

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**  
**Přírodovědecká fakulta**

**Obsahují vodní makrofyta látky schopné omezit  
růst sinic vodního květu?**

Diplomová práce

**Bc. Nela Marešová**

Školitel: Doc. RNDr. Jan Kaštovský, Ph.D.

České Budějovice 2018

Marešová, N., 2018: Obsahují vodní makrofyty látky schopné omezit růst sinic vodního květu? [Are water macrophytes able to inhibit directly the growth of bloom-forming cyanobacteria? Mgr. Thesis, in Czech.] – 61 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotation:

The effects of extracts from 35 water macrophyte species on the growth of bloom-forming cyanobacteria were investigated to evaluate their potential use as cyanocides in an aquatic ecosystem. For almost all species, two types of extracts were prepared and their impact on the growth of *Microcystis aeruginosa* SAG 46.80 and *Aphanizomenon gracile* CCALA 008 was tested. Bioassays were performed in 96-well microplates and the growth of cyanobacteria was evaluated measuring optical density at 750 nm.

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

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

V Českých Budějovicích, 6. 4. 2018

.....

Nela Marešová

Poděkování:

Děkuji sinicím, že nám umožnily žít na této planetě.

Dále děkuji svému školiteli, Janu Kaštovskému, za pomoc s vypracováním této práce a za pomoc a podporu v nelehkých chvílích během studia. Děkuji Botanickému ústavu AV ČR, v. v. i., v Třeboni za poskytnutí zázemí pro uskutečnění experimentů a Janě Navrátilové za pomoc při odběru rostlinného materiálu ze Sbírký vodních a mokřadních rostlin. Děkuji Alžbětě Vondráškové a Kateřině Čapkové za jejich statečný ponor do hlubin ledových alpských jezer pro parožnatky a Tomáši Hauerovi za jejich determinaci. Děkuji Jaromíru Lukavskému za rady ohledně založení biotestu. Děkuji Josefu Juráňovi za cenné rady a připomínky. Děkuji Janu Lepšovi za pomoc se statistickým zpracováním dat. Děkuji Janu Altmanovi za pomoc se zpracováním dat v R a nekonečnou podporu.

## OBSAH

1	Úvod.....	1
2	Alelopatie ve sladkovodním prostředí.....	2
2.1	Alelopatie.....	2
2.2	Alelopatie mezi vodními makrofyty a sinicemi a řasami .....	3
2.2.1	Metody studia .....	17
3	Cíle práce.....	20
4	Metodika.....	21
4.1	Vodní makrofyta .....	21
4.2	Extrakce .....	21
4.3	Cílové organismy .....	22
4.4	Biotest .....	22
4.5	Statistické vyhodnocení .....	23
5	Výsledky.....	26
6	Diskuze.....	38
6.1	Metodika .....	38
6.2	Výsledky .....	40
7	Závěr.....	46
8	Literatura .....	47

# 1 ÚVOD

Termínem vodní květ je označován stav, kdy dojde k přemnožení planktonních sinic a jejich biomasa je nashromážděna na vodní hladině (Reynolds et Walsby, 1975). Vodní květ je nejčastěji tvořen zástupci rodů *Microcystis*, *Dolichospermum*, *Planktothrix* nebo *Aphanizomenon* (Kalina et Váňa, 2005). Přítomnost vodního květu ve vodní nádrži může negativně ovlivnit fungování a strukturu celého vodního ekosystému a zhoršit kvalitu vody, což je problém především u nádrží využívaných pro rekreační účely nebo jako zdroj pitné vody (Boyd et al., 1978, Paerl et al., 2001). Následně může být ohroženo i zdraví člověka prostřednictvím cyanotoxinů (Chorus et Bartram, 1999).

V rámci evolučního vývoje se u sinic vyvinulo mnoho fyziologických, morfologických a ekologických adaptací, které jim zajišťují mimořádnou přizpůsobivost a životaschopnost a díky kterým mohou převládnout nad řasami ve fytoplanktonu (Carr et Whitton, 1982, Carey et al., 2012). Aby však došlo k přemnožení sinic a následné formaci vodního květu, musí ve vodní nádrži dojít k souhře celé řady příznivých fyzikálních, chemických a biologických faktorů (Paerl et al., 2001). Proto je obtížné predikovat potenciální výskyt vodního květu a následně eliminovat jeho rozvoj.

Za hlavní příčinu masového rozvoje vodního květu bývá ovšem považován vysoký obsah živin ve vodě, především N a P, k jehož razantnímu zvýšení došlo v posledních desetiletích vlivem eutrofizace (Smith et al., 1999). Výskytu vodního květu by tedy bylo možné předejít omezením přítoku živin z povodí (Drábková et Maršálek, 2004), v první řadě fosforu, který je pro sinice limitujícím prvkem (Schindler, 1977). Toto řešení je ovšem časově, technicky a finančně velmi náročné. Proto se hledají jiná opatření, která by zamezila vzniku a následnému rozvoji vodního květu. V dnešní době hojně používané chemické, fyzikální a mechanické metody (Drábková et Maršálek, 2004, Jančula et Maršálek, 2011, Bormans et al., 2015) však mohou představovat zátěž na životní prostředí a negativně ovlivňovat život ostatních vodních organismů. Tudíž se hledají k přírodě šetrnější alternativy. Mezi takové patří biomanipulace, využití různých mikroorganismů nebo přírodních látek s cyanocidním účinkem. Zdrojem takovýchto látek by mohla být vodní makrofyta, která by teoreticky mohla využívat alelopatrii v konkurenčním boji s ostatními primárními producenty ve vodním prostředí.

## 2 ALELOPATIE VE SLADKOVODNÍM PROSTŘEDÍ

Primárními producenty stojatých sladkých vod jsou sinice, řasy a vodní makrofyty. Termínem vodní makrofyty jsou shrnuty makroskopické formy vodní vegetace – vyšší rostliny, makroskopické řasy a několik druhů mechorostů a kapradin. Vodní makrofyty osidlují litorální část vodních nádrží a eufotickou zónu pelagiálu (Wetzel, 2001).

Na základě morfologických, fyziologických a ekologických znaků jsou rozlišovány čtyři základní skupiny vodních makrofyt (Wetzel, 2001):

- 1) Emerzní makrofyty – rostou na vodou nasycené půdě nebo vodou zaplaveném sedimentu do hloubky až 1,5 m, kde jsou přichycena kořeny, ale část stonku a listy jsou vynořené nad vodou.
- 2) Submerzní makrofyty – vyskytují se po celém gradientu eufotické zóny, jejich vegetativní části jsou ponořené pod vodou, většinou jsou přichycena k substrátu.
- 3) Makrofyty s plovoucími listy – jsou přichycena k sedimentu v hloubkách 0,5-3 m pod hladinou, na které mají vynořené listy.
- 4) Volně plovoucí makrofyty – nejsou přichycena k substrátu, vyskytují se při vodní hladině.

Mezi vodními makrofyty a ostatními primárními producenty dochází ve vodě ke kompetici o živiny, světlo a prostor. V rámci evoluce se vyvíjely různé mechanismy a strategie, jakými se mohly zvýhodnit v konkurenčním boji. Jedním z takových mechanismů může být alelopatie.

### 2.1 Alelopatie

Fenomén alelopatie byl pozorován již v době antiky, nicméně tento termín byl poprvé zformulován až Molischem v roce 1937 (Willis, 1985). Molischovo pojetí alelopatie bylo později rozšířeno Ricem (1984), který alelopatii definoval jako „jakýkoliv přímý či nepřímý inhibiční nebo stimulační efekt jedné rostliny (včetně mikroorganismů) na jinou rostlinu (včetně mikroorganismů) skrze vylučování chemických látek do prostředí“. Tyto látky se nazývají alelochemikálie (Leflaive et Ten-Hage, 2007).

