

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Botanika



Bc. Marcela Kuglerová

Význam stanovištních podmínek pro interakce rostlin a bezobratlých herbivorů
The importance of enviromental conditions on plant-invertebrate herbivore interactions

Diplomová práce

školitel: doc. RNDr. Zuzana Münzbergová, Ph.D.

Praha, 2017

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze,

Podpis

Poděkování

V první řadě bych ráda poděkovala vedoucí své práce doc. RNDr. Zuzce Münzbergové, Ph.D. za veškerou pomoc. Za cenné rady, ochotu a nekonečnou trpělivost, kterou se mnou měla.

Dále bych chtěla poděkovat Iloně Chmelařové a Iloně Jarošincové za veškerou pomoc při pokusech a hlavně při skenování.

Můj dík též patří RNDr Jiřímu Skuhrovcovi, Ph.D. za pomoc se zoologickou částí diplomové práce.

Ráda bych též poděkovala mojí mamince za podporu při pokusech i po celou dobu studia. A hlavně za její asistenci při sbírání slimáků za deště pozdě v noci v lese.

Abstrakt

Rostliny a herbivoři se navzájem ovlivňují již miliony let. Většina studií se věnuje mezidruhovým rozdílům v intenzitě herbivorie, avšak málo se ví o vnitrodruhové variabilitě a o tom, co ji řídí. Právě stanovištní podmínky mohou určovat vnitrodruhovou variabilitu.

Cílem této práce je prozkoumat význam stanovištních podmínek a mezidruhových rozdílů na preference bezobratlých herbivorů.

Rostlinný materiál používaný v experimentech pochází z několika druhů z podčeledi *Carduoideae*. Preference bezobratlých herbivorů jsou testovány ve výběrových pokusech. Pro tyto pokusy byly vytvořeny plastové arény, do kterých byly do nádobek umístěny po obvodu listy rostlin. Po přidání herbivorů byly arény zakryty síťovinou, aby nedošlo k úniku herbivorů.

Pokusy byly prováděny s rostlinným materiálem vypěstovaným v experimentální zahradě a s materiálem nasbíraným v terénu. Vypěstované rostliny se mezi sebou lišily v úživnosti substrátu a v zalévacím režimu. U pokusů s materiálem nasbíraným v terénu byly listy rostlin sebrány celkem na osmi stanovištích, na čtyřech polních a čtyřech lučních. Listy byly naskenovány před započítáním pokusu a po jeho ukončení. Po zpracování scanů byl zjištěn podíl snědené plochy z jednotlivých listů. Pro zjištění vlastností rostlin byly změřeny ještě jejich funkční vlastnosti a to konkrétně tuhost listů a jejich specifická listová plocha.

Výsledky ukazují signifikantní vliv substrátu, zalévacího režimu i druhu rostliny u zahradních pokusů a u pokusů s materiálem z terénu vyšel průkazně vliv lokality a druhu rostliny. Na preference herbivorů má vliv vnitrodruhová i mezidruhová variabilita.

Klíčová slova: herbivorie, výběrový pokus, *Carduoideae*, stanovištní podmínky, bezobratlí herbivoři, vnitrodruhová variabilita, mezidruhová variabilita

Abstract

Plants and herbivores influence each other for more than million years. Most studies are focused on interspecific variability in herbivory intensity, but little is known about intraspecific variability and what controls it. Environmental conditions can determine intraspecific variation. Goal of this thesis is to examine importance of environmental conditions and interspecific variation for invertebrate herbivory preferences.

Plant material that was used in experiments comes from several species from subfamily Carduoideae. Preferences of invertebrate herbivores are tested in food-choice experiments. Plastic arenas are made for these experiments, in which leaves are put in small tubes that are placed along the periphery. After herbivores are placed in to arena, arena is covered by net to ensure that herbivores can't escape.

Plant material for experiments was grown in experimental garden and was also brought from field. Plants from garden differ in productivity of soil and water regime. In experiments with field material, plant leaves were collected from eight localities, four fields and four grasslands. Leaves were scanned before and after each experiment. Scans were processed and the amount of consumed leaf tissue was determined. For plant characteristics I measured plant functional traits, specific leaf area and toughness.

Results show significant impact of soil nutrients, water regime and plant species in garden experiments and significant impact of plant species and locality in the field experiments. Both intraspecific and interspecific variability affect herbivore's preferences.

Key words: herbivory, food choice experiment, Carduoideae, environmental conditions, invertebrate herbivores, intraspecific variability, interspecific variability

Seznam zkratek:

ARC LAP - *Arctium lappa*

ARC TOM - *Arctium tomentosum*

CIR ARV - *Cirsium arvense*

DACA - *Carduus acanthoides*

IVUL - *Cirsium vulgare*

JACEA - *Centaurea jacea*

SLA - specifická listová plocha

STOEBE - *Centaurea stoebe*

Obsah

1. Úvod:.....	8
1.1. Vliv prostředí.....	8
1.2. Vliv druhu	11
1.3. Carduoideae.....	11
1.4. Metody studia herbivorie	12
2. Cíle práce.....	13
3. Metodika.....	14
3.1. Příprava kruhové arény	14
3.2. První sezóna	15
3.2.1. Zahraní pokus	15
3.3. Druhá sezóna	16
3.3.1. Zahradní rostlinný materiál	16
3.3.2. Terénní rostlinný materiál	19
3.4. Herbivoři	21
3.4.1. První sezóna	21
3.4.2. Druhá sezóna	22
3.5. Zpracování dat.....	23
3.5.1. Měření plochy listů.....	23
3.5.2. Měření vlastností druhu.....	24
3.5.3. Příprava dat	24
3.6. Analýza dat.....	25
3.6.1. Výběrové pokusy.....	25
3.6.2. SLA a tuhost.....	25
4. Výsledky.....	26
4.1. První sezóna	26
4.2. Druhá sezóna	29
4.2.1. Zahradní experiment.....	29
4.2.2. Experimenty s materiálem z terénu	44
5. Diskuse	52
6. Závěr.....	57
7. Seznam použité literatury:.....	58

1. Úvod:

Vztah mezi rostlinami a herbivory je znám už od pradávna. Rostliny si za tu dobu vyvinuly v boji proti herbivorům širokou škálu obranných mechanismů. Tyto obranné mechanismy můžeme rozdělit na indukované (Mithöfer et al., 2005) a konstitutivní. Konstitutivní obranu můžeme rozdělit na obranu mechanickou, chemickou a vizuální. Do skupiny mechanických obranných znaků řadíme na příklad trichomy, jež zabraňují pohybu a krmení herbivorů (Traw & Dawson, 2002), vosky, které snižují schopnost herbivora přijmout rostlinu jako potravu (Eigenbrode et al., 1991) nebo různé typy ostnů, které zamezují konzumaci rostliny herbivorem (Grubb, 1992). Za chemické obranné znaky můžeme považovat rostlinné sekundární metabolity, jako jsou alkaloidy a terpeny, které jsou toxické pro herbivory a patogeny (Wittstock & Gershenzon, 2002). V posledních letech se větší pozornosti dostává i vizuální obraně rostlin, jež zahrnuje na příklad funkce mimiker u rostlin (Lev-Yadun & Inbar, 2002) nebo jejich aposematické zbarvení (Lev-Yadun, 2003).

Typy obrany se liší mezi jednotlivými druhy, proto je v souvislosti s herbivorií často studována mezidruhová variabilita (Johnson et al., 2009; Münzbergová & Skuhrovec, 2013). Mezidruhové rozdíly můžeme pozorovat na příklad v rozdílných vlastnostech listů rostlin (Coley, 1987). Listy se mohou lišit tuhostí, tloušťkou, obsahem vody, dusíku, fosforu, draslíku a hořčíku (Xiang & Chen, 2004). Tyto rozdíly mají vliv na herbivorii. Kromě mezidruhové variability se rostliny mohou lišit i v rámci druhu. Ne všechny rostliny stejného druhu budou mít stejné vlastnosti. Rozdíly v rámci jednoho druhu můžeme pozorovat na příklad v chemické obraně. Většina druhů aromatických rostlin se v rámci vnitrodruhové variability liší ve složení sekundárních metabolitů (Kleine & Müller, 2011). Dále mohou herbivoři rozdílně preferovat v rámci jednoho druhu části rostliny lišící se velikostí (Inbar et al., 2001). K tomuto tématu se váží dvě odlišné hypotézy (Plant Stress Hypothesis (White, 1993) a Plant Vigor Hypothesis (Price, 1991), které se právě zabývají vlivem rozdílného prostředí na preference herbivorů.

V této práci se budu zabývat vlivem prostředí a druhu rostliny na preference bezobratlých herbivorů.

1.1. Vliv prostředí

Rostliny se vyskytují v různých prostředích a právě rozdílnost těchto prostředí může mít vliv na výběr potravy bezobratlých herbivorů. Ve studii Münzbergová & Skuhrovec, (2013) na příklad pozorovali u několika druhů rostlin z podčeledí *Carduoideae* zvýšené

poškození se zvyšující se vlhkostí prostředí a též se zvýšenou úživností prostředí. Tento efekt lze vysvětlit rozdíly v rozmístění herbivorů na gradientech prostředí.

Jako další příklad rozdílné reakce herbivorů na prostředí můžeme použít studii Čejka & Hamerlík (2009), která sledovala, jak gradient prostředí ovlivňuje skladbu společenstev měkkýšů a ukázala, že 21 z 31 testovaných druhů měkkýšů projevuje signifikantní reakci na vlhkost. Jako další příklad můžeme uvést slimáka (*Deroceras reticulatum*), který je jedním z nejvíce ničivých škůdců v zemědělství, jež je citlivý na změny prostředí zejména pak na nízkou vlhkost půdy a nízkou teplotu. Pokud se ocitne v pro něj nepříznivých podmínkách, nenaklade vajíčka, protože jeho produktivita se mění s okolní teplotou a vlhkostí (Cobb et al., 1997). Při pozorování můry (*Dioryctria albovittella*) se ukázalo, že tento druh je nejhojnější na borovicích rostoucích v prostředí chudém na vodu a živiny, což naznačuje pozitivní vztah mezi edafickým stresem a náchylností borovic k herbivorii. Herbivorie se značně snížila poté, co byla rostlinám přidána voda a hnojiva. Pozorovaná reakce můry byla v souladu se stress hypotézou, jež bude podrobně rozebrána v následující kapitole (Willis et al., 2008). Proto se můžeme domnívat, že mohou herbivoři taktéž preferovat potravu z určitého prostředí. Tudíž druh prostředí, ze kterého rostlina pochází, by mohl mít důležitý vliv na výběr herbivorů.

S myšlenkou, zdali nemá prostředí původu rostliny nějaký vliv na preference herbivorů, si vědci pohrávají už delší dobu. Byla formulována stress hypotéza (v originále Plant Stress Hypothesis), jež tvrdí, že environmentální stress snižuje celkovou rezistenci rostlin vůči herbivorii hmyzu. Stresem může být míněn vodní deficit, nerovnováha živin nebo škodliviny v prostředí (White, 1993). Stress hypotéza tedy tvrdí, že environmentální stress snižuje u rostlin rezistenci vůči herbivorům tím, že mění u rostliny alokaci zdrojů a chemii listů, tudíž mění chutnost rostliny (Joern & Mole, 2005). Růst ve stresovém prostředí mění fyziologii rostliny, jež se projevuje zvýšeným vodním deficitem a zvýšeným obsahem dusíku. Stresové prostředí přivodí chemickou změnu, která zlepšuje kvalitu listů pro hmyz. V konkrétním příkladě Louda & Collinge (1992), došlo u pozorovaného druhu řeřišnice (*Cardamine cordifolia*) ke zvýšení úrovně isoleucinu, rozpustných karbohydrátů a glukosinolátů. Toto zvýšení úrovně chemických látek nastalo jako odpověď na vodní deficit, který byl navozen odstřížením laterálních kořenů a oddenků. Zvýšení úrovně isoleucinu, rozpustných karbohydrátů a glukosinolátů by mělo obecně zvýšit chutnost rostliny pro herbivory.

Tradičně je u stress hypotézy předpoklad, že bude zvýšen výkon herbivorního hmyzu u rostlin s vodním deficitem. Po provedení meta analýzy však Huberty & Denno, (2004) zjistili informace, jež jsou v rozporu s předpoklady stress hypotézy. Ukázalo se, že jednotlivé potravní

guildy hmyzu reagují rozdílně. U fytofágního hmyzu byla pozorována snížená fitness na rostlinách s vodním deficitem. Fytofágní hmyz byl dále ještě rozdělen do subguild (floémový, xylémový, mezofylový hmyz a hmyz tvořící háčky). Fitness hmyzu krmícího se floémem a mezofylem byl obecně negativně ovlivněn, pokud živná rostlina měla zkušenost s vodním deficitem. U hmyzu živícího se z xylému a tvořících háček bylo též pozorováno nepříznivé ovlivnění. Autoři se domnívají, že důvodem neúspěchu fytofágního hmyzu je snížený turgor u rostlin, což limituje dostupnost dusíku. Fitness fytofágního hmyzu byl dobrý na rostlinách s přerušovaným stresem, ale špatný na rostlinách, na které působil stres dlouhodobě. Tudíž fytofágní hmyz může mít užitek z návalů vodního stresu (Huberty & Denno, 2004). Studie Cobb et al., (1997) zastává názor, že u herbivorů, kteří se živí na rostoucích pletivech je velmi nepravděpodobné, že budou pozitivně reagovat na rostliny rostoucí ve stresu. Důvodem je, že rostoucí rostlinná pletiva jsou typicky menší, když je rostlina ve stresu, tudíž poskytují méně zdrojů pro herbivory. Zvýšení rozpustného dusíku jako výsledek stresu pravděpodobně není pro tento druh herbivorů tolik důležitý, protože nový růst již obsahuje rozpustný dusík, který překračuje minimum požadované pro herbivory.

V případě studie Inbar et al., (2001) na rajčeti (*Lycopersicon esculentum*) nebylo pozorován žádný důkaz podporující stres hypotézu. Nejméně preferovali herbivoři rostliny s nedostatkem vody. Tento pokus naopak potvrzuje druhou hypotézu, jež je s herbivorií spojována a to vigor hypotéza (v originále Plant Vigor Hypothesis) jež zastává názor, že mnoho druhů herbivorů se krmí přednostně na vitálních rostlinách či rostlinných modulech. Termín vigor je v tomto smyslu chápán jako jakákoliv rostlina v populaci nebo jakýkoliv její modul, jako je na příklad list nebo výhonek, jež roste rapidně a nakonec dosáhne velké velikosti oproti průměrné rychlosti růstu a konečné velikosti dosažené v populaci rostlin či populaci modulů (Price, 1991). Dle této hypotézy herbivoři preferují nejvíce rychle rostoucí rostliny. U rychle rostoucích rostlin je nízký obsah chemických obranných látek ve srovnání s rostlinami pěstovanými ve stresových podmínkách, u nichž můžeme pozorovat zvýšený obsah fenolických a peroxidázových látek. Stejně jako u Plant Stress hypotézy i u Vigor hypotézy prokázala meta analýza rozdílnou reakci u rozdílných potravních guild hmyzu. Největší odezva na konzumaci vitálních rostlin nebo rostlinných modulů byla pozorována u hmyzu živícího se mízou. Jejich množství se po konzumaci vitálních rostlin zvýšila o 75 %. Pro tuto potravní guildu tudíž pravděpodobně není stres z vodního deficitu důležitým faktorem. Dalšími potravními guildami hmyzu, jejichž množství se zvýšilo po konzumaci vitálnějších rostlin, byl hmyz tvořící háčky a také hmyz, který provrtává listy a konzumuje jejich pletiva (Cornelissen et al., 2008).

Tímto však netvrdím, že jedna hypotéza eliminuje druhou či že bychom měly jednu přijmout a druhou zavrhnout. Obě jsou pravděpodobně relevantní ke dvěma koncům spektra interakce rostliny a herbivora. Někteří herbivoři budou preferovat rostliny rapidně rostoucí a dosahující velké velikosti, jiní průměrný typ rostlin a další zase rostliny rostoucí ve stresových podmínkách (Price, 1991).

1.2. Vliv druhu

Většina prací, jež zkoumá vliv prostředí na interakce rostlin a herbivorů ve svých experimentech používá pouze jeden druh (Joern & Mole, 2005, Inbar et al., 2001, Louda & Collinge, 1992). Práce, které v pokusech s herbivory pozorovali několik zástupců ze stejné čeledi, je minimum. Nalezneme na příklad studii Johnson et al., (2009), kde zkoumali vliv sexuality na evoluci rostlinných obranných znaků na několika zástupcích z čeledi *Onagraceae*. Dalším příkladem je studie Münzbergová & Skuhrovec, (2013), kde se ve svých pokusech zkoumali efekt habitatu a rostlinných obranných znaků a k tomu použily jako modelové organismy několikero zástupců z podčeledi *Carduoideae*. Jelikož je zkoumání vlivu prostředí na preference herbivora na vícero příbuzných druzích neprobádaným územím, je těžké říct, do jaké míry je vliv prostředí původu vyšší než vliv druhu či naopak.

1.3. Carduoideae

Naše pokusy byly prováděny na několika druzích z podčeledi *Carduoideae*. Někteří zástupci této čeledi *Asteraceae* jsou v Americe invazivní. Proto jsou často zmiňovány ve spojení s biologickou kontrolou invazivních rostlin (Gassmann & Louda, 2001). Z těchto důvodů jsou rostliny z této čeledi dobrými objekty k experimentům s herbivory a jsou proto s tímto tématem často spojovány (Maron & Combs, 2002). Jako příklad invazivního zástupce můžeme uvést pcháč rolní (*Cirsium arvense*), který byl zavlečen do Ameriky a je zde velmi invazivní (Pimentel et al., 2000). Kvůli invazivitě této podčeledi v Severní Americe byl dokonce do Severní Ameriky přivezen nosatec (*Rhinocyllus conicus*), který měl zaříditi biologickou kontrolu pro rod *Carduus* (Gassmann & Louda, 2001). *Carduoideae* jsou napadáni širokou škálou herbivorů. Na příklad na pcháči rolním (*Cirsium arvense*) interaguje hromadně několik druhů herbivorů. Druhy hmyzu, které způsobují poškození stonku, jsou běžnými druhy herbivorů vyskytujících se na pcháči rolním (*Cirsium arvense*). Dalším druhem poškození, často pozorovaném na tomto druhu, je folivorie (Abela-Hofbauerová et al., 2011). Mezi nejběžnější zástupce herbivorů napadajících tuto podčeď můžeme zařadit

především housenky zavíječe (*Anania perlucidalis*), zelenáčka (*Jordanita subsolana*) nebo zdobnička (*Pyroderces argyrogrammos*), dále pak larvy štítkonoše (*Cassida rubiginosa*). To jsou vše části specialisté, jež napadají podčeleď *Carduoideae*. Jako zástupce některých generalistů bychom mohli uvést plzáka (*Arion lusitanicus*) nebo kovolesskece (*Autographa gamma*) (Münzbergová & Skuhrovec, 2013).

1.4. Metody studia herbivorie

Ke studiu vlivu prostředí na preference herbivorů mohou být prováděny experimenty přímo v terénu (Cobb et al., 1997). Problémem experimentů v terénu je fakt, že netušíme, zdali je různá interakce dána výběrem herbivorů nebo tím, jací herbivoři se na dané lokalitě vyskytují. Proto je dobré provádět pokusy v kontrolovaných podmínkách.

Ke studiu preferencí herbivorů jsou často používány výběrové pokusy. Výběrové pokusy jsou prováděny nejčastěji v arénách. Jako arény mohou být použity větší plastové nádoby, skleněné arény či klece. V případě skleněné arény tvoří její dno mřížka tvaru obdélníku, ve které je upevněn rostlinný materiál (Grime et al., 1996). V případě použití klecí obdélníkového tvaru jsou tyto klece položeny přímo přes zkoumané rostliny (Joern & Mole, 2005). Dno klece může být vystláno pilinami, aby byl zajištěn snadnější pohyb po aréně pro herbivory (Massey et al., 2006).

Jako rostlinný materiál mohou být použity celé listy nebo pouze fragmenty konkrétních rozměrů. Pokud jsou listy větší než stanovené rozměry, jsou z nich vyřezány čtverce konkrétních rozměrů (z oblasti od středního žebra po okraj listu) (Grime et al., 1996). Vzorky zkoumaného rostlinného materiálu mohou být umístěny na Petriho misky, jejichž dna jsou vystlána navlhčeným filtračním papírem (Fritz et al., 2001). Tyto misky jsou pak umístěny do arény. Je dobré arény zvlhčit zejména pokud v experimentech používám jako herbivory měkkýše (Korth et al., 2006). V některých případech mohou jako aréna sloužit větší Petriho misky, na kterých jsou vzorky listů umístěny se stejnými rozestupy mezi sebou (Kaut et al., 2014). Listy jsou před započítáním pokusu a po jeho provedení váženy (Korth et al., 2006) nebo naskenovány (Massey et al., 2006). Délka pokusu může být buď předem stanovena, nebo se může sběr pokusu řídit podle množství snědeného rostlinného materiálu (Massey et al., 2006).

Ke studiu preference herbivorů jsou používáni většinou generalisté nebo omnivorní hmyz. Před započítáním studie jsou herbivoři na dietě (Grime et al., 1996). Doba, po kterou

jsou herbivoři necháni vyhladovět, se mezi jednotlivými studiemi liší (na příklad 12h (Massey et al., 2006), 2 h (Kautz et al., 2014)).

