimem).

Přežívání semenáčků bylo porovnááno pomocí korelací v programu Statistica 12 (StatSoft 2013) s absolutními hodnotami rozdílů Ellenbergových indikačních hodnot vyšetých druhů pro vlhkost, světlo a živiny od váženého průměru společenstva, do kterého byly tyto druhy vysety. Tyto hodnoty zde zastupují původnost druhu vzhledem ke každému *Stanovišti* jako kvantitativní proměnná, což je přesnější vyjádření než výše užívaná kategoriální proměnná původnosti. Jako přežívání semenáčků byl uvažován průměrný počet semenáčků ze dvou opakování v kontrolních plochách nebo v mezerách v jednotlivých fázích experimentu standardizovaný na počet vyšetých semen (nebo jejich poměr). Vážený průměr společenstva (tj. pro každé *Stanoviště*) byl vypočítán podle Garnier et al. (2004) jako:

$$CWM = \sum p_i x_i$$

kde CWM je hodnota váženého průměru společenstva Ellenbergových indikačních hodnot pro světlo, vlhkost nebo živiny,  $p_i$  je relativní pokryvnost druhu  $i$  (průměr z pěti fytoecologických snímků) a  $x_i$  je Ellenbergova indikační hodnota pro světlo, vlhkost

nebo živiny druhu *i*. Ellenbergovy indikační hodnoty pro vlhkost, světlo a živiny (Ellenberg et al. 1991) byly zjištěny pomocí programu JUICE verze 7.0 (Tichý 2002). Podobně jako v následujících korelačních analýzách, jsou výsledky prezentovány graficky jako regresní přímka, kde je smysluplnější ze dvou proměnných užitá jako prediktor.

Přežívání semenáčků bylo dále porovnáváno pomocí korelací v programu Statistica 12 (StatSoft 2013) s Bealsovým indexem. Jako přežívání semenáčků byl uvažován průměrný počet semenáčků ze dvou opakování v kontrolních plochách nebo v mezerách v jednotlivých fázích experimentu standardizovaný na počet vyšetých semen (nebo jejich poměr). Bealsův index pro vyšeté druhy byl spočítán z pěti fytoocenologických snímků na každém *Stanovišti* a z externí databáze snímků (použito 2451 snímků) z České národní fytoocenologické databáze (Chytrý & Rafajová 2003) pomocí programu R verze 3.1.1 (R Development Core Team 2014). Pro výpočet byl použit balíček „vegan“ a parametr „type“ = 2 (tj. byly použity pokryvnosti pro spočítání vážených průměrů předpokládaných pravděpodobností) pro funkci „beals“. Následně byla spočtena průměrná hodnota Bealsova indexu vyšetých druhů z hodnot obdržných z pěti fytoocenologických snímků pro každé *Stanoviště*. Stejně jako u Ellenbergových indikačních hodnot, hodnoty Bealsova indexu opět zastupují původnost druhu vzhledem ke každému *Stanovišti* jako kvantitativní proměnná.

### **3. 3. 2 Sazenicový experiment**

Přežívání vysazených druhů pro lokalitu běžných a s odlišným ekologickým optimem v mezerách a v kontrolních plochách v průběhu celého experimentu na jednotlivých *Stanovištích* bylo analyzováno pomocí repeated measures ANOVA v programu Statistica 12 (StatSoft 2013). K tomu byla použita arcsinová transformace průměrného počtu sazenic ze dvou opakování v mezerách a v kontrolních plochách standardizovaného na počet vysazených sazenic v průběhu celého experimentu.



Srovnání přežívání sazenic v mezerách a v kontrolních plochách na konci experimentu mezi druhy běžnými pro lokalitu a druhy s odlišným ekologickým optimem bylo testováno pro každé *Stanoviště* pomocí dvouvýběrového t-testu s korekcí na nehomogenitu variancí v programu Statistica 12 (StatSoft 2013) stejným způsobem jako u vysévacího experimentu. Vždy byla použita arcsinová transformace průměrného počtu sazenic ze dvou opakování v kontrolních plochách nebo v mezerách na konci experimentu standardizovaného na počet vysazených rostlin (nebo jejich poměru).

### **3. 3. 3 Klíčivost semen v terénu vzhledem k testu klíčivosti**

Srovnání klíčení semen jednotlivých druhů v terénu (tj. na *Stanovišti 1 – 3*) s klíčivostí semen v testu klíčivosti (tj. počet vyklíčených semen v laboratorních podmínkách standardizovaný na počet vyšetých semen stratifikovaných při +4°C, -14°C nebo bez stratifikace) bylo analyzováno pomocí korelací v programu Statistica 12 (StatSoft 2013). Za klíčení semen v terénu byl považován průměrný počet semenáčků ze dvou opakování standardizovaný na počet vyšetých semen na počátku experimentu v mezerách nebo v kontrolách a alternativně jako maximální počet semenáčků v kontrolních plochách nebo mezerách ze dvou opakování standardizovaný na počet vyšetých semen v průběhu celého experimentu.

## 4 Výsledky

### 4. 1 Vysévací experiment

#### 4. 1. 1 Klíčení a přežívání vysetých druhů

Do mezer a kontrolních ploch byla na vlhkostním gradientu (*Stanoviště 1* – nejvlhčí, *Stanoviště 3* – nejméně vlhké) vyseta semena 30 druhů rostlin: 12 druhů které se na lokalitě běžně vyskytují („původní druhy“) a 18 druhů, jejichž ekologické optimum lokalitě neodpovídá („nepůvodní druhy“).

Z 12 vysetých druhů pro lokalitu běžných vyklíčily v mezerách na všech třech *Stanovištích* všechny druhy. Všechny druhy klíčily lépe v mezerách než v kontrolních plochách a výrazně lépe zde i přežívaly. V kontrolních plochách velmi špatně klíčil především druh *Geranium pratense* (vyklíčil pouze na *Stanovišti 1* v počtu několika málo jedinců). Výrazně horší klíčení semen bylo celkově zaznamenáno v kontrolách na *Stanovišti 2* (7 druhů z 12 zde vůbec nevyklíčilo). Ve výrazně velkém množství klíčil především druh *Lychnis flos-cuculi* na všech třech *Stanovištích* a to jak v mezerách, tak v kontrolních plochách. Tento druh oproti ostatním druhům nadále i velmi dobře přežíval jak v mezerách, tak i v kontrolách a v mezerách na *Stanovišti 2* dokonce v druhé sezóně dospěl do reprodukčního stádia (Tab. 2). Na *Stanovišti 1* a *2* také velmi dobře klíčil jak v mezerách tak v kontrolních plochách druh *Prunella vulgaris* zatímco na *Stanovišti 3* klíčil podstatně méně a z kontrolních ploch dokonce úplně vymizel již v průběhu první sezóny. V mezerách na *Stanovišti 1* a *2* přežívala *Prunella vulgaris* dobře až do druhé sezóny, zatímco v kontrolních plochách bylo přežívání výrazně horší. *Prunella vulgaris* během druhé sezóny také dospěla do reprodukčního stádia a to pouze v mezerách na *Stanovišti 2* a překvapivě také na *Stanovišti 3*, kde klíčila poměrně málo, ale přesto vykvetla v počtu několika jedinců (Tab. 2). Z dalších, pro lokalitu běžných druhů, do reprodukčního stádia také dospělo *Plantago lanceolata* v poměrně hojném

počtu na všech třech *Stanovištích* a to pouze v mezerách (Tab. 2). V počtu pouze několika málo jedinců dospěl do reprodukčního stádia opět pouze v mezerách druh *Scutellaria galericulata* na *Stanovišti 1*, *Lycopus europeus* na *Stanovišti 2* a *Anthoxanthum odoratum* a *Sanguisorba officinalis* na *Stanovišti 3* (Tab. 2).

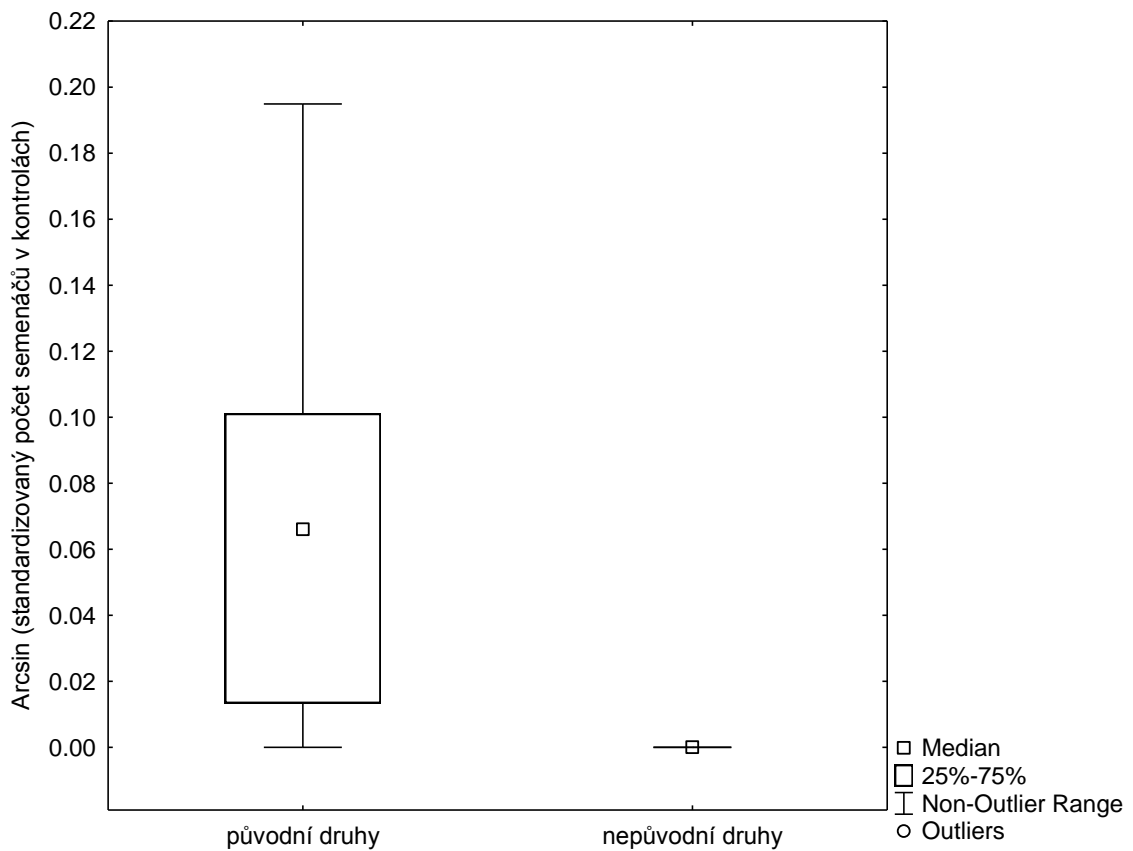
Z 18 vyšetých druhů s odlišným ekologickým optimem než jaké je typické pro lokalitu, nevyklíčily na ani jednom *Stanovišti* pouze dva druhy – *Bistorta major* a *Viola hirta*. Na *Stanovišti 1* navíc vůbec nevyklíčil *Lathyrus vernus*, který klíčil na zbylých dvou *Stanovištích* pouze v mezerách a to ve velmi malém množství, ale několik jedinců zde přežilo až do konce experimentu. Na *Stanovišti 3* také vůbec nevyklíčilo *Bupleurum falcatum*, které na zbylých *Stanovištích* v mezerách sice v počtu několika jedinců vyklíčilo, ale ty zahynuly již v průběhu první sezóny. Všechny druhy na všech *Stanovištích* klíčily výrazně lépe v mezerách než v kontrolních plochách, kde se počty vyklíčených semenáčků většinou pohybovaly ve velmi nízkých hodnotách. Výjimkou byly druhy *Aphanes arvensis*, *Hypericum hirsutum* a *Nardus stricta*, které v kontrolách vyklíčily oproti ostatním druhům v poměrně vysokém počtu. Ten však ani v jednom případě nepřesáhl počet vyklíčených semen v mezerách. V kontrolních plochách druhy s odlišným ekologickým optimem od lokality přežívaly velmi špatně. Většina z nich v kontrolách vymřela již v průběhu první sezóny a na konci experimentu byl počet semenáčků těchto druhů ve všech kontrolách na všech *Stanovištích* nulový. Naopak v mezerách prospívaly alespoň některé z těchto druhů poměrně dobře a hodně jich přežilo až do konce experimentu. Mezi nejhojnější druhy v mezerách na konci experimentu je možné zařadit: *Carlina acaulis* (výrazně na *Stanovišti 2*), *Hypericum hirsutum*, *Nardus stricta*, *Origanum vulgare* (především na *Stanovišti 2* a *3*), *Sanguisorba minor*, *Thymus pulegioides* (ve velkém počtu hlavně na *Stanovišti 2*), nebo *Trifolium montanum* (zvláště na *Stanovišti 1*). V menším množství (většinou jen několik jedinců) až do konce experimentu přežívaly také druhy *Campanula persicifolia* (*Stanoviště 1* a *3*), *Geranium sanguineum*, *Lathyrus vernus* (*Stanoviště 2* a *3*), pouze na *Stanovišti 1* *Aphanes arvensis* a pouze na *Stanovišti 3* *Arabis glabra* a *Cirsium acaule*. Do reprodukčního stádia dospěl v druhé sezóně druh *Sanguisorba minor* a to na *Stanovišti 2* a *3* (Tab. 2). Na žádném ze *Stanovišť* do konce experimentu v mezerách nepřežily kromě dvou druhů (*Bistorta major* a *Viola hirta*), které vůbec neklíčily, druhy *Bupleurum falcatum*, *Malva neglecta* a *Melica nutans*.

Tab. 2: Přehled počtu semenáčů, které dospěly do reprodukčního stádia a počet přežívajících semenáčů těchto druhů na jednotlivých *Stanovištích* v mezerách. V obou případech je uvažován průměrný počet jedinců ze dvou opakování standardizovaný na počet vyšetřých semen.

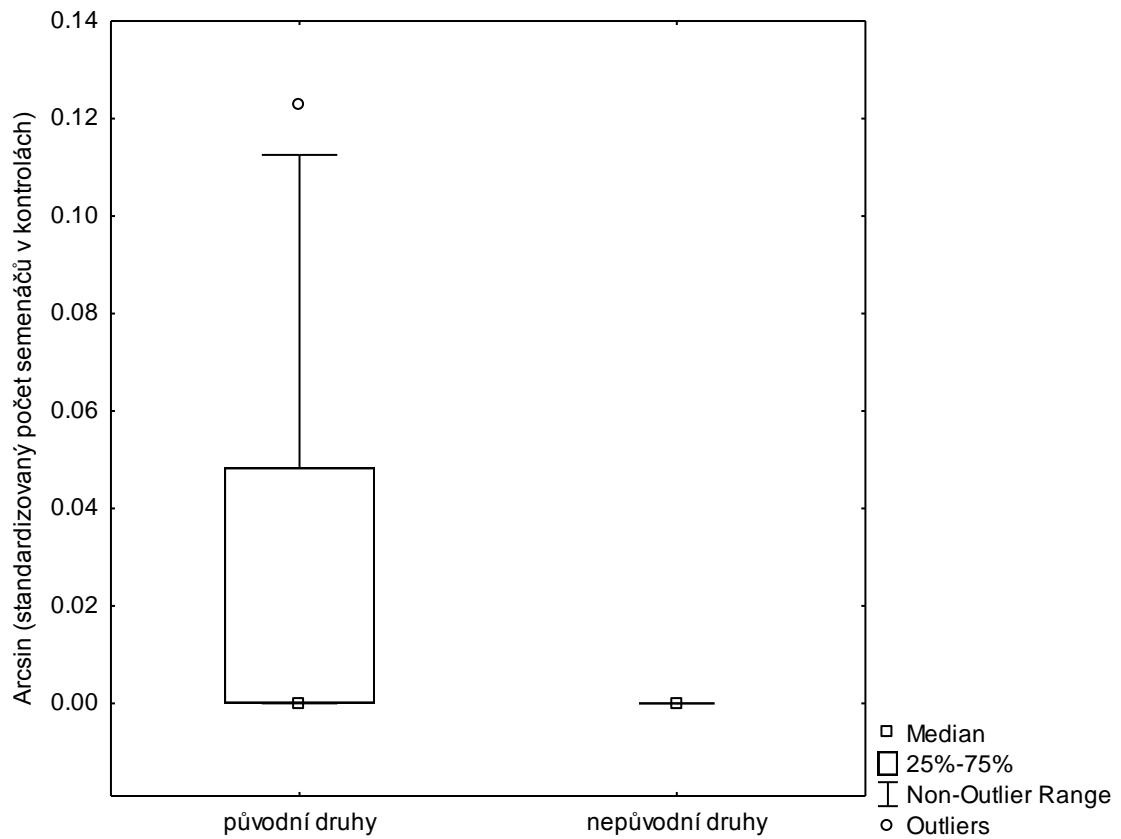
	<i>Stanoviště 1</i>		<i>Stanoviště 2</i>		<i>Stanoviště 3</i>	
	standardizovaný počet kvetoucích jedinců	standardizovaný počet přežívajících jedinců	standardizovaný počet kvetoucích jedinců	standardizovaný počet přežívajících jedinců	standardizovaný počet kvetoucích jedinců	standardizovaný počet přežívajících jedinců
<i>Anthoxanthum odoratum</i>	0.000	0.029	0.000	0.013	0.018	0.039
<i>Lycopus europeus</i>	0.000	0.045	0.001	0.021	0.000	0.001
<i>Lychnis flos-cuculi</i>	0.000	0.063	0.022	0.123	0.000	0.080
<i>Plantago lanceolata</i>	0.053	0.175	0.080	0.150	0.165	0.233
<i>Prunella vulgaris</i>	0.000	0.217	0.054	0.319	0.007	0.055
<i>Sanguisorba minor</i>	0.000	0.085	0.048	0.095	0.010	0.078
<i>Sanguisorba officinalis</i>	0.000	0.035	0.000	0.045	0.003	0.040
<i>Scutellaria galericulata</i>	0.004	0.015	0.000	0.013	0.000	0.033

V kontrolních plochách v rámci *Stanoviště 1* a *3* přežívalo na konci experimentu průkazně více druhů pro lokalitu běžných ( $t_{11} = 3.862$ ,  $p = 0.002643$  pro *Stanoviště 1* – Obr. 5, resp.  $t_{11} = 2.927$ ,  $p = 0.013775$  pro *Stanoviště 3* – Obr. 7), zatímco druhy s odlišným ekologickým optimem zcela vymizely. Na *Stanovišti 2* byl tento trend neprůkazný ( $t_{11} = 1.903$ ,  $p = 0.08351$  pro *Stanoviště 2* – Obr. 6), nicméně druhy s odlišnými stanovištními nároky i zde zcela vymizely. V mezerách na konci experimentu přežívalo v rámci jednotlivých *Stanovišť* průkazně více druhů pro lokalitu běžných ( $t_{23.576} = 3.957$ ,  $p = 0.000603$  pro *Stanoviště 1* – Obr. 8,  $t_{17.501} = 2.688$ ,  $p = 0.015279$  pro *Stanoviště 2* – Obr. 9 a  $t_{19.001} = 3.578$ ,  $p = 0.002005$  pro *Stanoviště 3* – Obr. 10), ale druhy s odlišnými stanovištními nároky v mezerách stále přežívaly, i když v menším celkovém množství. Na *Stanovišti 1* v mezerách dokonce nejvíce ze všech druhů přežívala *Sanguisorba minor* (velmi srovnatelně s jinými pro lokalitu běžnými druhy přežívala však i na zbylých dvou *Stanovištích*) a hojně také *Trifolium montanum*, což jsou druhy s odlišnými stanovištními nároky. Pokud byla stejná analýza spočítána i pro poměr počtu semenáčků v kontrolách a v mezerách, je počítáno pouze s těmi druhy, které v mezerách dosáhly nenulových hodnot, zatímco pro kontrolní plochy je počítáno

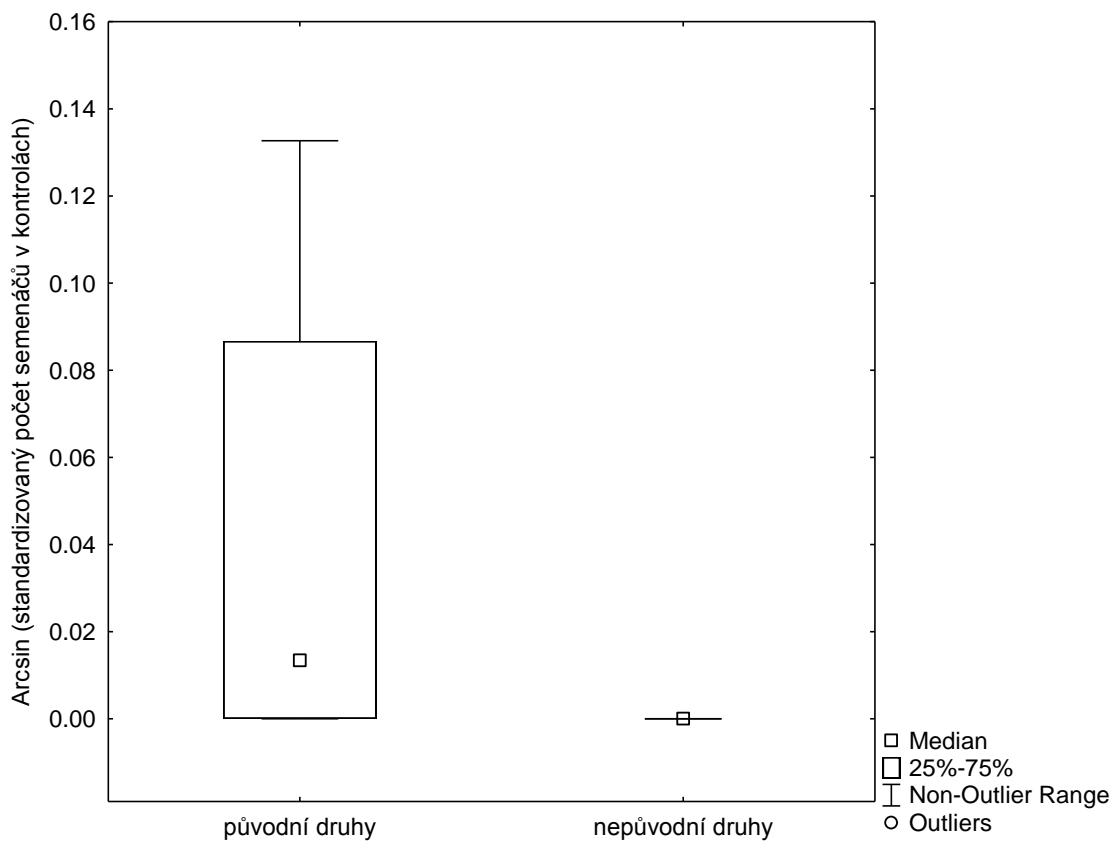
se všemi druhy. Za takového předpokladu byl vliv mezery na *Stanovišti 1* a *3* průkazně mnohem větší pro druhy s odlišným ekologickým optimem než pro druhy pro lokalitu běžné ( $t_{11} = 4.143$ ,  $p = 0.001636$  – Obr. 11, resp.  $t_{11} = 2.774$ ,  $p = 0.018104$  – Obr. 13), zatímco pro *Stanoviště 2* byl tento vztah neprůkazný ( $t_{11} = 1.833$ ,  $p = 0.09397$  – Obr. 12).



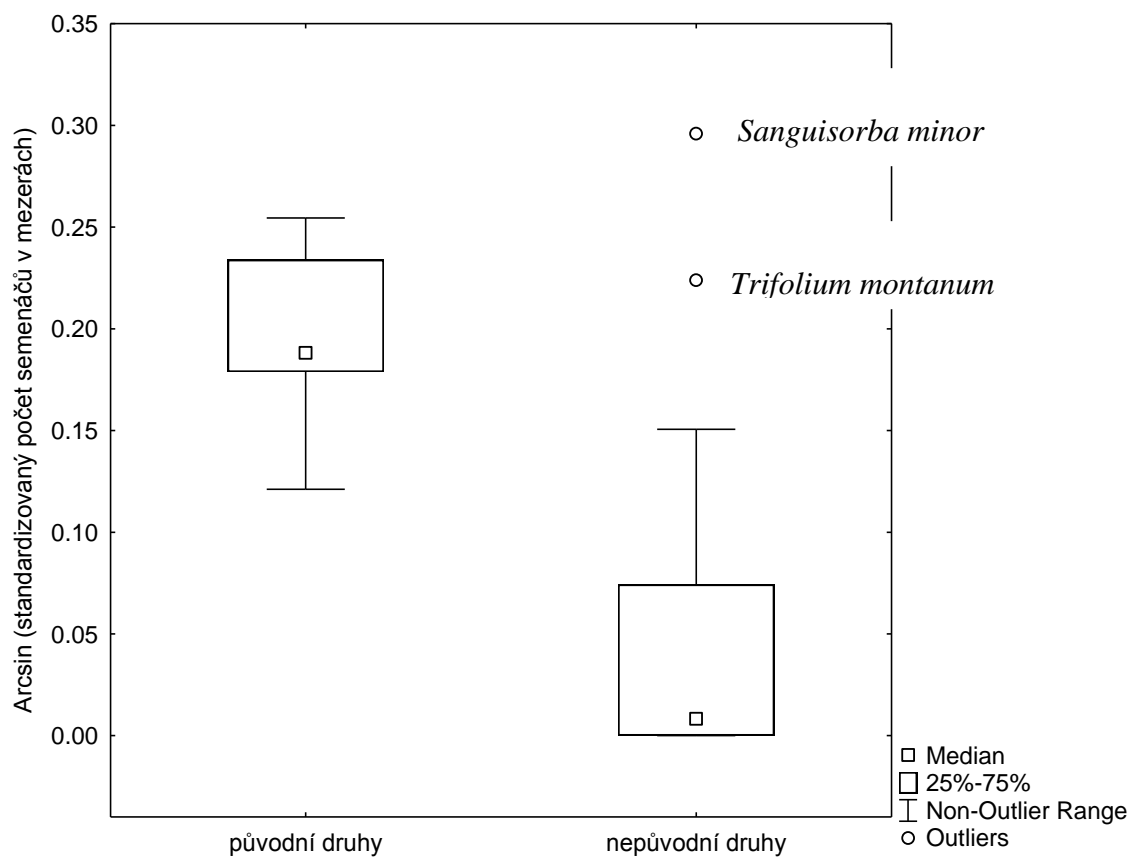
Obr. 5: *Stanoviště 1*. Porovnání úspěšnosti přežívání průměrného počtu semenáčů ze dvou opakování v kontrolních plochách na konci experimentu standardizovaného na počet vyšetých semen pro druhy pro lokalitu původní ( $n = 12$ ) a nepůvodní ( $n = 18$ ). Použita arcsinová transformace.  $t_{11} = 3.862$ ,  $p = 0.002643$ .



Obr. 6: *Stanoviště 2*. Porovnání úspěšnosti přežívání průměrného počtu semenáčů ze dvou opakování v kontrolních plochách na konci experimentu standardizovaného na počet vyšetých semen pro druhy pro lokalitu původní ( $n = 12$ ) a nepůvodní ( $n = 18$ ). Použita arcsinová transformace.  $t_{11} = 1.903$ ,  $p = 0.08351$ .