Pro alelopatii je příznačné vylučování chemických látek do prostředí, čímž se jasně odlišuje od kompetice. Harper (1977) však konstatoval, že praktické prokázání alelopatie

je patrně nemožné. Willis (1985) definoval 6 podmínek, které musí být experimentálně prokázány, aby bylo možné považovat danou interakci za alelopatickou:

- 1) Musí být vykazována změna v růstu cílového organismu.
- 2) Alelopaticky působící organismus musí produkovat alelochemikálie.
- 3) Alelopaticky působící organismus musí vylučovat alelochemikálie do prostředí.
- 4) Alelochemikálie musí být schopná se v prostředí přenášet nebo se v něm akumulovat.
- 5) Cílový organismus musí alelochemikálii přijímat.
- 6) Musí být vyloučeno, že změnu růstu cílového organismu zapříčinily fyzikální nebo jiné biologické faktory, především kompetice nebo herbivorie.

Většina studií deklarující přítomnost alelopatie u určitých organismů ovšem zdaleka nesplňuje všech šest kritérií. Nejproblematictější je splnění posledního bodu. Inderjit a del Moral (1997) se domnívají, že v přírodních podmínkách je nemožné oddělit alelopatii od kompetice o zdroje.

## 2.2 Alelopatie mezi vodními makrofyty a sinicemi a řasami

Ve vodních ekosystémech lze rozlišit čtyři kategorie potenciálně alelopatických interakcí: vodní makrofyta → sinice a řasy, vodní makrofyta → vodní makrofyta (Gopal et Goel, 1993, Elakovich et Wooten, 1994), sinice a řasy → vodní makrofyta (LeBlanc et al., 2004), sinice a řasy → sinice a řasy (Keating, 1978, Inderjit et Dakshini, 1994, Legrand et al., 2013). Tato práce se zaměřuje pouze na působení vodních makrofyt na sinice nebo řasy.

Schreiter (1928 in Hasler et Jones, 1949) pozorovala v letech 1921-1925 na Máchově jezeře změny ve vývoji fytoplanktonu související s rozvojem nebo ústupem porostu *Elodea canadensis* Michx. Hustota fytoplanktonu byla nižší v dobách, kdy byl porost hojně rozvinutý. Tyto výsledky potvrdili Hasler a Jones (1949) na základě pokusu v mezokosmech, kde pozorovali nižší hustotu planktonu v nádržích s výsadbou *Elodea canadensis* a *Potamogeton foliosus* Raf. Jeppesen (1988) shledal vodní makrofyta jako důležitý stabilizační prvek udržující nízkou hustotu fytoplanktonu a vysokou průhlednost vody v původně oligotrofních mělkých jezerech po zvýšení přísunu živin.

Výzkum zaměřený na studium alelopatie ve vodním prostředí se začal intenzivněji rozvíjet od 80. let minulého století. Z počátku se studie soustředily na popis alelopatických interakcí z čistě ekologického hlediska. V posledních letech převažují studie cílené na využití vodních makrofyt jako prostředku na potlačení nežádoucích vodních plevelů a vodních květů. To s sebou bohužel přináší i fakt, že termín alelopatie je špatně používán a jsou jím ověřené studie zabývající se pouze herbicidními účinky rostlin bez jakékoliv ekologické relevance. A tak se můžeme setkat například se studiemi alelopatického efektu extraktů *Solidago canadensis* L. (Huang et al., 2013), *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle (Meng et al., 2015) nebo rýžové slámy (Hua et al., 2018) na *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing. Pravděpodobnost, že se mohou tyto organismy v přírodě setkat, je nulová, a proto se mi jeví jako nepřipustné považovat tuto uměle vytvořenou interakci za alelopatickou. Směřem, jakým se dnes alelopatický výzkum ubírá, jsou snahy o izolaci a identifikaci účinných látek, ale také snahy o získání poznatků o alelopatických interakcích v přírodních podmínkách.

Od roku 1982 byl v 78 studiích zkoumán efekt celkem 74 druhů vodních makrofyt na růst sinic nebo řas (tab. 1). Nejvíce studií bylo provedeno na zástupcích rodů *Myriophyllum*, *Potamogeton*, *Chara* a *Ceratophyllum*. Většina zkoumaných vodních makrofyt pocházela z Evropy, Číny nebo Japonska.

Porovnáním dat ze všech dostupných publikací se ukazuje zajímavý jev (obr. 1). Téměř polovina zkoumaných druhů vodních makrofyt vykazuje výhradně inhibiční účinek na růst sinic nebo řas. U druhé poloviny druhů výsledný účinek varioval od inhibičního, žádného až po stimulační v závislosti na typu experimentu, druhu nebo kmenu cílového organismu, koncentraci látek nebo na sezóně u *in situ* experimentů. Jediný druh vykazoval výhradně stimulační efekt. Zdá se však, že jednoznačnost výsledků souvisí s počtem publikací zabývajících se studiem jednotlivých druhů. U téměř tří čtvrtin druhů, u kterých byl jednoznačně prokázán inhibiční účinek, byl tento výsledek založen pouze na jediné publikaci. S přibývajícím počtem studií o daném druhu se výsledky více různí a nelze konkretizovat jeho účinek na růst sinic nebo řas. Různorodých výsledků je dosaženo především na základě naprosto odlišné metodiky použité ve studiích. Navíc je popsána metodika mnohdy velmi pochybná a trpí technickými nedostatky a nereprodukovatelností.

Vyvstává také otázka, jestli nemůže být variabilita výsledků v rámci jednoho druhu zapříčiněna také tím, že byly zkoumány různé populace, mnohdy značně geograficky vzdálené. Porovnáme-li například výsledky mezokosmových experimentů z Litvy (Švanys



et al., 2013) a Kanady (Godmaire et Planas, 1986), kde byly v obou případech sledovány rozdíly v primární produkci přírodní směsi fytoplanktonu za přítomnosti a nepřítomnosti *Myriophyllum spicatum*, zjistíme, že jsou výsledky studií protichůdné.

Také otázka synergického efektu vodních makrofyt zůstává diskutabilní. Rojo et al. (2013) shledaly, že výluh ze směsné kultury vodních makrofyt, konkrétně *Chara hispida*, *Chara baltica*, *Chara vulgaris*, *Nitella hyalina* a *Myriophyllum spicatum*, vykazuje silnější inhibiční efekt na fytoplankton v porovnání s výluhem z monokultur. V *in situ* experimentu provedeném Forsbergem et al. (1990) však nebyl zjištěn žádný vliv charové vegetace (*Chara aspera*, *Ch. contraria*, *Ch. globularis*, *Ch. tomentosa* a *Ch. vulgaris*) na biomasu fytoplanktonu.

Jako cílové organismy byli nejčastěji používáni zástupci sinic a zelených řas. Mnoho studií prokázalo, že vodní makrofyta více ovlivňují růst sinic než zelených řas (Jasser, 1995, Körner et Nicklisch, 2002, Berger et Schagerl, 2004). Nejcitlivější reakci na přítomnost alelochemikálií vykazuje *Microcystis aeruginosa* (Nakai 1999, Mulderij et al., 2003, 2005, 2007). Bylo prokázáno, že reakce toxických a netoxických subpopulací *M. aeruginosa* na přítomnost vodních makrofyt se neliší (Švanys et al., 2013). Menší sensitivita byla zjištěna u kmenů *M. aeruginosa*, které tvořily kompaktní kolonie, než u kmenů rozpadlých na jednotlivé buňky (Zhao et al., 2013).

Ačkoliv bylo studiu interakcí mezi vodními makrofyty a sinicemi nebo řasami věnováno v posledních desetiletích hodně pozornosti, výsledná data lze stěží porovnat a vyvozovat z nich nějaké obecné závěry, především z důvodu rozličných metodických přístupů. Chceme-li odhalit základní principy, musíme postupovat nejprve od aplikace jednotné metodiky na široké spektrum druhů vodních makrofyt. Teprve po tom, až budeme mít k dispozici srovnávací materiál, se můžeme zaměřit na hlubší a zevrubnější studium vybraných druhů.

Tab. 1: Seznam alelopaticky působících vodních makrofyt na sinice nebo řasy. I = inhibiční, S = stimulační, Ž = žádný, DDT = diskový difúzní test, exp. = experiment, \* v závislosti na koncentraci, \*\* v závislosti na druhu/kmenu cílového organismu, \*\*\* v závislosti na sezóně, \*\*\*\* v závislosti na typu extraktu/frakce, \*\*\*\*\* abstrakt.