Ve své práci jsem použila klasický výběrový pokus. Jako arény byly použity plastové kruhové nádoby, které jsem po dobu experimentu zakryla síťovinou, abych zabránila úniku herbivorů z arény. Dno arény jsem vyplnila zahradním substrátem a do něj jsem umístila Eppendorfky naplněné vodou a do nich celé listy odebrané z rostlin. Jako herbivory jsem použila generalisty.

2. Cíle práce

Stanovištní podmínky by mohly mít velký vliv na výkon a preference herbivorů. Cílem této práce je prozkoumat, zdali rozdílné prostředí, ve kterém jsou rostliny pěstovány, ovlivní preference bezobratlých herbivorů. Tato práce se odlišuje tím, že v experimentech užívá několik rostlinných druhů pocházející z podčeledi *Carduoideae*. Tím je tato studie rozdílná od většiny ostatních studií studujících vliv prostředí na interakce rostlin a herbivorů, jelikož většina z nich zkoumá pouze jeden druh. Pozorováním několika druhů se mi rozšiřují možnosti, protože mohu zkoumat, zdali herbivoři zohlední ve svém výběru prostředí, ze kterého rostlina pochází (jeho úživnost a vlhkost) nebo též konkrétní druh rostliny. Mohu tedy prozkoumat zajímavou myšlenku, zdali bude pro herbivory významnějším faktorem prostředí či druh konzumované rostliny. Další faktor, který zde zohledním, bude, zdali má pro herbivory nějaký význam, s jakými druhy jimi konzumovaný jedinec sousedí.

V první části své práce se zabývám zahradními pokusy. Rostlinný materiál, který je dále testován, je vypěstován v rozdílných podmínkách. Celkem 6 druhů rostlin je pěstováno v substrátech lišících se úživností a také mají rozdílný zalévací režim. Cílem první části práce je zjistit, zdali na výběr potravy herbivory bude mít nějaký vliv úživnost substrátu, zalévací režim či druh rostliny, a který z těchto faktorů bude mít největší vliv.

V druhé části práce se zabývám pokusy s materiálem sesbíraným v terénu na odlišných lokalitách. Materiál je sebrán celkem z 8 lokalit, které lze rozdělit dvou typů (polní a luční). Cílem této části práce je zjistit, zdali budou herbivoři registrovat fakt, že rostliny, které konzumují, pocházejí z rozdílných lokalit a zdali bude možné pozorovat preferenci konkrétního typu lokality.

Hlavní otázky, na které se budu snažit nalézt odpovědi, jsou:

- 1) Může prostředí, ze kterého rostlina pochází, ovlivnit preference herbivorů?
- 2) Pokud tomu tak je, které faktory prostředí jsou důležitější a je jejich vliv možné vysvětlit stávajícími hypotézami (Plant Stress/Vigor Hypothesis)?
- 3) Je pro herbivory důležitější druh rostliny nebo prostředí, ze kterého pochází?
- 4) Lze rozdíly v preferencích herbivorů vysvětlit charakteristikami konzumovaných listů?
- 5) Budou mít na herbivorii nějaký vliv sousedící jedinci?

3. Metodika

3.1. Příprava kruhové arény

Ke zkoumání preferencí herbivorů byly provedeny klasické výběrové pokusy. K nabízcím experimentům byly připraveny kruhové arény, ve kterých byly experimenty následovně prováděny. K vytvoření arén byly použity plastové kruhové nádoby o průměru 50 cm a obvodu 140 cm. Dna těchto nádob pak byla naplněna do 1/3 hlínou. Dále do nich bylo do kruhu umístěno šestnáct Eppendorfků, které byly zanořeny do hlíny a následně naplněny vodou. Do těchto zapaštěných Eppendorfků pak byly umístěny v náhodném pořadí listy, které jsme odebrali z našich vypěstovaných rostlin (obrázek 1). Po umístění listů do nádobek s vodou byli přidáni do arén herbivoři. Následně byly arény přikryty síťovinou, aby herbivoři nemohli uniknout. Síťovina překrývala celý povrch nádoby a byla zajištěna gumou, aby se zamezilo jakémukoliv pokusu o únik herbivorů. Celkem bylo tímto způsobem vytvořeno 10 arén, kde každá z arén obsahovala stejný počet herbivorů (obrázek 2). Každé kolo pokusů mělo tedy 10 opakování.



Obr. 1. - Aréna pro výběrový pokus.



Obr. 2. - Arény přikryté síťovinou.

3.2. První sezóna

3.2.1. Zahraní pokus

Zdroj rostlinného materiálu

V květnu 2015 v experimentální zahradě v Průhonicích byly ze semínek vypěstovány čtyři druhy rostlin z podčeledi *Carduoideae* (*Carduus acanthoides*, *Centaurea stoebe*, *Arctium lappa*, *Cirsium vulgare*). Semínka byla nasbírána v terénu a pocházela všechna ze stejné populace. Semínka byla vysazena do květináčů do substrátu, který byl vytvořen smícháním hlíny a písku v poměru 1:1. Květináče byly zalévány jedenkrát denně a byly ponechány na venkovních záhonech. V tomto stavu byly květináče ponechány po dobu jednoho měsíce.

Podmínky prostředí

Po uplynutí 1 měsíce byly semenáčky přesazeny do květináčů, které již obsahovaly substrát lišící se svou úživností. Polovina druhů byla přesazena do květináčů s úživnou půdou a druhá polovina byla přesazena do květináčů s méně úživným substrátem (pro zjednodušení budeme dále používat označení chudá a úživná půda). U úživné půdy byly květináče naplněny ze 2/3 hlínou a zbylá 1/3 byla doplněna pískem. Květináče s chudou půdou byly naplněny z 9/10 pískem a zbylá 1/10 hlínou. Dále byly ještě druhy rozděleny do rozdílných zavlažovacích režimů. Jedny byly zalévány jedenkrát denně a druhé ob den. Celkově byly tedy druhy rozřazeny do 4 skupin. Skupina A byla pěstována v chudé půdě a zalévána denně. Skupina B byla pěstována v úživné půdě a zalévána denně. Skupina C byla pěstována v úživné půdě a zalévána každý druhý den. A poslední skupina D byla pěstována v úživné půdě a zalévána každý druhý den. Celkový přehled substrátů a zalévacích režimů naleznete v tabulce (tabulka 1). V těchto rozdílných režimech byly rostliny ponechány 2 měsíce.

	chudá půda	úživná půda
zaléváno denně	A	B
zaléváno ob den	C	D

Tab. 1. - Rozdělení rostlin podle úživnosti substrátu a zalévacího režimu.

Pokusná fáze

Všechny pokusy byly prováděny v námi vytvořených arénách. Do každé arény bylo do hlinitého podkladu umístěno dohromady 16 nádobek, které jsme potom naplnili vodou. V každé aréně byly do nádobek umístěny celkem čtyři listy od každého z vypěstovaných druhů (*Carduus acanthoides*, *Centaurea stoebe*, *Arctium lappa*, *Cirsium vulgare*) a každý z listů byl odebrán z rostliny, která byla pěstována v odlišném režimu (A, B, C, D). Poté byli doprostřed arény umístěni herbivoři (saranče *Chorthippus biguttulus* - nebo housenka *Spodoptera littoralis*) vždy po pěti jedincích na jednu arénu. Každé kolo pokusů mělo 10 opakování. V každém pokusu bylo tedy dohromady použito 160 listů a 50 kusů herbivorů. V první sezóně byla provedena celkem 2 kola pokusů, kdy v prvním kole byla jako bezobratlí herbivoři použita sarančata (*Chorthippus biguttulus*) a v druhém kole housenky blýskavky (*Spodoptera littoralis*). Sarančata byla nachytána v terénu a housenky byly obstarány z entomologického oddělení AV v Ruzyni (více v samostatné sekci herbivoři).

3. 3. Druhá sezóna

3.3.1. Zahradní rostlinný materiál

Skleníková fáze

Ve skleníku na experimentální zahradě v Průhonicích byla vysázena semena sedmi druhů zástupců z čeledi *Carduoideae*. Semena byla sesbírána v terénu a pocházejí z jedné populace. Celkem bylo vysazeno 8 druhů (*Arctium lappa*, *Arctium tomentosum*, *Carduus acanthoides*, *Centaurea jacea*, *Centaurea stoebe*, *Cirsium arvense*, *Cirsium vulgare*, *Echinops spaecephalus*). Semínka byla vyseta do substrátu, který byl namíchan z písku a hlíny v poměru 1:1. Poté byla semínka ponechána měsíc ve skleníku, dokud nevyrostly semenáčky.

Po uplynutí jednoho měsíce byly semenáčky přesazeny. Přesazeny byly všechny druhy kromě pcháče obecného (*Cirsium arvense*), jelikož semínka tohoto druhu ve skleníku vůbec nevyklíčila. Semenáčky zbylých sedmi druhů byly přesazeny do malých květináčů a dále již byly rozděleny do tří odlišných druhů substrátu. První byl namíchan nejvíce úživný substrát a to substrát písčito-hlinitý (substrát A), jež se skládal z 9/10 z hlíny a 1/10 byla doplněna pískem. U druhého substrátu (substrát B) byla hlína s pískem namíchaná v poměru 1:1. Tento substrát bude dále označován jako substrát prostřední. Poslední nejméně úživný substrát (substrát C) byl hlinito-písčité substrát, který se skládal z 9/10 z písku a zbylá 1/10 byla doplněna hlínou. (Seznam substrátů je pro větší přehled zobrazen v tabulce 2.) Celkem bylo

tedy přesazeno 30 semenáčků od každého z šesti zbývajících druhů a tyto semenáčky byly dále zasazeny po 10 do jednotlivých druhů substrátů (A, B, C). Výjimkou byl pouze druh *Echinops sphaerocephalus*, jelikož u tohoto druhu nevyklíčilo takové množství semenáčků, a proto bylo přesazeno pouze 15 semenáčků, jež byly po 5 též rozděleny do všech tří druhů substrátů. V tomto stavu byly semenáčky ponechány ve skleníku další měsíc, aby vyrostly.

označení	substrát	poměr hlíny	poměr písku
A	píščito-hlinitý	9/10	1/10
B	prostřední	1/2	1/2
C	hlinito-píščitý	1/10	9/10

Tab. 2. - Seznam substrátů a jejich skladba.

Zahradní fáze

Po uplynutí dalšího měsíce byly rostliny opět přesazeny. Byly přesazeny do květináčů o obsah 0,5l. Dno těchto květináčů bylo vystláno síťovinou, aby se zabránilo případné ztrátě substrátu z květináče, která hrozila zvláště u hlinito-píščitých substrátů. Květináče byly naplněny opět všemi třemi variantami substrátů (A, B, C). Všechny rostliny ze skleníku byly přesazeny do těchto větších květináčů. Druhy byly přesazeny do stejných substrátů, ve kterých byly předtím pěstovány, tedy ze substrátu A opět do substrátu A stejně pak i substráty B a C. Tyto květináče byly umístěny na experimentální zahradu v Průhonicích.

Po uplynutí dalšího měsíce, kdy již byly rostliny dobře uchyceny po přesazení, byly ještě květináče rozděleny do dvou zalévacích režimů. V prvním režimu, který značíme jako režim zalévaný, byly rostliny zalévány jedenkrát za den. (V datech je zalévaný režim označen číslicí 1, tudíž rostliny, u nichž je označení A1, B1 a C1, pochází ze zalévaného režimu.) Druhá polovina květináčů byla zalévána jen tehdy, když došlo k úplnému vyschnutí. Tento režim značíme jako nezalévaný a je označen v datech číslicí 2 (tudíž rostliny značeny A2, B2 a C2 spadají do tohoto zalévacího režimu). Květináče z obou zalévacích režimů byly pak dále ještě opatřeny vlhkostními čidly. V tomto stavu byly rostliny ponechány čtyři měsíce, aby bylo jisté, že se projeví účinek zalévacích režimů.

označení	substrát	zálivka
A1	píščito-hlinitý	ano

A2	písčito-hlinitý	ne
B1	prostřední	ano
B2	prostřední	ne
C1	hlinito-písčitý	ano
C2	hlinito-písčitý	ne

Tab. 3. - Seznam substrátů a zálivky.

Pokusná fáze

Celkem bylo provedeno 6 pokusů s materiálem vypěstovaným v experimentální zahradě v Průhonicích. V každém pokusu byly použity listy od 3 vypěstovaných druhů. V každém pokusu byl vždy zastoupen jeden druh lopuchu, chrpy a dále bodlák nebo pcháč. V prvním zastoupení byly použity listy druhů *Arctium lappa*, *Carduus acanthoides* a *Centaurea jacea* (dále budeme označovat skupina 1). V druhé skupině pak byly použity druhy *Arctium tomentosum*, *Centaurea stoebe* a *Cirsium vulgare* (dále označováno jako skupina 2). Ze šesti provedených pokusů byly provedeny 3, kde byly použity listy zástupců ze skupiny 1, a ve zbylých třech byl naopak použit materiál pocházející z druhů ze skupiny 2. V každé aréně bylo použito celkem 18 listů, tedy 6 listů od každého druhu (vždy 1 list z každého prostředí A1, A2, B1, B2, C1, C2). Opět bylo použito na jedno kolo pokusů 10 arén, tedy každý z pokusů měl 10 opakování. Na jeden celý pokus bylo použito celkem 180 listů. Ve všech 6 pokusech bylo tedy dohromady použito 1080 listů. Pro každou skupinu byl proveden 1 pokus s každým ze 3 používaných druhů bezobratlých herbivorů, tedy saranče (*Locusta migratoria*, plzák (*Arion lusitanicus*) a housenka (*Spodoptera littoralis*). Pokusy s plzáky a housenkami trvaly 2 dny. Pokusy se sarančaty trvaly 3 dny. Celkový přehled zahradních pokusů naleznete v tabulce (tabulka 4). V tabulce jsou také uvedeny počty kusů herbivorů na 1 arénu. U pokusů s housenkami bylo nejdříve použito menší množství, ale jelikož po uplynutí jednoho dne nebyla pozorovaná velká konzumace rostlinného materiálu, byli dále přidáni další herbivoři.

pokus	materiál	herbivor	počet	doba trvání
5	skupina 1	saranče	5 kusů	3 dny
6	skupina 2	plzák	4 kusy	2 dny
7	skupina 1	plzák	4 kusy	2 dny
8	skupina 2	saranče	4 kusy	3 dny

9	skupina 1	housenka	5-10 kusů	2 dny
10	skupina 2	housenka	10-15 kusů	2 dny

Tab. 4. - Seznam zahradních experimentů.

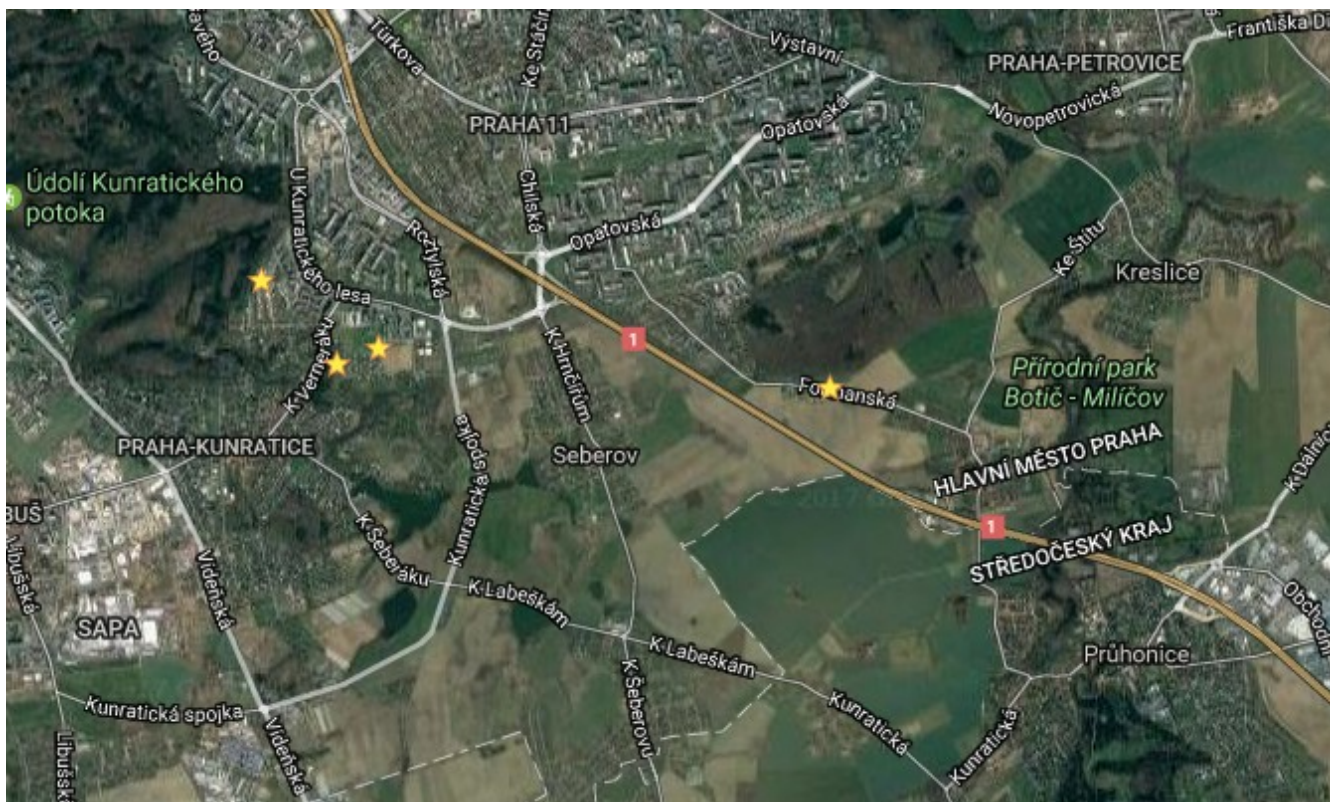
3.3.2. Terénní rostlinný materiál

Výběr druhů a lokalit

Pro druhou část pokusu byl materiál přivezen z terénu. Materiál byl sesbírán na osmi odlišných lokalitách rozlišených na pole a louky. Čtyři z těchto osmi lokalit byly polní a čtyři luční. Luční lokality se nacházely v okolí Kunratic v Praze (Obr. 4). Polní lokality byly naopak zvoleny ve Středočeském kraji poblíž města Stará Boleslav (mezi vesnicemi Lhota, Hlavenec, Kostelní a Sudovo Hlavno) (Obr. 3). Na těchto lokalitách byly sesbírány listy ze dvou druhů z čeledi Carduoideade a to konkrétně *Arctium tomentosum* a *Cirsium arvense*. Listy byly vždy sbírány z jednoho jedince od každého druhu. Jedinci obou druhů rostlin byli od sebe vzdáleni maximálně jeden metr.



Obr. 3. - Mapa polních lokality sběru terénního materiálu. Hvězdičky označují konkrétní lokality, ze kterých byl nasbíráán rostlinný materiál.



Obr. 4. - **Mapa lučních lokalit sběru terénního materiálu.** Hvězdičky označují konkrétní lokality, ze kterých byl nasbírán rostlinný materiál.

Sběr materiálu

Z každé rostliny z vybraných lokalit bylo odebráno vždy 10 listů od obou druhů. Celkem tedy 20 listů z jedné lokality. V případě polních i lučních lokalit byly listy sesbírány den před založením pokusu, protože pokusy byly prováděny v Průhonicích a doprava ve stejný den jako zakládání pokusu by byla časově náročná. Listy byly při převozu umístěny do termosek s ledem. Po převozu byly listy umístěny do lednice, aby byly v chladu přes noc.

Pokusná fáze

Pokusy s terénním materiálem probíhaly stejně jako v případě materiálu vypěstovaného v experimentální zahradě v Průhonicích. Opět bylo vytvořeno dohromady 10 arén na jedno kolo pokusů. V každé aréně byly zastoupeny listy obou druhů (*Arctium tomentosum*, *Cirsium arvense*) ze všech osmi lokalit (4 polních a 4 lučních). V každé aréně bylo tedy celkem 16 listů (8 lopuchů a 8 pcháčů). Při jednom kole pokusu bylo použito deset arén, tudíž měl pokus deset opakování a jeden pokus tedy obsahoval celkem 160 listů. U

těchto pokusů byli jako bezobratlí herbivoři použiti plzáci a sarančata. Celkem byly provedeny čtyři pokusy s materiálem pořízeným v terénu. Dva pokusy se sarančaty a dva s plzáky. Celkový přehled terénních experimentů s druhy *Arctium tomentosum* a *Cirsium arvense*, dobu trvání pokusů, seznam herbivorů a jejich počet na arénu naleznete v tabulce (tabulka 5).

pokus	herbivor	počet	doba trvání
1	plzák	5 kusů	2 dny
2	saranče	10 kusů	2 dny
3	saranče	9 kusů	2 dny
4	plzák	3 kusy	2 dny

Tab. 5. - Seznam pokusů s terénním materiálem.

Zpracování výsledků

Jak u zahradních pokusů, tak u pokusů s materiálem nasbíraným v terénu, byly listy před pokusem naskenovány. Totéž bylo provedeno i po ukončení pokusu abychom mohly podle scanů určit biomasu zkonsumovanou herbivory. Postup bude podrobněji popsán v následujících kapitolách.

3.4. Herbivoři

3.4.1. První sezóna

V první sezóně byly pro výběrové pokusy použity 2 druhy bezobratlých herbivorů a to saranče měnlivá (*Chorthippus biguttulus*) a housenka blýskavky (*Spodoptera littoralis*). Informace o péči o housenky byla shodná v obou sezónách a je podrobně rozebrána v podkapitole u druhé sezóny.