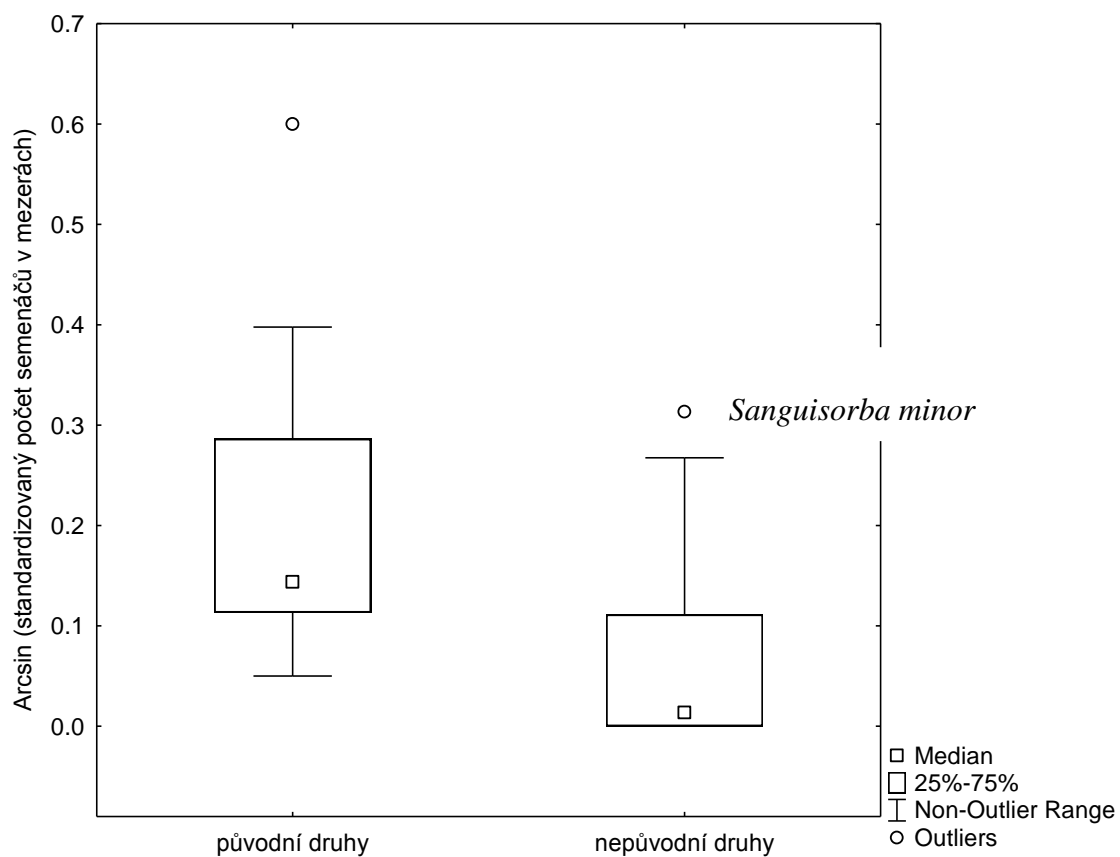


Obr. 7: *Stanoviště 3*. Porovnání úspěšnosti přežívání průměrného počtu semenáčů ze dvou opakování v kontrolních plochách na konci experimentu standardizovaného na počet vyšetých semen pro druhy pro lokalitu původní ( $n = 12$ ) a nepůvodní ( $n = 18$ ). Použita arcsinová transformace.  $t_{11} = 1.903$ ,  $p = 0.08351$ .

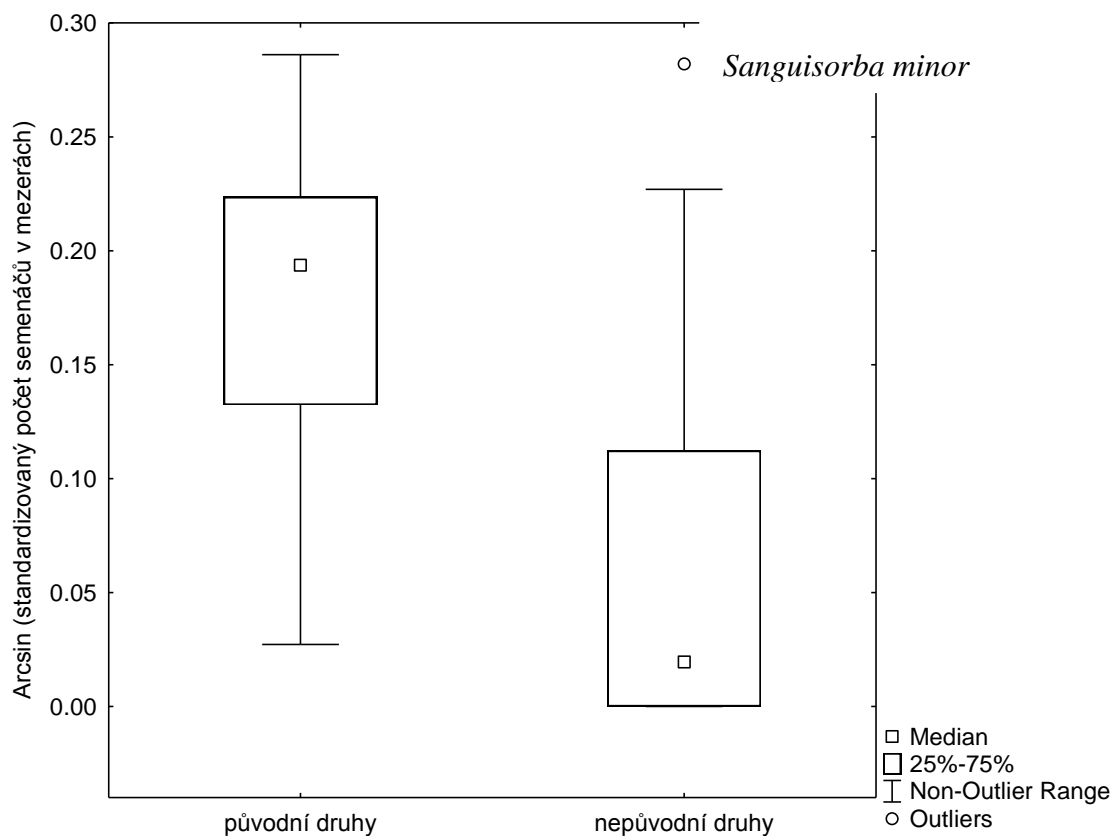


Obr. 8: *Stanoviště 1*. Porovnání úspěšnosti přežívání průměrného počtu semenáčů ze dvou opakování v mezerách na konci experimentu standardizovaného na počet vyšetřovaných semen pro druhy pro lokalitu původní ( $n = 12$ ) a nepůvodní ( $n = 18$ ). Použita arcsinová transformace.  $t_{23.576} = 3.957$ ,  $p = 0.000603$ .

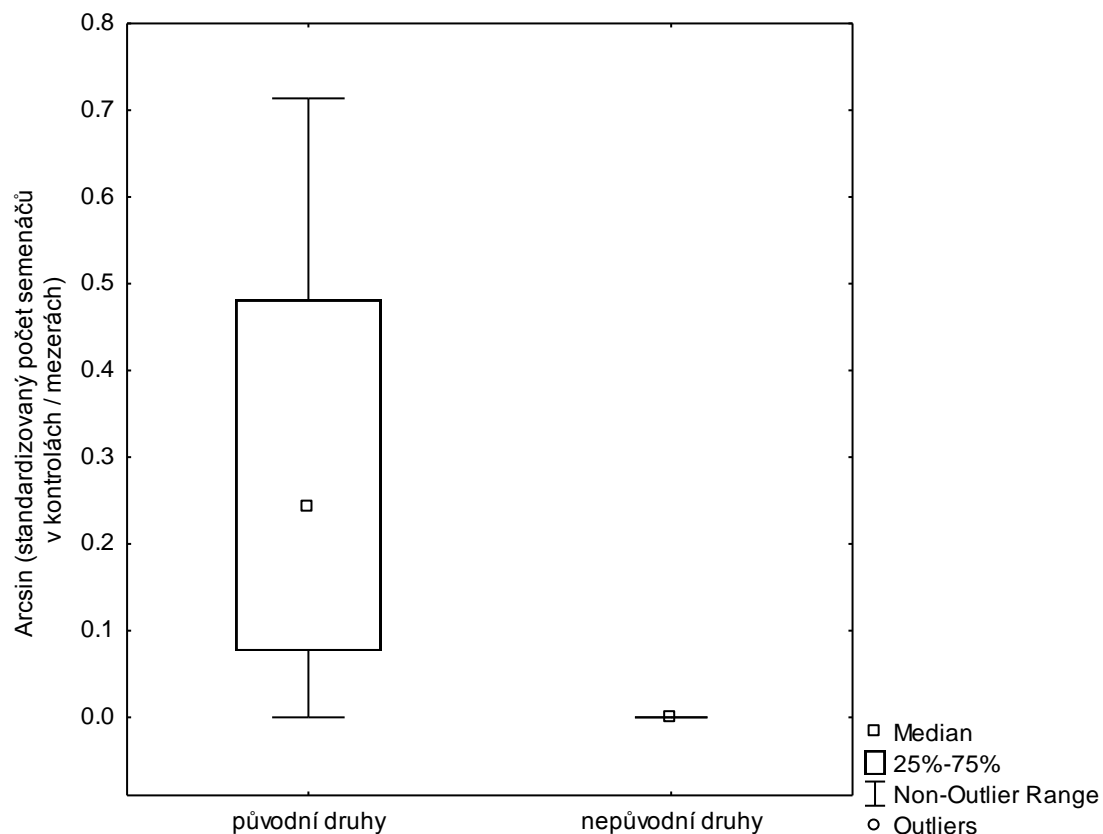




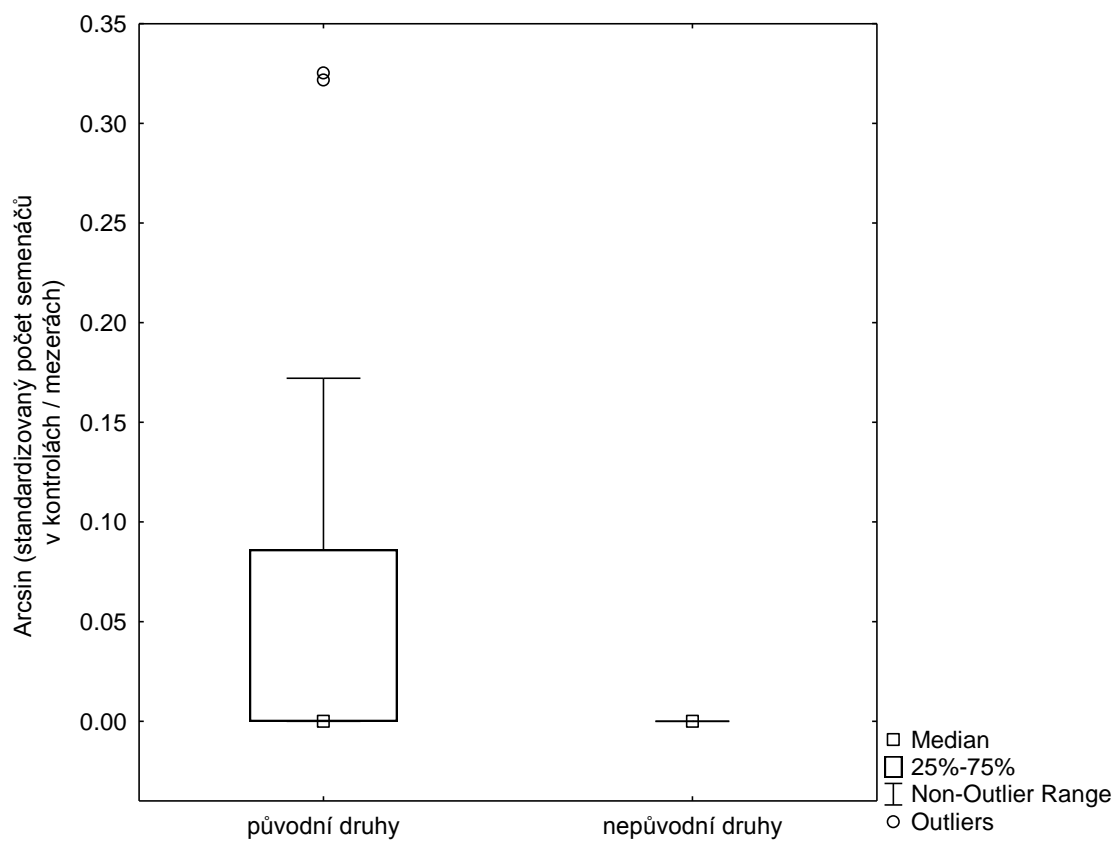
Obr. 9: *Stanoviště 2*. Porovnání úspěšnosti přežívání průměrného počtu semenáčů ze dvou opakování v mezerách na konci experimentu standardizovaného na počet vyšetřovaných semen pro druhy pro lokalitu původní ( $n = 12$ ) a nepůvodní ( $n = 18$ ). Použita arcsinová transformace.  $t_{17,501} = 2.688$ ,  $p = 0.015279$ .



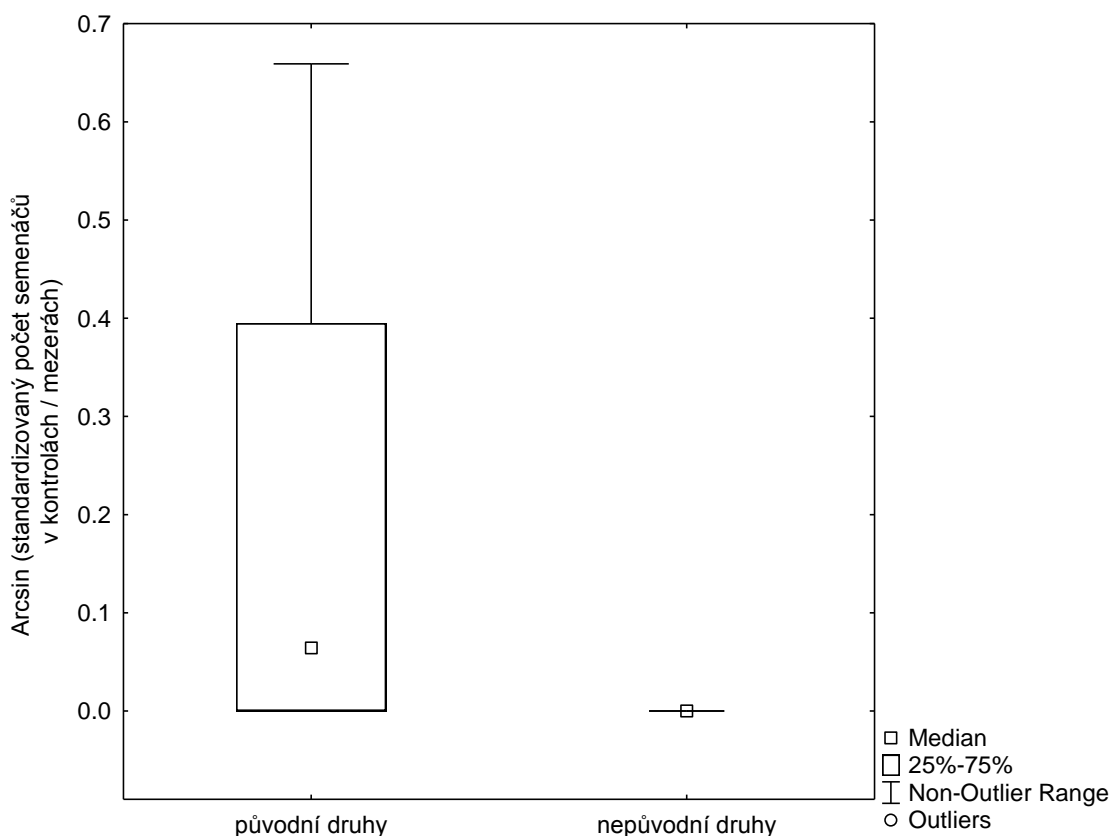
Obr. 10: *Stanoviště 3*. Porovnání úspěšnosti přežívání průměrného počtu semenáčů ze dvou opakování v mezerách na konci experimentu standardizovaného na počet vyšetřovaných semen pro druhy pro lokalitu původní ( $n = 12$ ) a nepůvodní ( $n = 18$ ). Použita arcsinová transformace.  $t_{19,0.01} = 3.578$ ,  $p = 0.002005$ .



Obr. 11: *Stanoviště 1*. Porovnání úspěšnosti přežívání poměru průměrného počtu semenáčů ze dvou opakování v kontrolních plochách a mezerách na konci experimentu standardizovaného na počet vyšetých semen pro druhy pro lokalitu původní ( $n = 12$ ) a nepůvodní ( $n = 10$ ). Použita arcsinová transformace.  $t_{11} = 4.143$ ,  $p = 0.001636$ .



Obr. 12: *Stanoviště 2*. Porovnání úspěšnosti přežívání poměru průměrného počtu semenáčů ze dvou opakování v kontrolních plochách a mezerách na konci experimentu standardizovaného na počet vyšetých semen pro druhy pro lokalitu původní ( $n = 12$ ) a nepůvodní ( $n = 9$ ). Použita arcsinová transformace.  $t_{11} = 1.833$ ,  $p = 0.09397$ .



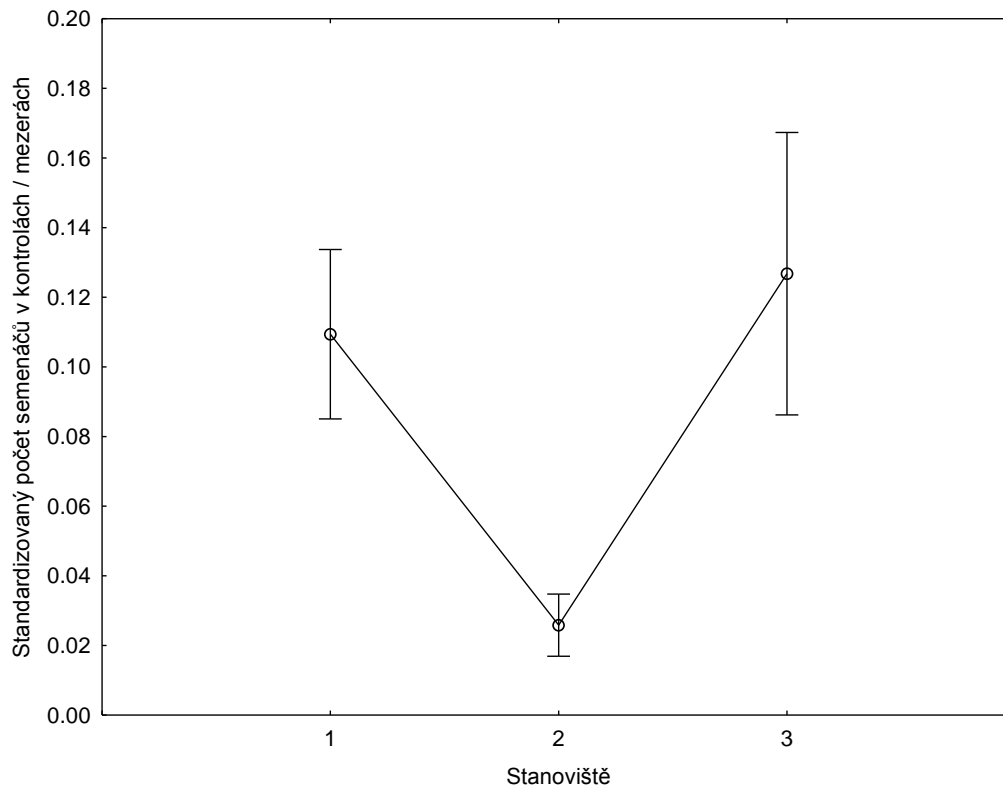
Obr. 13: *Stanoviště 3*. Porovnání úspěšnosti přežívání poměru průměrného počtu semenáčů ze dvou opakování v kontrolních plochách a mezerách na konci experimentu standardizovaného na počet vyšetých semen pro druhy pro lokalitu původní ( $n = 12$ ) a nepůvodní ( $n = 11$ ). Použita arcsinová transformace.  $t_{11} = 2.774$ ,  $p = 0.018104$ .

Pokud se na úspěšnost přežívání semenáčků díváme přes celý průběh experimentu, pomocí vícenásobné ANOVA pro opakovaná pozorování zjistíme, že vliv mezery na jednotlivých *Stanovištích* se liší a že největší vliv mezery na vyšeté druhy je na *Stanovišti 2* ( $F_{2, 53.374} = 7.963$ ,  $p = 0.00094$  – Tab. 3, Obr. 14). Odlišně se také projevuje vliv mezery u jednotlivých druhů v rámci *Stanovišť'* ( $F_{49, 211} = 5.515$ ,  $p < 0.0000001$ , Tab. 3). Pokud porovnááme úspěšnost přežívání druhů pro lokalitu běžných a druhů s odlišnými stanovištními nároky přes celý průběh experimentu, snižuje se kvůli velkému množství pozorování síla testu, takže na rozdíl od výsledků pouze z konce experimentu zde nehraje vliv mezery na jednotlivých *Stanovištích*

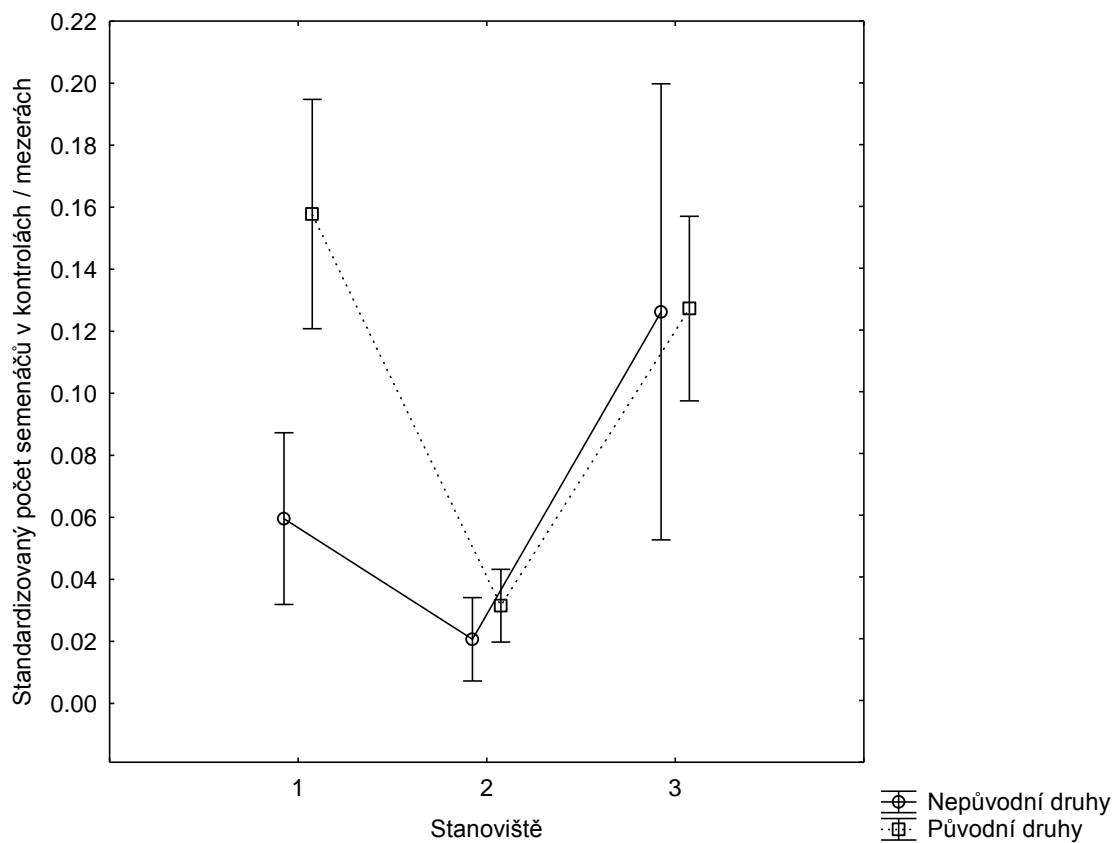
průkazně velkou roli ( $F_{2, 53.278} = 1.308$ ,  $p = 0.278866$ , Tab. 3). Je zde však vidět jistý trend, který poukazuje na mnohem větší vliv mezer na vyšeté druhy s odlišnými stanovištními nároky na *Stanovišti 1*, zatímco na zbylých *Stanovištích* se zdá být vliv mezer na vyšeté druhy pro lokalitu běžné velmi podobný s vlivem mezer na vyšeté druhy s odlišným ekologickým optimem (Obr. 15). Průkazný rozdíl nebyl zaznamenán mezi druhy pro lokalitu běžnými a druhy s odlišným ekologickým optimem ani v průběhu celého experimentu přes všechna *Stanoviště* ( $F_{5, 135.45} = 0.69862$ ,  $p = 0.625391$  – Tab. 3, Obr. 16). Z obrázku 16 je však vidět, že na druhy s odlišným ekologickým optimem má mezera mnohem větší vliv než na druhy pro lokalitu běžné.

Tab. 3: Výsledky mnohonásobné ANOVA pro opakovaná pozorování pro poměr průměrného počtu semenáčů ze dvou opakování v kontrolních plochách a mezerách standardizovaný na počet vyšetých semen v průběhu celého experimentu.

Effect	Univariate Tests of Significance for co/gap Over-parameterized model Type III decomposition; Std. Error of Estimate: .1309592							
	Effect (F/R)	SS	Degr. of Freedom	MS	Den.Syn. Error df	Den.Syn. Error MS	F	p
Datum	Fixed	0.607178	5	0.121436	135.7408	0.019611	6.19222	0.000033
Původ	Fixed	0.198934	1	0.198934	27.9607	0.073643	2.70133	0.111464
Datum*Původ	Fixed	0.068514	5	0.013703	135.4492	0.019614	0.69862	0.625391
Stanoviště	Fixed	0.868199	2	0.434099	53.3738	0.054514	7.96310	0.000941
Datum*Původ*Stanoviště	Fixed	0.132329	10	0.013233	211.0000	0.017150	0.77158	0.656101
Druh(Původ)	Random	2.133759	26	0.082068	51.8928	0.060453	1.35754	0.172322
Druh(Původ)*Stanoviště	Random	2.953744	49	0.060280	211.0000	0.017150	3.51483	0.000000
Druh(Puvod)*Datum	Random	2.411838	122	0.019769	211.0000	0.017150	1.15270	0.183604
Původ*Stanoviště	Fixed	0.142904	2	0.071452	53.2782	0.054622	1.30813	0.278866
Datum*Stanoviště	Fixed	0.190101	10	0.019010	211.0000	0.017150	1.10844	0.357050

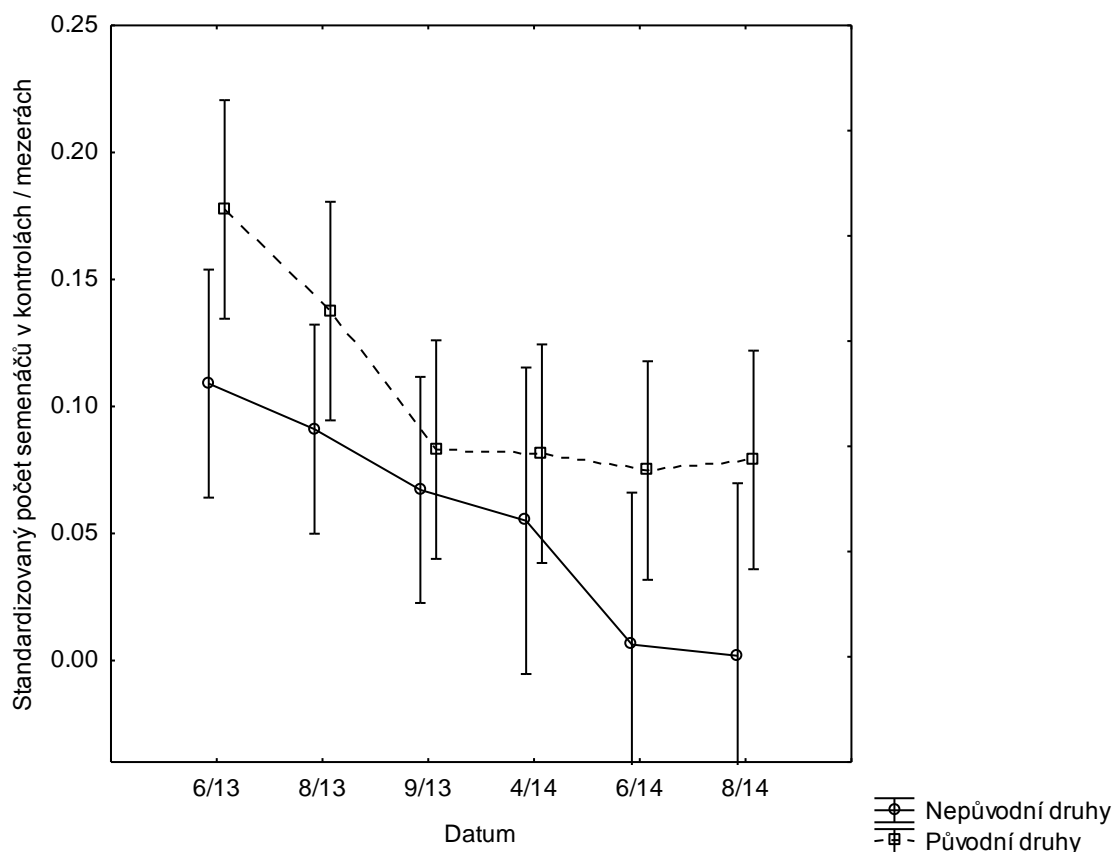


Obr. 14: Průkazně odlišný poměr průměrného počtu semenáčů ze dvou opakování v kontrolních plochách a mezerách standardizovaný na počet vyšetých semen mezi jednotlivými *Stanovišti* v průběhu celého experimentu (tj. průměr přes všechna měření). Mnohonásobná ANOVA pro opakovaná pozorování (Tab. 3).