Druh	Efekt	Původ	Metoda	Cílový organismus				Zdroj
				Sinice vodního květu	Ostatní sinice	Řasy	Fyto-plankton	
<i>Acorus calamus</i> L.	I	Čína	extrakty	×			×	Zhang et al., 2015
	I	Čína	koexistenční exp.	×				Zhao et al., 2013
<i>Acorus gramineus</i> Sol. ex Aiton	I	Itálie	frakce	×	×	×		DellaGreca et al., 1989
	I	Japonsko	extrakt	×				Nakai et al., 2010
<i>Acorus tatarinowii</i> Schott	I/S*	Čína	výluh				×	He et al., 2001
<i>Alternanthera philoxeroides</i> (Mart.) Griseb.	I	Čína	výluh			×		Ziwen et al., 1992 *****
<i>Azolla imbricata</i> (Roxb. ex Griff.) Nakai	I	Čína	výluh			×		Ziwen et al., 1992 *****
<i>Brasenia schreberi</i> J. F. Gmel.	I	USA	extrakt	×		×		Elakovich et Wooten, 1987
<i>Cabomba cariloniana</i> A. Gray	I	Japonsko	koexistenční exp.	×				Nakai et al., 1999
<i>Ceratophyllum demersum</i> L.	S	Polsko	dialyzační membrána		×			Jasser, 1995
	Ž	Polsko	dialyzační membrána	×		×		Jasser, 1995
	I	Polsko	dialyzační membrána			×		Jasser, 1995
	I	Čína	koexistenční exp.	×				Xian et al., 2007
	I	Polsko	extrakt	×	×			Jasser, 1995
	S/Ž**	Polsko	extrakt			×		Jasser, 1995
	S	Polsko	<i>in situ</i> exp.	×	×	×		Celewicz-Goldyn, 2010
	I	Polsko	<i>in situ</i> exp.			×		Celewicz-Goldyn, 2010
I	Polsko	<i>in situ</i> exp.	×	×			Jasser, 1995	

Tab. 1 – pokračování: I = inhibiční, S = stimulační, Ž = žádný, DDT = diskový difúzní test, exp. = experiment, \* v závislosti na koncentraci, \*\* v závislosti na druhu/kmenu cílového organismu, \*\*\* v závislosti na sezóně, \*\*\*\* v závislosti na typu extraktu/frakce, \*\*\*\*\* abstrakt.

Druh	Efekt	Původ	Metoda	Cílový organismus				Zdroj
				Sinice vodního květu	Ostatní sinice	Řasy	Fyto- plankton	
<i>Ceratophyllum demersum</i> L.	S/Ž**	Polsko	<i>in situ</i> exp.			×		Jasser, 1995
	I	Německo	dialyzační membrána	×	×	×		Körner et Nicklisch, 2002
	I	Německo	DDT – extrakt	×	×			Gross et al., 2003
	I	Japonsko	koexistenční exp.	×				Nakai et al., 1999
	I/S*****	Egypt	extrakty	×				Ghobrial et al., 2015
I/S*****	Egypt	extrakty	×				El-Sheekh et al., 2017	
<i>Ceratophyllum oryzetorum</i> Kom.	S	Čína	koexistenční exp.	×				Li et al., 2009
<i>Ceratophyllum submersum</i> L.	I/S*****	Egypt	extrakty	×				El-Sheekh et al., 2017
<i>Egeria densa</i> Planch.	I/S*****	Egypt	extrakty	×				El-Sheekh et al., 2017
	I	Japonsko	koexistenční exp.	×				Nakai et al., 1999
	I	Mexiko	koexistenční exp.			×		Espinosa-Rodríguez et al., 2016
	S	Mexiko	izolovaná látka			×		Espinosa-Rodríguez et al., 2016
	I	Uruguay	<i>in situ</i> exp.				×	Vanderstukken et al., 2011
<i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms	I	Čína	koexistenční exp.	×				Zhou et al., 2014
	I	Egypt	DDT – extrakt, frakce			×		Shanab et al., 2010
	Ž	Egypt	DDT – extrakt, frakce		×	×		Shanab et al., 2010
	I/Ž**	Itálie	frakce			×		DellaGreca et al., 1992
<i>Eleocharis microcarpa</i> Torr.	I	USA	extrakt	×				van Aller et al., 1985
<i>Eleocharis acicularis</i> (L.) Roem. & Schult.	I	Japonsko	koexistenční exp.	×				Nakai et al., 1999

Tab. 1 – pokračování: I = inhibiční, S = stimulační, Ž = žádný, DDT = diskový difúzní test, exp. = experiment, \* v závislosti na koncentraci, \*\* v závislosti na druhu/kmenu cílového organismu, \*\*\* v závislosti na sezóně, \*\*\*\* v závislosti na typu extraktu/frakce, \*\*\*\*\* abstrakt.

Druh	Efekt	Původ	Metoda	Cílový organismus				Zdroj
				Sinice vodního květu	Ostatní sinice	Řasy	Fyto- plankton	
<i>Eloдея canadensis</i> Michx.	I	Německo	extrakt, frakce, DDT – extrakt, frakce	×	×	×		Erhard et Gross, 2006
	S	Německo	extrakt, frakce, DDT – extrakt, frakce			×		Erhard et Gross, 2006
	I	Nizozemsko	koexistenční exp., výluh			×		Lüring et al., 2006
<i>Eloдея nuttallii</i> (Planch.) H. St. John	I	Německo	extrakt, frakce,	×	×	×		Erhard et Gross, 2006
	S	Německo	extrakt, frakce,			×		Erhard et Gross, 2006
	I	Nizozemsko	<i>in situ</i> exp.				×	Vanderstukken et al., 2014
<i>Hydrilla verticillata</i> (L.f.) Royle	I	Čína	extrakty	×			×	Zhang et al., 2012
	I	Čína	frakce	×				Gao et al., 2011
	I	Čína	výluh	×				Wang et al., 2006 *****
<i>Chara aspera</i> C. L. Willdenow	I	Rakousko	DDT – čerstvá část, extrakt, frakce	×	×			Berger et Schagerl, 2003
	I	Rakousko	DDT – čerstvá část, extrakt		×	×		Mähnert et al., 2017
	I	Rakousko	DDT – čerstvá část, extrakt	×	×			Berger et Schagerl, 2004
	Ž	Rakousko	DDT – čerstvá část, extrakt			×		Berger et Schagerl, 2004
<i>Chara australis</i> R. Brown	I	Austrálie	DDT – extrakt	×				Pakdel et al., 2013
	Ž	Austrálie	DDT – extrakt			×		Pakdel et al., 2013

Tab. 1 – pokračování: I = inhibiční, S = stimulační, Ž = žádný, DDT = diskový difúzní test, exp. = experiment, \* v závislosti na koncentraci, \*\* v závislosti na druhu/kmenu cílového organismu, \*\*\* v závislosti na sezóně, \*\*\*\* v závislosti na typu extraktu/frakce, \*\*\*\*\* abstrakt.