Saranče

Sarančata byla nachytána v terénu pomocí entomologické sítě a po chycení do sítě byla přemístěna do přepravky. Všechna sarančata byla nachytána v sadu a zahradách Akademie věd v Ruzyni. Sarančata byla krmena 1x denně rostlinami pocházejícími z čeledi *Poaceae*. Přesně 1 den před založením pokusu nebyla sarančata krmena a byla nechána vyhladovět, aby výběrový pokus dobře probíhal.

3.4.2. Druhá sezóna

K pokusům prováděným v druhé sezóně byly použity celkem 3 druhy bezobratlých herbivorů. Konkrétně saranče stěhovavé (*Locusta migratoria*), plzák španělský (*Arion lusitanicus*) a housenka blýskavky (*Spodoptera littoralis*).

Saranče

Sarančata byla objednána z internetového obchodu (<https://www.broukarna.cz>). Objednáno bylo vždy balení obsahující 100 kusů sarančat o velikosti 1 -2 cm. Celkem byly objednány dvě várky po 100 kusech. Jedna byla použita pro zahradní pokusy a druhá pro pokusy s materiálem přivezeným z terénu. Po obdržení objednávky byla sarančata přemístěna z přepravného boxu do prostorné přepravky, jejíž horní stěna umožňuje větrání, aby nedocházelo k zapaření. Zde byla sarančata nechána po dobu 14 dnů, aby ještě trochu povyroستla. Sarančata byla krmena 1x denně (vždy ráno) čerstvě natrhanými rostlinami, aby měla sarančata zdroj vody. Listy rostlin používaných ke krmení sarančat pocházely opět z odlišné čeledi než rostliny používané v pokusech (tedy *Carduoideae*), aby si sarančata nemohla vytvořit preference a při pokusech došlo k jejich prvnímu setkání s touto čeledí. Nejčastěji byla sarančata krmena rostlinami z čeledi lipnicovitých (*Poaceae*). Dále měla sarančata v přepravce k dispozici 2 mističky s ovesnými vločkami jako další zdroj výživy. Přepravka se sarančaty byla přes den umístěna na čerstvém vzduchu na dobře osvětleném místě. Uvnitř přepravky byly z krabiček od vajec vyrobeny provizorní přístřešky a tím se vytvořil úkryt pro sarančata. Dále byly do přepravky ještě umístěny větvičky a stébla trav, aby se zvýšila členitost prostoru obývaného sarančaty. Před tím, než byla sarančata použita na pokus, jim byla nastolena dieta. Sarančata nebyla krmena přesně 2 dny před započítáním pokusu. V den založení pokusu byla sarančata rozdělena do menších krabiček po 10 kusech a převezena do Průhonic. Zde byla přemístěna z převozných krabiček do arén, kde pokus probíhal. Po dobu průběhu pokusů byly arény uloženy uvnitř budovy AV v Průhonicích na klimatizované chodbě, takže i po dobu pokusu byla sarančata v příznivých podmínkách.

Plzák

Plzáci byli jako jediní z použitých herbivorů v druhé sezóně nasbíráni v terénu. Vždy večer před založením pokusu byli plzáci nasbíráni. Sběr se odehrával v pozdních večerních hodinách po dešti v okolí studánek a potůčků v Kunratickém lese. Zde byli plzáci nasbíráni a umístěni do prostorných plastových krabiček s otvory ve víčku kvůli vzduchu a vyplněnými mechem. Před použitím plzáků na pokusy byl hliněný podklad arén pořádně provlhčen, aby

byl umožněn lepší pohyb plzáků po aréně. Na 1 arénu bylo použito 0,5l až 1l vody, aby bylo jisté, že je hlína řádně provlhčená.

Housenka

Housenky blýskavky jsem získala od entomologického oddělení Akademie věd v Ruzyni. Zde byly housenky vychovány v klimaboxech dokud nedorostly délky okolo 3 cm. Poté byly přendány do plastových krabiček, kam jim bylo na zdi krabiček nalepeno krmení, poté co bylo rozmícháno ve vodě, dokud nezískalo kašovitou strukturu. Použila jsem standardně používané krmení (Stonefly Heliothis Diet, firma Ward's Science, USA). Pro bližší informace <https://www.wardsci.com/store/product/8889057/stonefly-heliothis-diet>. Housenky byly chovány v teplotách okolo 23°C. Den před započítím pokusu byly nechány housenky opět vyhladovět, abychom se ujistili, že při pokusu budou mít co největší chuť k jídlu.

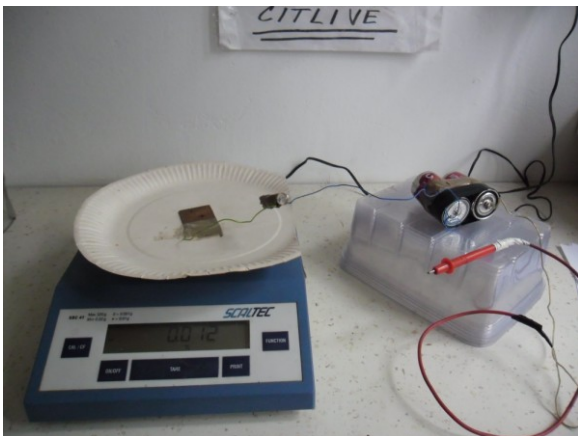
3.5. Zpracování dat

3.5.1. Měření plochy listů

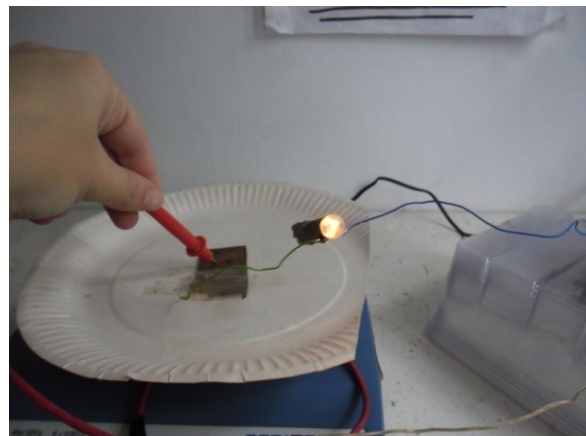
Poté, co byly listy odebrány z našich vypěstovaných druhů nebo přivezeny z terénu, byly všechny listy naskenovány (plocha 1) a poté byly umístěny do nádobek v našich kruhových arénách. Po provedení experimentů a následném sklizení pokusu (po uplynutí rozdílné doby podle použitého herbivora) byly listy vyjmuty z nádobek, očištěny od hlíny a nečistot a naskenovány podruhé (plocha 2). Pořízené scany byly dále zpracovány v programu Image J. Tento program byl získán z oficiálních internetových stránek (<http://imagej.net/>), kde je volně zdarma ke stažení. Nejdříve jsme v programu (v sekci Set Scale) nastavili měřítko podle milimetrového papíru, který jsme používali jako měřítko při skenování, aby naše naměřené plochy odpovídaly jejich skutečné velikosti. Obrázky scanů (ve formátu JPEG) jsme nahráli do programu Image J. Dále jsme je upravili (sekce Binary - Make Binary) tak, aby je byl program schopen zpracovat. Po upravení již program spolehlivě změřil plochy listů (Analyze particles). Pomocí tohoto programu byly ze scanů naměřeny plochy listů v mm². Po získání údajů o velikostech ploch listů jsme získaly hodnotu snědené plochy listů (po odečtení plochy 1 od plochy 2). S naměřenými plochami jsem dále pracovala v programu Microsoft Excel.

3.5.2. Měření vlastností druhu

K popisu vlastností druhu byla naměřena tuhost listů a jejich specifická listová ploch (SLA). Pro naměření SLA byla po každém pokusu použitá biomasa uchována a nasušena. Následně byly usušené listy zváženy na analytických váhách. SLA byla vypočítána jako podíl plochy listů (plocha 2) a její hmotnosti. Tuhost listů byla změřena pomocí přístroje (Obr. 5 a 6), stejným způsobem měřili tuhost listů i Münzbergová & Skuhrovec, (2013). List byl položen do prostředku podložky na měděnou destičku. Poté na něj bylo tlačeno bodcem, který při kontaktu s destičkou rozsvítil žárovku (Obr. 6). Při rozsvícení žárovky byla zapsána hodnota, kterou v tu chvíli ukazovaly váhy (naměřeno v gramech). Tuhost listů se tedy u jednotlivých listů lišila podle síly tlaku, který jsem musela vyvinout, abych dosáhla rozsvícení žárovky. Tímto způsobem byla tuhost změřena pro listy rostlin, které byly použity v zahradních pokusech. Byly naměřeny hodnoty tuhosti vždy pro tři listy od každého druhu z každého treatmentu.



Obr. 5. - Přístroj na měření tuhosti.



Obr. 6. - Rozsvícení žárovky při kontaktu s měděnou destičkou.

3.5.3. Příprava dat

Po naměření ploch listů ze scanů byla od plochy listů na začátku pokusu (plocha 1) odečtena plocha listů po ukončení pokusu (plocha 2). Z výsledné hodnoty byl vypočítán procentuální úbytek plochy listů. Abych zjistila, zdali mělo na herbivorii nějaký vliv pořadí v jakém byly jednotlivé druhy v aréně rozmístěny, byl ještě přidán vliv sousedících rostlin. Ten byl vypočítán jako průměr snědené plochy dvou okolních rostlin. Data o prostředí byla rozdělena na samostatný vliv substrátu (A, B, C) a zálivky (zalévané, nezalévané).

3.6. Analýza dat

Všechna data byla zpracována v programu R (verze 3.2.3).

3.6.1. Výběrové pokusy

Pro zjištění, zdali herbivoři upřednostňovali konkrétní listy pro svou konzumaci, byla data zpracována pomocí mixed effects model, kde byl jako náhodný faktor použita aréna.

Podíl snědené plochy herbivorem byl použit jako závislá proměnná a jako proměnné nezávislé byly použity u zahradních pokusů substrát, zálivka, druh rostliny, druh herbivora a vliv sousedících rostlin a u pokusů terénních lokalita, druh rostliny a vliv sousedících rostlin a jejich interakce. Data o podílu snědené plochy z první sezóny však neměla normální rozdělení, tudíž bylo nutné je transformovat. Data jsem tedy zlogaritmovala a poté již data splňovala požadavky nutné pro provedení analýzy. Data o podílu snědené plochy z druhé sezóny měla gamma rozdělení. Do modelu jsem dále ještě přidala SLA a tuhost listů abych zjistila, zda jejich přítomnost může vysvětlit mezidruhovou nebo vnitrodruhovou variabilitu. Opět byla jako náhodný faktor použita aréna.

U signifikantně průkazných výsledků bylo dále ještě provedeno párové porovnání, abych zjistila, které hladiny faktoru se od sebe průkazně liší a které ne. Výsledky párového porovnání byly znázorněny do grafů pomocí písmen, která označovala signifikantně se lišící hladiny faktoru. I u párového porovnání byla použita aréna jako náhodný faktor.

3.6.2. SLA a tuhost

Pro zpracování dat o SLA byl použit F test (ANOVA). Data neměla normální rozdělení, a proto jsem použila logaritmickou transformaci. Po zlogaritmování dat o SLA již data měla normální rozdělení a odpovídala požadavkům, které musí data splňovat, aby bylo možné provést test. Jako závislá proměnná byla v tomto případě použita SLA a jako nezávislé proměnné druh rostliny, substrát a zálivka. Signifikantně průkazné výsledky byly dále opět ještě otestovány párovým porovnáním, abych zjistila, které hladiny faktoru se signifikantně liší.

Stejným způsobem byla zpracována i data o tuhosti. Ta měla normální rozdělení. Nebylo tedy nutné je nijak transformovat. U signifikantních výsledků jsem opět provedla párové porovnání.

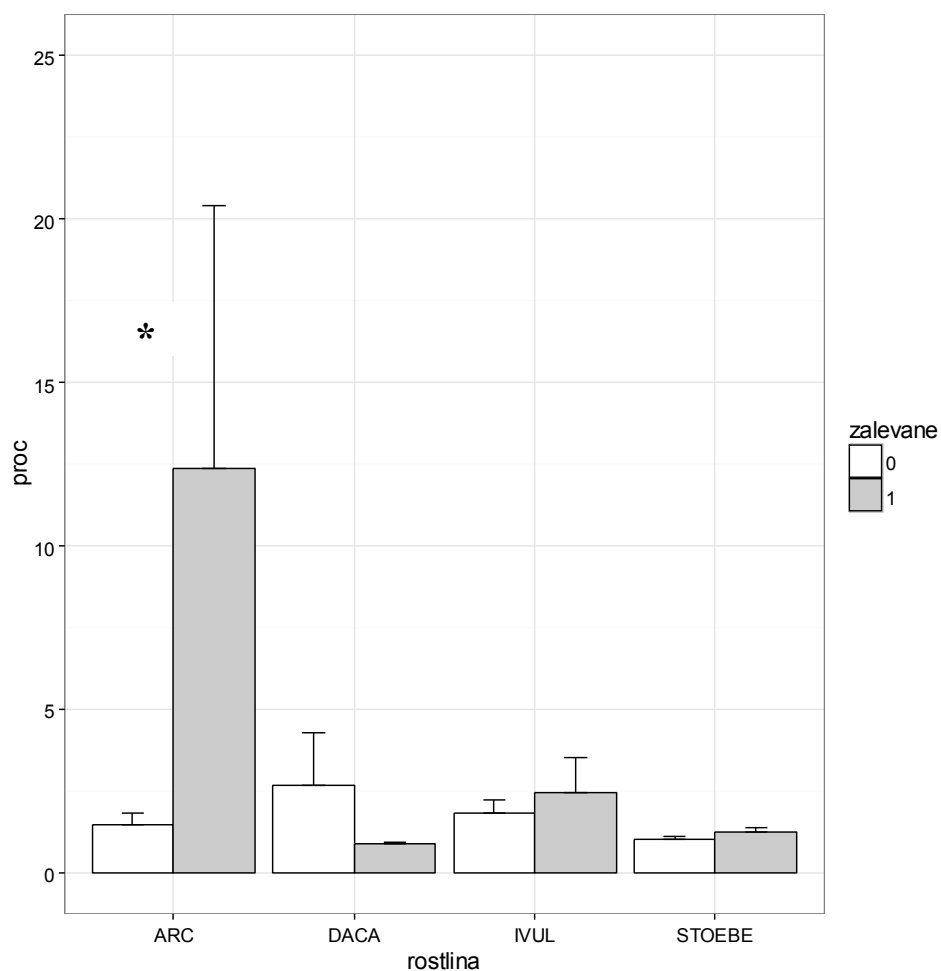
4. Výsledky

Vliv sousedících rostlin na preference herbivorů

Sousedící rostliny neměli vliv na preference herbivorů ($p > 0,209$ ve všech případech). Vliv sousedících rostlin byl testován jako průměr snědené plochy dvou sousedících rostlin. Jeho vliv nebyl průkazný v zahradních pokusech ani v pokusech s materiálem nasbíraným v terénu. To ukazuje, že herbivoři se po aréně volně pohybovali a listy ke své konzumaci vybírali. Herbivoři tedy nezůstali jen v jedné části arény, kde by konzumovali listy nacházející se blízko sebe, ale arénu pravděpodobně nejdříve prozkoumali a až poté si zvolili potravu ke konzumaci. Pořadí, ve kterém byly listy rostlin v aréně umístěny, tedy nijak rozhodování herbivorů neovlivnilo.

4.1. První sezóna

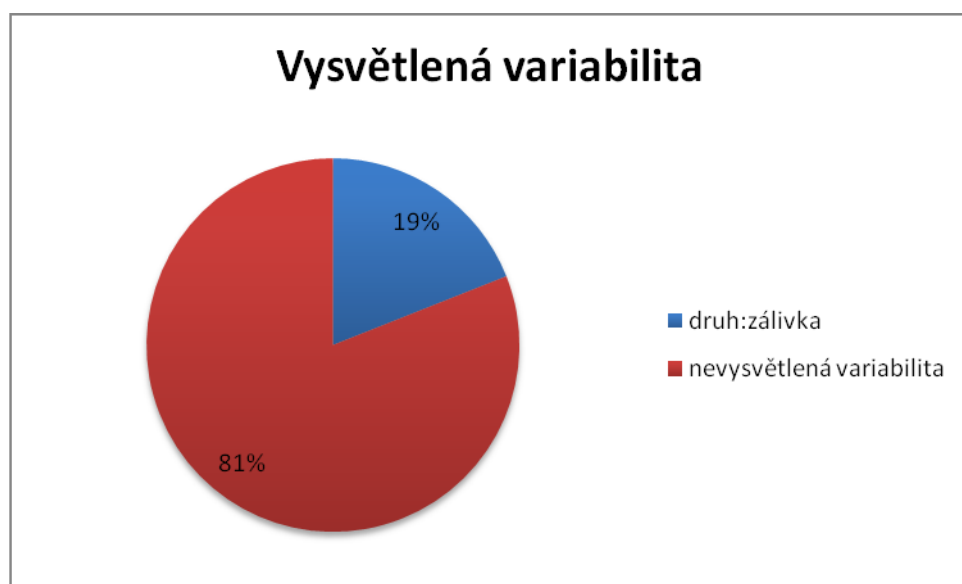
Výsledky analýzy neprokázaly signifikantní vliv žádné samostatné proměnné (tabulka 4.1.). Podle těchto výsledků neměl na preference herbivorů vliv substrát lišící se úživností, zálivka, druh rostliny ani druh bezobratlého herbivora. Signifikantně vyšla pouze interakce zálivky a druhu rostliny (tabulka 4.1, obrázek 4.1.). Nejvíce preferovanou rostlinou byl lopuch (*Arctium lappa*), který byl často zaléváný. Interakce druhu rostliny a zálivky vysvětlila 19% variability. Většina variability zůstává nevysvětlena (obrázek 4.2.).



Obr. 4.1. - Vliv interakce druhu a zálivky na preference herbivorů. Sloupce značí průměr podílu snědené plochy listu a anténky značí střední chybu průměru. Tmavé sloupce značí zalévané druhy (denně) a světlé sloupce druhy nezalévané (zalévané každý druhý den). Na ose x je druh rostliny a na ose y podíl snědené plochy listu. Průkazné výsledky párového porovnání mezi zalévanou a nezalévanou rostlinou v rámci druhu jsou označeny hvězdičkou.

	Df	Chisq	Pr(>Chisq)
druh	3	7,3149	0,063
substrát	1	0,0326	0,857
zálivka	1	0,7496	0,387
zvíře	1	0,0081	0,928
druh: substrát	3	4,4164	0,220
druh: zálivka	3	15,232	0,002
bohaté: zálivka	1	1,4685	0,226
druh: zvíře	3	3,7008	0,296
substrát: zvíře	1	0,1122	0,738
zálivka: zvíře	1	2,5533	0,110
druh: substrát: zálivka	3	5,9763	0,113
druh: substrát: zvíře	3	2,8946	0,408
druh: zálivka: zvíře	3	4,5909	0,204
substrát: zálivka: zvíře	1	0,6447	0,422
druh: substrát: zálivka: zvíře	4	1,6492	0,790

Tab. 4.1. - Výsledky F testu (ANOVA). Tučně jsou vyznačeny signifikantní výsledky. Df - stupně volnosti, P hodnota je zaokrouhlena na 3 desetinná místa, jako náhodný faktor byla použita aréna



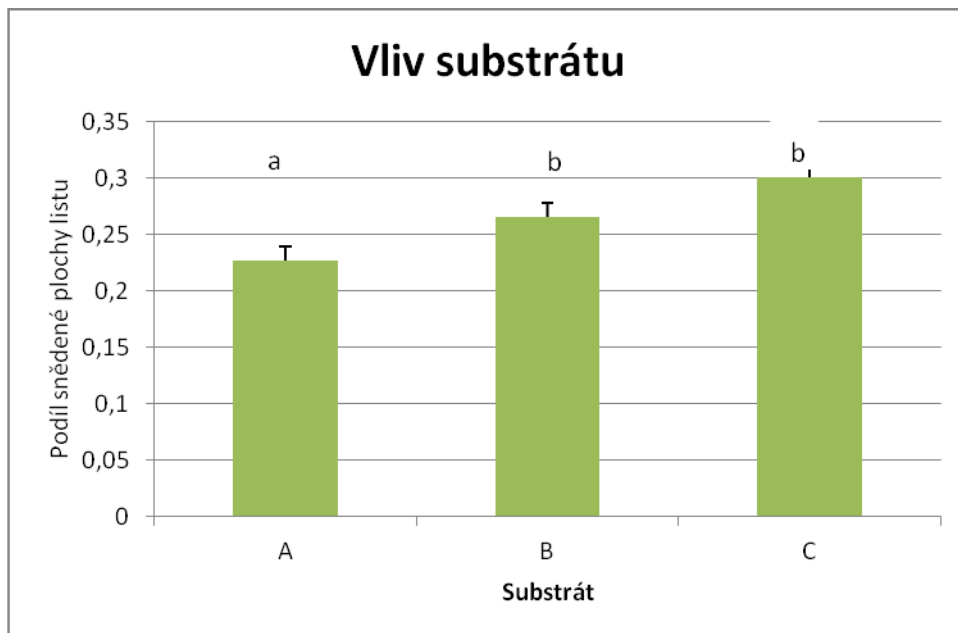
Obr. 4.2. - Vysvětlená variabilita. Modře je znázorněno procento variability vysvětlené vlivem interakce druhu a zálivky.