Obr. 15: Marginální efekt mnohonásobné ANOVA pro opakovaná pozorování zprůměrovaný přes průběh celého experimentu na jednotlivých *Stanovištích* pro poměr průměrného počtu semenáčů ze dvou opakování v kontrolních plochách a mezerách standardizovaný na počet vyšetých semen s ohledem na původ vyšetého druhu (Tab. 3).





Obr. 16: Marginální efekt mnohonásobné ANOVA pro opakovaná pozorování zprůměrovaný přes všechna stanoviště v průběh celého experimentu pro poměr průměrného počtu semenáčů ze dvou opakování v kontrolních plochách a mezerách standardizovaný na počet vyšetých semen s ohledem na původ vyšetého druhu (Tab. 3). Datum jednotlivých záznamů počtu semenáčů je ve formátu měsíc/rok.

#### 4. 1. 2 Porovnání jednotlivých metod stanovení zásobníku druhů na základě vysévacího experimentu

Přežívání semenáčků bylo porovnáváno podle toho, jak se Ellenbergovy indikační hodnoty vyšetých druhů pro světlo, vlhkost (Tab. 4) a živiny liší od váženého průměru společenstva, do kterého byly tyto druhy vysety. Přežívání semenáčků průkazně

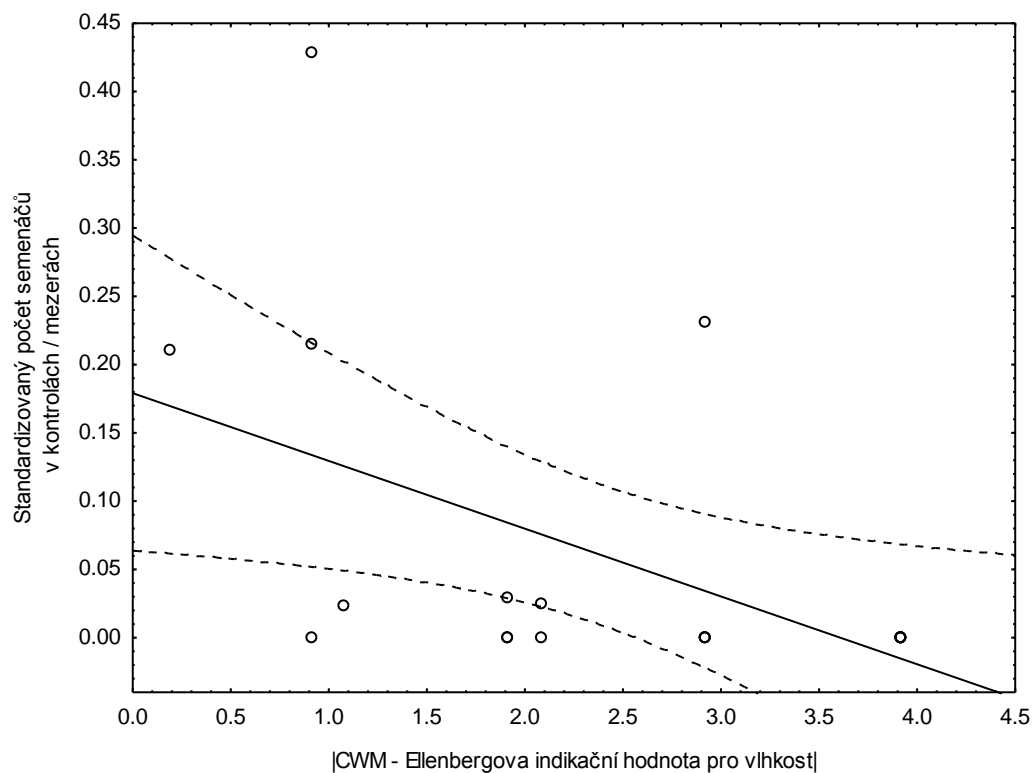
negativně korelovalo pouze s absolutními hodnotami rozdílů Ellenbergových indikačních hodnot vyšetých druhů pro vlhkost od váženého průměru společenstva (Tab. 5). Pro světlo ani živiny nebyla zaznamenána žádná průkazná korelace. Negativní korelace pro přežívání semenáčků s absolutními hodnotami rozdílů Ellenbergových indikačních hodnot vyšetých druhů pro vlhkost od váženého průměru společenstva byly nejvíce zaznamenány především na *Stanovišti 1*. Výrazně se zde projevoval především trend poukazující na skutečnost, že na druhy, které mají velké absolutní hodnoty rozdílů od váženého průměru společenstva, působí vliv mezery mnohem více než na druhy, které mají tyto hodnoty malé a to i na konci experimentu (Tab. 5 – kontroly/mezery, Obr. 17). Stejný trend byl zaznamenán i na *Stanovišti 2*, ale pouze v průběhu první sezóny. Jak na *Stanovišti 2*, tak na *Stanovišti 3* však tato závislost na konci experimentu již nebyla průkazná (Tab. 5, Obr. 18, resp. Obr. 19). Na *Stanovišti 1* a *3* byl zaznamenán také vyšší počet přežívajících semenáčků v kontrolních plochách těch druhů, které mají malé absolutní hodnoty rozdílů Ellenbergových indikačních hodnot pro vlhkost od váženého průměru společenstva a to především v druhé sezóně (Tab. 5 – kontroly). Na *Stanovišti 3* ze začátku vyklíčily lépe v mezerách semenáčky druhů s malými absolutními hodnotami rozdílů Ellenbergových indikačních hodnot pro vlhkost od váženého průměru společenstva, ale na konci první sezóny ani v druhé sezóně se již tento trend neobjevuje (Tab. 5 – mezery).

Tab. 4: Přehled hodnot Bealova indexu vyšetřovaných druhů a absolutních hodnot rozdílů Ellenbergových indikačních hodnot vyšetřovaných druhů pro vlhkost od váženého průměru společenstva (CWM), do kterého byly druhy vyšetřeny.

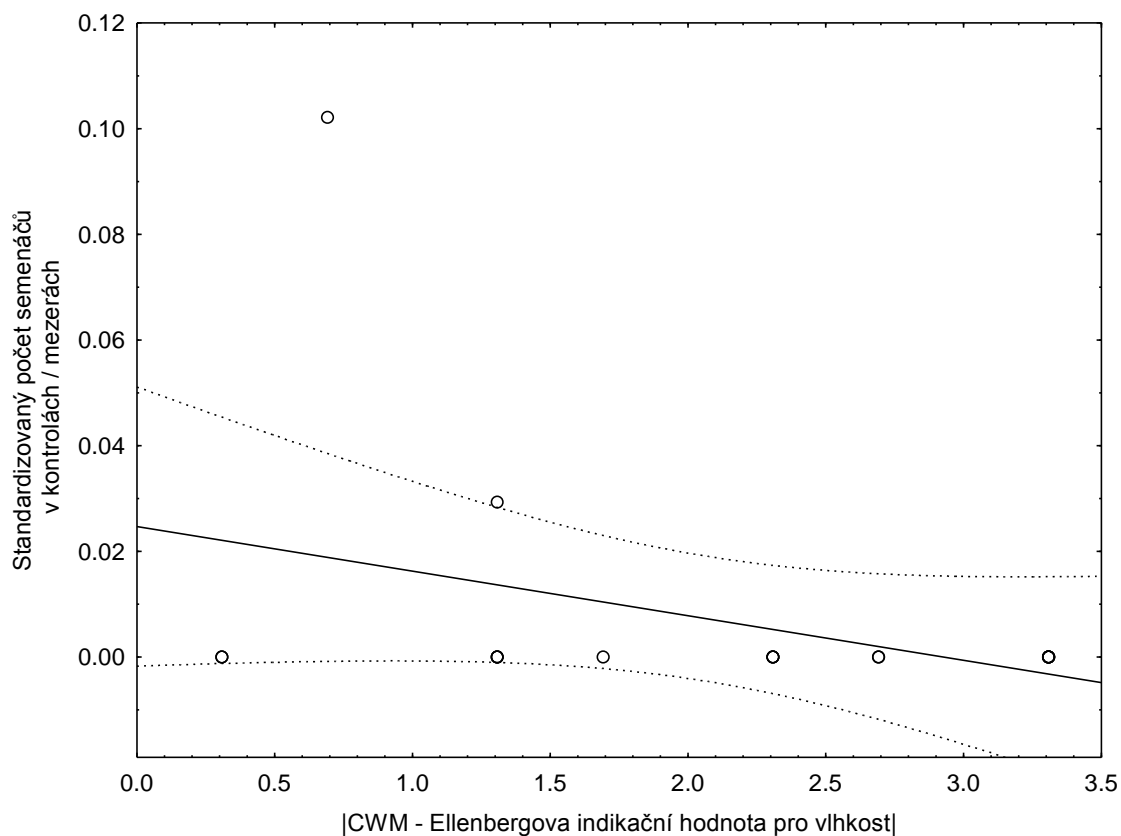
	Bealův index			CWM - Ellenbergova indikační hodnota pro vlhkost		
	Stanoviště 1	Stanoviště 2	Stanoviště 3	Stanoviště 1	Stanoviště 2	Stanoviště 3
<i>Anthoxanthum odoratum</i>	0.326	0.313	0.346	-	-	-
<i>Aphanes arvensis</i>	0.001	0.003	0.001	0.917	0.308	0.675
<i>Arabis glabra</i>	0.002	0.002	0.002	3.917	3.308	3.675
<i>Bistorta major</i>	0.116	0.121	0.105	-	-	-
<i>Bupleurum falcatum</i>	0.029	0.030	0.031	3.917	3.308	3.675
<i>Campanula persicifolia</i>	0.016	0.019	0.020	2.917	2.308	2.675
<i>Carlina acaulis</i>	0.050	0.059	0.070	2.917	2.308	2.675
<i>Cirsium acaule</i>	0.015	0.016	0.032	3.917	3.308	3.675
<i>Filipendula ulmaria</i>	0.221	0.190	0.213	1.083	1.692	1.325
<i>Filipendula vulgaris</i>	0.040	0.042	0.063	3.917	3.308	3.675
<i>Galium boreale</i>	0.080	0.086	0.131	0.917	0.308	0.675
<i>Geranium pratense</i>	0.069	0.085	0.063	1.917	1.308	1.675
<i>Geranium sanguineum</i>	0.007	0.007	0.007	3.917	3.308	3.675
<i>Hypericum hirsutum</i>	0.003	0.003	0.002	1.917	1.308	1.675
<i>Lathyrus vernus</i>	0.012	0.014	0.011	1.917	1.308	1.675
<i>Lotus corniculatus</i>	0.165	0.192	0.254	2.917	2.308	2.675
<i>Lycopus europeus</i>	0.065	0.043	0.037	2.083	2.692	2.325
<i>Lychnis flos-cuculi</i>	0.308	0.281	0.280	0.195	0.692	0.325
<i>Malva neglecta</i>	0.001	0.002	0.001	1.917	1.308	1.675
<i>Melica nutans</i>	0.017	0.020	0.018	2.917	2.308	2.675
<i>Nardus stricta</i>	0.098	0.086	0.105	-	-	-
<i>Origanum vulgare</i>	0.016	0.018	0.018	3.917	3.308	3.675
<i>Plantago lanceolata</i>	0.276	0.326	0.325	-	-	-
<i>Prunella vulgaris</i>	0.176	0.171	0.215	1.917	1.308	1.675
<i>Sanguisorba minor</i>	0.059	0.067	0.074	3.917	3.308	3.675
<i>Sanguisorba officinalis</i>	0.301	0.292	0.337	0.917	0.308	0.675
<i>Scutellaria galericulata</i>	0.040	0.024	0.027	2.083	2.692	2.325
<i>Thymus pulegioides</i>	0.069	0.083	0.103	2.917	2.308	2.675
<i>Trifolium montanum</i>	0.030	0.033	0.047	3.917	3.308	3.675
<i>Viola hirta</i>	0.049	0.051	0.072	3.917	3.308	3.675

Tab. 5: Korelace přežívání semenáčů (průměrný počet semenáčů ze dvou opakování standardizovaný na počet vyšetých semen) na jednotlivých *Stanovištích* s absolutními hodnotami rozdílů Ellenbergových indikačních hodnot vyšetých druhů pro vlhkost od váženého průměru společenstva, do kterého byly druhy vysety. V prvním sloupci jsou uvedeny plochy, v kterých byly semenáče zaznamenávány v jednotlivých datech (měsíc/rok).

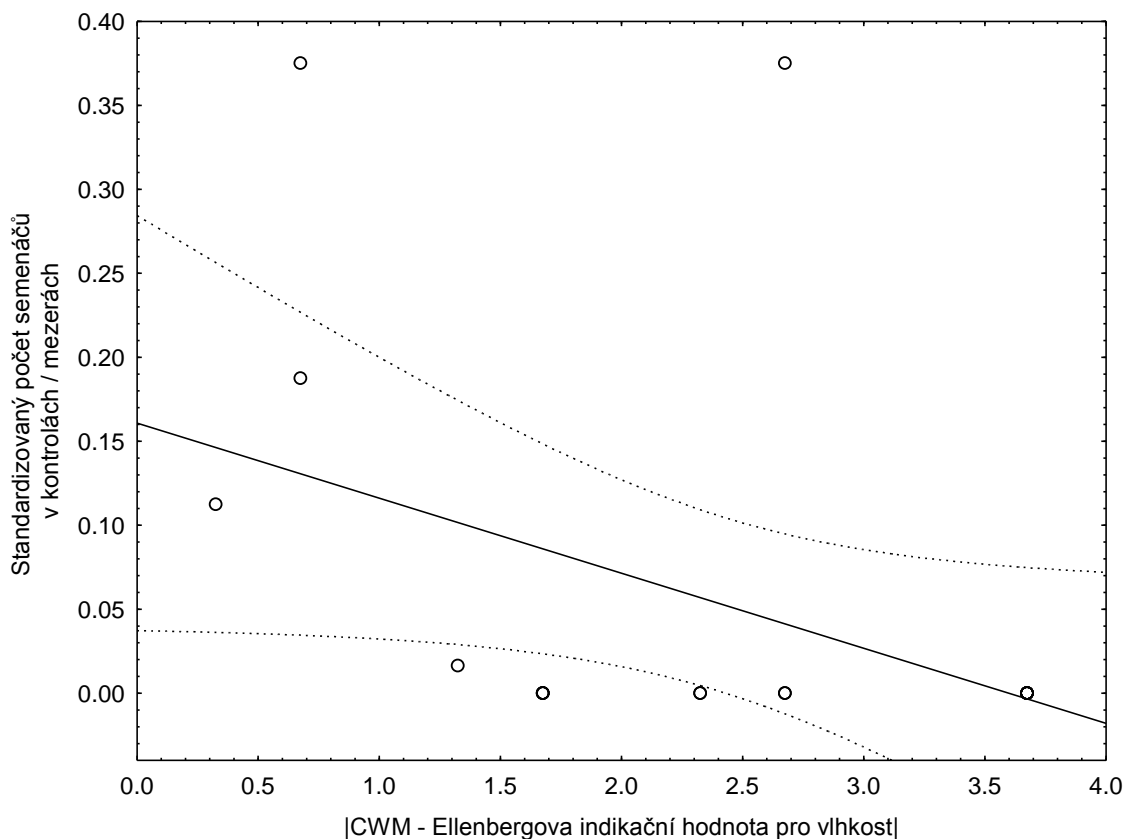
	<i>Stanoviště 1</i>			<i>Stanoviště 2</i>			<i>Stanoviště 3</i>		
mezery 6/13	r=-.1912	N=26	p=.349	r=-.1978	N=26	p=.333	<b>r=-.4715</b>	<b>N=26</b>	<b>p=.015</b>
mezery 8/13	r=-.1493	N=26	p=.467	r=-.1821	N=26	p=.373	<b>r=-.4058</b>	<b>N=26</b>	<b>p=.040</b>
mezery 9/13	r=-.1936	N=26	p=.343	r=-.1776	N=26	p=.385	r=-.3551	N=26	p=.075
mezery 4/14	r=-.2038	N=26	p=.318	r=-.2056	N=26	p=.314	r=-.2674	N=26	p=.187
mezery 6/14	r=-.2081	N=26	p=.308	r=-.2059	N=26	p=.313	r=-.2642	N=26	p=.192
mezery 8/14	r=-.2085	N=26	p=.307	r=-.2155	N=26	p=.290	r=-.2561	N=26	p=.207
kontroly 6/13	<b>r=-.4053</b>	<b>N=26</b>	<b>p=.040</b>	r=-.2892	N=26	p=.152	<b>r=-.4458</b>	<b>N=26</b>	<b>p=.022</b>
kontroly 8/13	r=-.3132	N=26	p=.119	r=-.2648	N=26	p=.191	r=-.2729	N=26	p=.177
kontroly 9/13	<b>r=-.4371</b>	<b>N=26</b>	<b>p=.026</b>	r=-.3106	N=26	p=.123	r=-.1810	N=26	p=.376
kontroly 4/14	<b>r=-.4713</b>	<b>N=26</b>	<b>p=.015</b>	r=-.2840	N=26	p=.160	<b>r=-.4338</b>	<b>N=26</b>	<b>p=.027</b>
kontroly 6/14	<b>r=-.5673</b>	<b>N=26</b>	<b>p=.003</b>	r=-.2743	N=26	p=.175	<b>r=-.4829</b>	<b>N=26</b>	<b>p=.012</b>
kontroly 8/14	<b>r=-.5761</b>	<b>N=26</b>	<b>p=.002</b>	r=-.3307	N=26	p=.099	<b>r=-.5191</b>	<b>N=26</b>	<b>p=.007</b>
kontroly/mezery 6/13	<b>r=-.4568</b>	<b>N=24</b>	<b>p=.025</b>	<b>r=-.4292</b>	<b>N=24</b>	<b>p=.036</b>	r=-.1791	N=24	p=.402
kontroly/mezery 8/13	r=-.3747	N=24	p=.071	<b>r=-.4359</b>	<b>N=25</b>	<b>p=.029</b>	r=-.0103	N=24	p=.962
kontroly/mezery 9/13	<b>r=-.5248</b>	<b>N=22</b>	<b>p=.012</b>	<b>r=-.4598</b>	<b>N=24</b>	<b>p=.024</b>	r=-.1250	N=23	p=.570
kontroly/mezery 4/14	r=-.4454	N=19	p=.056	r=-.2230	N=21	p=.331	r=-.3751	N=21	p=.094
kontroly/mezery 6/14	<b>r=-.5173</b>	<b>N=19</b>	<b>p=.023</b>	r=-.1684	N=21	p=.466	r=-.2943	N=21	p=.195
kontroly/mezery 8/14	<b>r=-.5048</b>	<b>N=19</b>	<b>p=.028</b>	r=-.3635	N=18	p=.138	r=-.4294	N=20	p=.059



Obr. 17: *Stanoviště 1*. Regresní přímka závislosti poměru průměrného počtu semenáčů ze dvou opakování v kontrolních plochách a mezerách na konci experimentu standardizovaného na počet vyšetých semen a absolutních hodnot rozdílu Ellenbergových indikačních hodnot pro vlhkost vyšetých druhů od váženého průměru společenstva (Tab. 5). 95% konfidenční interval.



Obr. 18: *Stanoviště 2*. Regresní přímka závislosti poměru průměrného počtu semenáčů ze dvou opakování v kontrolních plochách a mezerách na konci experimentu standardizovaného na počet vyšetých semen a absolutních hodnot rozdílu Ellenbergových indikačních hodnot pro vlhkost vyšetých druhů od váženého průměru společenstva (Tab. 5). 95% konfidenční interval.



Obr. 19: *Stanoviště 3*. Regresní přímka závislosti poměru průměrného počtu semenáčů ze dvou opakování v kontrolních plochách a mezerách na konci experimentu standardizovaného na počet vyšetých semen a absolutních hodnot rozdílu Ellenbergových indikačních hodnot pro vlhkost vyšetých druhů od váženého průměru společenstva (Tab. 5). 95% konfidenční interval.

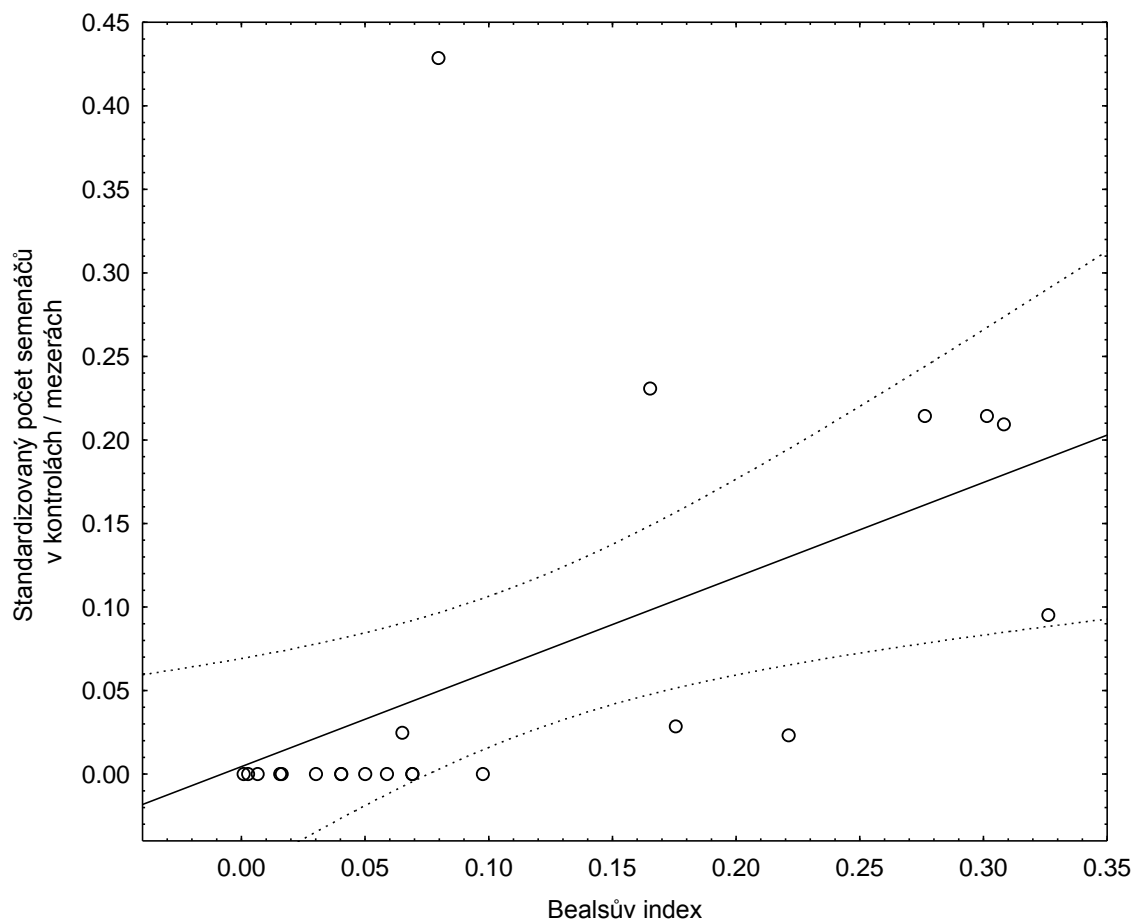
Přežívání semenáčků na jednotlivých *Stanovištích* bylo porovnáváno také s Bealsovým indexem vyšetých druhů (Tab. 4), který vyjadřuje pravděpodobnost, že daný druh bude ve společenstvu koexistovat s ostatními druhy nezávisle na tom, zda se na stanovišti skutečně vyskytuje. Na všech *Stanovištích* lépe přeživaly v mezerách i v kontrolních plochách druhy s vyšším Bealsovým indexem (Tab. 6). Pozitivní korelace mezi poměrem počtu přežívajících semenáčků v kontrolách a mezerách s Bealsovým indexem byla na konci experimentu zaznamenána na všech třech

*Stanovištích* (Obr. 20 – 22) a na *Stanovišti 1* byl tento trend viditelný dokonce od samého počátku experimentu (Tab. 6). Mezera má mnohem větší vliv na druhy s nízkým Bealsovým indexem, takže v zapojené vegetaci (tj. v kontrolních plochách) jsou schopny přežít jen ty druhy, které se s ostatními druhy ze společenstva běžně vyskytují (tj. s vysokým Bealsovým indexem). Naopak v prostředí bez kompetice (tj. v mezerách) jsou mnohé druhy (*Geranium sanguineum*, *Hypericum hirsutum*, *Origanum vulgare*, *Sanguisorba minor*, *Trifolium montanum*) schopny poměrně dobře přežít i přesto, že mají velmi nízký Bealsov index (Tab. 4).

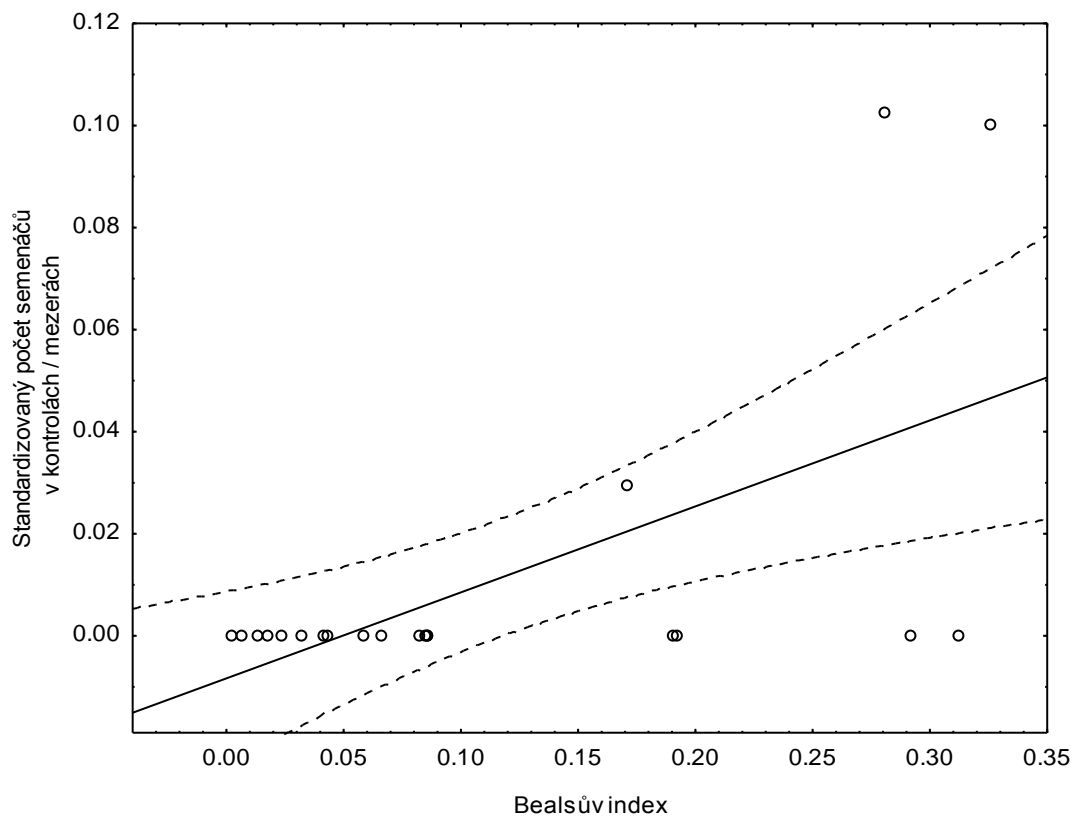
Tab. 6: Korelace přežívání semenáčů (průměrný počet semenáčů ze dvou opakování standardizovaný na počet vysetých semen) na jednotlivých *Stanovištích* s Bealsovým indexem vysetých druhů. V prvním sloupci jsou uvedeny plochy, v kterých byly semenáče zaznamenávány v jednotlivých datech (měsíc/rok).