Druh	Efekt	Původ	Metoda	Cílový organismus				Zdroj
				Sinice vodního květu	Ostatní sinice	Řasy	Fyto- plankton	
<i>Chara baltica</i> (C. J. Hartmann) Bruzelius	I	Španělsko	výluh				×	Rojo et al., 2013
<i>Chara contraria</i> A. Braun ex Kützing	I	Rakousko	DDT – čerstvá část	×	×			Berger et Schagerl, 2004
	Ž	Rakousko	DDT – čerstvá část			×		Berger et Schagerl, 2004
<i>Chara globularis</i> Thuiller	I	Polsko	extrakt	×	×			Jasser, 1995
	S	Polsko	extrakt			×		Jasser, 1995
	I	Rakousko	DDT – čerstvá část, extrakt	×	×			Berger et Schagerl, 2004
	Ž	Rakousko	DDT – čerstvá část, extrakt			×		Berger et Schagerl, 2004
	I	Dánsko	izolované látky			×		Wium-Andersen et al., 1982
	I	Rakousko	DDT – čerstvá část, extrakt		×	×		Mähnert et al., 2017
	I	Nizozemsko	koexistenční exp.			×		Lürling et al., 2006
	Ž	Nizozemsko	výluh			×		Lürling et al., 2006
<i>Chara hispida</i> Linnaeus	I	Španělsko	výluh				×	Rojo et al., 2013
<i>Chara polyacantha</i> A. Braun	I	Rakousko	DDT – čerstvá část	×	×			Berger et Schagerl, 2004
	Ž	Rakousko	DDT – čerstvá část			×		Berger et Schagerl, 2004
<i>Chara rudis</i> (A. Braun) Leonhardi	I	Rakousko	DDT – čerstvá část, extrakt		×	×		Mähnert et al., 2017
	I	Rakousko	DDT – čerstvá část	×	×			Berger et Schagerl, 2004
	Ž	Rakousko	DDT – čerstvá část			×		Berger et Schagerl, 2004

Tab. 1 – pokračování: I = inhibiční, S = stimulační, Ž = žádný, DDT = diskový difúzní test, exp. = experiment, \* v závislosti na koncentraci, \*\* v závislosti na druhu/kmenu cílového organismu, \*\*\* v závislosti na sezóně, \*\*\*\* v závislosti na typu extraktu/frakce, \*\*\*\*\* abstrakt.

Druh	Efekt	Původ	Metoda	Cílový organismus				Zdroj
				Sinice vodního květu	Ostatní sinice	Řasy	Fyto- plankton	
<i>Chara tomentosa</i> Linnaeus	I	Rakousko	DDT – čerstvá část	×	×			Berger et Schagerl, 2004
	Ž	Rakousko	DDT – čerstvá část			×		Berger et Schagerl, 2004
	I	Rakousko	DDT – čerstvá část, extrakt		×	×		Mähnert et al., 2017
<i>Chara virgata</i> Kützing	I	Rakousko	DDT – čerstvá část	×	×			Berger et Schagerl, 2004
	Ž	Rakousko	DDT – čerstvá část			×		Berger et Schagerl, 2004
<i>Chara vulgaris</i> C. L. Willdenow	I	Rakousko	DDT – čerstvá část	×	×			Berger et Schagerl, 2004
	Ž	Rakousko	DDT – čerstvá část			×		Berger et Schagerl, 2004
	I	Španělsko	výluh				×	Rojo et al., 2013
<i>Chara aspera</i> + <i>Ch. contraria</i> + <i>Ch. globularis</i> + <i>Ch. tomentosa</i> + <i>Ch. vulgaris</i> (směs)	Ž	Švédsko	<i>in situ</i> exp.				×	Forsberg et al., 1990
<i>Chara contraria</i> + <i>Ch. globularis</i> (směs)	I/Ž**	Nizozemsko	výluh			×		Mulderij et al., 2003
<i>Ipomoea aquatica</i> Forssk.	I	Nigérie	<i>in situ</i> exp.			×		Chia et al., 2012
	S	Nigérie	<i>in situ</i> exp.	×		×		Chia et al., 2012
<i>Iris pseudacorus</i> L.	I	Čína	extrakt, výluh	×				Shan et al., 2015
	I	Japonsko	extrakt	×				Nakai et al., 2010
<i>Juncus effusus</i> L.	I	Itálie	syntetizovaná látka			×		DellaGreca et al., 2001a
	I	Itálie	frakce			×		DellaGreca et al., 1996
<i>Lemna minor</i> L.	I	Čína	výluh			×		Ziwen et al., 1992 *****
<i>Linnophila sessiliflora</i> Blume	I	Japonsko	koexistenční exp.	×				Nakai et al., 1999

Tab. 1 – pokračování: I = inhibiční, S = stimulační, Ž = žádný, DDT = diskový difúzní test, exp. = experiment, \* v závislosti na koncentraci, \*\* v závislosti na druhu/kmenu cílového organismu, \*\*\* v závislosti na sezóně, \*\*\*\* v závislosti na typu extraktu/frakce, \*\*\*\*\* abstrakt.

Druh	Efekt	Původ	Metoda	Cílový organismus				Zdroj
				Sinice vodního květu	Ostatní sinice	Řasy	Fyto- plankton	
<i>Myriophyllum aquaticum</i> (Vell.) Verdc.	I	Čína	výluh	×				Cheng et al., 2008
	I/S**	Čína	výluh	×				Wang et al., 2017
	I	Čína	koexistenční exp.	×				Wang et al., 2017
<i>Myriophyllum brasiliense</i> Cambess.	I	Japonsko	extrakt	×				Saito et al., 1989
<i>Myriophyllum spicatum</i> L.	I	Německo	extrakt, izolovaná látka		×			Leu et al., 2002
	I	Japonsko	frakce	×				Nakai et al., 2000
	I	Japonsko	frakce	×				Nakai et al., 2005
	I	komerčně zakoupeno	izolované látky	×				Nakai et al., 2014
	I	komerčně zakoupeno	izolovaná látka	×				Sun et al., 2014
	I	Litva	koexistenční exp.				×	Švanys et al., 2013
	I	Japonsko	koexistenční exp.	×				Nakai et al., 1999
	I	Německo	dialyzační membrána	×	×	×		Körner et Nicklisch, 2002
	I	Polsko	extrakt	×	×			Jasser, 1995
	S	Polsko	extrakt			×		Jasser, 1995
	I	Německo	DDT – izolovaná látka		×			Gross et al., 1996
	I	Čína	koexistenční exp., izolovaná látka	×				Zhu et al., 2010
	Ž	Čína	koexistenční exp., izolovaná látka			×		Zhu et al., 2010

Tab. 1 – pokračování: I = inhibiční, S = stimulační, Ž = žádný, DDT = diskový difúzní test, exp. = experiment, \* v závislosti na koncentraci, \*\* v závislosti na druhu/kmenu cílového organismu, \*\*\* v závislosti na sezóně, \*\*\*\* v závislosti na typu extraktu/frakce, \*\*\*\*\* abstrakt.

Druh	Efekt	Původ	Metoda	Cílový organismus				Zdroj
				Sinice vodního květu	Ostatní sinice	Řasy	Fyto- plankton	
<i>Myriophyllum spicatum</i> L.	I	Nizozemsko	koexistenční exp.			×		Lürling et al., 2006
	Ž	Nizozemsko	výluh			×		Lürling et al., 2006
	S	Kanada	<i>in situ</i> exp.				×	Godmaire et Planas, 1986
<i>Myriophyllum verticillatum</i> L.	I	Německo	DDT – extrakt		×			Hilt et al., 2006
	I/S***	Německo	<i>in situ</i> exp.			×		Hilt et al., 2006
	Ž	Německo	<i>in situ</i> exp.		×			Hilt et al., 2006
	I	Itálie	frakce		×			Aliotta et al., 1992
<i>Najas marina</i> L.	I	Německo	DDT – extrakt, frakce	×				Bauer et al., 2009
	I	Německo	DDT – extrakt	×	×			Gross et al., 2003
<i>Najas minor</i> All.	I	Čína	výluh	×		×	×	Zhang et al., 2014
	Ž	Čína	výluh			×		Zhang et al., 2014
<i>Nasturtium officinale</i> W. T. Aiton Hortus Kew.	S	Čína	výluh			×		Ziwen et al., 1992 *****
<i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn.	I	Čína	extrakty	×		×		He et al., 2013 *****
<i>Nitella cf. gracilis</i> (J. E. Smith) C. Agardh	I	Rakousko	DDT – čerstvá část	×	×			Berger et Schagerl, 2004
	Ž	Rakousko	DDT – čerstvá část			×		Berger et Schagerl, 2004
<i>Nitella hyalina</i> (De Candolle) C. Agardh	I	Španělsko	výluh				×	Rojo et al., 2013
<i>Nitella opaca</i> (C. Agardh ex Bruzelius) C. Agardh	I	Rakousko	DDT – čerstvá část	×	×			Berger et Schagerl, 2004
	Ž	Rakousko	DDT – čerstvá část			×		Berger et Schagerl, 2004
<i>Nitellopsis obtusa</i> (N. A. Desvaux) J. Groves	I	Rakousko, Maďarsko	DDT – čerstvá část, extrakt	×	×			Berger et Schagerl, 2004



Tab. 1 – pokračování: I = inhibiční, S = stimulační, Ž = žádný, DDT = diskový difúzní test, exp. = experiment, \* v závislosti na koncentraci, \*\* v závislosti na druhu/kmenu cílového organismu, \*\*\* v závislosti na sezóně, \*\*\*\* v závislosti na typu extraktu/frakce, \*\*\*\*\* abstrakt.