4.2. Druhá sezóna

4.2.1. Zahradní experiment

Vliv substrátu na preference herbivorů

Podle výsledků analýzy byl vliv substrátu na preference bezobratlých herbivorů signifikantní (obrázek 4.3., tabulka 4.2.). Rozdíly v úživnosti jednotlivých substrátů měly vliv na konzumaci listů rostlin v těchto substrátech vypěstovaných. Párové porovnání prokázalo signifikantní rozdíly mezi substrátem A a zbylými dvěma variantami. Bezobratlí herbivoři konzumovali více listy pocházejících z u rostlin vypěstovaných v méně úživných substrátech (substrát B a C). Nejméně preferované byly listy pocházející z rostlin vypěstovaných v úživném substrátu (substrát A).

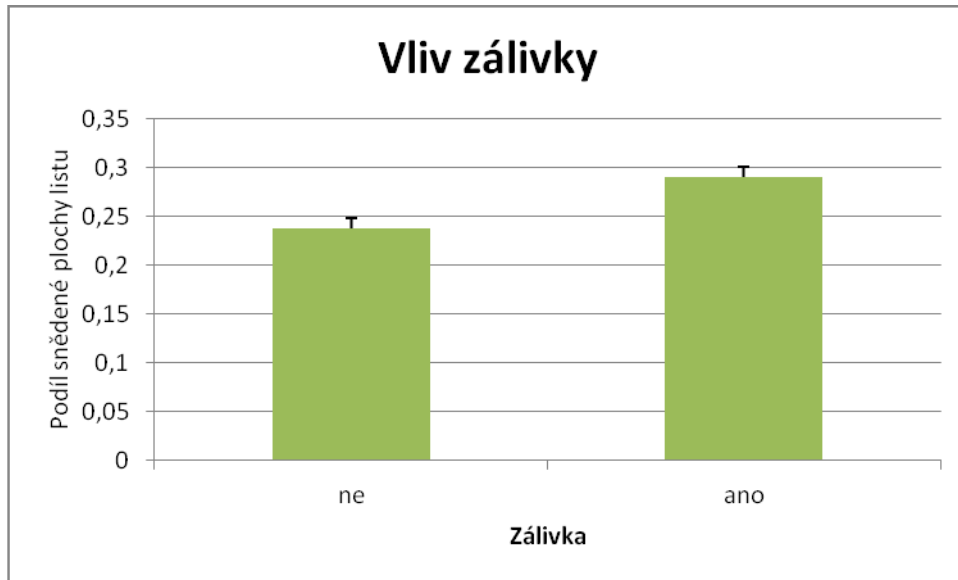


Obr. 4.3. - Vliv substrátu na preference herbivorů. Jednotlivá písmena nad sloupci znázorňují signifikantní rozdíly mezi substráty. Sloupce značí průměr podílu snědené plochy listů a anténky značí střední chybu průměru. Na ose x jsou vyznačeny jednotlivé varianty substrátu a na ose y podíl snědené plochy listů. Substráty jsou označeny písmeny podle úživnosti (A - úživný, B - středně úživný, C - neúživný)

Vliv záливky na preference herbivorů

Vliv záливky na konzumaci listů bezobratlými herbivory byl průkazný (tabulka 4.2.). Herbivoři při výběru své potravy rozlišovali mezi listy pocházejícími z rostlin často zalévaných (denně) a listy pocházejícími z rostlin nezalévaných (ponechaných do úplného

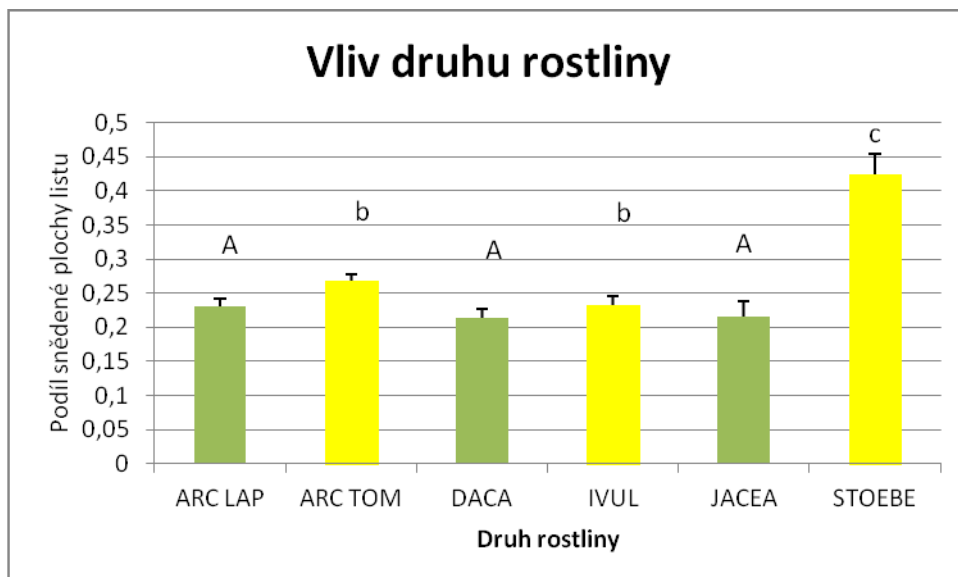
vyschnutí). Herbivoři z těchto dvou variant preferovali rostliny více zalévané oproti rostlinám nezalévaným (obrázek 4.4.).



Obr. 4.4. - Vliv zálivky na preferenci herbivorů. Sloupce značí průměr podílu snědené plochy listů a anténky značí střední chybu průměru. Na ose x jsou vyznačeny jednotlivé treatmenty a na ose y podíl snědené plochy listů.

Vliv druhu rostliny na preference herbivorů

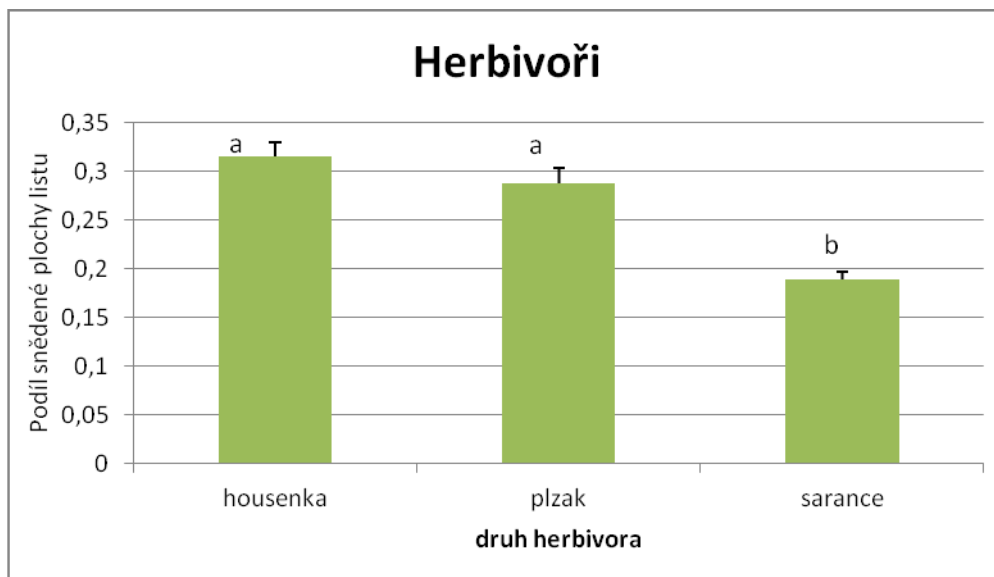
Signifikantní pro preference bezobratlých herbivorů byl i vliv druhu rostliny (tabulka 4.2.). Nejvíce konzumovaným druhem byla *Centaurea stoebe* (obrázek 4.5). Jelikož byly rostliny při experimentální fázi rozděleny do dvou skupin (skupina 1 - *Arctium lappa*, *Carduus acanthoides*, *Centaurea jacea* a skupina 2 - *Arctium tomentosum*, *Cirsium vulgare*, *Centaurea stoebe*) a v těchto skupinách byly druhy rozřazeny do arén, bylo párové porovnání provedeno zvlášť pro skupinu 1 a skupinu 2. Průkazně se od sebe lišily pouze druhy skupiny 2. Konkrétně se druhy *Arctium tomentosum* a *Cirsium vulgare* průkazně lišily od *Centaurea stoebe*.



Obr. 4.5. - **Vliv druhu rostliny na preference herbivorů.** Druhy jsou barevně odlišeny (žlutě - skupina 2 a zeleně - skupina 1) do dvou skupin, ve kterých byly pospolu v arénách. Písmena označují druhy, které se od sebe významně lišily. Velikost těchto písmen je též odlišná pro jednotlivé skupiny. Sloupce značí průměr podílu snědené plochy listů a anténky značí střední chybu průměru. Na ose x jsou vyznačeny jednotlivé druhy rostlin a na ose y podíl snědené plochy listů.

Vliv druhu herbivora

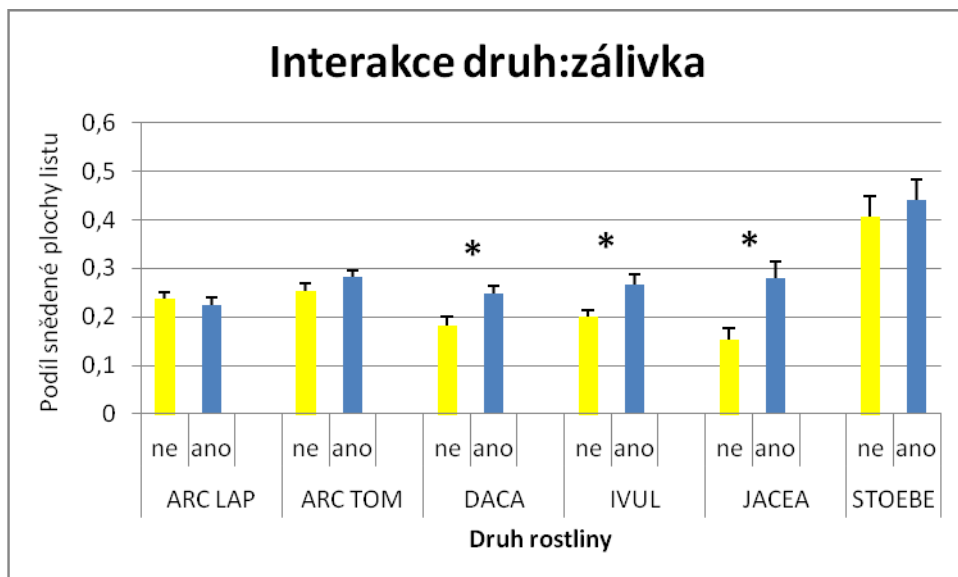
Signifikantní byl taktéž vliv druhu herbivora (tabulka 4.2.). Jednotlivé druhy bezobratlých herbivorů (housenka, plzák, saranče) použité ve výběrovém pokusu se lišily ve své konzumaci (obrázek 4.5.). Nejméně listové plochy konzumovala sarančata. Dále bylo opět provedeno párové porovnání, které prokázalo významné rozdíly v množství konzumované plochy listů mezi sarančaty a ostatními dvěma druhy herbivorů (plzák, housenka).



Obr 4.6. - Podíl snědené plochy jednotlivými druhy herbivorů. Písmenka nad boxy znázorňují výsledky párového porovnání. Sloupce značí průměr podílu snědené plochy listů a anténky značí střední chybu průměru. Na ose x jsou vyznačeny jednotlivé druhy herbivorů a na ose y podíl snědené plochy listů.

Interakce druh:zálivka

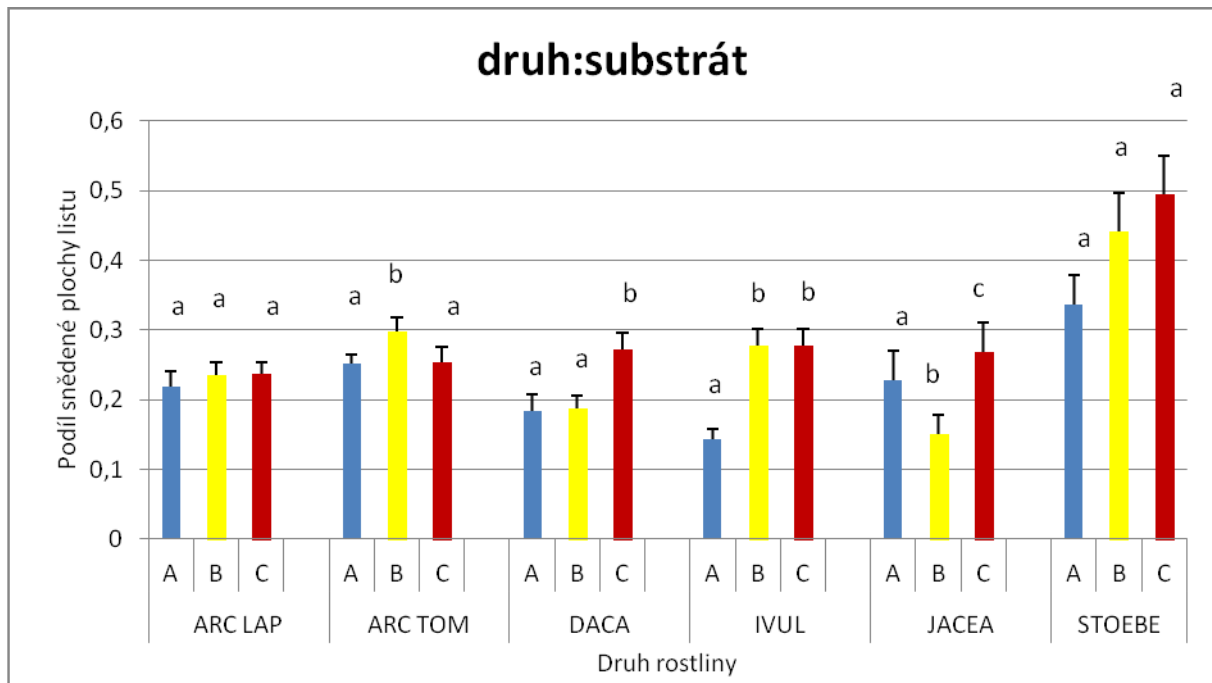
Kromě samostatného vlivu substrátu, zálivky, druhu rostliny a druhu herbivora na preference herbivorů, vyšli signifikantně i některé interakce mezi jednotlivými proměnnými (tabulka 4.2.). Průkazný vliv vyšel u interakce druhu a zálivky. Nejvíce preferovaným druhem je jednoznačně *Centaurea stoebe* (její zalévané i nezalévané listy). U pěti druhů herbivorů preferovali rostliny často zalévané v porovnání s rostlinami nezalévanými. Signifikantní rozdíly mezi odlišnými treatmenty pozorujeme u druhu *Carduus acanthoides*, *Cirsium vulgare* a *Centaurea jacea*. *Arctium lappa* je jediný druh, u kterého herbivoři preferovali nezalévané listy oproti listům zalévaným, avšak rozdíly jsou neprůkazné (obrázek 4.7.).



Obr. 4.7. - Vliv interakce druhu rostliny a zálivky. Sloupce značí průměr podílu snědené plochy listů a anténky značí střední chybu průměru. Žluté sloupce značí rostliny nezalévané a modré sloupce rostliny zalévané. Na ose x jsou vyznačeny jednotlivé druhy rostlin a na ose y podíl snědené plochy listů. Hvězdičky nad sloupci značí signifikantní výsledek párového porovnání mezi zalévanou a nezalévanou rostlinou v rámci druhu.

Interakce druh:substrát

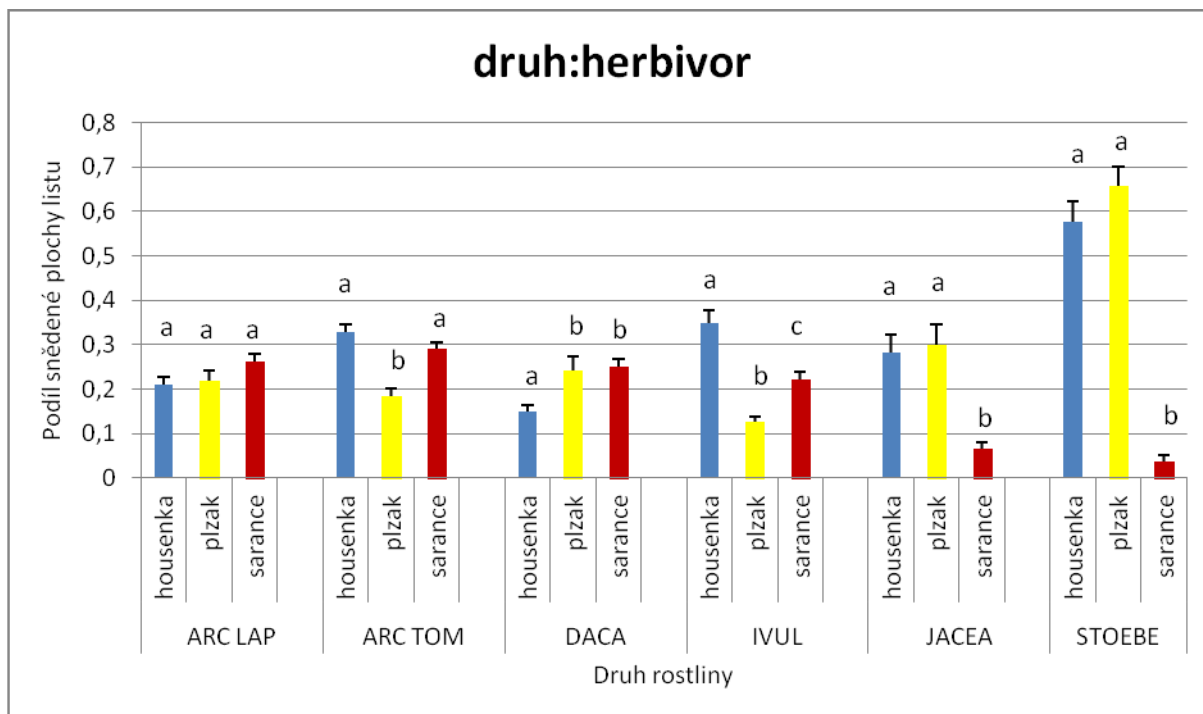
Další signifikantní výsledek je interakce druhu rostliny a substrátu (obrázek 4.8.). Zde je opět nejvíce konzumovaným druhem *Centaurea stoebe*. Tento druh byl herbivory nejvíce konzumován bez ohledu na druh substrátu, ve kterém byla chrpa vypěstována. Kromě druhu *Centaurea jacea* byly u všech zbylých druhů listy pocházející z rostlin vypěstovaných v úživném substrátu (substrát A) nejméně preferovány, což odpovídá předešlým výsledkům (obrázek 4.2.). U tohoto druhu byl nejméně preferován substrát prostřední úživnosti. Listy z nejméně úživného substrátu (C) byly nejvíce snědeny u obou druhů chrp (*Centaurea jacea a stoebe*) a u bodláku (*Carduus acanthoides*). U zbylých tří druhů (*Arctium lappa*, *Arctium tomentosum* a *Cirsium vulgare*) herbivoři nejvíce preferovali listy pocházející z rostlin vypěstovaných v substrátu střední úživnosti (obrázek 4.8.). Kromě druhů *Arctium lappa* a *Centaurea stoebe* se od sebe jednotlivé varianty substrátu u ostatních druhů průkazně lišily.



Obr. 4.8. - Vliv interakce druhu rostliny a substrátu. Sloupce značí průměr podílu snědené plochy listů a antény značí střední chybu průměru. Modré sloupce značí substrát úživný (A), žluté sloupce substrát střední úživnosti (B) a červené sloupce substrát neúživný (C). Na ose x jsou vyznačeny jednotlivé druhy rostlin a na ose y podíl snědené plochy listů. Písmena nad sloupci značí výsledky párového porovnání mezi substráty v rámci druhu.

Interakce druh:herbivor

Množství snědené plochy listů u jednotlivých druhů se lišilo u jednotlivých druhů bezobratlých herbivorů (obrázek 4.9.). Sarančata nejvíce konzumovala listy obou druhů lopuchů (*Arctium lappa*, *Arctium tomentosum*), bodláku (*Carduus acanthoides*) a pcháče (*Cirsium vulgare*). Nejméně konzumovala sarančata oba druhy chrpy. Jelikož byla *Centaurea stoebe* nejvíce konzumovaným druhem, vzhledem k výsledkům této interakce, se jednalo primárně o preference plzáka a housenky, kteří tento druh vybírali. Sarančata snědla nejméně listové plochy právě z tohoto druhu.



Obr. 4.9. - Vliv interakce druhu rostlin a herbivora. Sloupce značí průměr podílu snědené plochy listů a anténky značí střední chybu průměru. Modré sloupce značí průměrné množství snědené plochy listu housenkou, žluté plzákem a červené sarančetem. Na ose x jsou vyznačeny jednotlivé druhy herbivora a na ose y podíl snědené plochy listů. Písmena nad boxy značí výsledky párového porovnání mezi jednotlivými herbivory v rámci druhu rostliny.