	<i>Stanoviště 1</i>			<i>Stanoviště 2</i>			<i>Stanoviště 3</i>		
mezery 6/13	r=.4648	N=30	p=.010	r=.4829	N=30	p=.007	r=.5353	N=30	p=.002
mezery 8/13	r=.4618	N=30	p=.010	r=.4850	N=30	p=.007	r=.6414	N=30	p=.000
mezery 9/13	r=.4601	N=30	p=.011	r=.4532	N=30	p=.012	r=.6021	N=30	p=.000
mezery 4/14	r=.5116	N=30	p=.004	r=.5208	N=30	p=.003	r=.6643	N=30	p=.000
mezery 6/14	r=.5086	N=30	p=.004	r=.5192	N=30	p=.003	r=.6532	N=30	p=.000
mezery 8/14	r=.4940	N=30	p=.006	r=.4570	N=30	p=.011	r=.6155	N=30	p=.000
kontroly 6/13	r=.5312	N=30	p=.003	r=.4372	N=30	p=.016	r=.6064	N=30	p=.000
kontroly 8/13	r=.5162	N=30	p=.004	r=.5776	N=30	p=.001	r=.5595	N=30	p=.001
kontroly 9/13	r=.4601	N=30	p=.011	r=.5932	N=30	p=.001	r=.4268	N=30	p=.019
kontroly 4/14	r=.5624	N=30	p=.001	r=.6370	N=30	p=.000	r=.6718	N=30	p=.000
kontroly 6/14	r=.5771	N=30	p=.001	r=.6435	N=30	p=.000	r=.7498	N=30	p=.000
kontroly 8/14	r=.5888	N=30	p=.001	r=.6026	N=30	p=.000	r=.6900	N=30	p=.000
kontroly/mezery 6/13	r=.6294	N=27	p=.000	r=.1393	N=27	p=.488	r=.2701	N=27	p=.173
kontroly/mezery 8/13	r=.6451	N=27	p=.000	r=.3302	N=28	p=.086	r=.0060	N=27	p=.976
kontroly/mezery 9/13	r=.4514	N=25	p=.023	r=.3154	N=27	p=.109	r=-.1306	N=26	p=.525
kontroly/mezery 4/14	r=.3527	N=22	p=.107	r=.5876	N=24	p=.003	r=-.1339	N=24	p=.533
kontroly/mezery 6/14	r=.4808	N=22	p=.023	r=.5701	N=24	p=.004	r=.3197	N=24	p=.128
kontroly/mezery 8/14	r=.5312	N=22	p=.011	r=.5976	N=21	p=.004	r=.4492	N=23	p=.032

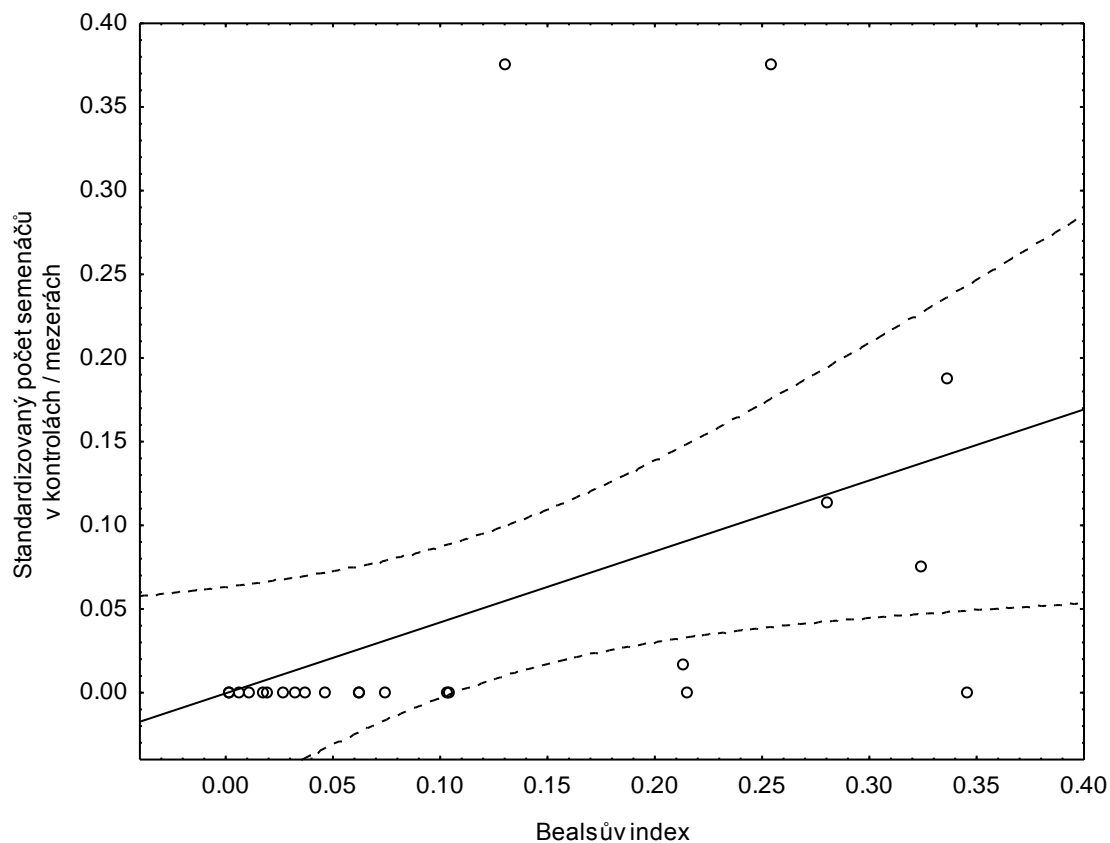




Obr. 20: *Stanoviště 1*. Regresní přímka závislosti poměru průměrného počtu semenáčů ze dvou opakování v kontrolních plochách a mezerách na konci experimentu standardizovaného na počet vyšetých semen a Bealsova indexu vyšetých druhů (Tab. 6). 95% konfidenční interval.



Obr. 21: *Stanoviště 2*. Regresní přímka závislosti poměru průměrného počtu semenáčů ze dvou opakování v kontrolních plochách a mezerách na konci experimentu standardizovaného na počet vyšetých semen a Bealsova indexu vyšetých druhů (Tab. 6). 95% konfidenční interval.



Obr. 22: *Stanoviště 3*. Regresní přímka závislosti poměru průměrného počtu semenáčů ze dvou opakování v kontrolních plochách a mezerách na konci experimentu standardizovaného na počet vyšetých semen a Bealsova indexu vyšetých druhů (Tab. 6). 95% konfidenční interval.

## 4. 2 Sazenicový experiment

Pro prověření, jak by druhy na lokalitě prospívaly po překonání jedné z nejcitlivějších fází rostliny, kterou je vyklíčení semenáčku ze semene, byly do mezer a kontrolních ploch na *Stanovišti 1 – 3* vysázeny předpěstované sazenice stejných druhů, které byly použity při vysévacím experimentu.

V mezerách i v kontrolních plochách bylo přežívání sazenic pro všechny druhy mnohem úspěšnější než přežívání semenáčků z vysetých semen. Zvláště v kontrolních plochách mnoho sazenic v porovnání se semenáčky druhů vyklíčených ze semen, které ve vysévacím experimentu nebyly schopny přežít, přežívalo poměrně dobře až do konce experimentu (*Filipendula vulgaris*, *Geranium sanguineum*, *Nardus stricta*). Reprodukčního stádia během druhé sezóny dosáhlo u sazenic mnohem méně druhů než ve vysévacím experimentu a opět pouze v mezerách (*Anthoxanthum odoratum* na *Stanovišti 3*, *Lychnis flos-cuculi* na *Stanovišti 2*, *Plantago lanceolata* na *Stanovišti 3*, *Prunella vulgaris* na *Stanovišti 2* a *Sanguisorba minor* na *Stanovišti 2*) (Tab. 7).

Tab. 7: Přehled počtu sazenic, které dospěly do reprodukčního stádia a počet přežívajících sazenic těchto druhů na jednotlivých *Stanovištích* v mezerách. V obou případech je uvažován průměrný počet jedinců (ze tří vysazených sazenic) ze dvou opakování. Pro všechny druhy v tabulce byly vysazeny na všech *Stanovištích* 3 sazenice.

	<i>Stanoviště 1</i>		<i>Stanoviště 2</i>		<i>Stanoviště 3</i>	
	počet kvetoucích jedinců	počet přežívajících jedinců	počet kvetoucích jedinců	počet přežívajících jedinců	počet kvetoucích jedinců	počet přežívajících jedinců
<i>Anthoxanthum odoratum</i>	0	3	0	2	1.5	2.5
<i>Lychnis flos-cuculi</i>	0	2	1	3	0	0.5
<i>Plantago lanceolata</i>	0	2	0	1	1	2
<i>Prunella vulgaris</i>	0	2.5	0.5	3	0	2
<i>Sanguisorba minor</i>	0	2	0.5	2	0	1

Na všech *Stanovištích* lépe v průběhu celého experimentu (tj. průměr přes všechna měření) přežívaly sazenice druhů pro lokalitu běžných než druhů s odlišným ekologickým optimem ( $F_{1, 18} = 7.038$ ,  $p = 0.016188$  pro *Stanoviště 1* – Tab. 8,  $F_{1, 21} = 9.015$ ,  $p = 0.006783$  pro *Stanoviště 2* – Tab. 9 a  $F_{1, 22} = 8.012$ ,  $p = 0.009736$  pro *Stanoviště 3* – Tab. 10). Průkazně se přežívání sazenic v mezerách a

v kontrolních plochách lišilo v průběhu času celého experimentu pouze na *Stanovišti 1* ( $F_{4, 72} = 8.746$ ,  $p = 0.000008$ , Tab. 8). V mezerách zde přežívalo celkově více sazenic než v kontrolních plochách, kde sazenice především při přechodu z první do druhé sezóny vymíraly výrazně rychleji než sazenice z mezer (Obr. 23). Ačkoliv neprůkazný, tak podobný trend byl zaznamenán také na *Stanovišti 3* ( $F_{4, 88} = 1.827$ ,  $p = 0.130655$  – Tab. 10, Obr. 25). I přestože v čase se na *Stanovišti 2* průkazně nelišil počet semenáčků v mezerách a v kontrolách ( $F_{4, 84} = 0.206$ ,  $p = 0.934516$  – Tab. 9, Obr. 24), tak v průběhu celého experimentu (tj. průměr přes všechna měření) bylo pouze na tomto *Stanovišti* zaznamenáno více druhů sazenic v mezerách než v kontrolních plochách ( $F_{1, 21} = 17.683$ ,  $p = 0.000398$ , Tab. 9). Přežívání sazenic v kontrolních plochách a mezerách se ovšem ani na jednom *Stanovišti* v průběhu času celého experimentu nelišilo podle toho, jestli se jednalo o druh pro lokalitu běžný nebo druh s odlišným ekologickým optimem ( $F_{4, 72} = 0.989$ ,  $p = 0.419071$  pro *Stanoviště 1* – Tab. 8,  $F_{4, 84} = 0.362$ ,  $p = 0.834999$  pro *Stanoviště 2* – Tab. 9 a  $F_{4, 88} = 0.142$ ,  $p = 0.965915$  pro *Stanoviště 3* – Tab. 10).

Tab. 8: Výsledky repeated measures ANOVA pro průměrný počet sazenic ze dvou opakování v mezerách a kontrolních plochách v průběhu celého experimentu standardizovaného na počet vysazených sazenic na *Stanovišti 1*. Použita arcsinová transformace.

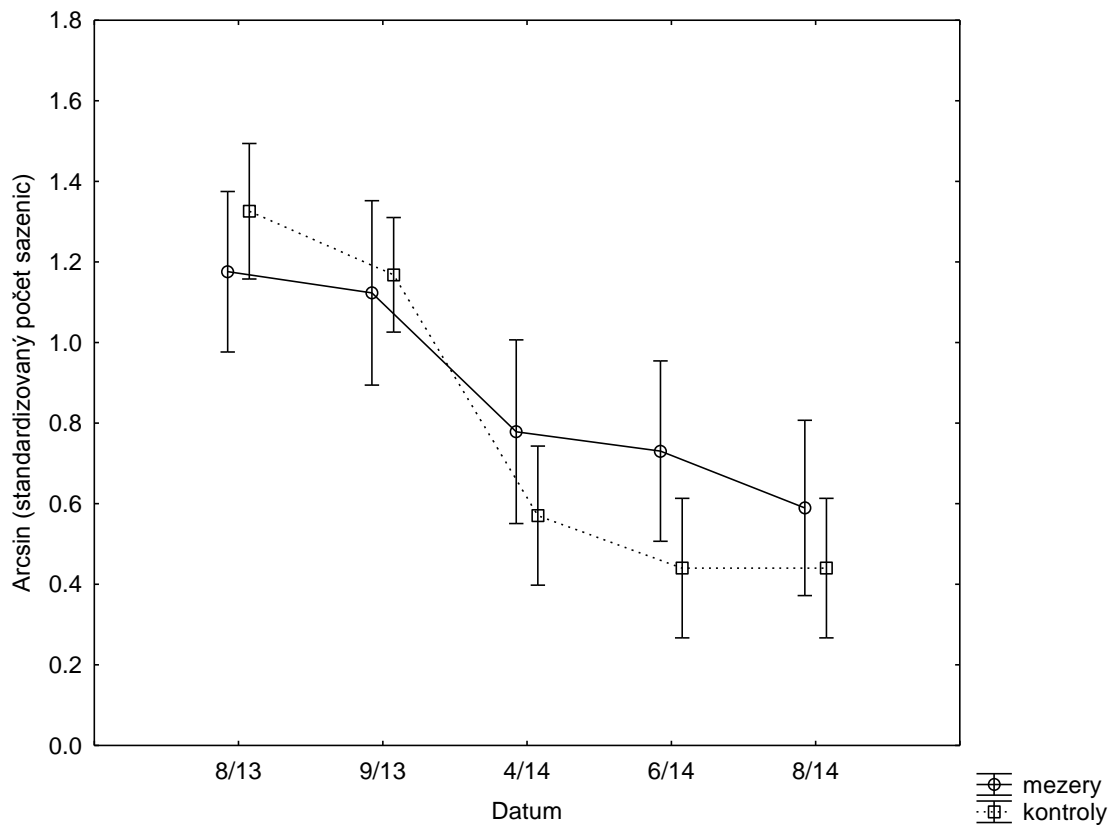
Repeated Measures Analysis of Variance					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decom.; Std. Error of Estimate: 1.018617					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
puvod	7.3025	1	7.3025	7.0380	0.016188
Error	18.6765	18	1.0376		
TIME	18.2204	4	4.5551	65.6318	0.000000
TIME*puvod	0.2646	4	0.0662	0.9533	0.438526
Error	4.9971	72	0.0694		
CO/GAP	0.4065	1	0.4065	1.7169	0.206572
CO/GAP*puvod	0.0193	1	0.0193	0.0817	0.778313
Error	4.2614	18	0.2367		
TIME*CO/GAP	1.3221	4	0.3305	8.7461	0.000008
TIME*CO/GAP*puvod	0.1495	4	0.0374	0.9891	0.419071
Error	2.7209	72	0.0378		

Tab. 9: Výsledky repeated measures ANOVA pro průměrný počet sazenic ze dvou opakování v mezerách a kontrolních plochách v průběhu celého experimentu standardizovaného na počet vysazených sazenic na *Stanovišti 2*. Použita arcsinová transformace.

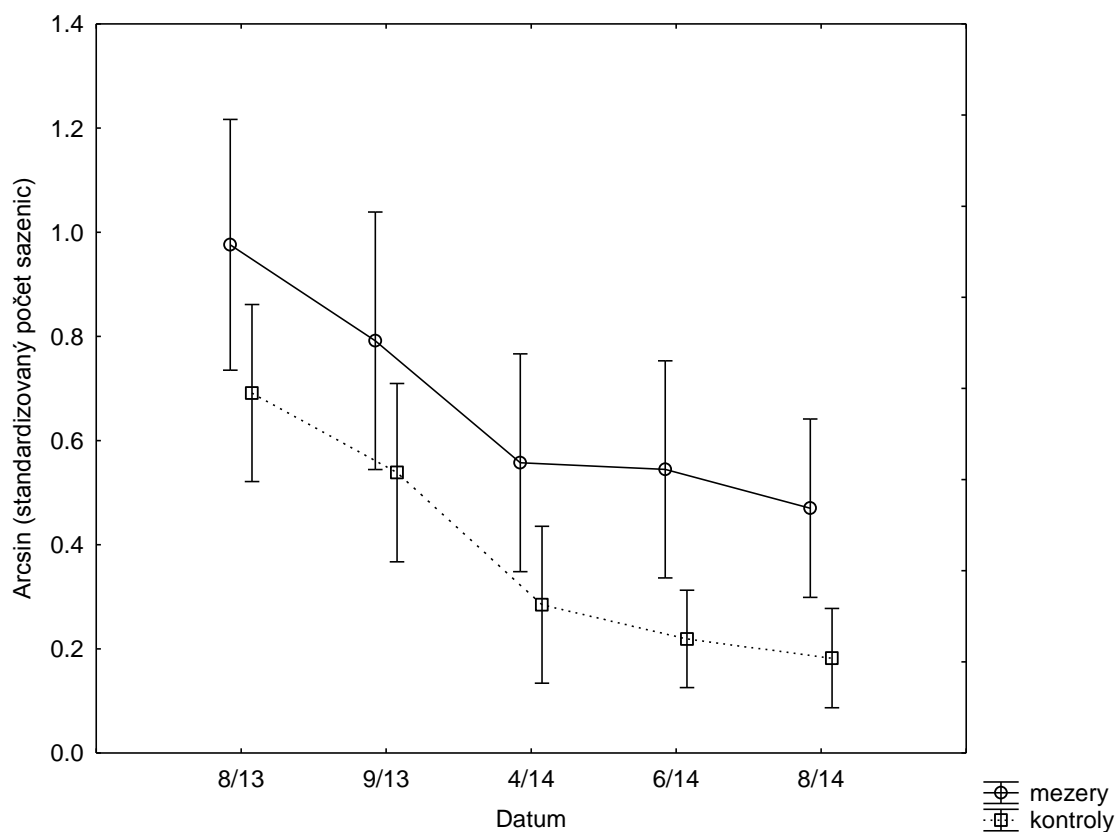
Repeated Measures Analysis of Variance					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomp.; Std. Error of Estimate: 1.042252					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
puvod	9.79282	1	9.79282	9.01492	0.006783
Error	22.81210	21	1.08629		
TIME	8.13300	4	2.03325	39.37334	0.000000
TIME*puvod	0.07242	4	0.01811	0.35061	0.842927
Error	4.33778	84	0.05164		
CO/GAP	4.44166	1	4.44166	17.68304	0.000398
CO/GAP*puvod	0.44329	1	0.44329	1.76481	0.198283
Error	5.27482	21	0.25118		
TIME*CO/GAP	0.03086	4	0.00771	0.20583	0.934516
TIME*CO/GAP*puvod	0.05427	4	0.01357	0.36200	0.834999
Error	3.14838	84	0.03748		

Tab. 10: Výsledky repeated measures ANOVA pro průměrný počet sazenic ze dvou opakování v mezerách a kontrolních plochách v průběhu celého experimentu standardizovaného na počet vysazených sazenic na *Stanovišti 3*. Použita arcsinová transformace.

Repeated Measures Analysis of Variance					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomp.; Std. Error of Estimate: .8438044					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
puvod	5.7045	1	5.7045	8.0118	0.009736
Error	15.6641	22	0.7120		
TIME	20.2921	4	5.0730	77.1344	0.000000
TIME*puvod	0.0283	4	0.0071	0.1076	0.979588
Error	5.7876	88	0.0658		
CO/GAP	0.4751	1	0.4751	2.7601	0.110829
CO/GAP*puvod	0.0790	1	0.0790	0.4587	0.505312
Error	3.7870	22	0.1721		
TIME*CO/GAP	0.3252	4	0.0813	1.8274	0.130655
TIME*CO/GAP*puvod	0.0253	4	0.0063	0.1423	0.965915
Error	3.9149	88	0.0445		

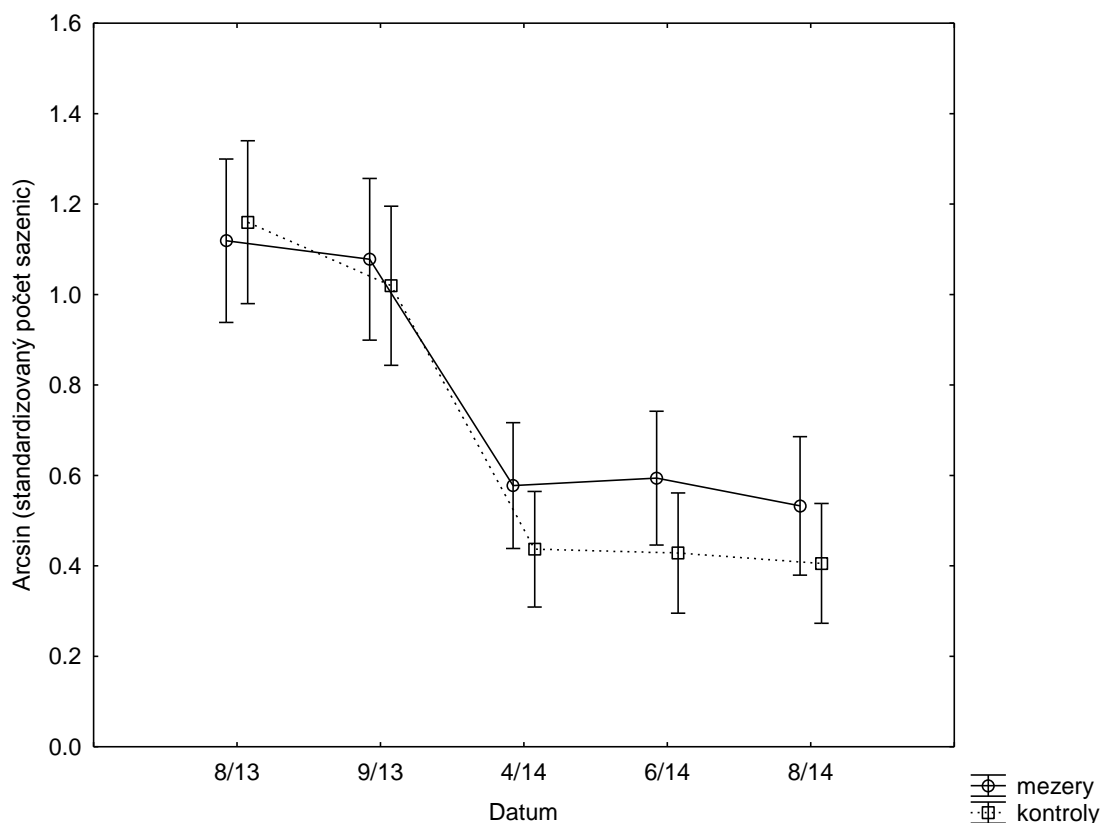


Obr. 23: *Stanoviště 1*. Průměrný počet sazenic ze dvou opakování v mezerách a kontrolních plochách v průběhu celého experimentu standardizovaný na počet vysazených sazenic. Použita arcsinová transformace. Datum jednotlivých záznamů počtu sazenic je ve formátu měsíc/rok. Repeated measures ANOVA (Tab. 8).



Obr. 24: *Stanoviště 2*. Průměrný počet sazenic ze dvou opakování v mezerách a kontrolních plochách v průběhu celého experimentu standardizovaný na počet vysazených sazenic. Použita arcsinová transformace. Datum jednotlivých záznamů počtu sazenic je ve formátu měsíc/rok. Repeated measures ANOVA (Tab. 9).

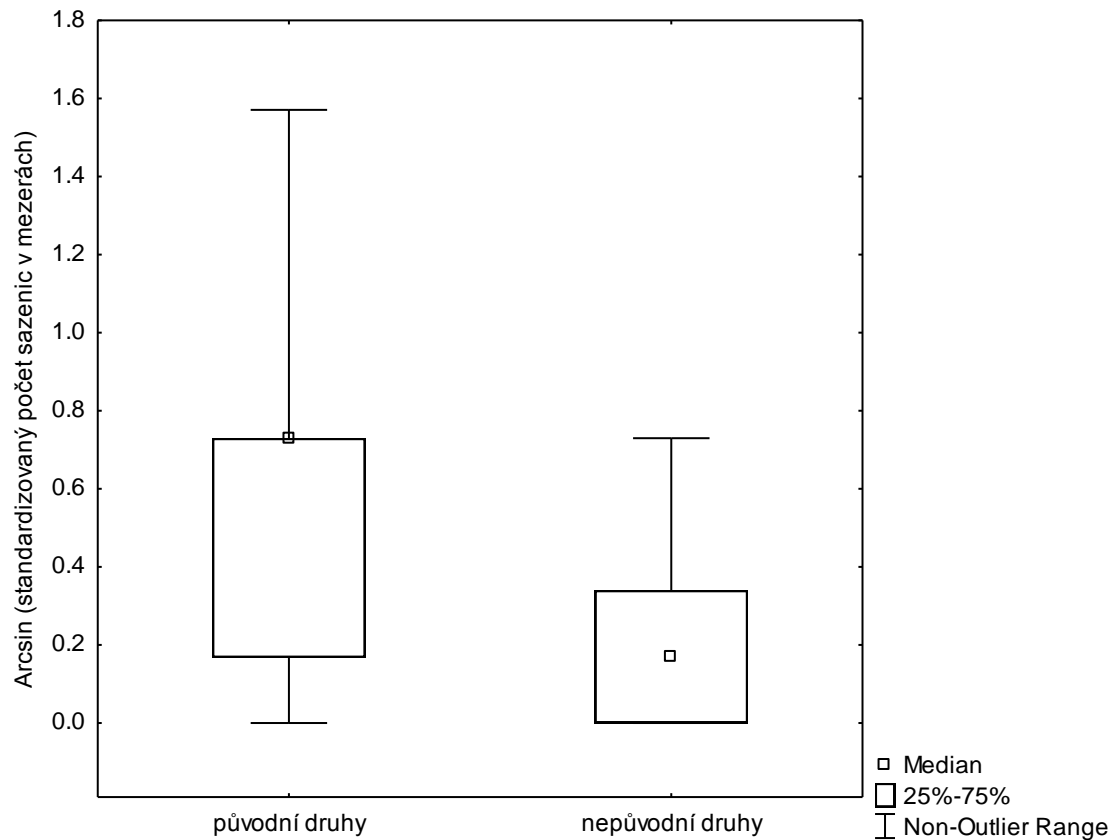




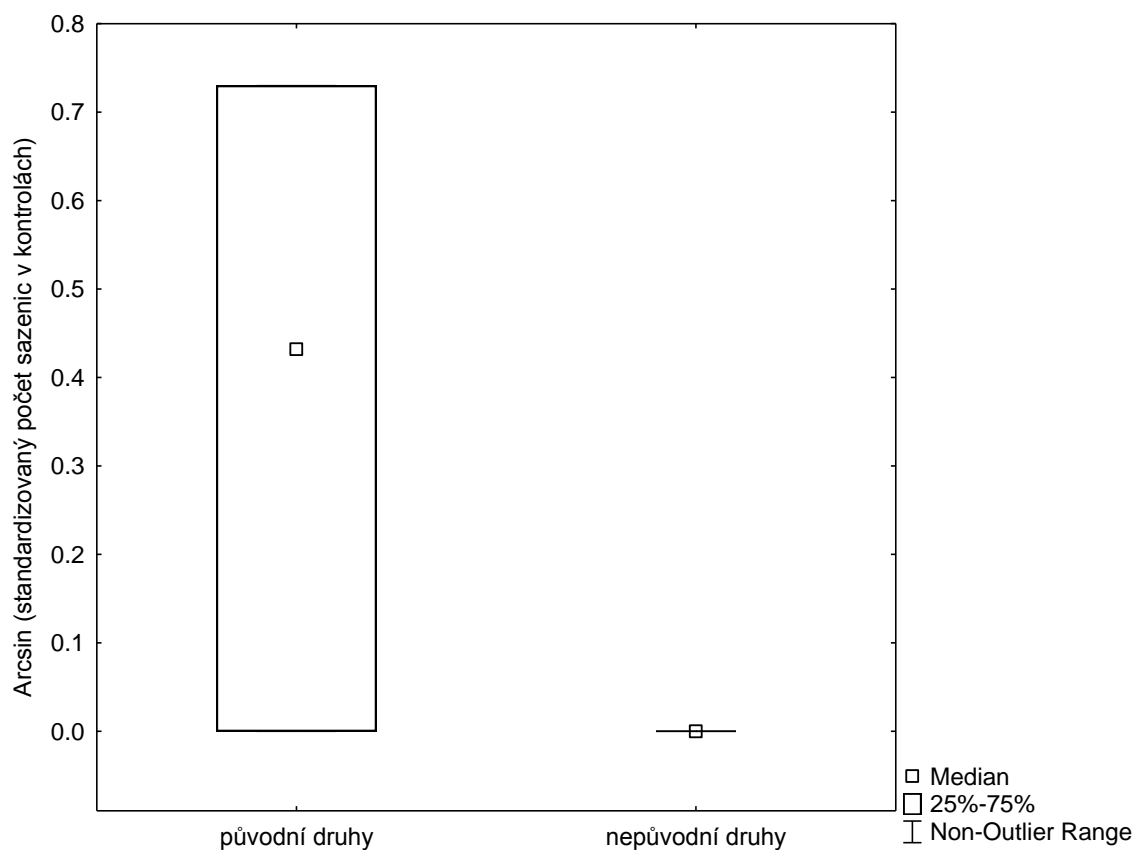
Obr. 25: *Stanoviště 3*. Průměrný počet sazenic ze dvou opakování v mezerách a kontrolních plochách v průběhu celého experimentu standardizovaný na počet vysazených sazenic. Použita arcsinová transformace. Datum jednotlivých záznamů počtu sazenic je ve formátu měsíc/rok. Repeated measures ANOVA (Tab. 10).