Druh	Efekt	Původ	Metoda	Cílový organismus				Zdroj
				Sinice vodního květu	Ostatní sinice	Řasy	Fyto- plankton	
<i>Nitellopsis obtusa</i> (N. A. Desvaux) J. Groves	Ž	Rakousko, Maďarsko	DDT – čerstvá část, extrakt			×		Berger et Schagerl, 2004
<i>Nuphar lutea</i> (L.) Sm.	I	Německo	frakce			×		
	Ž	Německo	frakce		×			Sütfeld et al., 1996
<i>Nymphoides peltata</i> (S. G. Gmel.) Kuntze	I	Čína	koexistenční exp.				×	Wang et al., 2010 *****
<i>Oenanthe javanica</i> (Blume) DC.	I/S*****	Čína	extrakty	×				Zhang et al., 2015
	Ž	Čína	extrakty				×	Zhang et al., 2015
	I/Ž**	Čína	koexistenční exp.	×				Zhao et al., 2013
<i>Phragmites australis</i> (Cav.) Trin. ex Steud.	I	Japonsko	extrakt	×				Nakai et al., 2010
<i>Phragmites communis</i> Trin.	I	Čína	frakce	×		×		Li et Hu, 2005
	Ž	Čína	frakce			×		Li et Hu, 2005
<i>Pistia stratiotes</i> L.	I	Čína	výluh			×		Ziwen et al., 1992 *****
	I/Ž*****	Itálie	extrakty, frakce	×	×	×		Aliotta et al., 1991
	I	Čína	frakce	×				Wu et al., 2013
<i>Pontederia cordata</i> L.	I/Ž**	Čína	koexistenční exp.	×				Zhao et al., 2013
<i>Potamogeton crispus</i> L.	I	Austrálie	DDT – extrakt	×				Pakdel et al., 2013
	Ž	Austrálie	DDT – extrakt			×		Pakdel et al., 2013
	Ž	Čína	extrakt, výluh	×				Shan et al., 2015
	Ž	Japonsko	koexistenční exp.	×				Nakai et al., 1999

Tab. 1 – pokračování: I = inhibiční, S = stimulační, Ž = žádný, DDT = diskový difúzní test, exp. = experiment, \* v závislosti na koncentraci, \*\* v závislosti na druhu/kmenu cílového organismu, \*\*\* v závislosti na sezóně, \*\*\*\* v závislosti na typu extraktu/frakce, \*\*\*\*\* abstrakt.

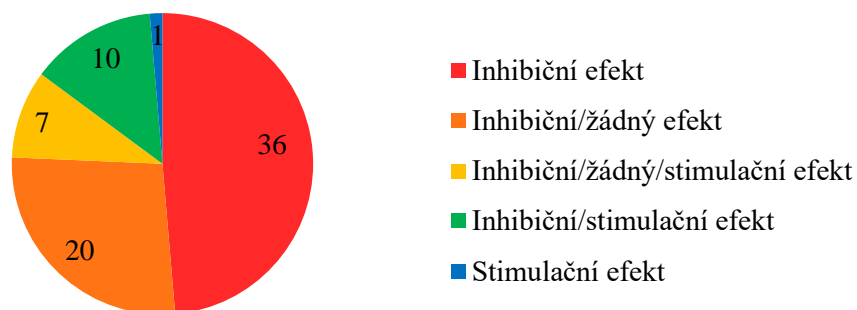
Druh	Efekt	Původ	Metoda	Cílový organismus				Zdroj
				Sinice vodního květu	Ostatní sinice	Řasy	Fyto- plankton	
<i>Potamogeton illinoensis</i> Morong	I	Uruguay	<i>in situ</i> exp.				×	Vanderstukken et al., 2011
<i>Potamogeton lucens</i> L.	I	Polsko	extrakt	×	×			Jasser, 1995
	S	Polsko	extrakt			×		Jasser, 1995
<i>Potamogeton maackianus</i> A. Benn.	I	Čína	frakce	×				Wang et al., 2010 *****
<i>Potamogeton malaianus</i> Miq.	I	Čína	frakce	×				Wang et al., 2010 *****
	I	Čína	koexistenční exp., výluh			×		Wu et al., 2007
<i>Potamogeton natans</i> L.	I/S*****	Itálie	frakce			×		Cangiano et al., 2001
	I	Itálie	frakce			×		DellaGreca et al., 2001b
<i>Potamogeton oxyphyllus</i> Miq.	I	Japonsko	koexistenční exp.	×				Nakai et al., 1999
<i>Potamogeton pectinatus</i> L.	Ž	Německo	dialyzační membrána	×	×	×		Körner et Nicklisch, 2002
	I	Švýcarsko	izolovaná látka			×		Waridel et al., 2003
	I	Egypt	extrakty	×				Ghobrial et al., 2015
<i>Potamogeton pusillus</i> L.	I	Japonsko	výluh	×				Takeda et al., 2011
<i>Potamogeton schweinfurthii</i> A. Benn.	I	Etiopie	<i>in situ</i> exp., extrakt				×	Tamire et al., 2016
<i>Ruppia maritima</i> L.	I	Čína	koexistenční exp., výluh			×		Wang et al., 2007 *****
	I	Itálie	izolovaná látka			×		DellaGreca, 2000
<i>Sagittaria sagittifolia</i> L.	I	Čína	koexistenční exp.	×				Zhao et al., 2013
	Ž	Čína	extrakt	×			×	Zhang et al., 2015
<i>Sagittaria trifolia</i> L.	I	Čína	extrakt	×				Li et al., 2006

Tab. 1 – pokračování: I = inhibiční, S = stimulační, Ž = žádný, DDT = diskový difúzní test, exp. = experiment, \* v závislosti na koncentraci, \*\* v závislosti na druhu/kmenu cílového organismu, \*\*\* v závislosti na sezóně, \*\*\*\* v závislosti na typu extraktu/frakce, \*\*\*\*\* abstrakt.

Druh	Efekt	Původ	Metoda	Cílový organismus				Zdroj
				Sinice vodního květu	Ostatní sinice	Řasy	Fyto-plankton	
<i>Scirpus tabernaemontani</i> C. C. Gmel.	I	Japonsko	extrakt	×				Nakai et al., 2010
<i>Scirpus validus</i> Vahl	I	Čína	koexistenční exp.	×				Zhao et al., 2013
<i>Spirodela polyrhiza</i> (L.) Schleid.	I	Čína	výluh			×		Ziwen et al., 1992 *****
<i>Stratiotes aloides</i> L.	I	Egypt	extrakt	×				Mohamed et Al Shehri, 2010
	S/Ž**	Egypt	extrakt		×			Mohamed et Al Shehri, 2010
	I	Nizozemsko	výluh	×		×		Mulderij et al., 2005
	Ž	Nizozemsko	koexistenční exp.				×	Mulderij et al., 2006
	I	Rumunsko	<i>in situ</i> exp.				×	Mulderij et al., 2006
	I	Nizozemsko	DDT – extrakt, frakce, výluh	×				Mulderij et al., 2007
	I	Nizozemsko	výluh		×			Mulderij et al., 2007
	I/S/Ž**	Nizozemsko	extrakt	×		×		Mulderij et al., 2007
	I	Polsko	extrakt	×	×			Jasser, 1995
S	Polsko	extrakt			×		Jasser, 1995	
<i>Typha angustifolia</i> L.	I	Japonsko	extrakt	×				Nakai et al., 2010
	I	Čína	extrakt, izolovaná látka				×	Zhang et al., 2012
<i>Typha orientalis</i> C. Presl	I/Ž**	Čína	koexistenční exp.	×				Zhao et al., 2013
<i>Typha latifolia</i> L.	I	Itálie	izolovaná látka	×		×		DellaGreca et al., 1990
	I	Itálie	extrakt, izolované látky	×	×	×		Aliotta et al., 1990

Tab. 1 – pokračování: I = inhibiční, S = stimulační, Ž = žádný, DDT = diskový difúzní test, exp. = experiment, \* v závislosti na koncentraci, \*\* v závislosti na druhu/kmenu cílového organismu, \*\*\* v závislosti na sezóně, \*\*\*\* v závislosti na typu extraktu/frakce, \*\*\*\*\* abstrakt.