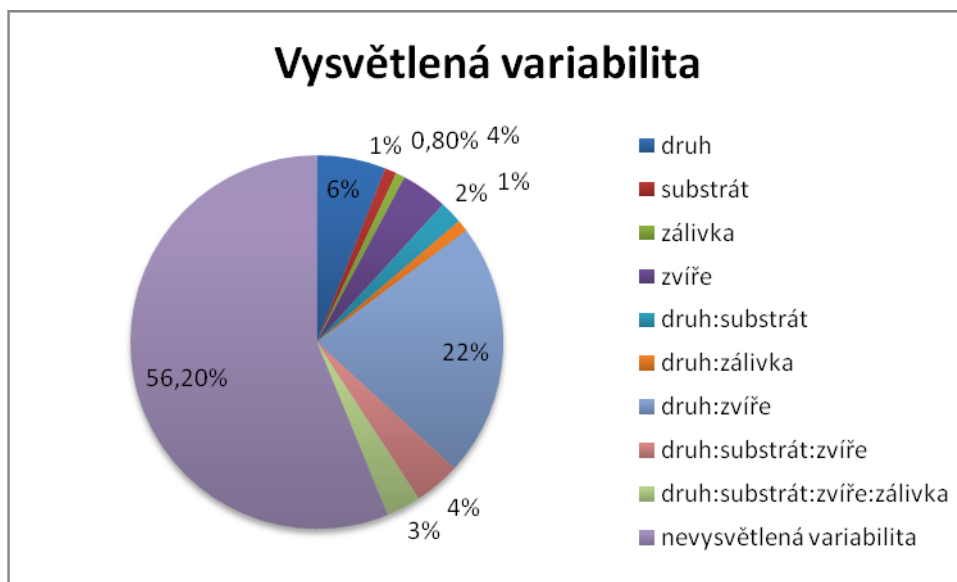
Význam jednotlivých faktorů

Na obrázku 4.10. je znázorněna variabilita vysvětlená jednotlivými proměnnými. Nejvíce variability vysvětlila interakce druhu rostliny a herbivora. Všechny testované faktory vysvětlili téměř polovinu veškeré variability v datech. Vliv druhu rostliny vysvětlil více variability (28%) v porovnání s vlivem prostředí (2%) a vlivem jejich interakcí (10%).

	Df	Chisq	Pr(>Chisq)
druh	5	56,661	< 0,001
substrát	2	11,554	0,003
zálivka	1	8,5529	0,003
zvíře	2	39,725	< 0,001
sousedí	1	2,973	0,209
druh:zálivka	5	15,689	0,008
druh:substrát	10	27,802	0,002
druh:zvíře	10	268,64	< 0,001
zálivka:substrát	2	2,7545	0,252
zálivka:zvíře	2	2,4289	0,297
substrát:zvíře	4	5,6099	0,232
druh:substrát:zálivka	10	12,279	0,267

druh:substrát:zvíře	20	53,006	< 0,001
druh:zálivka:zvíře	10	12,897	0,230
substrát:zálivka:zvíře	4	6,1924	0,185

Tab. 4.2. - **Výsledky analýzy.** Průkazné výsledky jsou vyznačeny tučně. df - stupně volnosti, P hodnota je zaokrouhlena na 3 desetinná místa, jako náhodný faktor byla použita aréna



Obr. 4.10. - Vysvětlená variabilita.

SLA

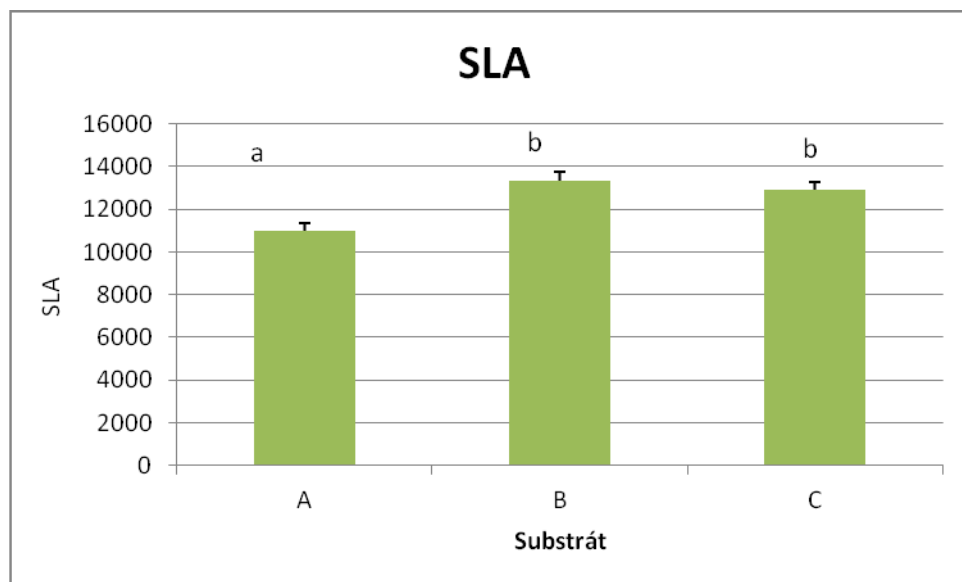
Výsledky analýzy (tabulka 4.3.) ukazují průkazně rozdílnou SLA mezi jednotlivými druhy rostlin a substráty. Samostatný vliv zálivky na SLA nebyl průkazný, pouze v interakci se substrátem. V případě jednotlivých druhů rostlin se SLA průkazně lišila u každého ze šesti zkoumaných druhů (obrázek 4.12., 4.13.). V případě porovnání jednotlivých variant substrátů se průkazně odlišoval substrát A (tedy úživný substrát) od zbývajících dvou (méně úživných) substrátů B a C. Substráty B a C se mezi sebou nelišily. Listy vypěstované v úživném substrátu měli menší SLA než listy pěstované v substrátech méně úživných. Když porovnáme tyto výsledky s výsledky předešlých analýz, kdy herbivoři preferovali rostliny z méně úživných substrátů, můžeme vyvodit závěr, že rozdílná velikost SLA může být jedním z vysvětlení vnitrodruhové variability. V případě druhu rostliny již výsledky tak jednoznačné nejsou. Nejvíce preferovaný druh *Centaurea stoebe* má v porovnání s ostatními druhy průměrnou SLA. Signifikantní vyšla dále interakce druhu a substrátu (obrázek 4.13.). U poloviny druhů vyšel podle párového porovnání signifikantní rozdíl mezi substráty. U interakce druhu rostliny a substrátu je SLA největší u substrátu B a C u většiny druhů (obrázek 4.13). U interakce substrátu a zálivky jsou rozdílné výsledky u odlišných variant

substrátu (obrázek 4.14.). Větší SLA mají zalévané listy ze substrátů B a C. U substrátu A je výsledek opačný, větší SLA je u listů nezalévaných. Průkazné rozdíly párového porovnání jsou pouze u substrátu A a C

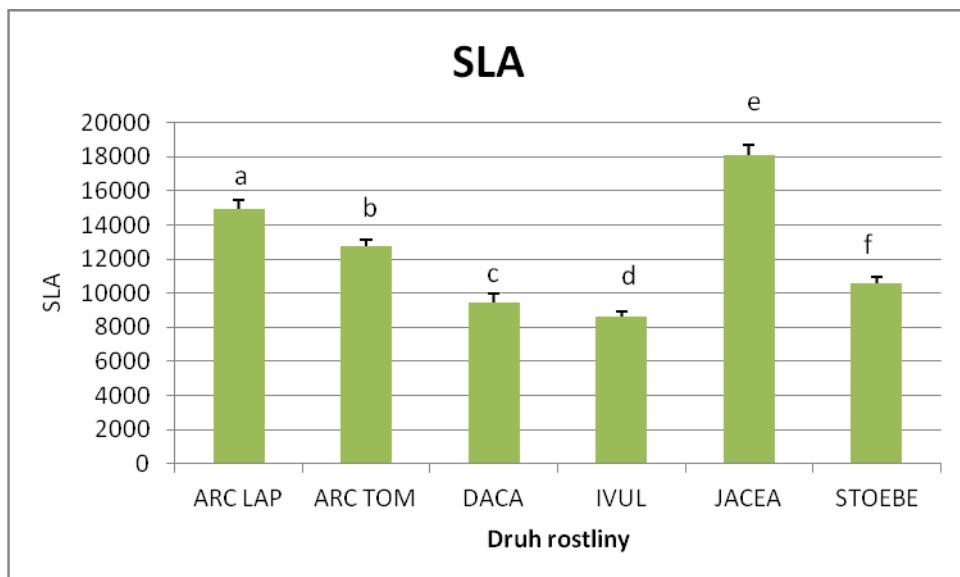
Vliv substrátu, zálivky a druhu rostliny na velikost SLA

	Df	F value	P(>F)
druh	5	106,3597	< 0,001
substrát	2	24,5464	< 0,001
zálivka	1	3,1781	0,075
druh:substrát	10	5,7082	< 0,001
druh:zálivka	5	3,8976	0,002
substrát:zálivka	2	42,2495	< 0,001
druh:substrát:zálivka	10	3,0189	0,001

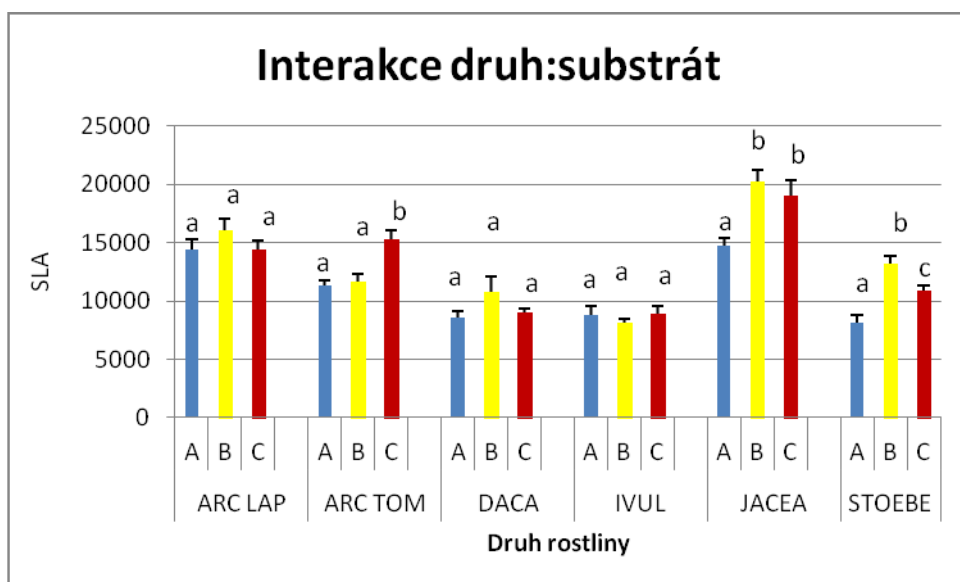
Tab. 4.3. - Výsledky analýzy (ANOVA). Průkazné výsledky jsou tučně zvýrazněny. df - stupně volnosti, P hodnota je zaokrouhlena na 3 desetinná místa



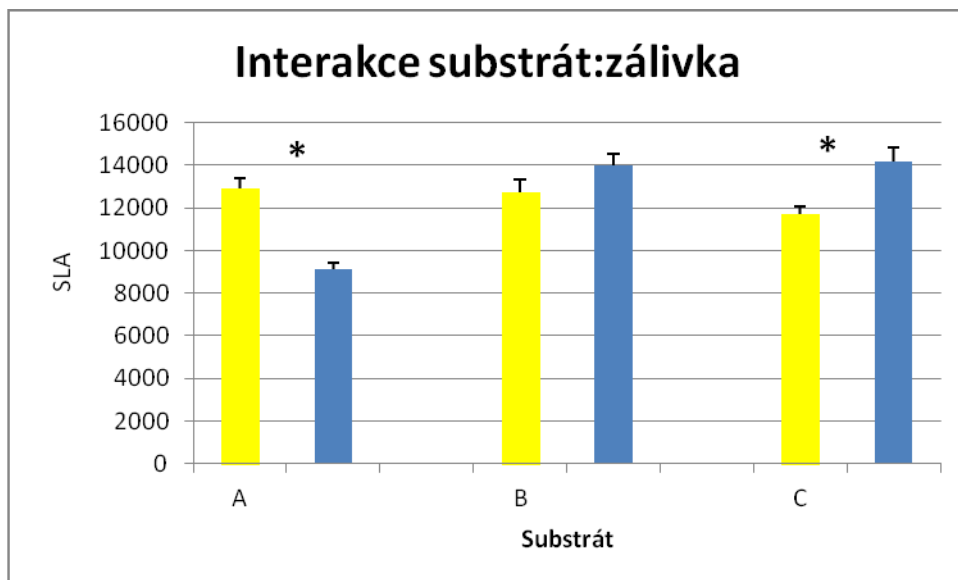
Obr. 4.11. - Rozdíl ve velikosti SLA u listů pěstovaných v odlišných substrátech. Sloupce značí průměrnou velikost SLA listů a anténky značí střední chybu průměru. Písmenka nad sloupci značí výsledky párového porovnání. Rozdílná písmenka značí signifikantní výsledek. Na ose x jsou vyznačeny jednotlivé varianty substrátu a na ose y je SLA.



Obr. 4.12. - Rozdíl ve velikosti SLA u rozdílných druhů rostlin. Sloupce značí průměrnou velikost SLA a anténky značí střední chybu průměru. Písmenka nad sloupci reprezentují výsledky párového porovnání. Rozdílná písmenka značí signifikantní výsledek. Na ose x jsou vyznačeny jednotlivé druhy rostlin a na ose y je SLA.



Obr. 4.13. - Interakce druh:substrát. Sloupce značí průměrnou velikost SLA a anténky značí střední chybu průměru. Modře je označena úživná varianta substrátu (A), žlutě středně úživná (B) a červeně nejméně úživná (C). Na ose x jsou vyznačeny jednotlivé druhy rostlin a na ose y je SLA. Písmenka nad sloupci značí výsledek párového porovnání mezi jednotlivými variantami substrátu v rámci druhu rostliny.



Obr. 4.14. - Interakce substrát:zálivka. Sloupce značí průměrnou velikost SLA a anténky značí střední chybu průměru. Žlutě jsou označeny rostliny zalévané a modře nezalévané. Na ose x jsou vyznačeny jednotlivé varianty substrátu a na ose y je SLA. Signifikantní výsledky párového porovnání mezi zalévanými a nezalévanými rostlinami v rámci substrátu jsou označeny hvězdičkou.

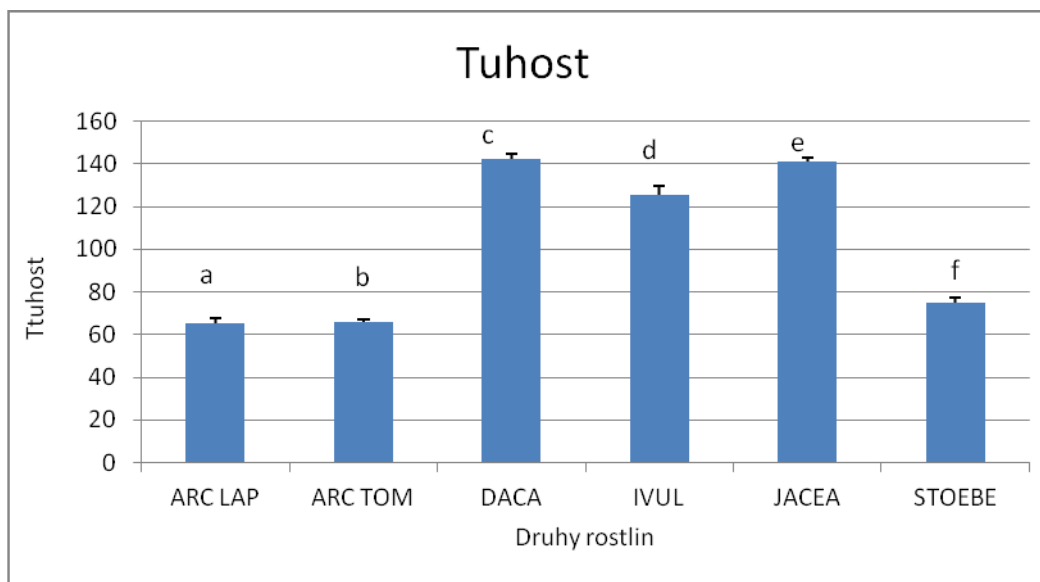
Tuhost listu

Další vlastností druhu, která mohla mít průkazný vliv na preference herbivorů, je tuhost listů. Ta byla prokazatelně rozdílná u všech zkoumaných proměnných (tabulka 4.4.). Mezi jednotlivými druhy měli nejtuhší listy *Carduus acanthoides*, *Centaurea jacea* a *Cirsium vulgare*. Naopak *Centaurea stoebe*, která byla herbivory nejvíce preferovaná měla listy méně tuhé, což mohl být jeden z důvodů, proč ji herbivoři volili. Na rozdílnou tuhost listů měl také vliv různě odlišný substrát, ve kterém byly rostliny pěstovány. Nejtuhší listy měli rostliny vypěstované v substrátu B (středně úživný). Rostliny pěstované v substrátu C (nejméně úživný), které byly herbivory nejvíce preferovány, měly listy nejméně tuhé. U druhu rostliny a substrátu jsem provedla párové porovnání, jehož výsledky jsou vyznačeny písmeny na obrázcích (4.15., 4.16.). Signifikantní rozdíl v tuhosti listů vyšel i u rozdílné zálivky (obrázek 4.17.). Rostliny nezalévané měly jednoznačně tužší listy v porovnání s rostlinami zalévanými. Průkazný byl výsledek i všech interakcí (obrázek 4.18. - 4.20.). U interakce druhu a substrátu jsou signifikantní mezi substráty rozdíly pouze u poloviny druhů. Kromě obou druhů lopuchů (*Arctium tomentosum*, *Arctium lappa*) byly všechny listy zbylých druhů rostlin tužší, pokud byly méně zalévány. U interakce druhu rostliny a zálivky byly nezalévané listy průkazně tužší u poloviny zkoumaných druhů. Párové porovnání u interakce substrátu a zálivky prokázalo rozdíly mezi tuhostí zalévaných a nezalévaných listů pouze u substrátu A.

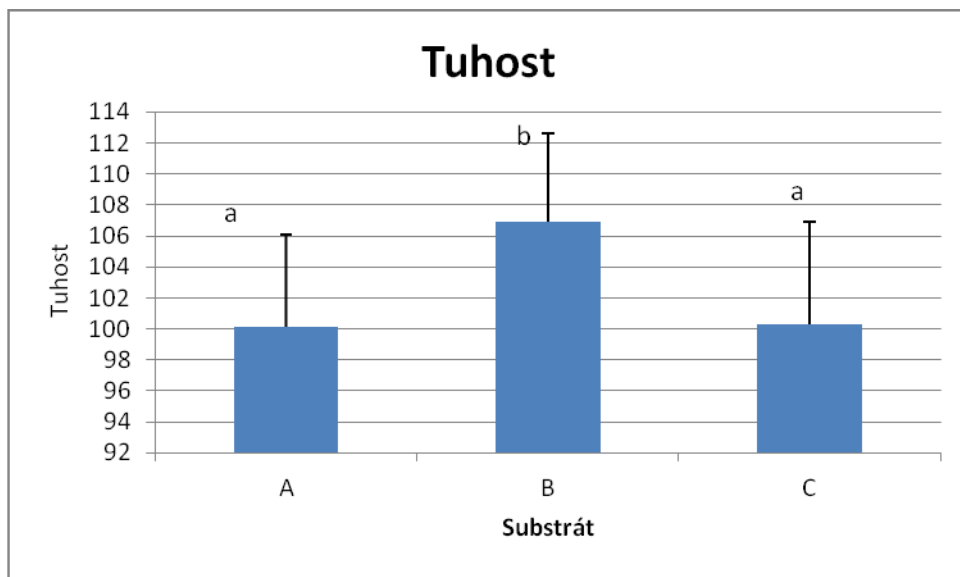
Vliv substrátu, zálivky a druhu rostliny na tuhost listů.

	Df	F value	P(>F)
druh	5	638,2095	< 0,001
substrát	2	13,5341	< 0,001
zálivka	1	10,1301	0,001
druh:substrát	10	15,2770	< 0,001
druh:zálivka	5	4,3728	0,002
substrát:zálivka	2	3,5081	0,035
druh:substrát:zálivka	10	4,2403	< 0,001

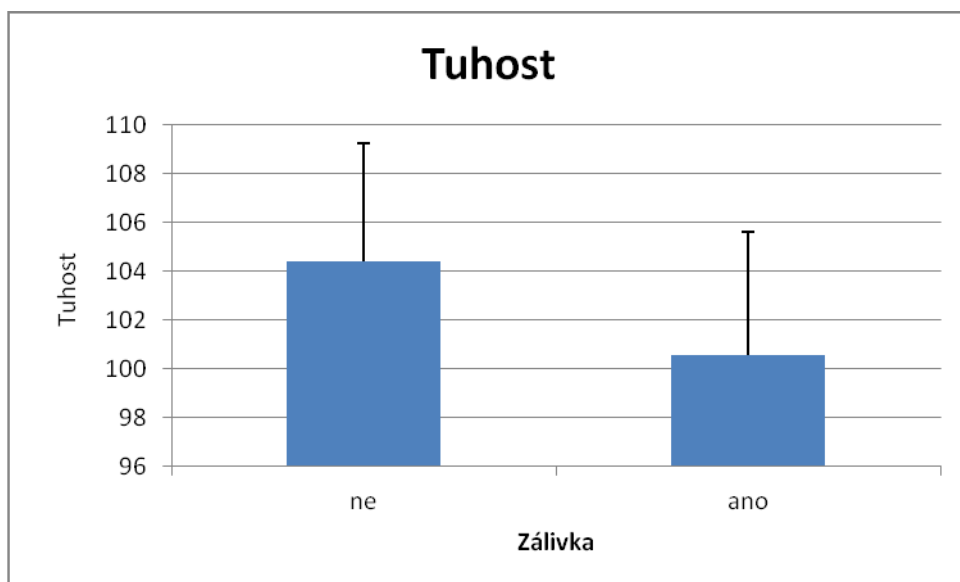
Tab. 4.4. - Tuhost listů. Výsledky analýzy (ANOVA). Průkazné výsledky jsou tučně zvýrazněny. df - stupně volnosti, P hodnota je zaokrouhlena na 3 desetinná místa



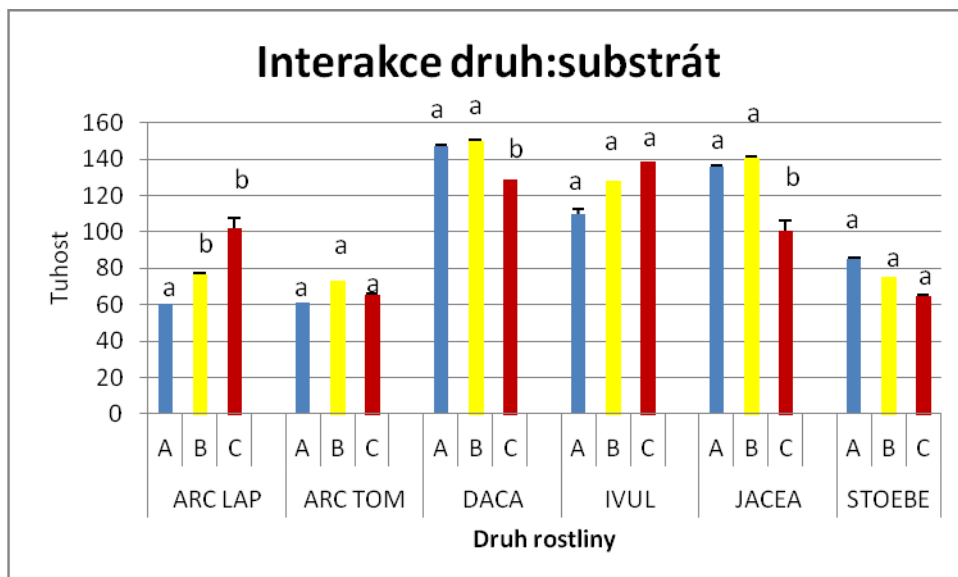
Obr. 4.15. - Tuhost listů u jednotlivých druhů. Sloupce značí průměrnou tuhost a antény střední chybu průměru. Na ose x jsou znázorněny jednotlivé druhy rostlin a na ose y je znázorněna tuhost listů. Písmena nad sloupci značí výsledky párového porovnání.