Pokud se zaměříme na přežívání sazenic pouze na konci experimentu, zjistíme, že na *Stanovišti 2* přežily v mezerách více sazenice druhů, které se na lokalitě běžně vyskytují, ale sazenice druhů s odlišným ekologickým optimem přežily také, i když v menším množství ( $t_{11,183} = 2.351$ ,  $p = 0.038082$ , Obr. 26). V kontrolních plochách pak zde výrazně přežily pouze sazenice druhů pro lokalitu běžných ( $t_{10,269} = 2.863$ ,  $p = 0.016446$ , Obr. 27). Na *Stanovišti 3* přežily v mezerách opět ve větším množství sazenice druhů pro lokalitu běžných, ale sazenice druhů s odlišnými ekologickými

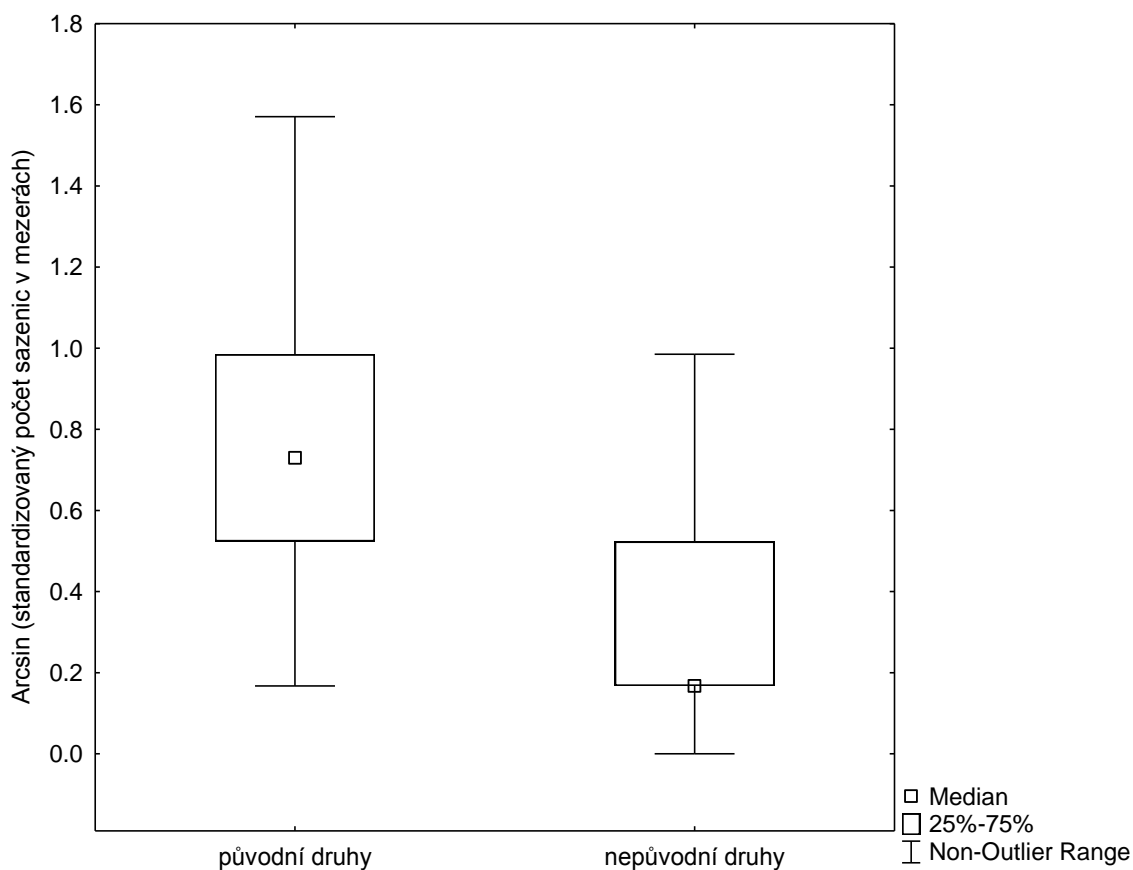
nároky přežívaly také ( $t_{16,162} = 2.579$ ,  $p = 0.020056$ , Obr. 28). Na *Stanovišti 1* nebyla zaznamenána žádná průkazná závislost.



Obr. 26: *Stanoviště 2*. Porovnání úspěšnosti přežívání průměrného počtu sazenic ze dvou opakování v mezerách na konci experimentu standardizovaného na počet vysazených sazenic pro druhy pro lokalitu původní ( $n = 10$ ) a nepůvodní ( $n = 14$ ). Použita arcsinová transformace.  $t_{11,183} = 2.351$ ,  $p = 0.038082$ .



Obr. 27: *Stanoviště 2*. Porovnání úspěšnosti přežívání průměrného počtu sazenic ze dvou opakování v kontrolních plochách na konci experimentu standardizovaného na počet vysazených sazenic pro druhy pro lokalitu původní ( $n = 10$ ) a nepůvodní ( $n = 14$ ). Použita arcsinová transformace.  $t_{10.269} = 2.863$ ,  $p = 0.016446$ .



Obr. 28: *Stanoviště 3*. Porovnání úspěšnosti přežívání průměrného počtu sazenic ze dvou opakování v mezerách na konci experimentu standardizovaného na počet vysazených sazenic pro druhy pro lokalitu původní ( $n = 10$ ) a nepůvodní ( $n = 14$ ). Použita arcsinová transformace.  $t_{16,162} = 2.579$ ,  $p = 0.020056$ .

## 4. 3 Test klíčivosti

### 4. 3. 1 Klíčivost druhů v laboratorních podmínkách

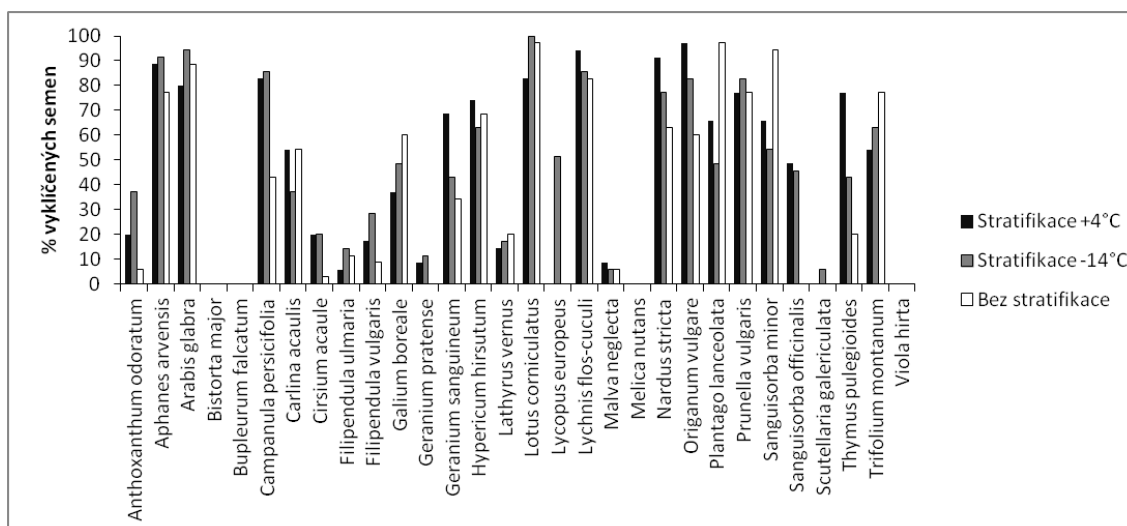
V testu klíčivosti (tj. v laboratorních podmínkách) vůbec nevyklíčily druhy *Bistorta major*, *Bupleurum falcatum*, *Melica nutans* a *Viola hirta*.

Po stratifikaci semen při +4°C nejlépe klíčily druhy *Origanum vulgare* (97%), *Lychnis flos-cuculi* (94%) a *Nardus stricta* (91%). Kromě výše uvedených druhů vůbec nevyklíčily *Lycopus europeus* a *Scutellaria galericulata*. Málo klíčily také *Filipendula ulmaria* (6%) a *Malva neglecta* (9%).

Po stratifikaci semen při -14°C velmi dobře klíčily druhy *Lotus corniculatus* (100%), *Arabis glabra* (94%) a *Aphanes arvensis* (91%). Naopak ve velmi malém množství vyklíčily druhy *Malva neglecta* a *Scutellaria galericulata* (oba 6%).

Ze semen, která neprošla žádnou stratifikací, nejlépe klíčily druhy *Lotus corniculatus* a *Plantago lanceolata* (oba 97%) a *Sanguisorba minor* (94%). Poměrně dost druhů ale vůbec nevyklíčilo: *Geranium pratense*, *Lycopus europeus*, *Sanguisorba officinalis* a *Scutellaria galericulata*. Ve velmi malém množství navíc klíčily druhy *Cirsium acaule* (3%), *Anthoxanthum odoratum* a *Malva neglecta* (oba 6%) a *Filipendula vulgaris* (9%).

Úspěšnost klíčivosti semen jednotlivých druhů po stratifikaci při +4°C, -14°C a bez stratifikace je shrnuta na obrázku 29.



Obr. 29: Klíčivost semen jednotlivých druhů po stratifikaci při +4°C, -14°C a bez stratifikace.

#### 4. 3. 2 Klíčivost semen v terénu vzhledem k testu klíčivosti

Stejně jako v testu klíčivosti (za laboratorních podmínek), v terénu vůbec nevyklíčily *Bistorta major* a *Viola hirta*. *Bupleurum falcatum* a *Melica nutans*, které v testu klíčivosti také vůbec nevyklíčily pak v terénu klíčily pouze v zanedbatelném množství.

Úspěšnost vyklíčení semen na všech třech *Stanovištích* nejlépe předpovídala klíčivost semen bez stratifikace a to jak v mezerách, tak v kontrolních plochách (Tab. 11). Výrazněji se odchylovala pouze *Sanguisorba officinalis*, která sice v testu klíčivosti ze semen bez stratifikace vůbec klíčit nezačala, ale zato v terénu klíčila poměrně dobře.

Naopak nejhorší výpovědní hodnotu o úspěšnosti klíčení semen v terénu měla klíčivost semen stratifikovaných při -14°C (Tab. 11).

Tab. 11: Korelace klíčení semen (mezery, kontroly = průměrný počet semenáčů ze dvou opakování standardizovaný na počet vyšetých semen na počátku experimentu; max. mezery, max. kontroly = maximální počet semenáčů ze dvou opakování standardizovaný na počet vyšetých semen v průběhu celého experimentu) na jednotlivých *Stanovištích* s klíčivostí semen v testu klíčivosti (počet vyklíčených semen standardizovaný na počet vyšetých semen stratifikovaných při +4°C, -14°C nebo bez stratifikace).

	<i>Stanoviště 1</i>			<i>Stanoviště 2</i>			<i>Stanoviště 3</i>		
<b>Stratifikace +4°C</b>									
mezery	r=.3569	N=30	p=.053	r=.4086	N=30	p=.025	r=.4177	N=30	p=.022
max. mezery	r=.3581	N=30	p=.052	r=.4049	N=30	p=.026	r=.4188	N=30	p=.021
kontroly	r=.3914	N=30	p=.032	r=.4713	N=30	p=.009	r=.4081	N=30	p=.025
max. kontroly	r=.3953	N=30	p=.031	r=.4770	N=30	p=.008	r=.4278	N=30	p=.018
<b>Stratifikace -14°C</b>									
mezery	r=.3514	N=30	p=.057	r=.3877	N=30	p=.034	r=.3637	N=30	p=.048
max. mezery	r=.3540	N=30	p=.055	r=.3889	N=30	p=.034	r=.3731	N=30	p=.042
kontroly	r=.3467	N=30	p=.061	r=.4076	N=30	p=.025	r=.4332	N=30	p=.017
max. kontroly	r=.3540	N=30	p=.055	r=.4188	N=30	p=.021	r=.4351	N=30	p=.016
<b>Bez stratifikace</b>									
mezery	r=.5125	N=30	p=.004	r=.5581	N=30	p=.001	r=.5013	N=30	p=.005
max. mezery	r=.5156	N=30	p=.004	r=.5592	N=30	p=.001	r=.5104	N=30	p=.004
kontroly	r=.4616	N=30	p=.010	r=.5285	N=30	p=.003	r=.4872	N=30	p=.006
max. kontroly	r=.4679	N=30	p=.009	r=.5381	N=30	p=.002	r=.4794	N=30	p=.007

## 5 Diskuze

### 5. 1 Vysévací experiment

Vyšetím 30 druhů na každé *Stanoviště* včetně druhů, které se na lokalitě běžně nevyskytují, byl rozšířen počet druhů ve společenstvu a mohlo tak být sledováno experimentální složení společenstva v porovnání s různě stanovenými zásobníky druhů.

#### 5. 1. 1 Klíčení a přežívání vyšetých druhů

Všechny druhy, ať už pro lokalitu běžné nebo s jinými stanovištními nároky, klíčily a následně i přežívaly mnohem lépe v mezerách než v kontrolních plochách. Tento výsledek odpovídá mnohým dalším studiím, kde také většina druhů prosperovala výrazně lépe v prostředí zbaveném kompetice než v zapojené vegetaci (Grubb 1977, Kotorová & Lepš 1999, Tofts & Silvertown 2002, Pärtel et al. 2013). Zobel et al. (1998) upozorňují, že pro přežití druhů hraje velkou roli to, jak vypadá okolní vegetace, protože například v hustém trávníku žádné nové druhy nepřežijí. Frei et al. (2012) poukazují na pozitivní vliv disturbance na uchycování semenáčků druhu *Campanula thyrsoides*, které velmi dobře reagovaly na ostříhání okolní vegetace a narušení drnu, zatímco v zapojené vegetaci zjistili negativní vliv kompetice na přežívání semenáčků. Námi uměle vytvořené mezery jsou také jistým typem disturbance, ve kterém došlo k úplnému odstranění přítomné vegetace a navíc pravidelným pletím mezer byl tento stav udržován. Ať už uměle vytvořené mezery nebo jiné typy přírodně narušovaných ploch mají totiž tendenci postupem času zarůstat a vracet se tak do původního stavu (Puerta-Pinero et al. 2013).

Disturbance usnadňují klíčení a přežívání nových druhů, protože na takových místech je mnohem větší dostupnost světla a také povrch půdy bývá mnohem teplejší



(Chambers et al. 1990). Tomu odpovídají i data z dataloggerů naměřená v našem experimentu, kdy teploty měřené u povrchu půdy byly vyšší v mezerách než v kontrolních plochách. Na druhou stranu v mezerách jsou mnohem extrémnější podmínky než v okolní vegetaci – denní amplitudy teplot při povrchu půdy i v 6 cm pod povrchem půdy byly zaznamenány mnohem větší právě v mezerách než v kontrolních plochách. Stejně tak mezery především v letním období mnohem rychleji vysychaly než kontrolní plochy, což může mít také vliv na uchycování semenáčků. Lemke et al. (2015) ve své studii zaznamenali lepší přežívání semenáčků druhu *Trollius europaeus* v plochách, které byly sice zbaveny vegetace i opadu, ale byla zde ponechána mechová vrstva, oproti mezerám zbavených veškeré vegetace. Tato mechová vrstva mohla zabraňovat rychlému vysychání mezer a přitom nevytvářet kompetiční vztah s vysetým druhem. Větší náchylnost semenáčků k nepříznivým podmínkám v mezerách než v okolní vegetaci potvrzují i Vítová & Lepš (2011), kteří zaznamenali sice lepší klíčivost v narušovaných plochách, ale lepší přežívání naopak v plochách bez disturbancí.

V našem experimentu však všechny vyseté druhy přeživaly výrazně lépe v mezerách než v kontrolních plochách. U druhů s odlišnými ekologickými nároky byl navíc tento trend mnohem výraznější než u druhů běžných pro lokalitu. Druhy s odlišným ekologickým optimem totiž na konci experimentu přeživaly na všech třech *Stanovištích* pouze v mezerách, zatímco v kontrolních plochách jejich počty klesly na nulu. Naopak druhy pro lokalitu běžné mnohdy v kontrolních plochách na konci experimentu ještě přeživaly (nejvíce na *Stanovišti 1* a naopak nejméně na *Stanovišti 2*). Z takových výsledků je patrné, že na klíčení semen a přežívání semenáčků nemají vliv pouze abiotické mikrostanovištní faktory (světlo, teplota, půdní vlhkost), ale především kompetice s jinými druhy. Druh, který se dostane do nějakým způsobem disturbované plochy (například mezery) získává mnohem větší kompetiční výhodu oproti druhům, které se sem dostanou až později (Lepš 2013). Kompetice s rezidentními druhy zabraňuje mnohým druhům uchytit se, a proto je důležité, jestli je prostor trvale zaplněn rezidentními druhy anebo jestli je uvolňován například disturbancemi a zpřístupňován tak pro jiné druhy, které jsou slabšími kompetitory a ve společenstvu s rezidentními druhy tak nemají šanci přežít (Cornell & Harrison 2014). Pokud ve společenstvu neprobíhá dostatek disturbancí, nedochází k uvolnění přítomné vegetace způsobující

kompetiční interakce a tím pádem je ve společenstvu nedostatek míst pro klíčení semen nově přichozích druhů (Lemke et al. 2015).

Gustafsson et al. (2002) upozorňují, že počáteční uchycení druhů ještě nemusí znamenat, že tyto druhy budou ve společenstvu dlouhodobě přežívat. Největší úhyn semenáčků u většiny druhů byl v našem experimentu zaznamenán po prvním přezimování. Stejný výsledek zaznamenali i Vítová & Lepš (2011), kteří sledovali přežívání semenáčků po dobu pěti let a kromě výrazného úhynu po první zimě také zaznamenali další výraznější úhyn po pokosení v první sezóně. V našem experimentu by mohl být úhyn po zimním období spojen také s jarním pletím mezer, protože v kontrolních plochách probíhalo vymírání semenáčků celkem kontinuálně a to především v průběhu první sezóny. Na druhou stranu v průběhu druhé sezóny už po vypletí mezer nedocházelo ani zde k žádným výraznějším změnám v počtu semenáčků než při záznamu po první zimě.

Přestože experiment byl sledován po dobu dvou vegetačních sezón, bude záležet i na vývoji semenáčků v dalších letech, protože je dobré sledovat celý životní cyklus studovaných druhů. Zvrat totiž může nastat i v pozdějším stádiu uchycování semenáčků (Gustafsson et al. 2002, Münzbergová & Herben 2004). V našem experimentu se podařilo sledovat celý životní cyklus (tj. včetně reprodukčního stádia) několika druhů běžných pro lokalitu, zatímco z druhů s odlišnými ekologickými nároky do reprodukčního stádia dospěla pouze *Sanguisorba minor* a to v mezerách. Vzhledem k dosti vysokému počtu kvetoucích rostlin v mezerách můžeme předpokládat, že tento druh by zde při absenci kompetice dalších druhů dokázal vytvořit životaschopnou populaci. Přestože ostatní druhy netypické pro studovanou lokalitu v našem experimentu zatím nevykvetly, je zde mnoho druhů, které přežily až do konce druhé sezóny v mezerách ve velmi hojném počtu a není vyloučeno, že do reprodukčního stádia ještě v budoucnu dospějí. Na druhou stranu v kontrolních plochách již všechny tyto druhy zcela vyhynuly, takže z takového výsledku můžeme usuzovat na značný vliv kompetice, která zde zastupuje roli biotického filtru. Nutnost dlouhodobého sledování vysévacích experimentů si uvědomují i mnozí další autoři (Zobel et al. 1998, Ehrlén et al. 2006, Houseman & Gross 2006, Frei et al. 2012, Pärtel et al. 2013). Může se totiž stát, že semena mnohých druhů sice vyklíčí a ve stádiu semenáčků

ve společenstvu přežívají po dobu několika let, ale nikdy nejsou schopny vytvořit životaschopnou populaci (Vítová & Lepš 2011).

Na konci experimentu přežívalo v mezerách na všech *Stanovištích* a v kontrolních plochách na *Stanovišti 1* a *3* průkazně víc druhů pro lokalitu běžných. Zatímco v kontrolách druhy s odlišným ekologickým optimem zcela vymizely, v mezerách přežívaly. Na *Stanovišti 1* byla dokonce nejhojněji přežívajícím druhem právě pro lokalitu nepůvodní *Sanguisorba minor*. Lepší přežívání některých druhů s jinými stanovištními nároky zjistili také Tofts & Silvertown (2002) po třech letech sledování. Vítová & Lepš (2011) ve své studii uvádějí sice lepší klíčivost druhů netypických pro studovanou lokalitu, ale následné přežívání naopak výrazně lepší u druhů pro lokalitu běžných. U nich ovšem byly druhy pro lokalitu cizí vybírány tak, aby alespoň zhruba odpovídaly ekologickým nárokům experimentální lokality. Vhodné abiotické podmínky jsou tedy zcela určitě velmi důležité pro přežívání vysetých druhů, ale vzhledem k tomu, že v našem experimentu v prostředí zbaveném kompetice bylo mnoho druhů i s odlišnými ekologickými nároky schopno přežít až do konce druhé sezóny, zatímco v kompetici ne, je jasné, že biotické interakce zde hrají velmi významnou roli. Důležitost biotického filtru (Butaye et al. 2001, Myers & Harms 2011) potvrzuje i větší vliv mezery na druhy s odlišným ekologickým optimem na konci experimentu než na druhy pro lokalitu běžné (*Stanoviště 1 a 3*).

Na *Stanovišti 2* vymíraly hojně v kontrolních plochách jak druhy s odlišným ekologickým optimem, tak druhy pro lokalitu běžné. Na tomto *Stanovišti* byla již od počátku zaznamenána nejhorší klíčivost vysetých druhů. Vliv mezery jak na druhy původní, tak na druhy nepůvodní zde byl v průběhu celého experimentu ze všech *Stanovišť* největší, což lze interpretovat tím, že vysévané druhy zde byly nejvíce omezené kompeticí. Příčinou výrazně většího vlivu kompetice než na ostatních *Stanovištích* by mohla být vysoká produktivita *Stanoviště 2* (Houseman & Gross 2006, Zobel et al. 2011). Na tomto *Stanovišti* byla vegetace vždy nejhustší a nejvyšší (znatelné především při kosení ploch a odstraňování pokosené biomasy), což by mohlo být spojeno právě s vysokou produktivitou prostředí. Na vysoce produktivních místech totiž působí biotický filtr (obzvláště pak kompetice o světlo) velmi silně (Houseman & Gross 2011, Mudrák et al. 2014). Negativní vliv vysoké vegetace na výskyt semenáčků zaznamenali také Lemke et al. (2015). Příčinou špatné prosperity

semenáčků na *Stanovišti 2* však mohou být i jiné důvody než kompetice, jako například působení herbivorů. Jednak se zde vyskytovalo poměrně dost plzáků, kteří mohli výrazně ovlivnit růst semenáčků a také mnohé mezery i kontrolní plochy byly několikrát mechanicky poškozeny rytím krčka. Také zde byla jako na jediném *Stanovišti* velmi hojná mraveniště zasahující přímo do mezer i kontrolních ploch. Všechny tyto interakce mohly negativně ovlivnit klíčení i následný vývoj jednotlivých semenáčků. Na herbivorní vztahy ovlivňující negativně vývoj druhů odkazují mnohé studie (Gustafsson et al. 2002, Tofts & Silvertown 2002, Pärtel et al. 2013, Cornell & Harrison 2014). Pärtel (2014) také upozorňuje na důležitost interakcí, které probíhají pod zemí. Ne vždy lze proto spoléhat jen čistě na jeden faktor, jako je v našem případě kompetice. Určitý význam pro uchycení semenáčků mohou mít také půdní podmínky (Cornell & Harrison 2014). Na *Stanovišti 2* bylo z půdních analýz zjištěno nejméně dusíku a draslíku a naopak nejvíce fosforu a uhlíku oproti zbylým dvěma *Stanovištím*. Rostoucí úspěšnost uchycení semenáčků se stoupajícím obsahem dusíku a draslíku v půdě zaznamenali také Lemke et al. (2015).

## **5. 1. 2 Porovnání jednotlivých metod stanovení zásobníku druhů na základě vysévacího experimentu**

Pro stanovení zásobníku druhů mohou být použity různé metody. Například de Bello et al. (2012) srovnávají reálné složení společenstva se složením zásobníku druhů na základě uvažování funkčních vlastností rostlin. Pro vytvoření simulovaných společenstev používají reálně stanovený, podhodnocený a nadhodnocený zásobník druhů, který pak porovnávají s terénními daty, kde zásobník druhů stanovují nezávisle pro každé společenstvo podle Ellenbergových indikačních hodnot. Přestože Ellenbergovy indikační hodnoty jsou často považovány za vhodnou metodu pro odhadnutí ekologických požadavků jednotlivých druhů (Pärtel et al. 1996, Butaye et al. 2001), pokud do zásobníku druhů zahrneme jen druhy, pro které Ellenbergovy indikační hodnoty odpovídají průměru celého společenstva, dostaneme nerealisticky malý zásobník druhů (Zobel et al. 1998, de Bello et al. 2002).

Takovýto výsledek potvrdil i náš vysévací experiment. Vliv mezery působil mnohem více na druhy s velkými absolutními hodnotami rozdílů Ellenbergových indikačních hodnot pro vlhkost od váženého průměru společenstva než na ty blížíící se hodnotám průměru (až do konce experimentu pouze na *Stanovišti 1*). Mnohé druhy s velkými rozdíly od průměru společenstva (mnohdy mnohem vyššími než  $\pm 1,5$  relativních jednotek od průměru společenstva, jak to užívají pro definici zásobníku druhů například Pärtel et al. 1996) byly schopny velmi dobře přežívat v mezerách, zatímco v kontrolních plochách vymřely. Mezi tyto druhy patří například: *Carlina acaulis*, *Geranium sanguineum*, *Origanum vulgare*, *Sanguisorba minor*, *Thymus pulegioides* nebo *Trifolium montanum*. Pokud chceme definovat zásobník druhů nezávisle na biotickém filtru, všechny tyto druhy by měly být do takto uvažovaného zásobníku druhů zahrnuty.

Přežívání semenáčků průkazně korelovalo pouze s absolutními hodnotami rozdílů Ellenbergových indikačních hodnot vyšetých druhů pro vlhkost od váženého průměru společenstva, zatímco pro světlo ani živiny nebyla zaznamenána žádná průkazná korelace. Zdá se tedy, že rozhodující roli pro uchycení semenáčků ve zkoumaných společenstvech představuje především půdní vlhkost stanoviště. Důležitost půdní vlhkosti pro klíčení a přežívání semenáčků zaznamenali také například Myers and Harms (2011), Grman & Brudvig (2014) nebo Lemke et al. (2015). Nicméně fakt, že tato závislost byla průkazná především pro poměr semenáčků v kontrolách a v mezerách ukazuje, že přímé působení půdní vlhkosti hraje menší roli (např. při klíčení na začátku pokusu na *Stanovišti 3*), ale hlavním efektem vlhkosti je to, že určuje charakter společenstva, a tím i jeho kompetiční efekt.