Druh	Efekt	Původ	Metoda	Cílový organismus				Zdroj
				Sinice vodního květu	Ostatní sinice	Řasy	Fyto-plankton	
<i>Utricularia reflexa</i> Oliv.	I	Nigérie	<i>in situ</i> exp.			×		Chia et al., 2012
	S	Nigérie	<i>in situ</i> exp.	×		×		Chia et al., 2012
<i>Vallisneria denseserrulata</i> (Makino) Makino	I	Japonsko	koexistenční exp.	×				Nakai et al., 1999
<i>Vallisneria spiralis</i> L.	I	Čína	extrakt, frakce	×		×		Xian et al., 2006
	I	Čína	frakce	×				Gao et al., 2011



Obr. 1: Počet druhů vodních makrofyt, u kterých byl zaznamenán ve všech studiích výhradně inhibiční nebo stimulační efekt na růst sinic/řas a u kterých se účinek lišil od inhibičního až po stimulační mezi různými studiemi nebo v rámci jednotlivých studií v závislosti na typu experimentu, druhu cílového organismu, koncentraci látek nebo na sezóně.

## **2.2.1 Metody studia**

Existuje celá řada metod, pomocí kterých lze zkoumat potenciálně alelopatické interakce mezi vodními makrofyty a sinicemi nebo řasami. Žádná z běžně používaných metod ovšem sama o sobě nestačí, aby mohla být na jejím základě jednoznačně potvrzena alelopatie. Uspokojivých výsledků lze dosáhnout pouze kombinací více různých metod.

### **2.2.1.1 Experimenty v laboratorních podmínkách**

Většina experimentů je prováděna v laboratorních podmínkách. To umožňuje vytvořit zjednodušené modely procesů, ve kterých lze eliminovat některé nežádoucí vlivy. Dalším pozitivem je možnost regulace podmínek prostředí.

#### **a) Experimenty s přidavkem extraktů**

Čerstvá nebo usušená biomasa vodních makrofyt je extrahována v rozpouštědle po určitou dobu. Následně je směs zfiltrována a filtrát se přidá k cílovému organismu (Gross et al., 2007). Jako extrakční činidla se nejčastěji používají organická rozpouštědla nebo destilovaná voda. Voda tvoří prostředí, ve kterém vodní makrofyta žijí a do kterého vylučují sekundární metabolity. Proto se dá považovat za vhodnější a přirozenější rozpouštědlo. Navzdory tomu, destilovaná voda může způsobit změnu osmotického tlaku v buňkách cílového organismu, a tím zapříčinit jeho úhyn. Organická rozpouštědla dobře rozpouští látky lipofilní povahy. Takové látky by mohly být makrofyty mířeny na organismy vyskytující se v jejich těsné blízkosti, například epifytní organismy (Gross, 2003).

Výhodou používání extraktů z vodních makrofyt je možnost standardizace metody. Tak může být snadno porovnán účinek různých druhů nebo sezónní a populační změny v rámci jednoho druhu (Gross et al., 2007). Také je vyloučena možnost, že změna růstu cílového organismu byla zapříčiněna kompeticí o živiny. Navíc lze extrakty rozdělit pomocí chromatografie na různé frakce a následně izolovat a identifikovat jednotlivé účinné látky. Nevýhodou používání extraktů je, že nelze prokázat, zda rostlina za své existence dané látky aktivně vylučuje do prostředí.

## **b) Experimenty s přidavkem výluhů**

Zfiltrovaná voda, ve které byla vodní makrofyta kultivována, se přidá k cílovému organismu. Jako kontrola se použije stejná voda, jaká byla použita pro kultivaci. Další možností je přidat k cílovému organismu přefiltrovanou vodu z přirozeného stanoviště hustého porostu vodních makrofyt a jako kontrolu použít vodu z části nádrže, kde se makrofyta nevyskytují (Gross et al., 2007). Negativním faktorem by mohla být stejně jako u používání extraktů degradace aktivních látek v závislosti na různých podmínkách, která může být přehlížena.

## **c) Diskový difúzní test**

Diskový difúzní test se běžně používá pro stanovení citlivosti bakteriálního kmene vůči antibiotiku. Jeho modifikací lze získat jednoduchou metodu, jak sledovat účinek vodních makrofyt na kulturu sinic či řas. Petriho misky jsou naplněny kultivačním médiem s přidavkem agaru. Na misky s médiem je rovnoměrně inokulována homogenní kultura sinic nebo řas, na kterou se položí čerstvá část těla/stélky vodních makrofyt nebo se přikape jejich extrakt/frakce. Účinek vodních makrofyt je vyhodnocen podle toho, zda se kolem nich po inkubaci vytvoří inhibiční zóna růstu kultury, a podle její velikosti (Berger et Schagerl, 2004, Mulderij et al., 2007).

## **d) Koexistenční experimenty**

Cílový organismus je kultivován společně se zkoumaným druhem vodních makrofyt a jako kontrola je kultivován cílový organismus samotný. Výsledek se získá porovnáním růstu těchto dvou kultivací. Zjistíme tak, jaká interakce probíhá mezi danými organismy.

Koexistenční experiment sám o sobě nestačí jako důkaz alelopatie. Nelze vyloučit, že sledovaná interakce byla zapříčiněna jinými vlivy, např. činností jiných organismů přítomných v kultivaci nebo kompeticí o zdroje (Gross et al., 2007). Aby se snížila pravděpodobnost vlivu kompetice o živiny, někteří autoři (Hilt et Lombardo, 2010, Mulderij et al., 2005, Vanderstukken et al., 2011) provádějí testy za vysokých koncentrací živin, ačkoliv citlivost řas a sinic je pravděpodobně vyšší za stresových podmínek (Reigosa et al., 1999).

### e) Experimenty v dialyzačních membránách

Jedná se o formu koexistenčního testu, kde jsou zkoumaný a cílový organismus od sebe fyzicky odděleny dialyzační membránou, která umožní průchod pouze nízkomolekulárním látkám. Výhodou této metody je, že lze zkoumat působení nesterilizovaného druhu vodních makrofyt na axenickou kulturu sinice nebo řasy.

Měl by být kladen zřetel na výběr dialyzační membrány. Některé materiály, ze kterých se membrány komerčně vyrábějí, mohou obsahovat toxické látky, které mohou být při použití vylučovány do vody. Důležité je také správně odhadnout velikost pórů membrány, aby mohly skrz procházet aktivní látky (Gross et al., 2007).

#### 2.2.1.2 Experimenty v přírodních podmínkách

*In situ* experimenty mohou vypovídat o tom, jak děje reálně probíhají. Nicméně v natolik složitém systému, jakým je vodní ekosystém, lze stěží zaznamenat a zhodnotit všechny působící faktory a získat jasnou odpověď na to, co děj zapříčinilo.

### **3 CÍLE PRÁCE**

Hlavním cílem této práce je zjistit, jaký účinek mají extrakty různých druhů vodních makrofyt na růst sinic vodního květu.



## **4 METODIKA**

### **4.1 Vodní makrofyta**

Biomasa 35 druhů vodních makrofyt byla získána z přírodních lokalit nebo ze Sbírký vodních a mokřadních rostlin BÚ AV ČR, v. v. i., v Třeboni v období červen-září 2016 a srpen-září 2017 (tab. 2). Stonky a listy/stélky byly důkladně omyty od nežádoucích organických zbytků, usušeny v horkovzdušné sušárně při teplotě 45 °C a pro dlouhodobé uchování byly hluboce zmraženy při -85 °C.