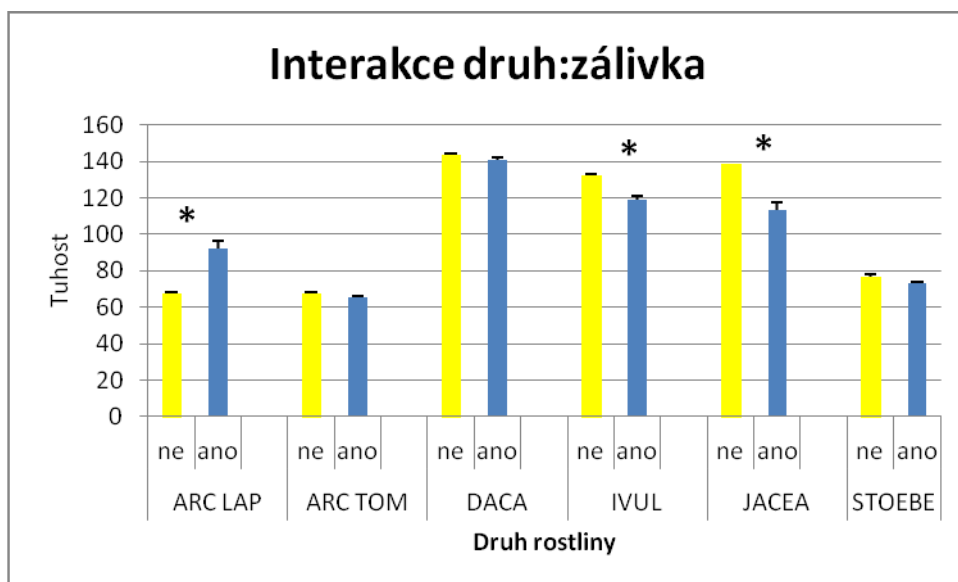
Obr. 4.16. - Tuhost listů u jednotlivých variant substrátu. Sloupce značí průměrnou tuhost a antény střední chybu průměru. Na ose x jsou znázorněny jednotlivé varianty substrátu a na ose y je znázorněna tuhost listů. Písmena nad sloupci značí výsledky párového porovnání.



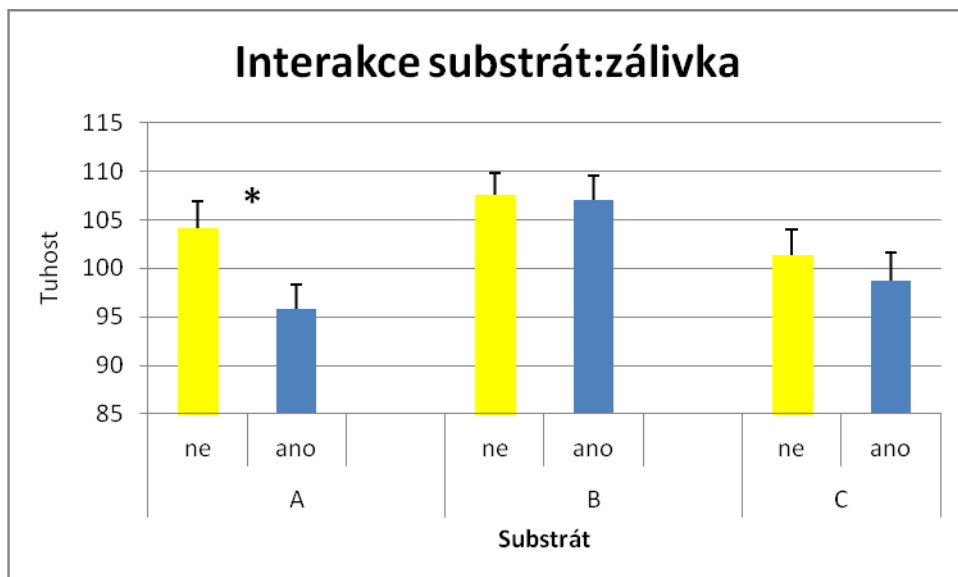
Obr. 4.17. - Tuhost listů u rozdílného zalévacího režimu. Sloupce značí průměrnou tuhost a antény střední chybu průměru. Na ose x jsou znázorněny jednotlivé zalévací režimy (zalévané - ano, nezalévané - ne) a na ose y je znázorněna tuhost listů.



Obr. 4.18. - Interakce druh:substrát. Sloupce značí průměrnou tuhost a anténky střední chybu průměru. Na ose x jsou znázorněny jednotlivé druhy rostlin a na ose y je znázorněna tuhost listů. Rozdílné varianty substrátů jsou barevně označeny (modře A, žlutě B, červeně C). Písmena nad sloupci značí výsledky párového porovnání mezi jednotlivými substráty v rámci druhu.



Obr. 4.19. - Interakce druh:zálivka. Sloupce značí průměrnou tuhost a anténky střední chybu průměru. Na ose x jsou znázorněny jednotlivé druhy rostlin a na ose y je znázorněna tuhost listů. Odlišné zalévací režimy jsou barevně označeny (žlutě - nezalévané, modře - zalévané). Průkazné výsledky párového porovnání mezi zalévanou a nezalévanou rostlinou v rámci druhu jsou označeny hvězdičkou.



Obr. 4.20. - Interakce substrát:zálivka. Sloupce značí průměrnou tuhost a anténky střední chybu průměru. Na ose x jsou znázorněny jednotlivé varianty substrátu a na ose y je znázorněna tuhost listů. Odlišné zalévací režimy jsou barevně označeny (žlutě - nezalévané, modře - zalévané). Signifikantní výsledky párového porovnání mezi zalévanými a nezalévanými rostlinami v rámci substrátu jsou označeny hvězdičkou.

Vliv druhových vlastností na snědenou plochu listů

Po přidání SLA a tuhosti listů do mixed model effects se nezměnily výsledky u jednotlivých proměnných (tabulka 4.5.). SLA i tuhost listů měly průkazný vliv na preference herbivorů. Vliv substrátu, zálivky i druhu rostliny na preference herbivorů zůstal průkazný. SLA a tuhost listů tedy nevysvětlují všechnu variabilitu vnitrodruhovou ani mezidruhovou. SLA vychází průkazně v interakci s druhem rostliny a se zálivkou. Tuhost je průkazná interakci jen se zálivkou. Po přidání tuhosti a SLA do modelu došlo k výrazné změně Chisq u druhu rostliny (tabulka 4.2. a 4.5.). Chisq u druhu rostliny se po přidání SLA a tuhosti snížilo skoro o 50%. Dále došlo ještě ke snížení Chisq u interakce druhu a substrátu. Přidáním SLA a tuhosti do modelu je vliv druhu rostliny stále průkazný, ale vysvětlená variabilita touto proměnou se výrazně zmenšila. Do analýzy byla jako kovariáta přidána ještě původní plocha listu, avšak jejím přidáním se výsledky nijak nezměnily (výsledky neukázány).

	Df	Chisq	Pr(>Chi)
SLA	1	50,369	<0,001
tuhost	1	50,378	<0,001
druh	5	29,561	<0,001
substrát	2	21,677	<0,001
zálivka	1	8,1485	0,004

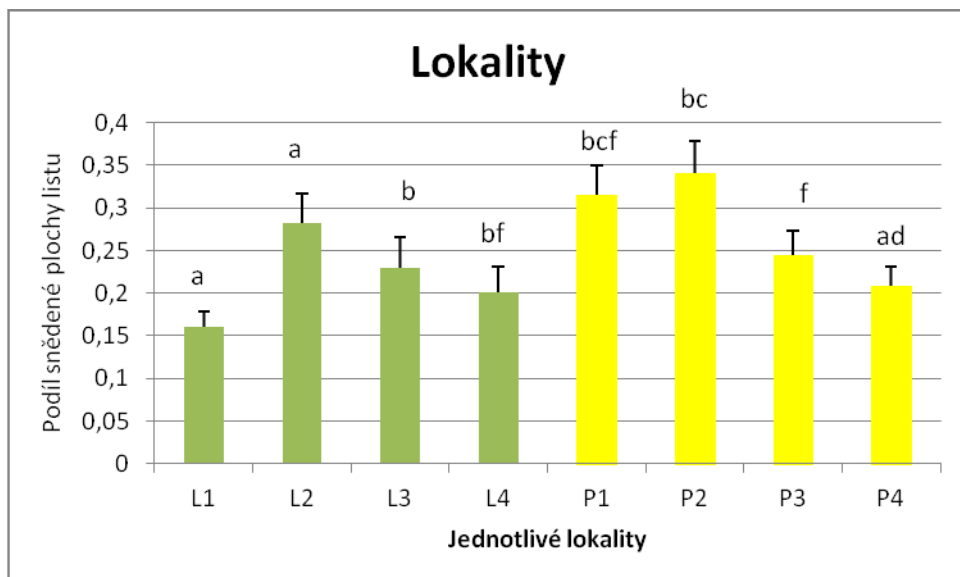
SLA:tuhost	1	0,3336	0,564
SLA:druh	5	13,175	0,022
SLA:substrát	2	1,9488	0,377
SLA:zálivka	1	7,2172	0,007
tuhost:zálivka	1	5,8238	0,016
tuhost:substrát	2	4,8332	0,089
tuhost:druh	5	4,552	0,047
druh:substrát	10	18,826	0,043
druh:zálivka	5	16,821	0,005
substrát:zálivka	2	5,9536	0,051

Tab. 4.5. - Výsledky analýzy. Průkazné výsledky jsou tučně zvýrazněny. df - stupně volnosti, P hodnota je zaokrouhlena na 3 desetinná místa, jako náhodný faktor byla použita aréna

4.2.2. Experimenty s materiálem z terénu

Vliv prostředí na preference herbivorů

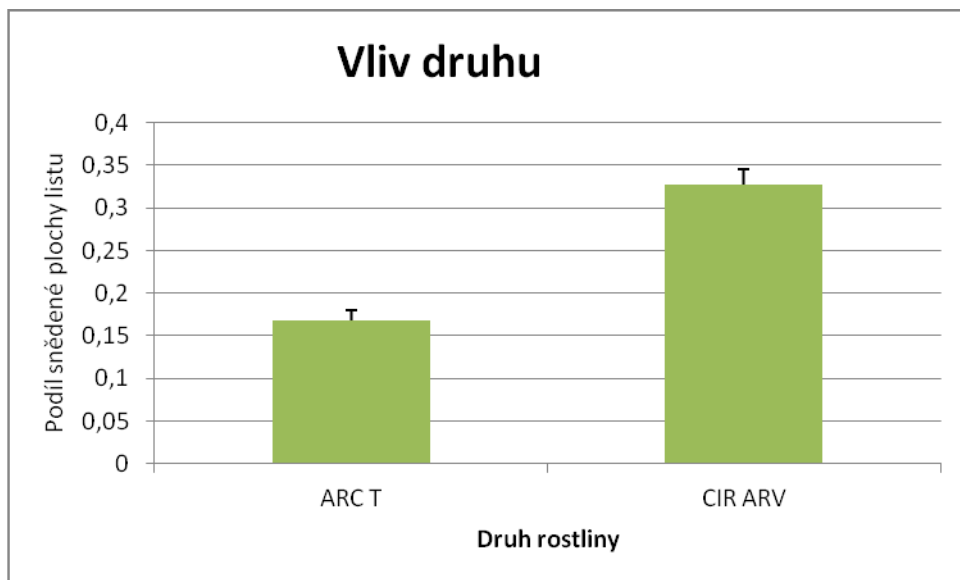
Pro tyto experimenty byl rostlinný materiál nasbírán v terénu na osmi odlišných lokalitách. Rozdíly mezi lokalitami měli průkazný vliv na preference bezobratlých herbivorů (tabulka 4.6.). Materiál byl přivezen ze čtyř polních a čtyř lučních lokalit. Listy byly nasbírány vždy na čtyřech různých lučních (označeny L1 - L4) a polních stanovištích (označeny P1 - P4). Nejvíce bezobratlí herbivoři konzumovali rostliny pocházející z prostředí P1, P2 a L2. Pro všechna stanoviště bylo provedeno párové porovnání. Výsledky tohoto porovnání jsou vyznačeny na obrázku (4.21.), prostřednictvím písmen nad jednotlivými sloupci.



Obr. 4.21. - Vliv rozdílné lokality na preference herbivorů. Sloupce značí průměrný podíl snědené plochy a anténky střední chybu průměru. Na ose x jsou znázorněny jednotlivé typy prostředí a na ose y podíl snědené plochy listů. Písmena nad sloupci značí výsledky párového porovnání. Luční a polní lokality jsou barevně rozlišeny (luční - zeleně, polní - žlutě).

Vliv druhu rostliny na preference herbivorů

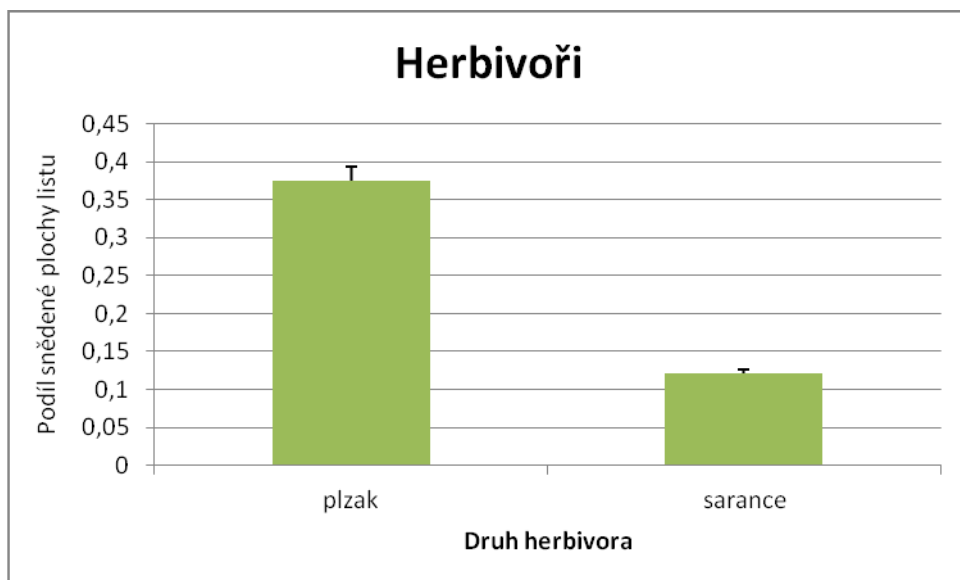
Průkazně vyšel stejně jako u zahradního experimentu vliv druhu na preference bezobratlých herbivorů (obrázek 4.22., tabulka 4.6.). V experimentech s materiálem nasbíraným v terénu byly použity pouze dva druhy (*Arctium tomentosum* a *Cirsium arvense*), které byly nasbírány na osmi odlišných stanovištích. Bezobratlí herbivoři jednoznačně více konzumovali listy pcháče (*Cirsium arvense*) oproti listům lopuchu (*Arctium tomentosum*).



Obr. 4.22. - Vliv druhu rostliny na preference herbivorů. Sloupce značí průměrný podíl snědené plochy a anténky střední chybu průměru. Na ose x jsou znázorněny jednotlivé druhy rostlin a na ose y podíl snědené plochy listů.

Vliv druhu herbivora

I v tomto případě se konzumace rozdílných herbivorů (plzák, saranče) významně lišila. Stejně jako u zahradních experimentů konzumovala sarančata nejvyšší podíl listů (obrázek 4.23.).



Obr. 4.23. - Podíl snědené plochy jednotlivými druhy herbivorů. Sloupce značí průměrný podíl snědené plochy a anténky střední chybu průměru. Na ose x jsou znázorněny jednotlivé druhy herbivorů a na ose y podíl snědené plochy listů.

Vliv lokality a druhu rostliny na preference herbivorů

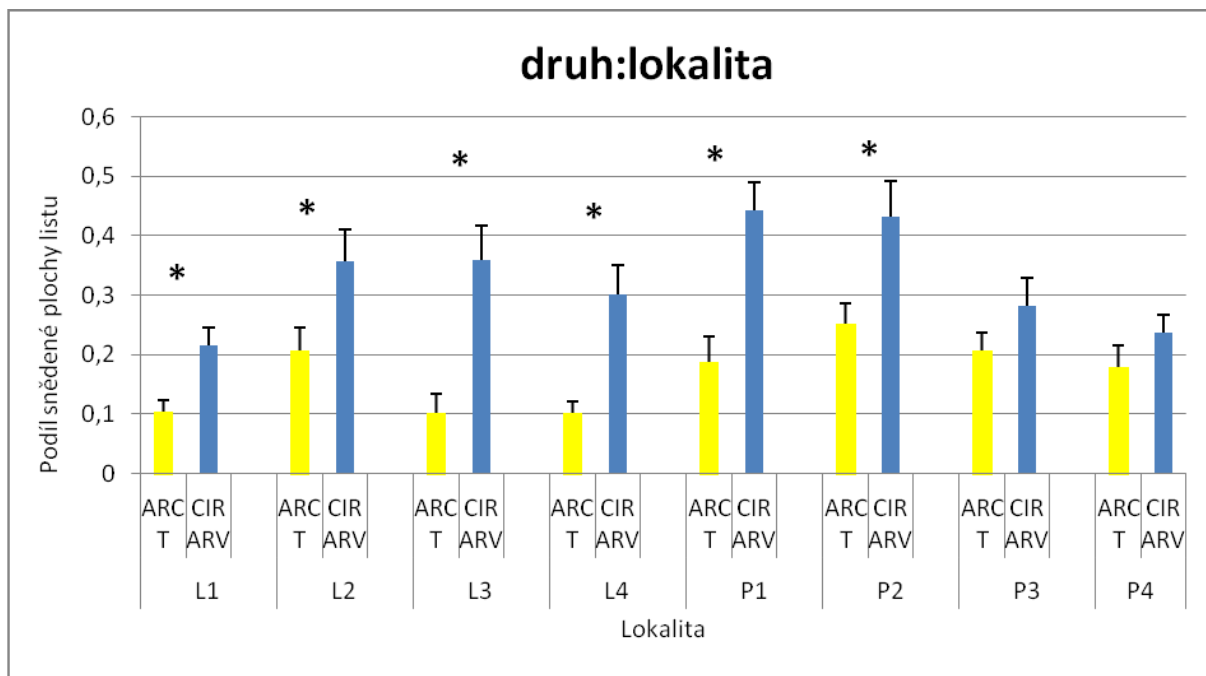
Podrobné výsledky analýzy. Na obrázku 4.26. naleznete variabilitu vysvětlenou jednotlivými proměnnými. Nejvíce variability vysvětlil druh herbivora. Dohromady vysvětlily proměnné čtvrtinu variability. Více variability vysvětlil vliv lokality (5%) v porovnání s vlivem druhu rostliny (1%). Nejvíce variability vysvětlily obě proměnné v interakcích (7%).