Další metodou využívanou pro stanovení zásobníku druhů je Bealsův index. Na všech *Stanovištích* v našem experimentu lépe klíčily i přežívaly v mezerách i v kontrolních plochách druhy s vyšším Bealsovým indexem, tj. druhy, které mají velkou pravděpodobnost, že se budou vyskytovat s ostatními druhy ve společenstvu. Pozitivní korelaci přežívání s Bealsovým indexem zaznamenali také Milden et al. (2006) pro druh *Succisa pratensis* nebo Mudrák et al. (2014) pro rod *Rhinanthus*. Naopak ve studii Münzbergová & Plačková (2010) a Frei et al. (2012) neměl Bealsův index žádný vliv na přežívání semenáčků vyšetých druhů. V našem experimentu jsme došli k závěru, že mezera má mnohem větší vliv na druhy s nízkým Bealsovým indexem, takže v zapojené

vegetaci (tj. v kontrolních plochách) jsou schopny přežít jen ty druhy, které mají velkou pravděpodobnost, že se s ostatními druhy ze společenstva budou vyskytovat (tj. s vysokým Bealsovým indexem). Naopak v prostředí bez kompetice (tj. v mezerách) jsou mnohé druhy (*Carlina acaulis*, *Geranium sanguineum*, *Hypericum hirsutum*, *Origanum vulgare*, *Sanguisorba minor*, *Trifolium montanum*) schopny poměrně dobře přežít i přesto, že mají velmi nízký Bealsův index. Všechny tyto druhy proto patří do zásobníku druhů, který definujeme nezávisle na biotických interakcích probíhajících ve společenstvu. Pozitivní korelace úspěšnosti v mezerách jasně ukazuje, že druhy jsou přizpůsobeny abiotickým podmínkám, korelace relativní úspěšnosti v kontrolách v poměru k mezerám zase ukazuje na důležitost biotického filtru – je zřejmé, že oba působí na stanovišti společně.

Zatímco korelace přežívání poměru semenáčků v kontrolních plochách a v mezerách s Ellenbergovými indikačními hodnotami (a to pouze pro vlhkost) byla na konci našeho experimentu zaznamenána pouze na *Stanovišti 1*, korelace s Bealsovým indexem byla zaznamenána na konci experimentu na všech třech *Stanovištích*. Z toho vyplývá, že Bealsův index je mnohem lepší prediktor pro přežívání druhů ve společenstvu než Ellenbergovy indikační hodnoty. Na malou spolehlivost Ellenbergových indikačních hodnot při určování zásobníku druhů upozorňuje také Dupré (2000). Je to způsobeno pravděpodobně tím, že zatímco Ellenbergovy indikační hodnoty závisí na fytoecologických znalostech experta založených na předpokladu ekologických optim (Zobel et al. 1998), Bealsův index je založen na mnohorozměrné struktuře skutečných dat (Ewald 2002). Stanovení zásobníku druhů na základě Bealsova indexu doporučuje také například Botta-Dukát (2012). Všechny tyto studie však uvažují zásobník druhů jako druhy, které již prošly biotickým filtrem. V našem experimentu byl ale Bealsův index relativně vhodným prediktorem i v mezerách, a tudíž i pro zásobník druhů, ve kterém druhy ještě neprošly biotickým filtrem (Butaye et al. 2001).

Mnohé druhy, které by většinou nikdo nezařadil do lokálního zásobníku druhů ani na základě fytoecologických znalostí experta (Sádlo et al. 2007), ani na základě Ellenbergových indikačních hodnot (Pärtel et al. 1996), ani na základě Bealsova indexu (Ewald 2002, Münzbergová & Herben 2004, Botta-Dukát 2012), jsou ve skutečnosti schopny velmi dobře prosperovat v mezerách, zatímco v kontrolních plochách zcela vymřou. Tyto druhy jsou schopné se na stanoviště dostat (v regionu se vyskytují) a růst

v daných abiotických podmínkách (nejsou tedy omezeny ani rozšiřováním ani abiotickými faktory), ale ve společenstvu se nemohou vyskytovat z toho důvodu, že nevydrží v kompetici s ostatními druhy (Butaye et al. 2001, Vítová & Lepš 2011). Pokud uvažujeme definici zásobníku druhů jako druhy, které prošly filtrem rozšiřování a abiotickým filtrem, ale které nejsou nijak ovlivněny biotickými interakcemi, tak potom všechny druhy, které úspěšně přežily v mezerách až do konce vysévacího experimentu, by náležely do lokálního zásobníku druhů (pokud předpokládáme, že na lokalitě přežijí i nadále).

Porovnání složení zásobníku druhů s aktuálním složením společenstva je často užíváno k demonstraci biotických interakcí (de Bello 2012, Götzesberger et al. 2012 ). Pokud definujeme zásobník druhů pomocí tradičních komparativních metod založených na realizované nise, druhy uvažované za součást zásobníku druhů jsou již selektovány biotickými interakcemi probíhajícími ve společenstvu. Při porovnávání druhového složení společenstva s takto definovaným zásobníkem druhů velmi silně podceňujeme vliv biotického filtru. Pokud tedy budeme sledovat vliv biotického filtru na základě srovnání reálného složení společenstva se složením zásobníku druhů, je nezbytné stanovit zásobník druhů nezávisle na biotických vztazích probíhajících ve společenstvu (Butaye et al. 2001). Takto definovaný zásobník druhů pak rozšíří škálu uvažovaných druhů, které do něj náleží, i přesto, že se v daném společenstvu nutně nemusí vyskytovat, nebo se v něm dokonce nikdy nevyskytují.

## 5. 2 Sazenicový experiment

Stejně druhy, které byly použity při vysévacím experimentu, byly vysazeny na *Stanovišti 1 – 3* v podobě předpěstovaných sazenic, čímž mohlo být prověřeno prospívání druhů na lokalitě po překonání nejcitlivější životní fáze rostliny, kterou se zdá být vyklíčení semenáčku ze semene a jeho uchycení.

Přežívání sazenic všech druhů bylo jak v mezerách, tak v kontrolních plochách mnohem úspěšnější než přežívání semenáčků z vysetých semen. V průběhu celého experimentu na všech *Stanovištích* lépe přežívaly sazenice druhů pro lokalitu běžných

než druhů s odlišným ekologickým optimem. To není až tak překvapivé, protože druhy, které se na lokalitě běžně vyskytují jsou dobře přizpůsobeny místním podmínkám prostředí a také jsou schopny lépe přetrvat i v kompetici s ostatními druhy ze společenstva (Ehrlén et al. 2006). Rozdíl v přežívání sazenic v kontrolních plochách a v mezerách byl zaznamenán pouze na *Stanovišti 1*, kdy více sazenic přežívalo v mezerách než v kontrolách. Pouze na *Stanovišti 2* bylo zaznamenáno více přežívajících sazenic v mezerách než v kontrolách, pokud zprůměrujeme jednotlivé záznamy přes celý čas experimentu. To bylo pravděpodobně způsobeno kompetičním vlivem, který byl na *Stanovišti 2* výrazně větší než na zbylých dvou *Stanovištích*, jak můžeme vidět i z výsledků vysévacího experimentu. Přežívání sazenic v kontrolních plochách a mezerách se ovšem ani na jednom *Stanovišti* v průběhu času celého experimentu vůbec nelišilo podle toho, jestli se jednalo o druh pro lokalitu běžný nebo druh s odlišným ekologickým optimem. Hlavním obdobím, kdy je semenáč vyfiltrován ze společenstva je tedy především fáze uchycení druhu, který klíčí přímo ze semene. Vyklíčení semenáčku ze semene a jeho uchycení je pravděpodobně pro mnohé druhy skutečně nejcitlivější částí životního cyklu (Kotorová & Lepš 1999). To platí především pro druhy, které ve vysévacím experimentu nebyly vůbec schopny přežít v kontrolních plochách, ale jako sazenice zde přežívaly dobře až do konce experimentu (*Filipendula vulgaris*, *Geranium sanguineum*, *Nardus stricta*). Hlavním důvodem, proč některé druhy nejsou přítomny v daném společenstvu je skutečnost, že se tam nedokážou uchytit. V pozdějších fázích životního cyklu na rostliny biotický filtr sice také působí, ale už ne tak výrazně, jako v raných fázích vývoje semenáčku. Mnohem úspěšnější uchycení druhů jako sazenice ve srovnání s druhy vysetými do společenstva zaznamenali ve svých experimentech také Vítová & Lepš (2011) nebo Tofts & Silvertown (2002).

Do reprodukčního stádia dospěly stejně jako ve vysévacím experimentu pouze některé druhy v mezerách, zatímco v kontrolních plochách nevykvetl žádný druh. Mohlo by to být způsobeno tím, že v extrémnějších podmínkách, které jsou v mezerách, mají druhy tendenci vytvořit co nejvíce potomků a zachovat tak populaci i pro případ, že samy nepřežijí, zatímco v kontrolních plochách, kde je limitující spíše kompetice s jinými druhy než abiotické podmínky, se jedinci snaží spíše investovat do svého vlastního růstu než do rozmnožování a překonat tak ostatní kompetitory (Grime 1977).



To však v případě druhu *Lychnis flos-cuculi*, který kvetl na *Stanovišti 2* jak ve vysévacím tak v sazenicovém experimentu v mezerách, neodpovídá studii Chaloupecká & Lepš (2004), kteří naopak zjistily, že tento druh se v mezerách rozmnožuje spíše vegetativně, zatímco v kompetici s jinými druhy investuje spíše do generativního rozmnožování. Dalším vysvětlením by mohla být skutečnost, že pro kvetení potřebuje rostlina dostatek energie, kterou získává prostřednictvím fotosyntézy. Pokud se ale rostlina nachází v prostředí silnějších kompetitorů, kteří ji zastíní, nemá dostatek světla na účinnější fotosyntézu a tím pádem ani energie pro kvetení.

### 5. 3 Test klíčivosti

Pomocí testu klíčivosti byla porovnávána schopnost semen vyklíčit za různých laboratorních podmínek s klíčivostí semen přímo v terénu.

Přestože úspěšnost klíčení semen v testu klíčivosti byla velmi různá, nejvíce druhů, které vůbec nevyklíčily bylo zaznamenáno u semen, která neprošla žádnou stratifikací. Naopak nejlepší klíčivost semen byla zaznamenána po stratifikaci při  $-14^{\circ}\text{C}$ . Stratifikace semen klíčících v laboratorních podmínkách má tedy jednoznačně pozitivní vliv na klíčivost většiny druhů. Různou úspěšnost klíčení semen u jednotlivých druhů při různých teplotách potvrzují také Kotorová & Lepš (1999). Naopak Tofts & Silvertown (2002) testovali laboratorně klíčivost různých druhů na světle a ve tmě, ale nezaznamenaly mezi těmito dvěma typy podmínek pro klíčení žádný rozdíl.

Klíčivost semen v terénu nejlépe předpovídala klíčivost semen, která neprošla žádnou stratifikací a naopak nejhůře klíčivost semen, která byla stratifikována při  $-14^{\circ}\text{C}$ . To by mohlo odpovídat jarnímu výsevu, protože semena vysetá do terénu na jaře také před tím neprošla žádnou přirozenou stratifikací. Kotorová & Lepš (1999) naopak vysévali semena do terénu na podzim, takže prošla přirozenou stratifikací přes zimní období, a jejich klíčivost následně nejlépe korelovala s klíčivostí semen stratifikovaných při  $-14^{\circ}\text{C}$ . Je tedy vidět, že laboratorně testovaná klíčivost semen může

být při zvolení vhodného způsobu stratifikace skutečně dobrým prediktorem, jak se semena rostlin budou přibližně chovat v terénu.

Jediným druhem, který v testu klíčivosti ze semen bez stratifikace nevyklíčil vůbec zatímco v terénu klíčil poměrně dobře byla *Sanguisorba officinalis*. Tento rozdíl může být způsoben tím, že v laboratorních podmínkách nejsme nikdy schopni zajistit všechny možné požadavky jednotlivých druhů na narušení dormance semen. V našem experimentu jsme se zaměřili na stratifikaci semen v různých teplotních podmínkách, takže je možné, že u klíčivosti druhu *Sanguisorba officinalis*, bude hrát pravděpodobně roli jiný faktor než samotná teplota. Kotrová & Lepš (1999) předpokládají, že pro semena, která v testu klíčivosti při různých teplotách nevyklíčila, zatímco v terénu ano, pravděpodobně bude stratifikace v různých teplotách sice důležitá, ale další nezbytnou fází je pravděpodobně klíčení ve vlhku. Další možnou příčinou v rozdílném klíčení semen v testu klíčivosti a uchycováním semenáčků v terénu také může být velká citlivost některých druhů na třeba jen nepatrné změny podmínek prostředí, v kterém se vyskytují (Kotorová & Lepš 1999), takže rozdíl teplot při stratifikaci a v terénu (přes zimu) může být pro tyto druhy rozhodující. Stratifikace navíc nesimuluje pravidelné střídání teplot během dne, což může být pro úspěšné vyklíčení některých druhů zcela zásadní.

## 6 Závěr

Ve vysévacím experimentu mnohé druhy s odlišným ekologickým optimem, než je na lokalitě Strašovský rybník, s velkými absolutními hodnotami rozdílu Ellenbergových indikačních hodnot pro vlhkost od váženého průměru společenstva, do kterého druhy byly vysety a/nebo s nízkým Bealsovým indexem prosperovaly velmi dobře v mezerách, zatímco v kontrolních plochách zcela vymřely. Takovéto druhy jsou schopny růst při odstranění biotického filtru (zde zastoupeného kompeticí) v daných abiotických podmínkách, ale ve společenstvu nevydrží v kompetici s ostatními druhy. Pokud uvažujeme definici zásobníku druhů jako druhy, které prošly filtrem rozšiřování a abiotickým filtrem, tak potom všechny tyto druhy, které úspěšně přežily v mezerách až do konce vysévacího experimentu, potenciálně (pokud přežijí i nadále) náleží do lokálního zásobníku druhů.

Bealsův index je mnohem lepším prediktorem pro přežívání druhů ve společenstvu než Ellenbergovy indikační hodnoty.

Pokud definujeme zásobník druhů pomocí tradičních komparativních metod (tj. Ellenbergovy indikační hodnoty, Bealsův index), porovnáváním druhového složení společenstva se zásobníkem druhů výrazně podceňujeme vliv biotického filtru.

Pro sledování vlivu biotického filtru na základě srovnání reálného složení společenstva se složením zásobníku druhů je nezbytné stanovit zásobník druhů nezávisle na biotických vztazích probíhajících ve společenstvu. Tímto přístupem dosáhneme rozšíření zásobníku druhů o mnohé druhy, které se v daném společenstvu normálně nevyskytují.

V sazenicovém experimentu bylo přežívání sazenic všech druhů jak v mezerách, tak v kontrolních plochách mnohem úspěšnější než přežívání semenáčků z vysetých semen. Nejcitlivější fází životního cyklu rostliny je tedy pravděpodobně vyklíčení semenáčku ze semene a jeho uchycení.

Stratifikace semen při různých teplotách má v laboratorních podmínkách pozitivní vliv na klíčivost velké většiny testovaných druhů.

Klíčivost semen v terénu v našem experimentu nejlépe předpovídá klíčivost semen, která neprošla žádnou stratifikací, což odpovídá jarnímu výsevu semen na lokalitu. Laboratorně testovaná klíčivost semen může být při vhodně zvoleném způsobu stratifikace poměrně dobrým prediktorem chování semen při terénním výsevu.

## 7 Literatura

Beals E.W. (1984): Bray-Curtis-ordination: an effective strategy for analysis of multivariate ecological data. – *Advances in Ecological Research*. 14: 1-55.

Belyea L. R. & Lancaster J. (1999): Assembly rules within a contingent ecology. – *Oikos*. 86: 402-416.

Botta-Dukát Z. (2011): Co-occurrence-based measure of species' habitat specialization: robust, unbiased estimation in saturated communities. – *Journal of Vegetation Science*. 23: 201–207.

Bruehlheide H. & Scheidel U. (1999): Slug herbivory as a limiting factor for the geographical range of *Arnica montana*. – *Journal of Ecology*. 87: 839-848.

Butaye J., Jacquemyn H., Honnay O. & Hermy M. (2001): The species pool concept applied to forests in a fragmented landscape: dispersal limitation versus habitat limitation. – *Journal of Vegetation Science*. 13: 27-34.

Carstensen D. W., Lessard J., Holt B. G., Borregaard M. K. & Rahbek C. (2013): Introducing the biogeographic species pool. – *Ecography*. 36: 1310-1318.

Chaloupecká E. & Lepš J. (2004): Equivalence of competitor effects and tradeoff between vegetative multiplication and generative reproduction: case study with *Lychnis flos-cuculi* and *Myosotis nemorosa*. – *Flora*. 199: 157-167.

Chambers J. C., MacMahon J. A., Brown R. W. (1990): The influence of disturbance type. – *Ecology*. 71: 1323-1341.

Chase J. M. (2003): Community assembly: when should history matter? – *Oecologia*. 136: 489–498.

Chytrý M. & Rafajová M. (2003): Czech National Phytosociological Database: basic statistics of the available vegetation-plot data. – *Preslia*. 75: 1–15.

Cornell H.V. & Harrison S. P. (2014): What are species pools and when are they important? – *Annual Reviews*. 45: 45-67.

Cornelissen J. H. C., Lavorel S., Garnier E., Diaz S., Buchmann N., Gurvich D. E., Reich P. B., ter Steege H., Morgan H. D., van der Heijden M. G. A., Pausas J. G. & Poorter H. (2003): A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. - *Australian Journal of Botany*. 51: 335-380.

Cornwell W. K. & Ackerly D. D. (2009): Community assembly and shifts in plant trait distributions across an environmental gradient in coastal California. - *Ecological Monographs* 79: 109-126.

de Bello F. (2012): The quest for trait convergence and divergence in community assembly: are null-models the magic wand? - *Global Ecology and Biogeography* 21: 312-317.

de Bello F., Price J. N., Münkemüller T., Liira J., Zobel M., Thuiller W., Gerhold P., Götzenberger L., Lavergne S., Lepš J., Zobel K. & Pärtel M. (2012): Functional species pool framework to test for biotic effects on community assembly. – *Ecology*. 93: 2263-2273.

de Bello F., Thuiller W., Lepš J., Choler P., Clément J.-Ch., Macek P., Sebastià M.-T. & Lavorel S. (2009): Partitioning of functional diversity reveals the scale and extent of trait convergence and divergence. – *Journal of Vegetation Science*. 20: 475-486.

Dupré C. (2000): How to determine a regional species pool: a study in two Swedish regions. – *Oikos*. 89: 128-136.

Ehrlén J., Münzbergová Z., Diekmann M. & Eriksson O. (2006): Long-term assessment of seed limitation in plants: results from an 11-year experiment. – *Journal of Ecology*. 94: 1224-1232.

Ellenberg H., Weber H.E., Düll R., Wirth V., Werner W. & Paulissen D. (1991): *Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa*. – *Scripta Geobotanica*. 18: 1-248.

Eriksson O. (1993): The species-pool hypothesis and plant community diversity. – *Oikos*. 68: 371-374.

Ewald J. (2002): A probabilistic approach to estimating species pools from large compositional matrices. – *Journal of Vegetation Science*. 13: 191-198.

Faltysová H. (2001): Významný krajinný prvek Strašovský rybník [Important landscape element Strašovský rybník]. – In: Inventarizační průzkum VKP [Inventory survey of important landscape element], p. 19, depon in AOPK ČR, středisko Pardubice.

Frei E. S., Scheepens J. F. & Stöcklin J. (2012): Dispersal and microsite limitation of a rare alpine plant. – *Plant Ecology*. 213: 395–406.

Garnier E., Cortez J., Billes G., Navas M. L., Roumet C., Debussche M., Laurent G., Blanchard A., Aubry D., Bellmann A., Neill C., & Toussaint J. P. (2004): Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. – *Ecology*. 85: 2630-2637.

Götzenberger L., de Bello F., Bråthen K. A., Davison J., Dubuis A., Guisan A., Lepš J., Lindborg R., Moora M., Pärtel M., Pellissier L., Pottier J., Vittoz P., Zobel K. & Zobel M. (2012): Ecological assembly rules in plant communities - approaches, patterns and prospects. – *Biological Reviews*. 87: 111-127.

Graves G. R. & Gotelli N. J. (1983): Neotropical land-bridge avifaunas – new approaches to null hypotheses in biogeography. – *Oikos*. 41: 322-333.

Grime J. P. (1977): Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to ecological and evolutionary theory. – *The American Naturalist*. 111: 1169-1194.



Grman E. & Brudvig L. A. (2014): Beta diversity among prairie restorations increases with species pool size, but not through enhanced species sorting. – *Journal of Ecology*. 102: 1017-1024.

Grubb P. J. (1977): The maintenance of species-richness in plant communities: the importance of the regeneration niche. – *Biological Reviews*. 52: 107-145.

Guisan A. & Rahbek C. (2011): SESAM – a new framework integrating macroecological and species distribution models for predicting spatiotemporal patterns of species assemblages. *Journal of Biogeography*. 38: 1433-1444.

Gustafsson C., Ehrlén J. & Eriksson O. (2002): Recruitment in *Dentaria bulbifera*; the roles of dispersal, habitat quality and mollusc herbivory. – *Journal of Vegetation Science*. 13: 719-724.

Helm A., Zobel M., Moles A. T., Szava-Kovats R. & Pärtel M. (2014): Characteristic and derived diversity: implementing the species pool concept to quantify conservation condition of habitats. – *Diversity and Distributions*. 1-11.

Hill M. O., Mountford J. O., Roy D. B. & Bunce R. G. H. (1999): Technical Annex – Ellenberg's indicator values for British plants. – *Ecological Factors*. 2: 1-46.

Houseman G. R. & Gross K. L. (2006): Does ecological filtering across a productivity gradient explain variation in species pool-richness relationships? – *Oikos*. 115: 148-154.

Houseman G. R. & Gross K. L. (2011): Linking grassland plant diversity to species pools, sorting and plant traits. – *Journal of Ecology*. 99: 464-472.

Hubbell S. P. (2001): *The Unified Neutral Theory of Biodiversity and Biogeography*. – Princeton University Press, Princeton.

Kelt D. A., Taper M. L. & Meserve P. L. (1995): Assessing the impact of competition on community assembly: a case study using small mammals. – *Ecology*. 76(4): 1283-1296.

Kotorová I. & Lepš J. (1999): Comparative ecology of seedling recruitment in an oligotrophic wet meadow. – *Journal of Vegetation Science*. 10: 175-186.

Kubát K., Hrouda L., Chrtek J. jun., Kaplan Z., Kirschner J. & Štěpánek J. (eds.) (2002): *Klíč ke květené České republiky [Nomenclature key to determination of the Czech Republic flora]*. – Academia, Praha.

Lambers J. H., Adler P. B., Harpole W. S., Levine J. M. & Mayfield M. M. (2011): Rethinking community assembly through the lens of coexistence theory. – *Annual Review of Ecology and Systematics*. 43: 227-248.

Lemke T., Janßen A. & Porembski S. (2015): Multiple limitations to the persistence of *Trollius europaeus* in a fragmented agricultural landscape in the context of metapopulation theory. – *Plant Ecology*. 216: 319–330.

Lepš J. (2013): Diversity and ecosystem function. – In: van der Maarel E. & Franklin J. (eds.), *Vegetation ecology*, p. 308-346, Wiley, Oxford.

Lessard J., Belmaker J., Myers J. A., Chase J. M., & Rahbek C. (2012): Inferring local ecological processes amid species pool influences. – *Trends in Ecology and Evolution*. 27: 600-607.

Losvik M. H. (2007): Regional species pools of hay meadows: A case study. – *Applied Vegetation Science*. 10: 239-248.

MacArthur R. H. & Wilson E. O. (1963): An equilibrium theory of insular zoogeography. – *Evolution*. 17: 373-387.

McCune B. (1994): Improving community analysis with the Beals smoothing function. *Ecoscience*. 1: 82-86.

Milden M., Münzbergová Z., Herben T. & Ehrlén J. (2006): Metapopulation dynamics of a perennial plant, *Succisa pratensis*, in an agricultural landscape. – *Ecological Modelling*. 199: 464-475.

Moor H., Hylander K. & Norberg J. (2015): Predicting climate change effects on wetland ecosystem services using species distribution modeling and plant functional traits. – *Ambio*. 44: 113–126.

Mudrak O., Mladek J., Blaek P., Lepš J., Doleal J., Nekvapilova E. & Těšitel J. (2014): Establishment of hemiparasitic *Rhinanthus* spp. in grassland restoration: lessons learned from sowing experiments. – *Applied Vegetation Science*. 17: 274–287.

Munzbergova Z. & Herben T. (2004): Identification of suitable unoccupied habitats in metapopulation studies using co-occurrence of species. – *Oikos*. 105: 408-414.

Munzbergova Z. & Plakova I. (2010): Seed mass and population characteristics interact to determine performance of *Scorzonera hispanica* under common garden conditions. – *Flora*. 205: 552–559.

Myers J. A. & Harms K. E. (2011): Seed arrival and ecological filters interact to assemble high-diversity plant communities. – *Ecology*. 92(3): 676-686.

Partel M. (2014): Community ecology of absent species: hidden and dark diversity. – *Journal of Vegetation Science*. 25: 1154–1159.

Partel M., Szava-Kovats R. & Zobel M. (2011): Dark diversity: shedding light on absent species. – *Trends in Ecology and Evolution*. 26: 124-128.

Partel M., Szava-Kovats R. & Zobel M. (2013): Community completeness: linking local and dark diversity within the species pool concept. – *Folia Geobotanica* 48: 307–317.

Pärtel M., Zobel M., Zobel K. & van der Maarel E. (1996): The species pool and its relation to species richness: evidence from Estonian plant communities. – *Oikos*. 75: 111-117.

Puerta-Piñero C., Muller-Landau H. C., Calderón O. & Wright S. J. (2013): Seed arrival in tropical forest tree fall gaps. – *Ecology*. 94(7): 1552–1562.

R Development Core Team (2014): R: a language and environment for statistical computing. – R Foundation for Statistical Computing, Vienna. URL: [<http://www.r-project.org>].

Sádlo J., Chytrý M. & Pyšek P. (2007): Regional species pool of vascular plants in habitats of the Czech Republic. – *Preslia*. 79: 303-321.

Simberloff D. (1970): Taxonomic diversity of island biotas. – *Evolution*. 24: 23-47.

Sonnier G., Shipley B. & Navas M. (2010): Plant traits, species pools and the prediction of relative abundance in plant communities: a maximum entropy approach. – *Journal of Vegetation Science*. 21: 318–331.

StatSoft (2013): STATISTICA (data analysis software system), version 12. – StatSoft Inc. URL: [[www.statsoft.com](http://www.statsoft.com)].

Swenson N. G. (2011): The role of evolutionary processes in producing biodiversity patterns, and the interrelationships between taxonomic, functional and phylogenetic biodiversity. – *American Journal of Botany*. 98: 472-480.

Taylor D. R., Aarssen L. W. & Loehle C. (1990): On the relationship between r/K selection and environmental carrying capacity: a new habitat templet for plant life history strategies. – *Oikos*. 58: 239-250.

Tichý L. (2002): JUICE, software for vegetation classification. – *Journal of Vegetation Science*. 13: 451–453.

Tofts R. & Silvertown J. (2002): Community assembly from the local species pool: an experimental study using congeneric species pairs. – *Journal of Ecology*. 90: 385–393.

TOMST (2013): TMS3Calibr TOMST Measuring System - Station for spatially distributed measurements of soil moisture and ambient temperature in vast fields. – TOMST s.r.o., Prague. URL: [<http://www.tomst.com/tms>].

Vellend M. (2010): Conceptual synthesis in community ecology. – *The Quarterly Review of Biology*. 85: 183-206.

Vítová A. & Lepš J. (2011): Experimental assessment of dispersal and habitat limitation in an oligotrophic wet meadow. – *Plant Ecology*. 212: 1231-1242.

Zobel M. (1992): Plant species coexistence – the role of historical, evolutionary and ecological factors. – *Oikos*. 65: 314-320.

Zobel M. (1997): The relative role of species pool in determining plant species richness: an alternative explanation of species coexistence? – *Trends in Ecology & Evolution*. 12: 266-269.