### **4.2 Extrakce**

Ze sušiny jednotlivých druhů vodních makrofyt byly připraveny dva typy extraktů, extrakt v mediu BG-11 (Stanier et al., 1971) a ethanolový extrakt. V případě, že bylo u některých druhů k dispozici pouze malé množství biomasy, které by nestačilo na přípravu obou typů extraktů, byl připraven jen BG-11 extrakt (tab. 2).

#### **a) Příprava BG-11 extraktu**

2,5 g rozmělněné sušiny bylo extrahováno ve 100 ml media BG-11 po dobu 24 h při pokojové teplotě. Extrakty byly zfiltrány přes filtrační papír a sterilizovány přes 0,22 $\mu$ m sterilní membránový stříkačkový filtr (Rotilabo®). Pro dlouhodobé uchování byly extrakty zmraženy při -18 °C.

#### **b) Příprava ethanolového extraktu**

2,5 g rozmělněné sušiny bylo extrahováno ve 100 ml 70% obecně denaturovaného ethanolu po dobu 24 h při pokojové teplotě. Ethanol byl ze směsi odpařen ve vodní lázni a zbytek byl rozpuštěn v mediu BG-11 do výsledného objemu 100 ml. Extrakty byly zfiltrány přes filtrační papír a sterilizovány přes 0,22 $\mu$ m sterilní membránový stříkačkový filtr (Rotilabo®). Pro dlouhodobé uchování byly extrakty zmraženy při -18 °C.

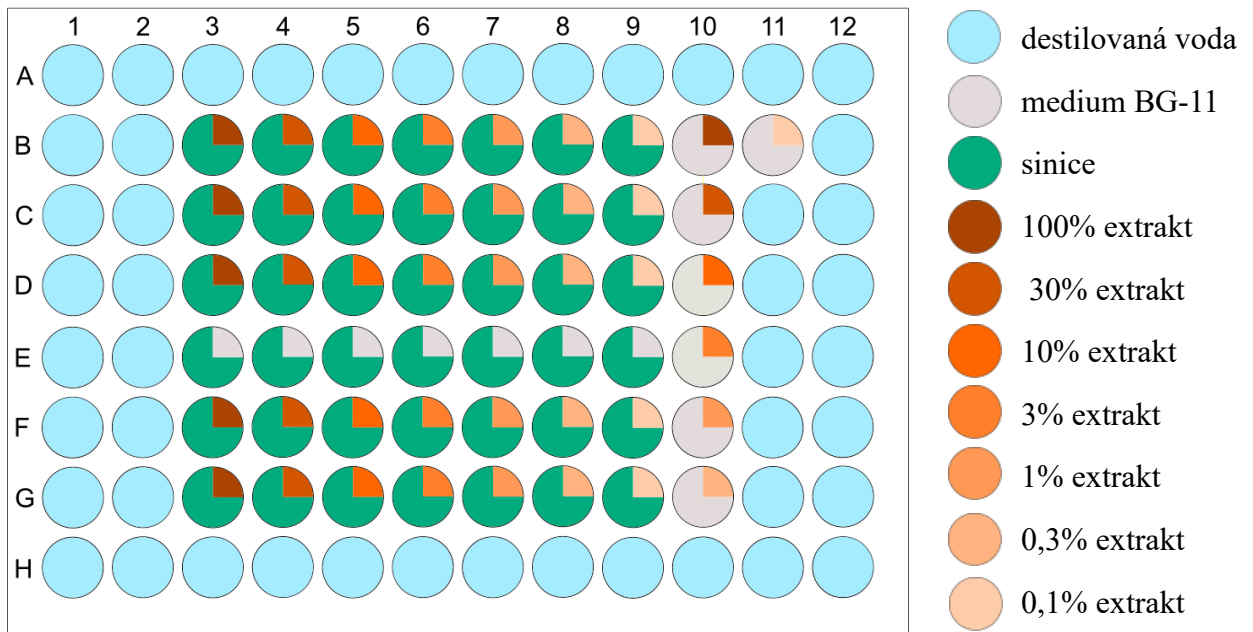
### 4.3 Cílové organismy

Jako cílové organismy byly použity dva kmeny sinic vodního květu – *Microcystis aeruginosa* SAG 46.80 a *Aphanizomenon gracile* CCALA 008. Kultury byly pěstovány v mediu BG-11 při teplotě 20 °C, světelném toku  $22 \mu\text{mol fotonů} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  a světelném cyklu 12 h světlo/12 h tma.

### 4.4 Biotest

Biotest byl prováděn v 96jamkových mikrotitračních destičkách po dobu 164 h. Účinek extraktů na růst sinic byl vyhodnocen spektrofotometricky přímo v mikrotitračních destičkách.

- 1) Tři dny před zahájením biotestu byly sinicové kultury přeočkovány do čerstvého media BG-11 tak, aby byla dosažena finální koncentrace přibližně  $1,2 \cdot 10^6 \text{ b} \cdot \text{ml}^{-1}$
- 2) Byla vytvořena koncentrační řada extraktů – 100%, 30%, 10%, 3%, 1%, 0,3% a 0,1% extrakt.
- 3) Z předpěstovaných sinicových kultur bylo připraveno inokulum o koncentraci  $10^5 \text{ b} \cdot \text{ml}^{-1}$  (počítáno pomocí Bürkerovy komůrky).
- 4) PS mikrotitrační destičky s plochým dnem a objemem jamek 404  $\mu\text{l}$  (P-LAB) byly sterilizovány vystavením UV záření po dobu 0,5 h.
- 5) Do mikrotitračních destiček bylo v laminárním boxu vloženo pomocí pipety (obr. 2):
  - a) 150  $\mu\text{l}$  sinicového inokula + 50  $\mu\text{l}$  extraktu v pěti opakováních pro každou koncentraci extraktu
  - b) 150  $\mu\text{l}$  sinicového inokula + 50  $\mu\text{l}$  media BG-11 v sedmi opakováních = kontrola sinicového růstu
  - c) 150  $\mu\text{l}$  media BG-11 + 50  $\mu\text{l}$  extraktu pro všechny koncentrace = kontrola extraktu
  - d) 200  $\mu\text{l}$  sterilizované destilované vody do zbývajících jamek po obvodu destičky.
- 6) Destičky byly inkubovány po dobu 164 h.
- 7) V intervalech 0, 20, 44, 68 a 164 h byla měřena optická hustota při 750 nm pomocí přístroje Thermo Scientific™ Varioskan™ Flash Multimode Reader. Před vložení do přístroje byly destičky manuálně protřepány po dobu několika sekund.



Obr. 2: Mikrotitrační destička připravená k inkubaci.

## 4.5 Statistické vyhodnocení

Naměřené hodnoty byly graficky zobrazeny v programu R (R Core Team, 2017): z pěti opakování každé koncentrace extraktu působícího na sinici a ze sedmi opakování kontroly sinicového růstu byl vypočítán medián hodnot optické hustoty při 750 nm v jednotlivých časových intervalech, ze dvou opakování kontroly 100% extraktu byl vypočítán průměr hodnot optické hustoty při 750 nm v každém čase. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny pomocí Repeated Measures ANOVA a Dunnettova testu.

Tab. 2: Seznam získaných druhů vodních makrofyt, typů extraktů z nich připravených a cílových organismů, na kterých byl jejich účinek zkoumán. SVMR BÚ AV ČR = Sběrka vodních a mokřadních rostlin BÚ AV ČR, v. v. i., Třeboň, \*dosud nestudovaný druh, × = označení kombinace extraktu a cílového organismu použité v biotestu.