	Df	Chisq	Pr(>Chisq)
druh	1	51,653	<0,001
lokalita	7	25,403	0,001
zvíře	1	78,754	<0,001
sousedí	1	1,5602	0,212
druh:lokalita	7	15,517	0,030
druh:zvíře	1	0,0098	0,921
druh:sousedí	1	0,342	0,5587
lokalita:zvíře	7	26,496	0,001
sousedí:zvíře	1	0,89	0,346
druh:lokalita:zvíře	7	27,326	0,001

Tab. 4.6. - Výsledky analýzy pro pokusy s terénním materiálem. Průkazné výsledky jsou vyznačeny tučně. df - stupně volnosti, P hodnota je zaokrouhlena na 3 desetinná, jako náhodný faktor byla použita aréna

Interakce druh:lokalita

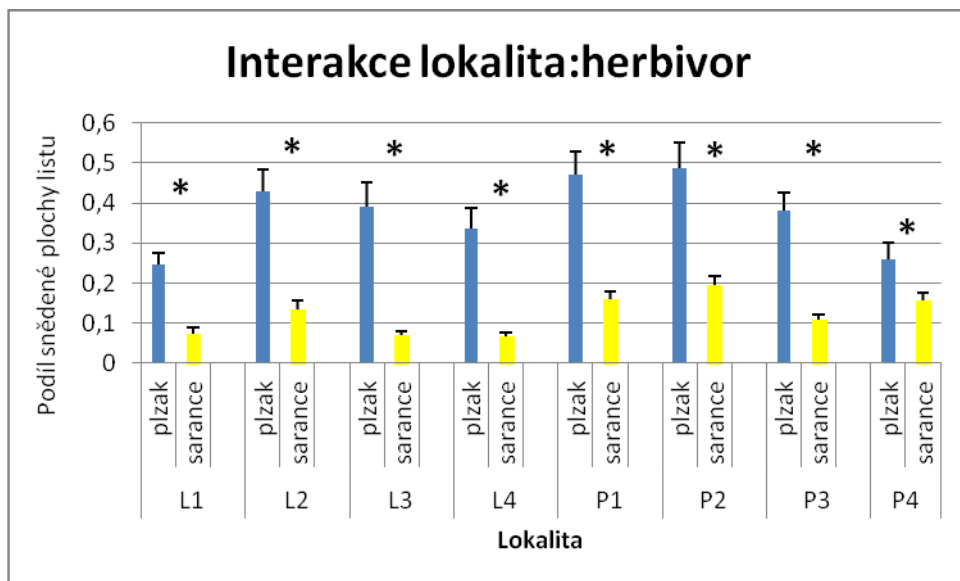
Průkazně vyšla též interakce druhu rostliny a lokality (tabulka 4.6.). Podle obrázku (4.24.) vidíme, že herbivoři více preferovali druh *Cirsium arvense* než *Arctium tomentosum*. Výsledky párového porovnání ukazují signifikantní rozdíly u všech lokalit kromě P3 a P4.



Obr. 4.24. -Vliv interakce druhu a lokality. Sloupce značí průměrný podíl snědené plochy a antény střední chybu průměru. Na ose x jsou znázorněny jednotlivé lokality a na ose y podíl snědené plochy listů. Jednotlivé druhy rostlin jsou barevně rozlišeny (žlutě - *Cirsium arvense*, modře - *Arctium tomentosum*). Signifikantní výsledky párového porovnání mezi zalévanou a nezalévanou rostlinou v rámci druhu jsou označeny hvězdičkou.

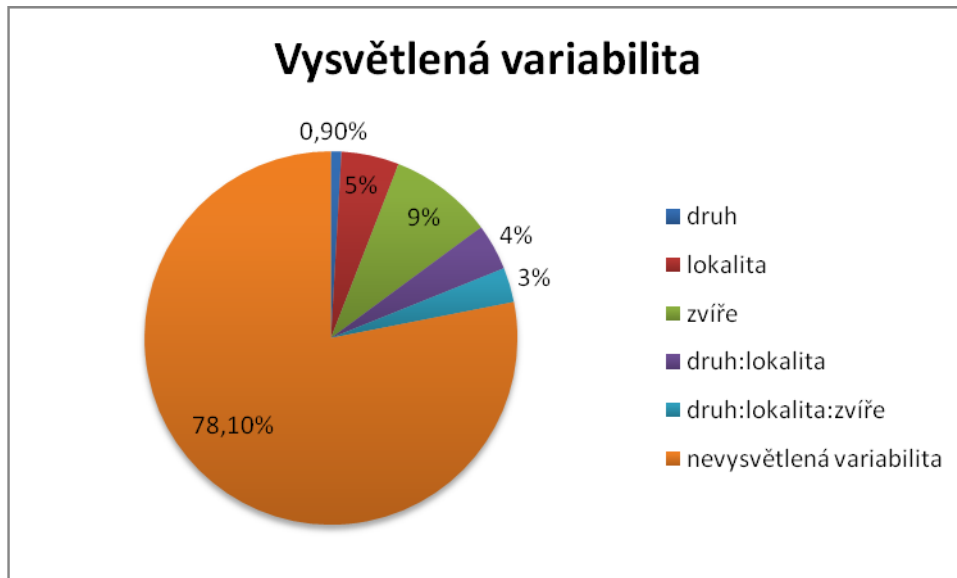
Interakce lokalita:herbivor

Signifikantní vyšla též interakce lokality a druhu herbivora (obrázek 4.25.). Rostlinný materiál ze všech lokalit konzumovali více plzáci než sarančata. Velikost rozdílu se ale mezi lokalitami liší.



Obr. 4.25. -Vliv interakce druhu a lokality. Sloupce značí průměrný podíl snědené plochy a antény střední chybu průměru. Na ose x jsou znázorněny jednotlivé lokality a na ose y podíl snědené plochy listů. Jednotlivé druhy herbivora jsou barevně rozlišeny (žlutě - sarance

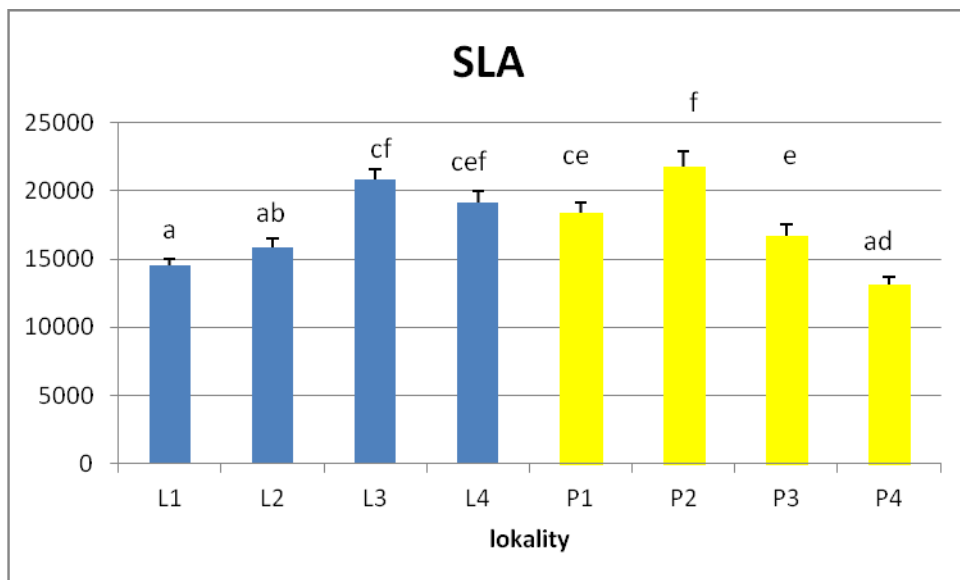
modře -plzák). Signifikantní výsledky párového porovnání mezi jednotlivými herbivory v rámci druhu jsou označeny hvězdičkou.



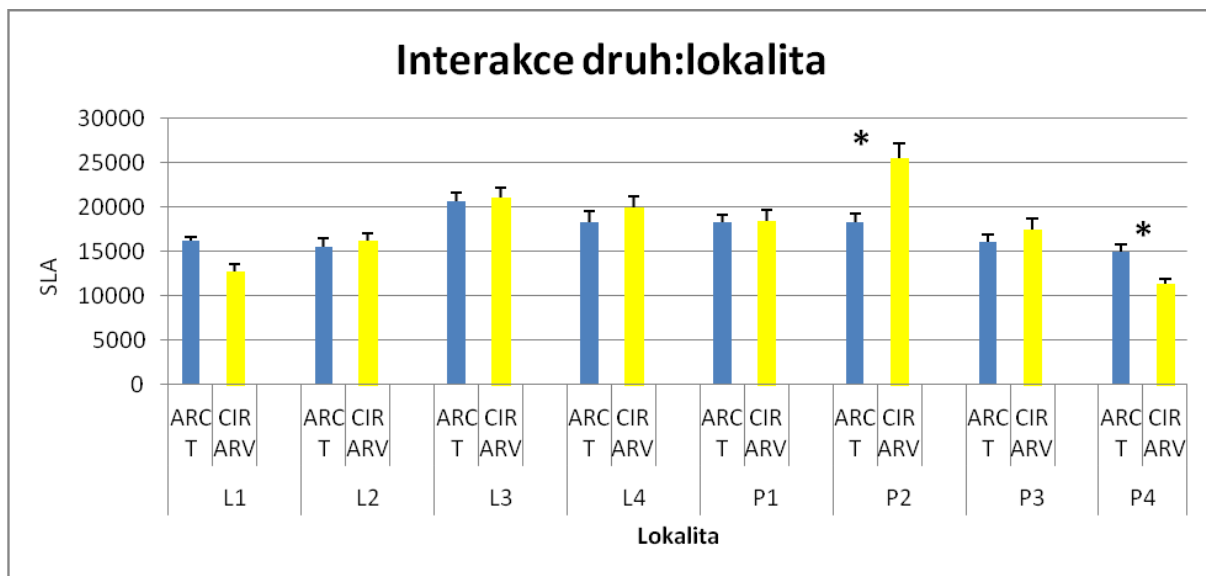
Obr. 4.26. - Vysvětlená variabilita. Jednotlivé výseče znázorňují vysvětlenou a nevysvětlenou variabilitu. Vysvětlená variabilita je barevně rozdělena podle vysvětlujících proměnných.

SLA

Výsledky analýzy (tabulka 4.7.) ukazují průkazně rozdílnou SLA mezi rostlinami z jednotlivých lokalit, ze kterých byly přivezeny listy rostlin, které byly následně testovány. Na rozdíl od zahradních experimentů, zde nevyšel průkazný vliv druhu rostliny. Dále jsem ještě provedla mezi jednotlivými lokalitami párové porovnání, jehož výsledky jsou zobrazeny pomocí písmen na obrázku (4.27.). Když porovnáme tyto výsledky s výsledky z výběrových pokusů, tak zjistíme, že nejvíce herbivoři preferovali rostliny z lokalit L2, P1 a P2. Lokality P1 a P2 patří k lokalitám s větší SLA. Průkazný byl i vliv interakce druhu rostliny a lokality. Kromě stanoviště L1 a L2, měl na všech zbylých lokalitách větší SLA pcháč (*Cirsium arvense*, obrázek 4.28.), avšak průkazný výsledek párového porovnání je pouze u lokality P2 a P4.



Obr. 4.27. - Rozdíl SLA u rostlin pocházejících z odlišných lokalit. Sloupce značí průměrnou velikost SLA a anténky značí střední chybu průměru. Písmenka nad sloupci reprezentují výsledky párového porovnání. Rozdílná písmenka značí signifikantní výsledek. Na ose x jsou vyznačeny jednotlivé lokality a na ose y je SLA.



Obr. 4.28. - Interakce druhu a lokality. Sloupce značí průměrnou velikost SLA a anténky značí střední chybu průměru. Na ose x jsou vyznačeny jednotlivé lokality a na ose y je SLA. Jednotlivé druhy rostlin jsou barevně rozlišeny (žlutě - *Cirsium arvense*, modře - *Arctium tomentosum*). Průkazné výsledky párového porovnání mezi druhy v rámci lokality jsou označeny hvězdičkou.

Vliv lokality a druhu rostliny na velikost SLA

	Df	F value	Pr(>F)
druh	1	0,3419	0,559
lokalita	7	13,7423	< 0,001
druh:stanoviště	7	4,5472	< 0,001

Tab. 4.7. - Výsledky analýzy (ANOVA). Průkazné výsledky jsou tučně zvýrazněny. df - stupně volnosti, P hodnota je zaokrouhlena na 3 desetinná místa

Vliv druhových vlastností na snědenou plochu listů

Po přidání SLA k jednotlivým proměnným modelu, zůstal vliv lokality i druhu rostliny signifikantní (tabulka 4.8.). Jedinou změnou je neprůkazný výsledek interakce druhu rostliny a lokality po přidání SLA do modelu. Též došlo ke zmenšení vysvětlené variability proměnou lokalita, protože po přidání SLA došlo ke snížení jejího Chisq. Do modelu byla jako kovariátá přidána původní plocha rostlin, ale po jejím přidání zůstaly výsledky stejné (výsledky nezobrazeny).

	Df	Chisq	Pr(>Chi)
SLA	1	7,7844	0,005
druh	1	56,32	<0,001
lokalita	7	31,886	<0,001
SLA:druh	1	30,427	<0,001
SLA:lokalita	7	12,845	0,076
druh:lokalita	7	20,691	0,005

Tab. 4.8. - Výsledky analýzy. Průkazné výsledky jsou tučně zvýrazněny. df - stupně volnosti, P hodnota je zaokrouhlena na 3 desetinná místa, jako náhodný faktor byla použita aréna

5. Diskuse

Výsledky mé studie ukazují rozdíly v preferencích bezobratlých herbivorů mezi rostlinami trpícími a netrpícími stresem. Enviromentální stres může být simulován několika způsoby. Stres může být simulován například nedostatkem vody (Gutbrodt et al., 2011), rozdílnou úživností substrátu (Andersen et al., 2010) nebo např. odřezáním některých částí rostliny (Louda & Collinge, 1992). V mé studii byl enviromentální stres simulován dvěma faktory a to rozdílnou úživností substrátů, ve kterých byly rostliny vypěstovány a odlišným zalévacím režimem. Vliv substrátu i zálivky na preference bezobratlých herbivorů byl průkazný.

Herbivoři ze všech tří variant substrátu nejméně volili listy pocházející z rostlin pěstovaných v úživném substrátu (A). Naopak nejméně úživný substrát (C) a substrát střední úživnosti (B) byly herbivory nejvíce preferovány. Průkazné byly i výsledky interakce druhu a substrátu, kde kromě jednoho druhu chrpy (*Centaurea jacea*), byl úživný substrát nejméně preferován. V případě vlivu substrátu podporují zjištěné výsledky stres teorii (White, 1993), podle které by měl enviromentální stres mít za následek celkové snížení rostlinné rezistence vůči herbivorům. Rostlina reaguje na stres změnou fyziologie listu. Změny, které následkem stresu nastanou, se mohou týkat na příklad chemického složení listu a změnit jeho kvalitu (Gassmann & Louda, 2001). Může se jednat i o změnu koncentrace sekundárních metabolitů, čímž je oslabena chemická obrana rostliny (Gutbrodt et al., 2011). V první sezóně nevyšel průkazný vliv samostatného substrátu ani v interakci. Důvodem byl pravděpodobně malý počet opakování v první sezóně.

Druhá formu stresu, která byla v této studii testována, je stres ze sucha. Vliv stresu z nedostatku vody na reakce herbivorů je v poslední době často zkoumán z důvodu klimatických změn, které nastávají. Kvůli těmto klimatickým změnám se předpokládá zvýšení tohoto typu stresu, tudíž je důležité znát jeho následky pro interakce rostlin a herbivorů (Gutbrodt et al., 2011). Mé výsledky vlivu zálivky však stres hypotézu nepodporují. Herbivoři naopak jako svou potravu volili listy z rostlin často zalévaných v porovnání s listy nezalévanými. Průkazný vyšel i vliv zálivky v interakci s druhem rostliny. Zde u pěti ze šesti pozorovaných druhů herbivoři preferovali zalévané rostliny. Jedná se tedy o opačný výsledek, než by odpovídal stres hypotéze. Preference často zalévaných listů naopak podporuje druhou zmiňovanou hypotézu a to vigor hypotézu (Price, 1991), kdy herbivoři útočí více na větší části rostlin s vyšším obsahem živin (Faria & Wilson Fernandes, 2001).

Vigor hypotéze (Price, 1991) odpovídají i výsledky z první sezóny. Ty neukazují průkazný vliv samostatného substrátu, zálivky ani druhu rostliny. Avšak průkazně vyšel vliv

zálivky v interakci s druhem rostliny. Více byly v této interakci preferovány druhy zalévané s výjimkou bodláku (*Carduus acanthoides*). Tyto výsledky se shodují s výsledky druhé sezóny, kdy byly preferovány rostliny více zalévané jak samostatně, tak i v interakci s druhem rostliny.

Výsledky zahradních experimentů se tedy nepřiklání jednostranně k žádné ze dvou hypotéz zmiňovaných v úvodu (Plant Stress/Vigor Hypothesis). Výsledky vlivu substrátu odpovídají stres hypotéze (White, 1993) a výsledky vlivu zálivky naopak vigor hypotéze (Price, 1991). Obě zmíněné hypotézy byly ověřovány několika studiemi, jejichž výsledky podporují stres hypotézu (Gutbrod et al., 2011) i vigor hypotézu (Inbar et al., 2001). Tyto dvě hypotézy se navzájem nevylučují. Tím, že přijmeme jednu zároveň, nezavrhneme druhou. Proto tedy mé protikladné výsledky mezi vlivem úživnosti substrátu a zálivkou nejsou nic neobvyklého. Schowalter et al., (1999), též prezentují výsledky podporující obě hypotézy v rámci jedné studie. Ovšem v jejich případě jsou důvodem rozdílných výsledků různé druhy hmyzu použité ve studii.

Výše zjištěné poznatky naznačují, že právě enviromentální stres je jednou z možností, která může určovat vnitrodruhovou variabilitu. Té je ve spojení s interakcemi rostlin a herbivorů věnováno relativně málo pozornosti. Většinou vnitrodruhová variabilita zkoumána ve spojení s chemickou obranou rostlin, konkrétně se jedná o rozdílnou koncentraci sekundárních metabolitů v rámci jednoho druhu (Alba et al., 2013; Kleine & Müller, 2011). Dále je možné pozorovat vnitrodruhovou variabilitu v rozdílné velikosti rostliny, což může mít také vliv na preference herbivorů (Inbar et al., 2001). Zde byla vnitrodruhová variabilita pozorována u substrátu a zálivky. Jelikož výsledky ukazují vliv zálivky a úživnosti substrátu po zohlednění na vliv druhu, tak i tyto výsledky potvrzují důležitou roli vnitrodruhové variability na preference herbivorů. Ribeiro Neto et al., (2012) zabývali vlivem stresu z nedostatku vody na preference herbivorů u jednoho konkrétního druhu rostliny, avšak na rozdíl od našich výsledků nepozorují rozdílný výběr herbivorů mezi rostlinami zalévanými a nezalévanými v rámci jednoho druhu. Autoři této studie uvádějí jako důvod těchto výsledků nedostatečný počet vzorků rostlin, které byly zkoumány. Naopak Meyer, et al., (2006), pozorují vliv vnitrodruhové variability u rostlin stresovaných suchem a nestresovaných. Avšak v tomto případě herbivoři volili listy trpící nedostatkem vody, což je opakem výsledků mé studie, kdy herbivoři naopak preferovali rostliny zalévané.

Jedním z důvodů rozdílných výsledků studií mohou být odlišné druhy herbivorů, které jsou ve studiích používány. Reakce odlišných druhů herbivorů na stresované a nestresované rostliny mohou být rozdílné (Gutbrod et al., 2011). V pokusech jsem jako zástupce

bezobratlých herbivorů použila plzáka, housenku a sarančata. Výběr druhu herbivora pro zkoumání jeho preferencí na stresované či nestresované rostliny může být klíčovým faktorem. Ne každý herbivor preferuje rostliny ze stejných podmínek (Schowalter et al., 1999). Speciálně u hmyzu jsou pozorovány v této oblasti velké rozdíly mezi jednotlivými druhy herbivorů. Důležitým faktorem u těchto rozdílných výsledků je potravní guilda, do které daný druh hmyzu spadá. Huberty & Denno (2004), rozvedli znění stres hypotézy právě s ohledem na potravní guildy používaných herbivorů. Autoři vytvořili nový název pro svou hypotézu (pulsed stress hypothesis) a podle ní budou herbivoři, kteří se živí tekutou stravou (phloem-feeders) preferovat rostliny, které trpí nedostatkem vody v porovnání s rostlinami, které mají dostatek vláhy. Klíčovým důvodem, proč tato potravní guilda takto reaguje je podle autorů pozměněná fenologie listů jako reakce rostlin na nedostatek vody. Je ovlivněn turgor buněk a obsah vody v listech, což by měl být hlavní důvod, proč jsou tyto rostliny herbivory preferovány touto potravní guildou hmyzu. Naopak hmyz s kousacím ústním ústrojím (chewing feeders) by neměl prokazovat preference vůči žádné rostlině s odlišným zalévacím režimem. V této studii byli použiti herbivoři z říše hmyzu, kteří mají kousací ústní ústrojí a patří právě do této potravní guildy, jsou to tedy takzvaní „kousači“ (*Spodoptera littoralis*, *Locusta migratoria*). Jelikož mé výsledky ukazují průkazný vliv zálivky, herbivoři v mé studii prokazovali preference. Rozdílné preference u odlišných potravních guild hmyzu jsou pozorovány i u volby mezi mladými a dospělými listy rostlin. Zatímco u hmyzu s kousacím ústním ústrojím nebyly pozorovány rozdíly ve volbě mezi mladými a dospělými listy, hmyz živící se tekutou stravou jednoznačně dával přednost dospělým listům před listy mladými (Andrew & Hughes, 2005).