Zobel M., van der Maarel E. & Dupré C. (1998): Species pool: the concept, its determination and significance for community restoration. – *Applied Vegetation Science*. 1: 55-66.

## **8 Příloha**

Příloha 1: Manuskript článku určený pro časopis *Acta Oecologica*.



# **The role of biotic interactions in plant community assembly: What is the community species pool?**

Eva Švamberková<sup>a,\*</sup>, Alena Vítová<sup>a</sup>, Jan Lepš<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Department of Botany, Faculty of Science, University of South Bohemia, Branišovská 1760, 370 05 České Budějovice, Czech Republic

<sup>b</sup> Institute of Entomology, Biology Centre of the Academy of Sciences of the Czech Republic, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic

\* Corresponding author. E-mail address: [eva.sva@centrum.cz](mailto:eva.sva@centrum.cz) (E. Švamberková).

## **Abstract**

Differences in species composition between a community and its species pool are considered to reflect the effect of community filters. If we define the species pool as a set of species able to reach a site and form a viable population in a given abiotic environment (i.e. to pass the dispersal and abiotic filter), the difference in species composition should correspond to the effect of biotic interactions. However, most of the operational definitions of the species pool are based on co-occurrence patterns and thus also reflect the effect of biotic relationships, including definitions based on the functional plant traits, Ellenberg indicators or Beals index. We conducted two seed additional experiments in an oligotrophic wet meadow with aim of demonstrating that many species excluded by the above definitions from a species pool are in fact able to establish there successfully, providing that competition is removed. In sowing experiments, we studied the establishment and survival of species after the removal of competition (i.e. in artificial gaps) and in intact vegetation. We also investigated inter-annual variability of seed germination and seedling establishment and competitive exclusion of sown species. The species investigated also included those from different habitats (i.e. species with a low corresponding Beals index or Ellenberg indicators that were different from the target community weighted mean). Many of these species were able to grow in the focal wet meadow if competition was removed, but they did not

establish and survive in the intact community. These species are thus not limited by abiotic conditions, but by biotic filter. However, we recorded a great inter-annual variability in seed germination and seedling establishment. Competitive exclusion of species with different ecological requirements could be quite fast (one and half season) while resident species are able to persist in competition. Comparison of realized vegetation composition with the corresponding species pool greatly underestimates the potential impact of the biotic filter if the delimitation of the species pool based on the realized niches of species and co-occurrence patterns.

## **Keywords**

Species pool; Abiotic filter; Biotic filter; Sowing experiment; Competitive exclusion; Gap

## **1. Introduction**

Differences in species composition between a community and its species pool are considered to reflect the effect of community filters. Regional species pool includes all species present in a region (Belyea & Lancaster, 1999). It is mainly determined by the area where the species evolved and by their ability to migrate to specific locality (Pärtel et al., 1996; Zobel, 1997; Swenson, 2011; Lambers et al., 2012; Lepš, 2013). The regional species pool passes by dispersion filter, e.g. distance and landscape arrangement in suitable habitats (Houseman & Gross, 2006). A subset of regional species pool is geographical species pool including species able to disperse to local communities. If these species have physiological ability to tolerate abiotic conditions of the locality, they pass by abiotic filter and they form local species pool. The local species pool is further limited by interactions of the species in communities, i.e. biotic filter (Houseman & Gross, 2006; Götzenberger et al., 2012; Lambers et al., 2012). Nevertheless, the basic definition of local species pool is not consistent. Butaye et al. (2001) defined the local species pool as a set of species which pass

dispersion and abiotic filter. On the contrary, Zobel (1997) included to dispersal and abiotic factors also biotic interactions.

Nowadays, common definition of species pool as a set of species, where the species belongs or does not belong to its, is considered as simplified and insufficient. Lepš (2013) emphasizes the number of propagules able to reach the locality. Pärtel et al. (2011) applies a concept of “dark diversity” for species absent in the ecosystem but belonging to its species pool, i.e. all species in the region which are potentially able to colonize specific ecological conditions of the ecosystem. De Bello et al. (2012) emphasize a functional species pool which can be so defined independently for each habitat including the species potentially able to coexist in the habitat specified by abiotic processes and dispersion filter. Helm et al. (2014) address to non-native and native species not typical to targeted community which should be considered in species pool to understand community biodiversity.

However, most of the operational definitions of the species pool are based on co-occurrence patterns (Sádlo et al., 2007) and thus also reflect the effect of biotic relationships, including definitions based on the functional plant traits (de Bello et al., 2012), Ellenberg indicators (Zobel, 1997; Zobel et al., 1998) or Beals index (Münzbergová & Herben, 2004). Although Helm et al. (2014) proposes standardized system to estimate the habitat-specific species pool using different sources about species characteristics, biotic relationships stay to be reflected in this suggestion. But there are apparently many species able to reach the site and grow in the specific abiotic conditions, i.e. they are limited neither by dispersion nor by abiotic factors, but they are not able to grow in the community because of competition with other species (Butaye et al., 2001; Vítová & Lepš, 2011). If species pool is defined as a set of species able to reach a site and form a viable population in a given abiotic environment, it is not possible to determine this species pool using any methods based on co-occurrence patterns. There is the only possibility – to use a seed addition experiments in combination of experimental competition removal. In these experiments, seeds of different species are introduced to the community, i.e. the species pool is experimentally expanded, and so its influence on the community composition can be observed.

Nevertheless, seedling establishment is a quite improbable phenomenon. Firstly, a propagule pressure and their competitive ability play a crucial role (Cornelissen et al., 2003; Houseman & Gross, 2006). Potentially colonizing species could not be able to produce enough seeds to have sufficient amount of individuals which could pass the community filter (Vítová & Lepš, 2011). Sensitivity of seedling establishment to abiotic conditions and especially to competition is much higher than sensitivity of just established plant. This sensitivity is also species specific (Kotorová & Lepš, 1999). Further, only small amount of seedlings from a large number of seeds can establish and reach the reproductive stage (Zobel, 1997; Lepš, 2013). Seeds of many species germinate and survive in community for several years in the stage of seedlings but they never establish viable population (Vítová & Lepš, 2011). Moreover, seedling establishment is often dependent on disturbances (Kotorová & Lepš, 1999; Lepš, 2013).

Disturbances are not important only for seedling establishment but also for species coexistence (Palmer, 2014). Competitive exclusion principle popularized by Gause (1934) presents that two species with the similar niche are not able to coexist permanently (Chesson, 2000; Grime, 2006). However, there are assumptions that must be fulfilled for competitive exclusion to operate, and their violation can lead to species coexistence (Palmer, 1994). One of these conditions is sufficient time to allow competition exclusion which could be quite long – decades for perennial species (Lepš, 2014) or more (Adler et al., 2010). If there are disturbances in a community, the requirement on the sufficient time is not accomplished and species coexistence is supported (Palmer, 1994). However, empirical long-term studies important to observation of competitive exclusion in stable ecosystems are rather exceptional (Lepš, 2014).

We conducted two seed addition experiments in an oligotrophic wet meadow with aim of demonstrating that many species excluded by the classic definitions from a species pool are in fact able to establish successfully, providing that competition (i.e. biotic filter) is removed. In these sowing experiments, we studied the establishment and survival of species after the removal of competition, i.e. in artificial gaps, and in intact vegetation. The investigated species also included those from different habitats, i.e. species with a low corresponding Beals index or Ellenberg indicators different

from the target community weighted mean. As we expected that these species will be finally competitively excluded, we also aimed to determine the time needed for their competitive exclusion.

## 2. Methods

### 2.1. Study site

The experiment was carried out on an oligotrophic wet meadow Ohrazení, 10 km southeast of České Budějovice, Czech Republic (48°57'N, 14°35'E, 510 m a.s.l.). This locality is used for experimental studies for more than a decade (e.g. Lepš 1999). The soil consists mainly of clay. Mean annual temperatures and total annual precipitations in Ohrazení from 2010 to 2014 are noted in Table 1 (Czech Hydrometeorological Institute České Budějovice). According to phytosociological classification, the meadow is classified as *Molinion* with transition to *Violion caninae* on drier sites. The meadow is surrounded by forest apart from the southeast side where the meadow turns to a field. The vegetation in the nearest belt around the field is affected by nutrients from the field. However, the experimental plots were established on the nutrient unaffected part of the meadow. The meadow, has been mowing since 1994 regularly twice a year in the second half of June and October. The experimental plots were mown in the same terms as a whole meadow during the experiment.

**Table 1**

Mean annual temperature and total annual precipitation in Ohrazení from 2010 to 2014 (Czech Hydrometeorological Institute České Budějovice).

	2010	2011	2012	2013	2014
Mean annual temperature [°C]	7.5	7.1	6.2	7.7	9.0
Total annual precipitation [mm]	743.2	581.9	761.9	739.0	694.2

## 2.2. Seed addition experiments

The ability of species to germinate and survive in the locality was tested by seed addition experiments where mainly species with different habitat preferences were introduced to the community of wet meadow. Artificial gaps, 30 cm x 30 cm in size, were created to remove the competition with surrounding vegetation. Seeds were also added to control plots (undisturbed vegetation) of the same size as gaps, where the effect of competition was maintained. Each species was sown to its own gap and control plot. Germination and seedling survival was observed during following seasons. After creation, the gaps were not weeded, so that for species that established in gaps, we were able to observe their survival and possible competitive exclusion.

First, we established experiment with 12 species sown to the plots in three replications (all species were absent from local species pool except *Plantago lanceolata* and *Succisa pratensis* which are resident at the locality) (*Experiment 1*). 200 seeds of one species were added to one gap and control plot in spring and autumn 2010 to compare inter-annual variability of germination conditions. Their recruitment was observed from 2010 to 2014.

To investigate larger scale of species, another experiment of similar design was established with 60 species sown to the gaps and control plots in November 2011 in two replications (*Experiment 2*). According to classical methods of species pool determination (Zobel, 1997; Münzbergová & Herben, 2004; Sádlo et al., 2007; de Bello et al., 2012), all these sown species were not a part of species pool of the locality. The amount of the sown seeds was established as  $x = 200 * (1 - \log m)$ , where  $x$  is seed weight in mg and  $m$  is weight of one seed in mg. Seeds weighing more than 1 mg were sown in amount of 200 mg. This empirical formula was used to get near to natural trade-off between seed size and amount (Cornelissen et al., 2003), and also because of expected better establishment of heavier seeds. In this way, we wanted to prevent the situation when there will be many seedlings in the gaps of the light-seeded species if constant total seed weight would be sown (because the number of seeds would be much higher for them), or when there would be much higher number of established seedlings of heavy-weighted species because of their expected better initial establishment. Nevertheless, the success was always expressed as number

of survivors out of the number of sown seeds. The numbers of recruited individuals were monitored in gaps and control plots from 2012 to 2014. Gaps became recolonized by resident vegetation during the first season, so in autumn 2013 (at the end of the second season) we estimated the percentage of cover of resident re-colonizing species.

### 2.3. Germination test

For both experiments, germination tests were carried out to compare the ability of seeds to germinate in laboratory conditions with that in nature conditions. In *Experiment 1*, seeds were chilled at  $-14^{\circ}\text{C}$  for three weeks, after that their germinability was observed in standardized climatic conditions. In *Experiment 2*, we decided to test more ways of seed chilling to find out that leading to the best species germinability, and also the one that predicts best the germinability in the field. Thus the seeds stored dry in  $-14^{\circ}\text{C}$  as in *Experiment 1* and in  $+4^{\circ}\text{C}$  were tested in standardized climatic conditions and seeds without any chilling were observed at the room temperature (about  $+20^{\circ}\text{C}$ ).

### 2.4. Data analysis

The relationships between seed germination and seedling survival in time were analyzed using repeated measures ANOVA. Logarithmic transformation, i.e.  $\text{Log}(\text{average number of seedlings} + 1)$ , was used. Linear regression was used to analyze the correlations between seed germination in laboratory and in nature (i.e. the number of germinated seeds resp. survivals standardized by the number of sown seeds) between seed germination and logarithm of seed weight and between seed survival at the end of the experiment and Beals index and absolute values of difference between community weighted mean (CWM) and Ellenberg's indicator of sown species. All these analysis were performed in Statistica 12 (StatSoft, 2013).

Ellenberg's indication values (Ellenberg et al., 1991) for soil humidity, light availability and soil productivity for each sown species were obtained from database JUICE of version 7.0 (Tichý, 2002). These were used to compute the absolute values of

difference between community weighted mean (CWM) and Ellenberg's indicator of sown species. Community weighted mean were counted according to Garnier et al. (2004) as:

$$\text{CWM} = \sum p_i x_i$$

where  $p_i$  is relative abundance of species  $i$  (average of four phytosociological relevés) and  $x_i$  is Ellenberg's indicator of species  $i$ .

Beals index of sown species was calculated from two phytosociological relevés of the experimental plots and an external database of relevés (2451 relevés were used) of Czech National Phytosociological database (Chytrý & Rafajová, 2003) using program R of version 3.1.1 (R Development Core Team, 2014). For this calculation, the package "vegan" and function "beals" of "type" = 2 (i.e. abundances were used to compute weighted averages of conditioned probabilities) was used. Then the average was counted from Beals index values of two phytosociological relevés.

### 3. Results

#### 3.1. Germination and survival of sown species in the field

In *Experiment 1*, recruits germinated and survived in time better in gaps than in control plots ( $F_{9, 630} = 5.511$ ,  $p < 0.0000001$  for spring sowing,  $F_{6, 420} = 12.184$ ,  $p < 0.0000001$  for autumn sowing). At the beginning, their numbers in gaps were significantly higher compared to control plots. From autumn 2010 they were dying off till the end of our observation when difference in numbers of recruits in gaps did not differ a lot from those in control plots (Tab. 2). As expected, the resident species have been surviving very well in both, gaps and control plots. Resident *Plantago lanceolata* was the best surviving species which seedlings survived in the highest numbers and for the longest time. The second resident species *Succisa pratensis* was surviving better than other species as well but in significantly lower numbers than *Plantago lanceolata*. Surprisingly, next well surviving species were non-resident *Sanguisorba minor*, *Hypericum perforatum*, *Galium verum* and *Geranium pratense* which established in a community to the end of our monitoring especially in gaps. Further, we recorded a big



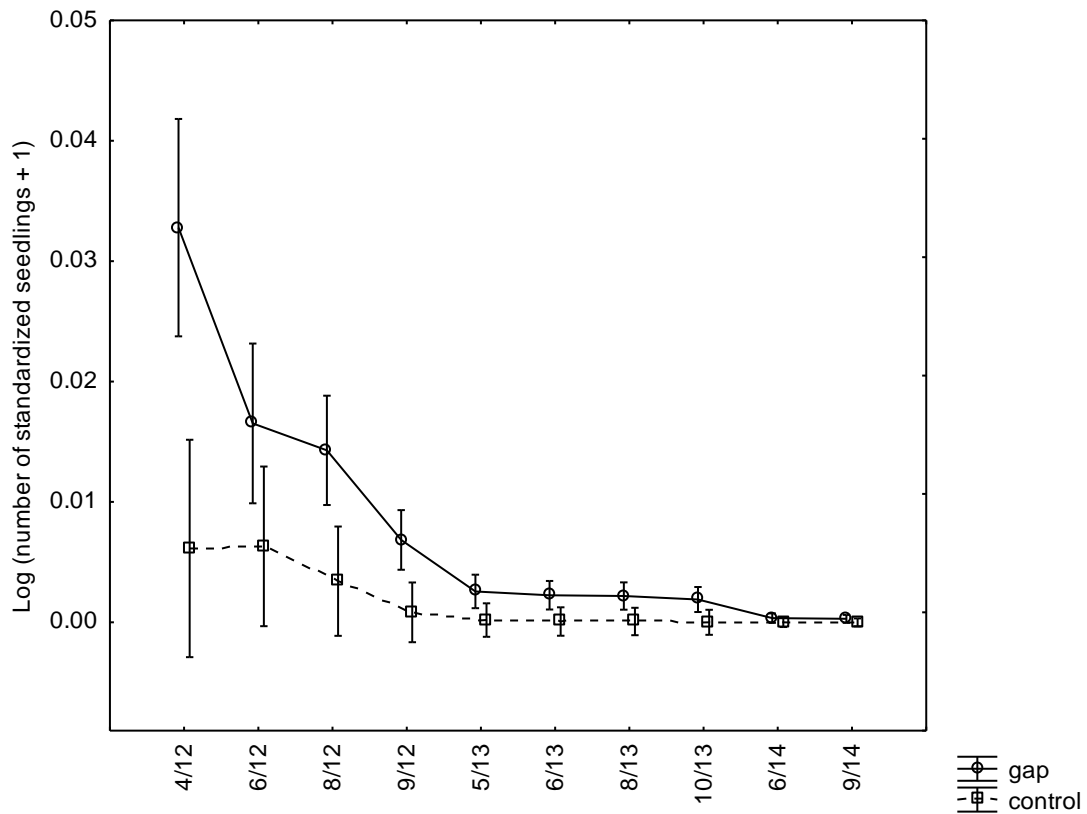
difference in recruits sown in spring and autumn. In gaps, seeds sown in autumn germinated better and their seedlings were dying off significantly slower in contrast with individuals sown in spring. In control plots, high number of seeds sown in spring germinated, and then seedlings were dying off fast. By contrast, seeds sown in autumn germinated slowly and in low numbers but their numbers did not fluctuate in first season and then started to die off constantly. The important difference between species sown in spring and autumn 2010 was only at *Geranium pratense* and *Trifolium hybridum* which germinated better if they were sown in autumn. Nevertheless, at the end of the experiment their survival was comparable.

**Table 2**

Number of seedlings established in gaps and control plots in time in *Experiment I* (average from three replications). From 12/05/11 seedlings sown in autumn 2010 were recorded and their numbers are listed as second number (number of spring/autumn sowing).

plot	species	01/07/10	12/08/10	21/09/10	12/05/11	27/07/11	31/10/11	10/05/12	08/08/12	13/08/13	21/08/14	
gap	<i>AphaArve</i>	337	276	259	11/11	0/6	0/1	0/0	0/0	0/0	0/0	
	<i>EuphCypa</i>	0	1	1	1/7	0/1	0/1	0/1	0/0	0/0	0/0	
	<i>GaliVeru</i>	23	23	32	9/9	7/62	4/37	3/33	1/7	0/3	0/1	
	<i>GeraPrat</i>	3	6	4	3/36	3/38	1/16	1/12	1/2	0/1	0/1	
	<i>HypePerf</i>	26	38	42	35/94	30/108	23/70	17/63	6/29	0/7	0/1	
	<i>PapaRhoe</i>	1	0	0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	
	<i>PlanLanc</i>	207	253	231	216/152	160/150	137/119	124/113	59/59	46/57	48/44	
	<i>SalvPrat</i>	1	1	1	1/1	1/2	0/2	0/0	0/0	0/0	0/0	
	<i>SangMino</i>	281	262	235	132/103	113/90	95/74	59/68	18/24	1/4	1/0	
	<i>ScabOchr</i>	3	5	7	0/14	0/14	0/7	0/4	0/2	0/1	0/0	
	<i>SuccPrat</i>	4	7	9	6/2	9/5	5/8	4/6	4/3	2/2	2/0	
	<i>TrifHybr</i>	7	7	4	18/122	0/75	0/0	0/2	0/0	0/0	0/0	
	control	<i>AphaArve</i>	8	2	2	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
		<i>EuphCypa</i>	4	3	1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
		<i>GaliVeru</i>	10	8	6	0/1	0/1	0/2	0/2	0/1	0/0	0/0
<i>GeraPrat</i>		4	4	4	2/8	2/14	1/16	0/17	0/8	0/5	0/1	
<i>HypePerf</i>		0	0	0	0/2	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	
<i>PapaRhoe</i>		0	0	0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	
<i>PlanLanc</i>		1	13	9	23/17	36/24	13/22	8/12	8/9	10/9	9/7	
<i>SalvPrat</i>		3	0	0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	
<i>SangMino</i>		42	61	60	7/8	6/10	5/11	3/11	3/4	1/0	0/0	
<i>ScabOchr</i>		2	2	0	0/3	0/10	0/3	0/2	0/2	0/0	0/0	
<i>SuccPrat</i>		12	7	1	1/0	4/0	1/0	1/0	4/0	3/0	5/0	
<i>TrifHybr</i>		8	3	3	7/3	2/3	2/3	2/4	0/0	0/0	0/0	

In *Experiment 2*, 47 species germinated from 60 sown species in the locality (Table S1). All species germinated better in gaps than in control plots ( $F_{1, 118} = 14.675$ ,  $p = 0.000206$ ). The only species *Potentilla palustris* germinated more in control plots but subsequently the number of seedlings in gaps became higher (Table S1). Species were germinating during first half of the first season. The high decline in number of individuals both in gaps and control plots was noticed during the first season. However, the surviving of seedlings in gaps and control plots differed in time ( $F_{9, 1062} = 11.001$ ,  $p < 0.0000001$ , Fig. 1). Although seedlings in gaps were dying off more rapidly than seedlings in control plots during the first season, the number of survived seedlings in gaps was higher than in control plots during whole experiment. Moreover, most of seedlings disappeared completely earlier in control plots than in gaps, especially during second season (Table S1). At the end of the two seasons of experiment, all control plots were absolutely missing of our sown species, while in gaps some individuals still survived – *Dianthus deltoides*, *Geum urbanum*, *Hypericum hirsutum*, *Lythrum salicaria*, *Potentilla recta* (Table S1). However, no species reached the reproductive state.

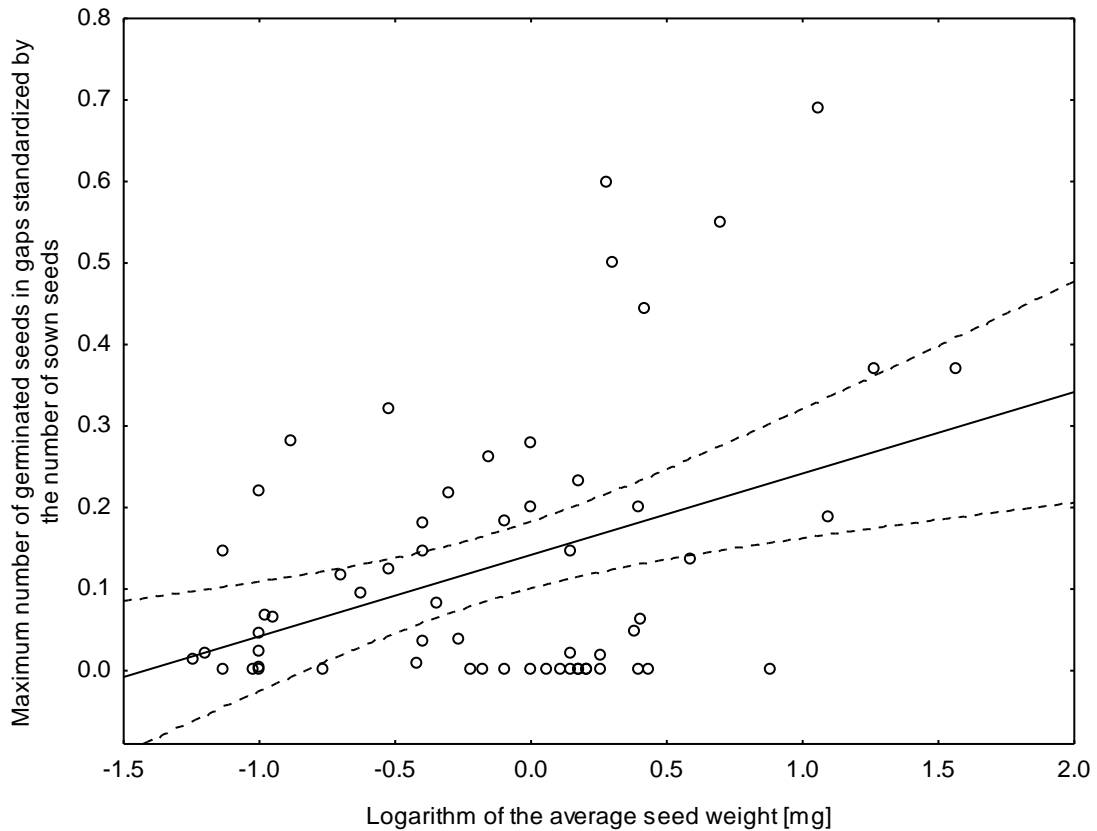


**Fig. 1.** Average number of surviving individuals standardized by the number of sown seeds sown in autumn 2011 (*Experiment 2*) in gaps and control plots (repeated measures ANOVA:  $F_{9, 1062} = 11.001$ ,  $p < 0.0000001$ ) with logarithmic transformation.

There were six species used in both *Experiments* to compare their inter-annual variability in germination and survival. (1) Weedy species *Aphanes arvensis* germinated much better in gaps than in control plots, whether sown in spring or autumn. However, seed germinability was higher in spring. In *Experiment 1* it was the only species which reached a reproductive stage (tens of individuals, only in gaps, in the first year of observation). In contrast, only one seed germinated in one gap in *Experiment 2*. (2) *Papaver rhoeas* sown in spring germinated only in gaps and only several individuals which did not survive. No seeds sown in autumn 2010 germinated. Seeds sown in autumn 2011 germinated better in gaps in comparison with sowing in 2010 but none of the seedlings reached the reproductive stage. (3) *Sanguisorba minor* sown in spring 2010 germinated very well and survived in gaps to the end of our monitoring. In control plots, there is a similar trend but seedlings died off faster. We observed similar course

for autumn sowing in 2010, just the amount of germinated seeds was smaller and recruits died off in the third year of monitoring. For sowing in 2011, just several seeds germinated and only one seedling survived to the second year. (4) *Scabiosa ochroleuca* sown in spring 2010 germinated better in gaps than in control plots but the seedlings did not survive to second season. Seedlings from autumn sowing in 2010 survived up to third season in gaps but in control plots they did not prosper very well. For autumn sowing in 2011, the seedlings survived only in the first season and only in gaps, in control plots they did not germinate at all. (5) *Euphorbia cyparissias* sown in spring 2010 germinated better in control plots than in gaps but the seedlings neither in gaps nor in control plots did not survive to second season. For autumn sowing in 2010, seeds germinated only in gaps and survived only during the first season. Seeds from autumn sowing in 2011 did not germinate at all. (6) *Salvia pratensis* sown in spring 2010 did not survive second season in gaps and not only the first season in control plots. For autumn sowing in 2010, seeds germinated only in gaps and survived only during the first season. Seeds from autumn sowing in 2011 did not germinate at all.

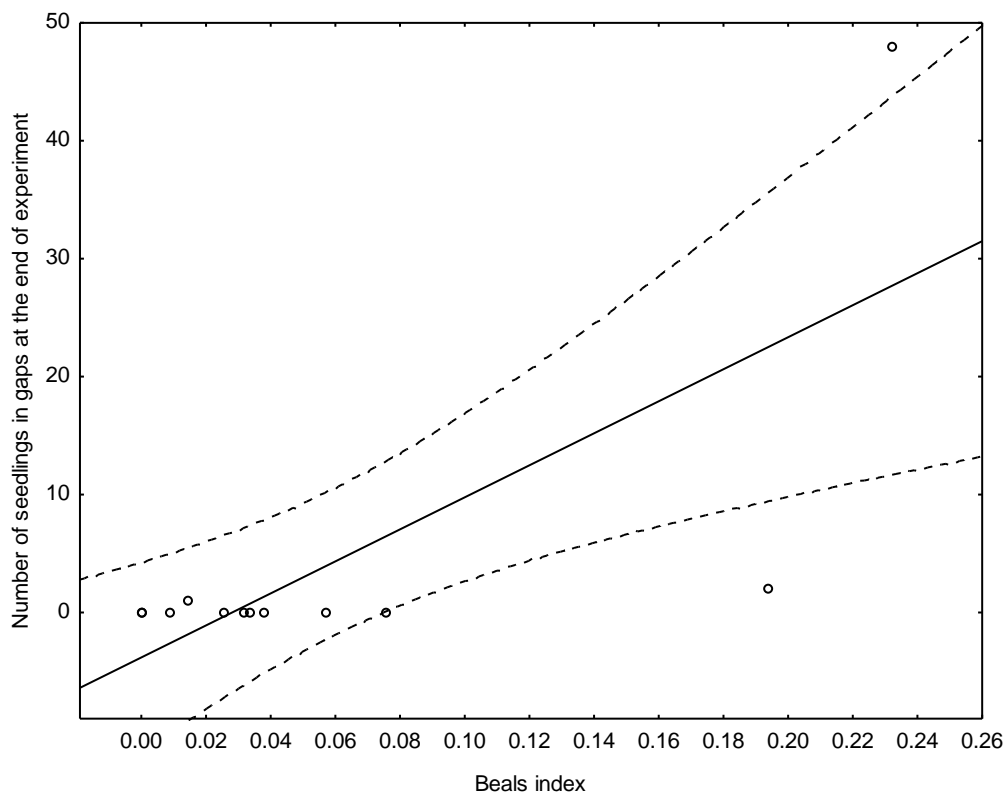
In *Experiment 1*, we observed quite successful survival of species with heavy seeds –*Geranium pratense*, *Plantago lanceolata*, *Sanguisorba minor* (Table 2). The germination of seeds in *Experiment 2* (i.e. the maximum numbers of germinated seeds standardized by the number of sown seeds) in gaps was positively correlated with logarithm of the average seed weight ( $r = 0.3935$ ,  $N = 60$ ,  $p = 0.002$ , Fig. 2). It showed that larger seeds germinated in gaps better than smaller ones. In control plots, there is no significant correlation between seed germination and logarithm of the average seed weight ( $r = 0.2477$ ,  $N = 60$ ,  $p = 0.056$ ).