Dalším bodem výzkumu bylo prozkoumání vlivu druhu rostliny na preference herbivorů, tedy vliv mezidruhové variability. Výsledky ukazují průkazný vliv druhu rostliny na preference bezobratlých herbivorů. Průkazné vyšli i všechny interakce druhu rostliny, tedy druh se substrátem, zálivkou i herbivorem. Nejvíce konzumovaným druhem byla chrpa (*Centaurea stoebe*) ze všech variant substrátů i obou zalévacích režimů. Signifikantní vliv druhu vyšel i u pokusů s materiálem nasbíraným v terénu. I zde vyšel průkazný vliv interakce s druhem a to konkrétně druhu rostliny a lokality. Zde preferovali herbivoři pcháč (*Cirsium arvense*) ze všech lokalit. Podle těchto výsledků má na preference herbivorů vliv i mezidruhová variabilita. Úroveň herbivorie se mezi jednotlivými druhy rostlin může lišit (Ruhnke et al., 2009). Velká část mezidruhové variability je připisována rozdílům mezi vlastnostmi listů rostlin (Coley, 1987). Rozdíly v mezidruhové variabilitě, které mohou

vysvětlit poškození herbivory, mohou být způsobeny na příklad rozdílnou velikostí listu, tuhostí či obsahem celulózy (Cárdenas et al., 2014).

Výsledky z první sezóny průkazný vliv samostatného druhu neprokazují, pouze v interakci se zálivkou. Neprůkazné výsledky první sezóny mohou být zapříčiněny extrémně suchým létem v sezóně 2015. Kvůli těmto nepříznivým podmínkám pěstované rostliny nevyrostly do potřebné velikosti a měly malý počet listů. Z důvodu nedostatku rostlinného materiálu nebylo možné provést více opakování (proběhla pouze dvě kola experimentů), proto mohou být neprůkazné výsledky z první sezóny důsledkem malého množství pořízených dat.

U pokusů s materiálem nasbíraným v terénu vyšel kromě druhu rostliny též signifikantní vliv lokality. Materiál byl nasbírán na osmi odlišných lokalitách. Čtyři lokality byly polní a čtyři luční. Herbivoři více preferovali rostliny pocházející z polních lokalit. Rostliny nasbírané na lučních lokalitách byly herbivory konzumovány méně. Dirzo (1980), pozoroval ve své studii stejné výsledky u slimáků. Rozdílné vlastnosti prostředí (obsah živin, vody), ze kterého rostlina pochází, mohou mít vliv na preference bezobratlých herbivorů (Willis et al., 2008).

Podmínky prostředí nebyly jedinou proměnou, která měla vliv rozdílné preference bezobratlých herbivorů. Další průkaznou proměnou byly funkční znaky rostliny, konkrétně tuhost listů a SLA. Jak tuhost listů, tak i SLA byly průkazně rozdílné mezi jednotlivými variantami substrátu a také mezi jednotlivými druhy. Tuhost listů byla na rozdíl od SLA rozdílná i u jednotlivých zalévacích režimů. Obecně jsou rostliny s vyšší tuhostí hůře stravitelné a jsou méně preferovány (Cingolani et al., 2005). To potvrzují i výsledky této studie. *Centaurea stoebe*, což byl nejvíce preferovaný druh v pokusech se zahradním materiálem, patřila do skupiny druhů s nižší tuhostí listů. Druhy *Carduus acanthoides*, *Cirsium vulgare* a *Centaurea jacea*, které měly nejtuzší listy, byly herbivory konzumovány mnohem méně. Stejně jako mé výsledky i studie (Coley, 1987) zjišťuje, že vyšší tuhost listů spolu s nízkou nutriční hodnotou listu jsou vlastnosti, které negativně korelují s herbivorií. Kromě mezidruhového rozdílu v tuhosti listů jsem pozorovala i vnitrodruhové rozdíly. Tuhost byla signifikantně rozdílná mezi rostlinami pěstovanými v odlišných variantách substrátu i mezi rozdílnými zalévacími režimy. U zálivky se výsledky shodují s předpokladem, že herbivoři budou více preferovat méně tuhé listy. Listy rostlin zalévaných byly jednoznačně tužší v porovnání s listy méně zalévanými. Zalévané listy byly ve výběrových pokus více preferovány. I zde může být tedy tuhost listů jedním z vysvětlení. U odlišných variant substrátu již nejsou výsledky tolik jednoznačné. Výsledky odpovídají předpokladům pouze u listů z rostlin pěstovaných v nejméně úživném substrátu (C). Stejně tak byla tuhost listů nižší

u rostlin pěstovaných v úživném substrátu (A). Tyto rostliny byly ovšem ve výběrových pokusech bezobratlými herbivory nejméně preferovány. Rostliny pěstované v substrátu střední úživnosti měly listy ze všech tří variant substrátu nejtuzší, avšak ve výběrových pokusech byl substrát B spolu se substrátem C nejvíce preferován. Výsledky tuhosti u substrátu tedy nejsou tak jednoznačné jako u druhu rostliny či zalévacího režimu. Celkově ale většina mých výsledků je v souladu s tvrzením, že tužší rostliny jsou herbivory méně konzumovány (Cingolani et al., 2005). Tuhost listů může kromě preferencí herbivorů ovlivnit i jejich vývoj herbivorů. Herbivoři živící se tužšími listy se pomaleji vyvíjeli i rostli (Clissold et al., 2009).

Druhou měřenou funkční vlastností je SLA. I u této funkční vlastnosti je pozorován její vliv na preference herbivorů (Münzbergová & Skuhrovec, 2013). SLA byla signifikantně rozdílná u jednotlivých druhů rostlin a odlišných variant substrátů. SLA se tedy nelišila jen u zalévacího režimu. SLA byla největší u neúživného substrátu (C) a substrátu střední úživnosti (B). Obě tyto varianty byly bezobratlými herbivory nejvíce preferovány. Naopak úživný substrát (A), z něž byly rostliny nejméně preferovány, měl nejmenší SLA. Tyto výsledky odpovídají výše zmiňované vigor hypotéze (Price, 1991). U jednotlivých druhů rostlin již výsledky tuto hypotézu nepodporují. Druh *Centaurea stoebe*, který herbivoři ve výběrovém pokusu nejvíce preferovali, má relativně nízkou SLA v porovnání s ostatními druhy. Naopak největší SLA má druhý druh chrpy (*Centaurea jacea*), který byl naopak herbivory konzumován málo. U pokusů s materiálem nasbíraným v terénu se jednotlivé druhy ve své SLA od sebe prokazatelně nelišily. Avšak průkazně vyšel vliv lokality. SLA se lišila u jednotlivých lokalit, ze kterých byl nasbírán materiál pro výběrové pokusy.

Funkční znaky rostliny byly tedy rozdílné mezidruhově i vnitrodruhově. Andrew & Hughes (2005), našli také vnitrodruhové rozdíly v tuhosti listů a ve SLA s měnící se zeměpisnou šířkou v Austrálii. Oba tyto funkční znaky se snižovaly směrem k tropickým oblastem. Signifikantní rozdíly u tuhosti i SLA u odlišných variant substrátu jen potvrzují, že úživnost substrátu je důležitým způsobem ovlivňuje funkční znaky, které mají vliv na preference herbivorů (Andersen et al., 2010).

Po přidání SLA a tuhosti listů do modelu, se výsledky nezměnily. Vliv druhu rostliny, substrátu i zálivky na preference herbivorů zůstal průkazný. Snížila se však variabilita vysvětlená druhem rostliny, tudíž tuhost listů a SLA vysvětlují část mezidruhové variability. U zahradních pokusů vysvětlil vliv druhu rostliny více variability než vliv prostředí. U pokusů s terénním materiálem vysvětlila nejvíce variability jejich interakce.

6. Závěr

Výsledky výběrových pokusů prokázaly vliv jednotlivých zkoumaných proměnných na preference bezobratlých herbivorů u zahradních experimentů i u experimentů s materiálem nasbíraným v terénu.

U zahradních pokusů byl průkazný vliv substrátu, zalévacího režimu a druhu rostliny na preference bezobratlých herbivorů. Ze všech tří variant substrátů lišících se svou úživností volili herbivoři listy rostlin pěstovaných v méně úživných substrátech. Preference rostlin z méně úživných substrátů odpovídá stres hypotéze (White, 1993), podle které mají rostliny, na které působí enviromentální stres, nižší rezistenci vůči herbivorům. Vliv rozdílného zalévacího režimu na preference herbivorů byl též průkazný. Herbivoři volili jako svou potravu rostliny zalévané v porovnání s rostlinami nezalévanými. Tyto výsledky již stres hypotéze neodpovídají, neb rostliny trpící stresem ze sucha nebyly herbivory konzumovány více než rostliny nestresované. Tyto výsledky naopak podporují vigor hypotézu (Price, 1991), podle které herbivoři preferují rostliny nestresované a rychle rostoucí. U pokusů s materiálem nasbíraným v terénu vyšel průkazně vliv lokality, ze kterých byl materiál pořízen. Výsledky tedy potvrzují vliv vnitrodruhové variability na preference herbivorů.

Průkazný vliv na preference herbivorů měla také mezidruhová variabilita, jelikož vyšel průkazný i vliv druhu rostliny. Vliv druhu byl průkazný u pokusů zahradních i s terénním materiálem.

Pro zjištění vlastností jednotlivých druhů rostliny byla změřena tuhost listů a SLA. SLA byla průkazně rozdílná u všech druhů použitých v zahradních experimentech a jednotlivých variant substrátu. U terénních pokusů se SLA lišila mezi jednotlivými lokalitami. Tuhost listů se lišila u všech zkoumaných proměnných (substrátu, druhu rostliny i zalévacím režimu. Efekt záливky, substrátu a druhu rostliny byl stále průkazný i po přidání SLA a tuhosti do modelu, ale variabilita vysvětlená druhem rostliny se u zahradních pokusů zmenšila o polovinu. Stejně výsledky jsem zjistila i u terénních pokusů, kdy po přidání SLA do modelu zůstal vliv druhu a vliv lokality stále průkazný. Avšak u těchto pokusů klesla přidáním SLA variabilita vysvětlená lokalitou. SLA a tuhost listů tedy vysvětlily část mezidruhové a vnitrodruhové variability. V zahradních experimentech byl silnější vliv druhu v porovnání s vlivem prostředí. U pokusů s materiálem nasbíraným v terénu měla největší vliv jejich interakce.

Na preference bezobratlých herbivorů tedy může mít vliv kromě druhu rostliny i prostředí, ze kterého rostlina pochází.

7. Seznam použité literatury:

- Abela-Hofbauerová, I., Münzbergová, Z., & Skuhrovec, J. (2011). The effect of different natural enemies on the performance of *Cirsium arvense* in its native range. *Weed Research*, *51*(4), 394–403. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2011.00851.x>
- Alba, C., Pioreschi, R., & Quintero, C. (2013). Population and leaf-level variation of iridoid glycosides in the invasive weed *Verbascum thapsus* L. (common mullein): Implications for herbivory by generalist insects. *Chemoecology*, *23*(2), 83–92. <https://doi.org/10.1007/s00049-012-0121-y>
- Andersen, K. M., Corre, M. D., Turner, B. L., & Dalling, J. W. (2010). Plant-soil associations in a lower montane tropical forest: Physiological acclimation and herbivore-mediated responses to nitrogen addition. *Functional Ecology*, *24*(6), 1171–1180. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2010.01731.x>
- Andrew, N. R., & Hughes, L. (2005). Herbivore damage along a latitudinal gradient: relative impacts of different feeding guilds. *Oikos*, *108*(1), 176–182.
- Cárdenas, R. E., Valencia, R., Kraft, N. J. B., Argoti, A., & Dangles, O. (2014). Plant traits predict inter- and intraspecific variation in susceptibility to herbivory in a hyperdiverse Neotropical rain forest tree community. *Journal of Ecology*, *102*(4), 939–952. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12255>
- Cingolani, A. M., Posse, G., & Collantes, M. B. (2005). Plant functional traits, herbivore selectivity and response to sheep grazing in Patagonian steppe grasslands. *Journal of Applied Ecology*, *42*(1), 50–59. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2004.00978.x>
- Clissold, F. J., Sanson, G. D., Read, J., & Simpson, S. J. (2009). Gross vs. net income: How plant toughness affects performance of an insect herbivore. *Ecology*, *90*(12), 3393–3405. <https://doi.org/10.1890/09-0130.1>
- Cobb, N. S., Mopper, S., Gehring, C. A., Caouette, M., Christensen, K. M., & Whitham, T. G. (1997). Increased moth herbivory associated with environmental stress of pinyon pine at local and regional levels. *Oecologia*, *109*(3), 389–397. <https://doi.org/10.1007/s004420050098>
- Coley, P. D. (1987). Interspecific Variation in Plant Anti-Herbivore Properties: the Role of Habitat Quality and Rate of Disturbance. *New Phytologist*, *106*, 251–263.

<https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1987.tb04693.x>

- Cornelissen, T., Wilson Fernandes, G., & Vasconcellos-Neto, J. (2008). Size does matter: Variation in herbivory between and within plants and the plant vigor hypothesis. *Oikos*, *117*(8), 1121–1130. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2008.16588.x>
- Čejka, T., & Hamerlík, L. (2009). Land snails as indicators of soil humidity in Danubian woodland (SW Slovakia). *Polish Journal of Ecology*, *57*(4), 741–747.
- David, P., Lori, L., Rodolfo, Z., & Doug, M. (2000). Environmental and Economic Costs of Nonindigenous Species in the United States. *BioScience*, *50*(1), 53–65.
- Dirzo, R. (1980). Experimental studies on slug-plant interactions: I. The acceptability of thirty plant species to the slug *Agriolimax caruanae*. *The Journal of Ecology*, 981–998.
- Eigenbrode, S. D., Stoner, K. A., Shelton, A. M., & Kain, W. C. (1991). Characteristics of leaf waxes of *Brassica oleracea* associated with resistance to diamondback moth. *Journal of Economic Entomology*, *83*, 1609–1618. <https://doi.org/10.1093/jee/84.5.1609>
- Faria, M. L., & Wilson Fernandes, G. (2001). Vigour of a dioecious shrub and attack by a galling herbivore. *Ecological Entomology*, *26*(1), 37–45. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2311.2001.00291.x>
- Fritz, R. S., Hochwender, C. G., Lewkiewicz, D. A., Bothwell, S., & Orians, C. M. (2001). Seedling herbivory by slugs in a willow hybrid system: Developmental changes in damage, chemical defense, and plant performance. *Oecologia*, *129*(1), 87–97. <https://doi.org/10.1007/s004420100703>
- Gassmann, a, & Louda, S. (2001). *Rhinocyllus conicus*: Initial Evaluation and Subsequent Ecological Impacts in North America. *Evaluating Indirect Ecological Effects of Biological Control*, 147–183. Retrieved from <http://digitalcommons.unl.edu/bioscifacpub/100/>
- Grime, J. P., Cornelissen, J. H. C., Thompson, K., & Hodgson, J. G. (1996). Evidence of a causal connection between anti-herbivore defence and the decomposition rate of leaves. *Oikos*. <https://doi.org/10.2307/3545938>
- Grubb, P. J. (1992). A positive distrust in simplicity—lessons from plant defences and from competition among plants and among animals. *Journal of ecology*, *80*(4), 585–610
- Gutbrodt, B., Mody, K., & Dorn, S. (2011). Drought changes plant chemistry and causes contrasting responses in lepidopteran herbivores. *Oikos*, *120*(11), 1732–1740. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2011.19558.x>
- Huberty, A. F., Denno, R. F., Ecology, S., & May, N. (2004). Plant Water Stress and Its Consequences for Herbivorous Insects : A New Synthesis Plant Water Stress and Its

- Consequences for Herbivorous Insects : A New Synthesis, *85*(5), 1383–1398.
- Inbar, M., Doostdar, H., & Mayer, R. T. (2001). Suitability of stressed and vigorous plants to various insect herbivores. *Oikos*, *94*(2), 228–235. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2001.940203.x>
- Joern, A., & Mole, S. (2005). The plant stress hypothesis and variable responses by blue grama grass (*Bouteloua gracilis*) to water, mineral nitrogen, and insect herbivory. *Journal of Chemical Ecology*, *31*(9), 2069–2090. <https://doi.org/10.1007/s10886-005-6078-3>
- Johnson, M. T. J., Smith, S. D., & Rausher, M. D. (2009). Plant sex and the evolution of plant defenses against herbivores. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *106*(43), 18079–18084. <https://doi.org/10.1073/pnas.0904695106>
- Kautz, S., Trisel, J. A., & Ballhorn, D. J. (2014). Jasmonic Acid Enhances Plant Cyanogenesis and Resistance to Herbivory in Lima Bean. *Journal of Chemical Ecology*, *40*(11–12), 1186–1196. <https://doi.org/10.1007/s10886-014-0524-z>
- Kleine, S., & Müller, C. (2011). Intraspecific plant chemical diversity and its relation to herbivory. *Oecologia*, *166*(1), 175–186. <https://doi.org/10.1007/s00442-010-1827-6>
- Korth, K. L., Doege, S. J., Park, S.-H., Goggin, F. L., Wang, Q., Gomez, S. K., ... Nakata, P. a. (2006). Medicago truncatula mutants demonstrate the role of plant calcium oxalate crystals as an effective defense against chewing insects. *Plant Physiology*, *141*(1), 188–195. <https://doi.org/10.1104/pp.106.076737>
- Lev-Yadun, S. (2003). Weapon (thorn) automimicry and mimicry of aposematic colorful thorns in plants. *Journal of Theoretical Biology*, *224*(2), 183–188. [https://doi.org/10.1016/S0022-5193\(03\)00156-5](https://doi.org/10.1016/S0022-5193(03)00156-5)
- Lev-Yadun, S., & Inbar, M. (2002). Defensive ant, aphid and caterpillar mimicry in plants? *Biological Journal of the Linnean Society*, *77*(3), 393–398. <https://doi.org/10.1046/j.1095-8312.2002.00132.x>
- Louda, S. M., & Collinge, S. K. (1992). Plant resistance to insect herbivores: a field test of the environmental stress hyposthesis. *Ecology*, *73*(1), 153–169. <https://doi.org/10.2307/1938728>
- Maron, J. L., & Combs, J. K. (2002). Convergent Demographic Effects of Insect Attack on Related .pdf, *83*(12), 3382–3392. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2002\)083\[3382:CDEOIA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2002)083[3382:CDEOIA]2.0.CO;2)
- Massey, F. P., Ennos, A. R., & Hartley, S. E. (2006). Silica in grasses as a defence against

- insect herbivores: Contrasting effects on folivores and a phloem feeder. *Journal of Animal Ecology*, 75(2), 595–603. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2006.01082.x>
- Meyer, S. T., Roces, F., & Wirth, R. (2006). Selecting the drought stressed: Effects of plant stress on intraspecific and within-plant herbivory patterns of the leaf-cutting ant *Atta colombica*. *Functional Ecology*, 20(6), 973–981. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2006.01178.x>
- Mithöfer, A., Wanner, G., & Boland, W. (2005). Effects of Feeding *Spodoptera littoralis* on Lima Bean Leaves . II . Continuous Mechanical Wounding Resembling Insect Feeding Is Sufficient to Elicit Herbivory-Related Volatile Emission. *Plant Physiology*, 137(March), 1160–1168. <https://doi.org/10.1104/pp.104.054460.1160>
- Münzbergová, Z., & Skuhrovec, J. (2013). Effect of Habitat Conditions and Plant Traits on Leaf Damage in the Cardioideae Subfamily. *PLoS ONE*, 8(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064639>
- Price, P. W. (1991). The Plant Vigor Hypothesis and Herbivore Attack. *Oikos*, 62(2), 244–251. <https://doi.org/10.2307/3545270>
- Ribeiro Neto, J. D., Pinho, B. X., Meyer, S. T., Wirth, R., & Leal, I. R. (2012). Drought stress drives intraspecific choice of food plants by *Atta* leaf-cutting ants. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 144(2), 209–215. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2012.01283.x>
- Ruhnke, H., Schädler, M., Klotz, S., Matthies, D., & Brandl, R. (2009). Variability in leaf traits, insect herbivory and herbivore performance within and among individuals of four broad-leaved tree species. *Basic and Applied Ecology*, 10(8), 726–736. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2009.06.006>
- Schowalter, T. D., Lightfoot, D. C., & Whitford, W. G. (1999). Diversity of Arthropod Responses to Host-plant Water Stress in a Desert Ecosystem in Southern New Mexico. *The American Midland Naturalist*, 142(2), 281–290. [https://doi.org/10.1674/0003-0031\(1999\)142\[0281:DOARTH\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1674/0003-0031(1999)142[0281:DOARTH]2.0.CO;2)
- Traw, M. B., & Dawson, T. E. (2002). Differential induction of trichomes by three herbivores of black mustard. *Oecologia*, 131(4), 526–532. <https://doi.org/10.1007/s00442-002-0924-6>
- White, T. C. R. (1993). *The Inadequate Environment: Nitrogen and the Abundance of Animals* Springer-Verlag Berlin.
- Willis, J. C., Bohan, D. A., Powers, S. J., Choi, Y. H., Park, J., & Gussin, E. (2008). The importance of temperature and moisture to the egg-laying behaviour of a pest slug,

Deroceras reticulatum. *Annals of Applied Biology*, 153(1), 105–115.
<https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2008.00242.x>

Wittstock, U., & Gershenzon, J. (2002). Constitutive plant toxins and their role in defense against herbivores and pathogens. *Current Opinion in Plant Biology*, 5(4), 300–307.
[https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(02\)00264-9](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(02)00264-9)

Xiang, H., & Chen, J. (2004). Interspecific variation of plant traits associated with resistance to herbivory among four species of *Ficus* (Moraceae). *Annals of Botany*, 94(3), 377–384.
<https://doi.org/10.1093/aob/mch153>