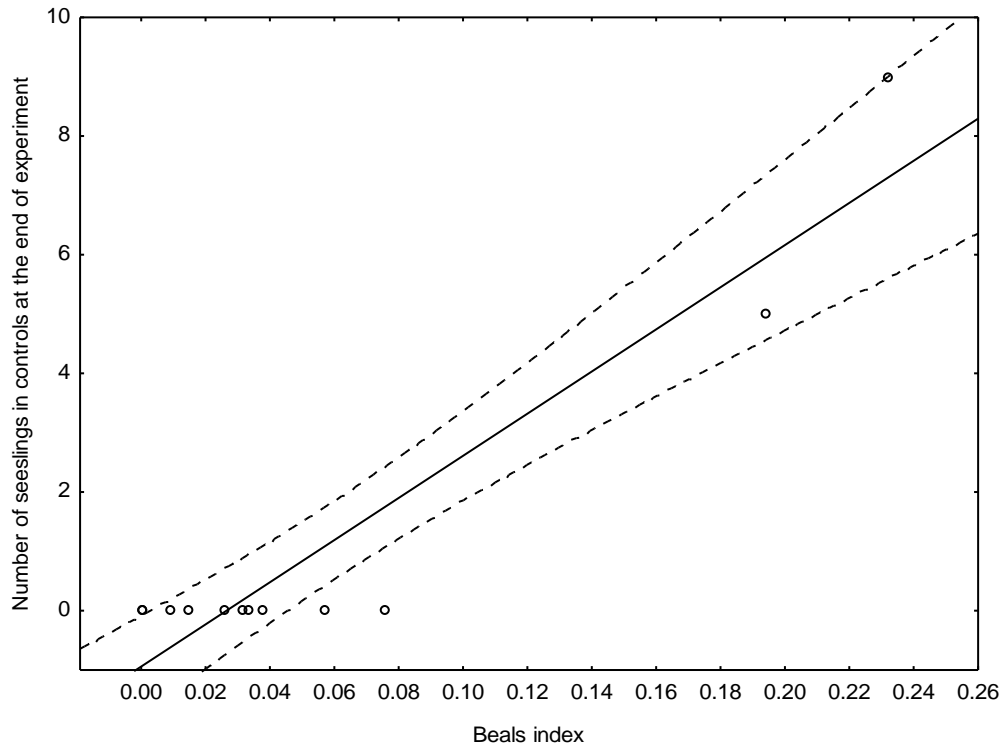
**Fig. 2.** The regression curve predicting the relationship between the maximum number of germinated seeds in gaps standardized by the number of sown seeds and the logarithm of the average seed weight ( $r = 0.3935$ ,  $N = 60$ ,  $p = 0.002$ , 95% confidence interval) in *Experiment 2*.

The range of Beals index values in *Experiment 1* was from  $3.77\text{E-}04$  (*Aphanes arvensis*) to  $0.23$  (*Plantago lanceolata*) and in *Experiment 2* from  $9.67\text{E-}06$  (*Hyoscyamus niger*) to  $0.22$  (*Caltha palustris*) (Table S2). The success of seedling survival (at the end of the experiment) both in gaps and control plots was positively correlated with Beals index in *Experiment 1* (Fig. 3 – 6). In *Experiment 2*, the success of seedling recruitment is independent on Beals index. In both *Experiments*, the success of seedling recruitment is independent on Ellenberg’s indicators. The seedlings of many species with low Beals index and/or high difference between community weighted mean and Ellenberg’s indicators (Table S2) have survived on the locality for two or three seasons, particularly in gaps (*Galium verum*, *Geranium pratense*,

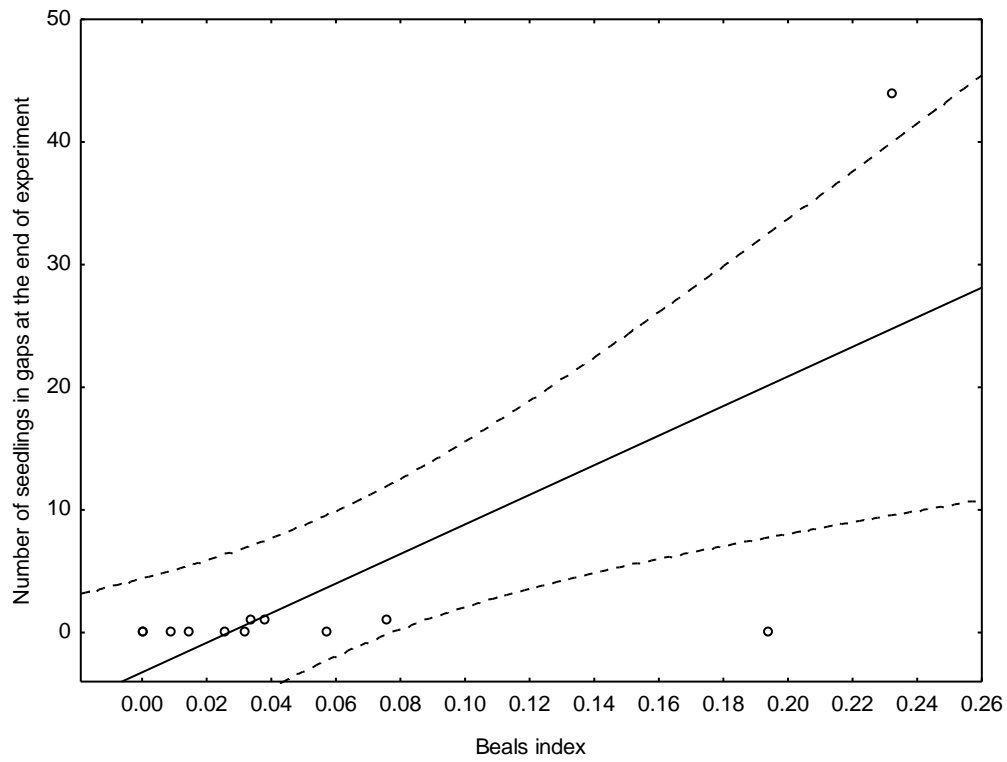
*Hypericum perforatum* and *Sanguisorba minor* in *Experiment 1* and *Dianthus carthusianorum*, *Dianthus deltoides*, *Geum urbanum*, *Hypericum hirsutum*, *Lythrum salicaria* and *Potentilla recta* in *Experiment 2*). On the other hand, species able to survive not only in gaps but also in control plots and in gaps re-colonized by surrounding vegetation were these with high Beals index (i.e. *Plantago lanceolata* and *Succisa pratensis*, Fig 3 – 6).



**Fig. 3.** The regression curve predicting the relationship between the average number of seedlings in gaps at the end of the *Experiment 1* (spring sowing) and Beals index ( $r = 0.7432$ ,  $N = 12$ ,  $p = 0.006$ , 95% confidence interval).

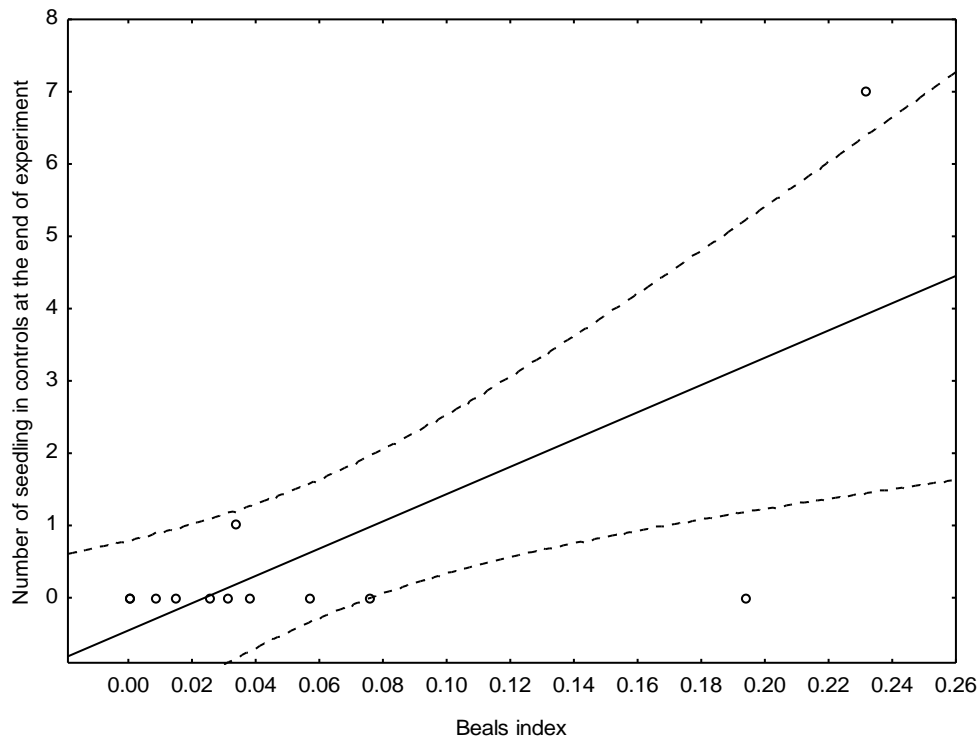


**Fig. 4.** The regression curve predicting the relationship between the average number of seedlings in control plots at the end of the *Experiment 1* (spring sowing) and Beals index ( $r = 0.9393$ ,  $N = 12$ ,  $p < 0.0001$ , 95% confidence interval).



**Fig. 5.** The regression curve predicting the relationship between the average number of seedlings in gaps at the end of the *Experiment 1* (autumn sowing) and Beals index ( $r = 0.7213$ ,  $N = 12$ ,  $p = 0.008$ , 95% confidence interval).





**Fig. 6.** The regression curve predicting the relationship between the number of seedlings in control plots at the end of the *Experiment 1* (autumn sowing) and Beals index ( $r = 0.7068$ ,  $N = 12$ ,  $p = 0.010$ , 95% confidence interval).

The colonization of gaps by the resident vegetation was noticed just from the end of the first season in both experiments. In most of gaps, the cover of resident vegetation in *Experiment 2* was already at the end of the second season about 70 - 80 % (spreading mainly vegetatively from the surrounding) and at the end of third season there were ever full competition. Thus species which were able to persist in gaps at the beginning of the second season (Table S1) are species which were able, at least temporarily, to avoid competitive exclusion.

### 3.2. Germination and survival of sown species in the field relative to the germination test

In *Experiment 2*, two types of chilling and not chilled seeds were used in germination test. The germination of seeds chilled in  $-14^{\circ}\text{C}$  (i.e. the number of germinated seeds

standardized by the number of sown seeds) was the best predictor of the field germination (i.e. the maximum numbers of germinated seeds standardized by the number of sown seeds) both in gaps ( $r = 0.3311$ ,  $N = 60$ ,  $p = 0.01$ ) and in control plots ( $r = 0.3606$ ,  $N = 60$ ,  $p = 0.005$ ). The seed chilling at  $+4^{\circ}\text{C}$  and no chilling seeds were less significant predictors for germination of seeds in nature only for control plots ( $r = 0.3097$ ,  $N = 60$ ,  $p = 0.016$  resp.  $r = 0.3078$ ,  $N = 60$ ,  $p = 0.017$ ).

In spite of fact that several species did not germinate at all or very little in the germination test, they germinated quite well in the field (f. e. *Lathyrus niger*, *Lycopsis arvensis*, *Myrrhis odorata*).

#### 4. Discussion

In seed addition experiment, mainly seeds of species with different habitat preferences were introduced to the community of wet meadow. As a result, pool of species able to reach the target community was expanded and its influence on the community species distribution could be observed.

In both *Experiments* the highest decrease of seedlings both in gaps and in control plots was primarily during the first season and after the first winter. The same trend noted also Vítová & Lepš (2011) during five years monitoring of seedling survival. In this period, the seedlings are probably the most sensitive as on the abiotic factors as on the biotic interactions (Kotorová & Lepš, 1999; Moore & Elmendorf, 2006). At the end of the *Experiment 1*, the only well surviving species in control plots were resident species *Plantago lanceolata* (both in spring and autumn sowing) and *Succisa pratensis* (only spring sowing). These resident species are able to persist in competition with other species from the community better than non-resident species (Ehrlén et al., 2006). However, the lower number of seedlings in control plots than in gaps suggests that even resident species respond negatively to competition. In the *Experiment 2* all species were missing in control plots at the end of experiment. On the other hand, some species which are not normally present in the target locality were able to prosper well in gaps until the end of the both *Experiments*. This means that the type of vegetation where seed reached is really important for successful species

establishment. In dense vegetation, new species do not have any chance to survive (Zobel et al., 1998). Disturbances are so necessary to successful establishment, also for the resident species. In fact, artificial gaps used in our study are special type of disturbance which provides seedlings with the place without competition. In both our *Experiments*, seed germination for all species was really much successful in gaps than in control plots. Although seedlings were decreasing more continuously in control plots than in gaps, the final survivor was still better in gaps. It seems that gaps have crucial role in seedling establishment because the first established species in gap has competitive advantage under other species which reach the site later. The importance of gaps is also supported by other studies (Grubb, 1977; Morgan, 1997; Kotorová & Lepš, 1999; Tofts & Silvertown, 2002). The non-native species which are able to survive in gaps are not probably influenced by abiotic factors but by biotic interactions, especially by competition.

However, last season of the *Experiments* the number of seedlings in gaps began to approach the number of seedlings in control plots. The reason was that the final number of seedlings surviving in gaps was negatively influenced by resident vegetation which started colonize gaps just at the end of the first season in both *Experiments*. This resident vegetation spreads mainly vegetatively from the surrounding but for example *Juncus* species have very important seed bank in the study locality. It means that species germinated and survived in gaps very well until the stage that gaps is re-colonized by surrounding vegetation (i.e. the beginning of the second season). Then competitive exclusion started and number of species declined. There is a chance that if the resident vegetation was removed from gaps regularly, more species would prosper there at the end of experiment. In seed addition experiment, the long term monitoring of seedlings is necessary (Zobel et al., 1998; Münzbergová & Herben, 2004; Ehrlén et al., 2006; Houseman & Gross, 2006) because it is possible that many species germinate and survive as seedlings for several years but they are not able to create a viable population (Vítová & Lepš, 2011). If seedlings in our *Experiments* had been monitoring only one season when some seedlings survived both in gaps and in control plots, it would have seemed that the species are only dispersal limited. In fact, the result after 5 years monitoring in *Experiment 1* and 3 years monitoring in *Experiment 2* is that species are not only dispersal limited but they are influenced primarily by biotic filter.

Only species which were able to persist in competition at the end of the experiment were two resident species from *Experiment 1*. These species were also able to persist quite well in gaps which were at the end of the experiment fully re-colonized by surrounding vegetation.

In our study, only one species which reached the reproductive stage was annual weed species *Aphanes arvensis* in *Experiment 1*. Although this species was able to produce seeds in the first season (in gaps), it didn't establish the viable offspring in following seasons. The reason could be the competition for light in gaps with the resident species which colonized second season 70 – 80% of gap cover and so the seeds were not able to germinate. This result also supports the important role of gaps because of biotic interactions. On the one hand the no flowering of other surviving species could be caused by the colonizing resident vegetation; on the other hand, there is a possibility that it will change in future. For example Frei et al. (2012) expect that the mean reproduction age of sown species *Campanula thyrsoides* could be 10 years. Moreover the time in which species reach in reproductive stage is much longer in field than in greenhouse experiments.

There were differences in seed germination and seedling establishment between spring and autumn sowing in *Experiment 1* but also between autumn sowing in *Experiment 1* and in *Experiment 2*. It is not probably so important if seeds are sown in spring or in autumn but it depends primarily on the climatic conditions (Hobbs & Mooney, 1991; Gustafsson et al., 2002) of time period when the species germinate and also of following years when the seedlings establish. Different establishment of species common for both *Experiments* also confirms the importance of inter-annual variability. In 2012 the spring was wetter and colder than spring in 2011 which could be reason of different trend in seed germination especially between autumn sowing from *Experiment 1* and autumn sowing in *Experiment 2*.

In *Experiment 1*, many species with heavy seeds survived quite well. The advantage of heavy seeds support statistically *Experiment 2*, where the species with heavy seeds germinated in gaps better than species with light seeds. However, this trend is not significant for control plots. Controversially, most of studies suggest that heavy seeds germinate better especially in vegetation (Kotorová & Lepš, 1999;

Leishman & Murray, 2001; Houseman & Gross, 2006). In any case, our experiment affirms that the seed weight is important to seed germination and seedling establishment in field because it shows how many reserves seed contains. These reserves then help to seeds or seedlings survive successfully all threats in field such as shadow, drought and herbivory (Cornelissen et al., 2003). In generally, heavy seeds have better ability to germinate in any kind of environment because they contain a lot of reserves and can win the competition with light weight seeds although these lighter ones are produced in nature in higher amount (Kotorová & Lepš, 1999; Leishman & Murray, 2001; Cornelissen et al., 2003; Houseman & Gross, 2006).

Although Beals index for most of species was very low (close to zero), the seedlings of many these species has been surviving on the locality during two or three seasons, particularly in gaps. Only species able to survive to the end of experiment in control plots and in gaps re-colonized by surrounding vegetations were two residents with high Beals index. This is because the resident species are adapted very well on the interactions in the community. Also many species with high differences between community weighted mean and Ellenberg's indicators survived in gaps but they were not successful in control plots. These species with low Beals index and/or with high differences between community weighted mean and Ellenberg's indicators were able to grow in the given abiotic conditions (they are not limited by abiotic factors) if the competition is eliminated but they cannot survive in the community due to competition with other species. There are examples of some species which has been surviving very well on the oligotrophic wet meadow in our *Experiments* especially in gaps: *Galium verum*, *Geranium pratense*, *Hypericum perforatum* and *Sanguisorba minor* in *Experiment 1* and *Dianthus carthusianorum*, *Dianthus deltoides*, *Geum urbanum*, *Hypericum hirsutum*, *Lythrum salicaria* and *Potentilla recta* in *Experiment 2*. In most cases, nobody would consider these species as part of a local species pool (Zobel, 1997; Sádlo et al., 2007; de Bello et al., 2012) because all these studies define species pool as set of species which pass both abiotic and biotic filter. But if we use the definition of species pool referring to Butaye et al. (2001), i.e. set of species which pass only abiotic filter but are not influenced by biotic filter, than all species which survive in gaps at the end of our experiment are part of local species pool.

The best predictor of seeds germination in field was laboratory germination of seeds chilled in -14°C. The same result is also suggested by Kotorová & Lepš (1999). Nevertheless, there were some species which did not germinate in laboratory or only in small amount but they germinated quite well in field (*Lathyrus niger*, *Lycopsis arvensis*, *Myrrhis odorata*). It could be caused by fact that we are never able to provide all requirements of species to break a dormancy period. Our study concentrated on seed chilling in different temperatures but it is possible, there are other important factors which can influence the seed germination. The other reason in differences between seed germination in field and in laboratory can be the high species sensitivity on the climatic conditions of environment where they germinate (Hobbs & Mooney, 1991; Kotorová & Lepš, 1999). It means that different temperature in field than in chilling could play crucial role for some species.

## **5. Conclusion**

In conclusion, species prefer for their establishment sites without vegetation (i.e. gaps) where the competition is not so strong. These species are able to growth in given abiotic conditions but they don't survive in community because of biotic interactions, especially competition. Relatively small gaps (30 x 30 cm) are re-covered by surrounding vegetation already after the first season. One and half season is sufficient time for establishment of resident species but for species with different ecological requirements it is enough only for germination but not for establishment. Moreover, there is a great inter-annual variability in seed germination and seedling establishment. Although Beals index (Münzbergová & Herben, 2004) and Ellenberg indicators (Zobel, 1997) are very often used for species pool delimitation, our study suggests that both these methods are based on the realized niches of species and subsequently species which are part of this species pool are influenced by biotic interactions. However, if we want to observe the influence of biotic filter on the base of comparison of real plant community distribution with species pool, it is necessary to determine this species pool independently on biotic interactions of target community (Butaye et al., 2001). This approach expands the species pool about many species which don't have to be necessarily present in the target community.

## **Acknowledgments**

The research was supported by grant 41-P505/12/1296 from Grant Agency of the Czech Republic.

## **Appendix A. Supplementary data**

Supplementary data can be found as an electronic appendix.

## **References**

- Adler, P.B., Ellner, S.P., Levine, J.M., 2010. Coexistence of perennial plants: an embarrassment of niches. *Ecol. Lett.* 13, 1019-1029.
- Belyea, L.R., Lancaster, J., 1999. Assembly rules within a contingent ecology. *Oikos* 86, 402-416.
- Butaye, J., Jacquemyn, H., Honnay, O., Hermy, M., 2001. The species pool concept applied to forests in a fragmented landscape: dispersal limitation versus habitat limitation. *J. Veg. Sci.* 13, 27-34.
- Chesson, P., 2000. Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 31, 343-366.
- Chytrý, M., Rafajová, M., 2003. Czech National Phytosociological Database: basic statistics of the available vegetation-plot data. *Preslia* 75, 1–15.

Cornelissen, J.H.C., Lavorel, S., Garnier, E., Díaz, S., Buchmann, N., Gurvich, D.E., Reich, P.B., ter Steege, H., Morgan, H.D., van der Heijden, M.G.A., Pausas, J.G., Poorter, H., 2003. A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Aust. J. Bot.* 51, 335-380.

de Bello, F., 2012. The quest for trait convergence and divergence in community assembly: are null-models the magic wand? *Glob. Ecol. Biogeogr.* 21, 312-317.

Ehrlén, J., Münzbergová, Z., Diekmann, M., Eriksson, O., 2006. Long-term assessment of seed limitation in plants: results from an 11-year experiment. *J. Ecol.* 94, 1224-1232.

Ellenberg, H., Weber, H.E., Düll, R., Wirth, V., Werner, W., Paulissen, D., 1991. Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa. *Scr. Geobot.* 18, 1-248.

Frei, E.S., Scheepens, J.F., Stöcklin, J., 2012. Dispersal and microsite limitation of a rare alpine plant. *Plant Ecol.* 213, 395–406.

Garnier, E., Cortez, J., Billes, G., Navas, M.L., Roumet, C., Debussche, M., Laurent, G., Blanchard, A., Aubry, D., Bellmann, A., Neill, C., Toussaint, J. P., 2004. Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology* 85, 2630-2637.

Gause, G.F., 1934. *The struggle for existence.* Williams and Wilkins Company, Baltimore.



Götzenberger, L., de Bello, F., Bråthen, K.A., Davison, J., Dubuis, A., Guisan, A., Lepš, J., Lindborg, R., Moora, M., Pärtel, M., Pellissier, L., Pottier, J., Vittoz, P., Zobel, K., Zobel, M., 2012. Ecological assembly rules in plant communities - approaches, patterns and prospects. *Biol. Rev.* 87, 111-127.

Grime, J.P., 2006. Trait convergence and trait divergence in herbaceous plant communities: Mechanisms and consequences. *J. Veg. Sci.* 17, 255-260.

Grubb, P.J., 1977. The maintenance of species-richness in plant communities: the importance of the regeneration niche. *Biol. Rev.* 52, 107-145.

Gustafsson, C., Ehrlén, J., Eriksson, O., 2002. Recruitment in *Dentaria bulbifera*; the roles of dispersal, habitat quality and mollusc herbivory. *J. Veg. Sci.* 13, 719-724.

Helm, A., Zobel, M., Moles, A.T., Szava-Kovats, R., Pärtel, M., 2014. Characteristic and derived diversity: implementing the species pool concept to quantify conservation condition of habitats. *Divers. Distrib.* 1-11.

Hobbs, R.J., Mooney, H.A., 1991. Effects of rainfall variability and gopher disturbance on serpentine annual grassland dynamics. *Ecology* 72, 59-68.

Houseman, G.R., Gross, K.L., 2006. Does ecological filtering across a productivity gradient explain variation in species pool-richness relationships? *Oikos* 115, 148-154.

Kotorová, I., Lepš, J., 1999. Comparative ecology of seedling recruitment in an oligotrophic wet meadow. *J. Veg. Sci.* 10, 175-186.

Leishman, M.R., Murray, B.R., 2001. The relationship between seed size and abundance in plant communities: model predictions and observed patterns. *Oikos* 94, 151-161.

Lambers, J.H., Adler, P.B., Harpole, W.S., Levine, J.M., Mayfield, M.M., 2012. Rethinking community assembly through the lens of coexistence theory. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 43, 227-248.

Lepš, J., 1999. Nutrient status, disturbance and competition: an experimental test of relationships in a wet meadow. *J. Veg. Sci.* 10, 219-230.

Lepš, J., 2013. Diversity and ecosystem function, in: van der Maarel, E., Franklin, J., (Eds.), *Vegetation ecology*. Wiley, Oxford, pp. 308-346.

Lepš, J., 2014. Scale- and time-dependent effects of fertilization, mowing and dominant removal on a grassland community during a 15-year experiment. *J. Appl. Ecol.* 51, 978-987.

Moore, K.A., Elmendorf, S.C., 2006. Propagule vs. niche limitation: untangling the mechanisms behind plant species distributions. *Ecol. Lett.* 9, 797–804.

Morgan, J.W., 1997. The effect of gap size on establishment, growth and flowering of the endangered *Rutidosia leptorrhynchoides* (Asteraceae). *J. Appl. Ecol.* 34, 566-576.

Münzbergová, Z., Herben, T., 2004. Identification of suitable unoccupied habitats in metapopulation studies using co-occurrence of species. *Oikos* 105, 408-414.

Palmer, M., 1994. Variation in species richness: towards a unification of hypotheses. *Folia Geobot. Phytotx.* 29, 511-530.

Pärtel, M., Szava-Kovats, R., Zobel, M., 2011. Dark diversity: shedding light on absent species. *Trends Ecol. Evol.* 26, 124-128.

Pärtel, M., Zobel, M., Zobel, K., van der Maarel, E., 1996. The species pool and its relation to species richness: evidence from Estonian plant communities. *Oikos* 75, 111-117.

R Development Core Team, 2014. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. URL: [<http://www.r-project.org>].

Sádlo, J., Chytrý, M., Pyšek, P., 2007. Regional species pool of vascular plants in habitats of the Czech Republic. *Preslia* 79, 303-321.

StatSoft, 2013. STATISTICA (data analysis software system), version 12. StatSoft Inc. URL: [[www.statsoft.com](http://www.statsoft.com)].

Swenson, N.G., 2011. The role of evolutionary processes in producing biodiversity patterns, and the interrelationships between taxonomic, functional and phylogenetic biodiversity. *Am. J. Bot.* 98, 472-480.

Tichý, L., 2002. JUICE, software for vegetation classification. *J. Veg. Sci.* 13, 451–453.

Tofts, R., Silvertown, J., 2002. Community assembly from the local species pool: an experimental study using congeneric species pairs. *J. Ecol.* 90, 385–393.

Vítová, A., Lepš, J., 2011. Experimental assessment of dispersal and habitat limitation in an oligotrophic wet meadow. *Plant Ecol.* 212, 1231-1242.

Zobel, M., 1997. The relative role of species pool in determining plant species richness: an alternative explanation of species coexistence? *Trends Ecol. Evol.* 12, 266-269.

Zobel, M., van der Maarel, E., Dupré, C., 1998. Species pool: the concept, its determination and significance for community restoration. *Appl. Veg. Sci.* 1, 55-66.