Druh	Lokalita odběru	Datum odběru	Extrakt a cílový organismus			
			BG-11 extrakt		Ethanol. extrakt	
			<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	<i>A. gracile</i> CCALA 008	<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	<i>A. gracile</i> CCALA 008
<i>Acorus calamus</i> L.	Návesní Radimov	02. 08. 2016	×	×	×	×
<i>Batrachium peltatum</i> (Schrank) J. Presl*	SVMR BÚ AV ČR	14. 08. 2017	×	×	×	×
<i>Batrachium trichophyllum</i> (Chaix) F. W. Schultz*	SVMR BÚ AV ČR	14. 08. 2017	×	×		
<i>Ceratophyllum demersum</i> L.	SVMR BÚ AV ČR	14. 08. 2017	×	×	×	×
<i>Ceratophyllum submersum</i> L.	SVMR BÚ AV ČR	14. 08. 2017	×	×	×	×
<i>Elodea canadensis</i> Michx.	SVMR BÚ AV ČR	14. 08. 2017	×	×		
<i>Elodea nuttallii</i> (Planch.) H. St. John	SVMR BÚ AV ČR	14. 08. 2017	×	×	×	×
<i>Glyceria maxima</i> (Hartm.) Holmb. *	Návesní Radimov	02. 08. 2016	×	×	×	×
<i>Groenlandia densa</i> (L.) Fourr.*	SVMR BÚ AV ČR	13. 09. 2016	×	×	×	×
<i>Hydrocharis morsus-ranae</i> L.*	SVMR BÚ AV ČR	14. 08. 2017	×	×	×	×
<i>Chara aspera</i> C. L. Willdenow	Gossausee, Rakousko	14. 08. 2017	×	×	×	×
<i>Chara contraria</i> A. Braun ex Kützing	Attersee, Rakousko	08. 09. 2017	×	×	×	×
<i>Chara hispida</i> Linnaeus	NPP V jezírkách	14. 06. 2016	×	×	×	×
<i>Chara virgata</i> Kützing	Mittersee, Rakousko	07. 09. 2017	×	×	×	×
<i>Lemna minor</i> L.	SVMR BÚ AV ČR	14. 08. 2017	×	×		
<i>Myriophyllum alterniflorum</i> DC.*	SVMR BÚ AV ČR	13. 09. 2016		×		
<i>Myriophyllum spicatum</i> L.	Vlkovská pískovna	13. 09. 2016	×	×	×	×
<i>Myriophyllum verticillatum</i> L.	SVMR BÚ AV ČR	13. 09. 2016	×	×	×	×
<i>Nitella flexilis</i> (Linnaeus) C. Agardh*	Huťský rybník	18. 10. 2017	×	×	×	×
<i>Nymphoides peltata</i> (S. G. Gmel.) Kuntze	Návesní Radimov	02. 08. 2016	×	×	×	×
<i>Potamogeton acutifolius</i> Link*	SVMR BÚ AV ČR	14. 08. 2017	×	×	×	×

Tab. 2 – pokračování: SVMR BÚ AV ČR = Sběrka vodních a mokřadních rostlin BÚ AV ČR, v. v. i., Třeboň, \*dosud nestudovaný druh.  
 × = označení kombinace extraktu a cílového organismu použité v biotestu.

Druh	Lokalita odběru	Datum odběru	Extrakt a cílový organismus			
			BG-11 extrakt		Ethanol. extrakt	
			<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	<i>A. gracile</i> CCALA 008	<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	<i>A. gracile</i> CCALA 008
<i>Potamogeton</i> × <i>angustifolius</i> J. Presl*	SVMR BÚ AV ČR	13. 09. 2016	×	×	×	×
<i>Potamogeton coloratus</i> Hornem.*	SVMR BÚ AV ČR	13. 09. 2016	×	×		
<i>Potamogeton crispus</i> L.	SVMR BÚ AV ČR	14. 08. 2017	×	×	×	×
<i>Potamogeton lucens</i> L.	SVMR BÚ AV ČR	13. 09. 2016	×	×	×	×
<i>Potamogeton natans</i> L.	SVMR BÚ AV ČR	14. 08. 2017	×	×	×	×
<i>Potamogeton nodosus</i> Poir.*	SVMR BÚ AV ČR	14. 08. 2017	×	×	×	×
<i>Potamogeton pectinatus</i> L.	SVMR BÚ AV ČR	13. 09. 2016	×	×		
<i>Potamogeton perfoliatus</i> L.*	SVMR BÚ AV ČR	13. 09. 2016	×	×		
<i>Potamogeton praelongus</i> Wulfen*	SVMR BÚ AV ČR	14. 08. 2017	×	×	×	×
<i>Potamogeton pusillus</i> L.	SVMR BÚ AV ČR	13. 09. 2016	×	×		
<i>Stratiodes aloides</i> L.	SVMR BÚ AV ČR	14. 08. 2017	×	×		
<i>Typha angustifolia</i> L.	Motovidlo	20. 07. 2016	×	×	×	×
<i>Typha latifolia</i> L.	Návesní Radimov	02. 08. 2016	×	×	×	×
<i>Utricularia australis</i> R. Br.*	SVMR BÚ AV ČR	14. 08. 2017	×	×	×	×

## 5 VÝSLEDKY

Prvotní výsledky biotestů ukázaly velkou variabilitu ve vývoji hodnot optické hustoty při 750 nm v čase mezi kontrolami různých extraktů. Hodnoty optické hustoty kontroly některých extraktů se po celou dobu téměř nelišily, u jiných extraktů však docházelo k jejich razantnímu zvyšování. Na základě mikroskopické analýzy bylo zjištěno, že hodnoty optické hustoty samotných extraktů vyšší než 0,07 odrážely přítomnost bakterií v extraktech. Extrakty, které byly kontaminovány bakteriemi, byly v případě dostatku biomasy daných druhů vodních makrofyt, několikrát (maximálně třikrát) znovu připraveny a použity pro biotest. V konečném důsledku nebylo možné zhodnotit účinek žádného typu extraktu deseti druhů vodních makrofyt, konkrétně *Batrachium trichophyllum*, *Ceratophyllum submersum*, *Eloдея canadensis*, *Chara aspera*, *Chara contraria*, *Myriophyllum alterniflorum*, *Myriophyllum verticillatum*, *Potamogeton × angustifolius*, *Potamogeton nodosus*, *Utricularia australis*. Výsledky biotestů kontaminovaných extraktů nebyly statisticky vyhodnoceny, naměřené hodnoty byly pouze graficky zobrazeny v R (elektronická příloha).

Statisticky byl vyhodnocen účinek celkem 36 extraktů z 25 druhů vodních makrofyt na růst nejméně jednoho kmenu sinic. Výsledkem Repeated Measures ANOVA byly růstové křivky sinic samotných a v přítomnosti extraktů v sedmi různých koncentracích a porovnání, jak se se tyto křivky v průměru mezi sebou liší s časem (obr. 3-18, elektronická příloha). Žádný signifikantní rozdíl ( $p > 0,05$ ) nebyl zaznamenán pouze u pěti druhů v určité kombinaci typu extraktu a cílového organismu (tab. 3). Pomocí Dunnettova testu byly porovnány hodnoty optické hustoty při 750 nm sinic samotných a sinic s přidavkem extraktů v čase 164 h. S přihlédnutím k růstovým křivkám byl zhodnocen výsledný účinek extraktů na růst sinic (tab. 4).

Tab. 3: Extrakty, jejichž účinek na růst daných kmenů sinic se ve všech koncentracích vzájemně mezi sebou a růstem sinic bez přítomnosti těchto extraktů signifikantně nelišil.

Druh	Extrakt	Cílový organismus	Výsledky testu
<i>Chara hispida</i>	BG-11	<i>A. gracile</i> CCALA 008	F(28, 136) = 1,5185, p = 0,06096
<i>Potamogeton acutifolius</i>	BG-11	<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	F(28, 136) = 1,1914, p = 0,25132
	ethanol.	<i>A. gracile</i> CCALA 008	F(28, 136) = 1,3108, p = 0,15622
<i>Potamogeton crispus</i>	BG-11	<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	F(28, 136) = 0,94368, p = 0,55206
<i>Potamogeton lucens</i>	BG-11	<i>A. gracile</i> CCALA 008	F(28, 136) = 1,0647, p = 0,39019
<i>Potamogeton praelongus</i>	BG-11	<i>A. gracile</i> CCALA 008	F(28, 136) = 1,4276, p = 0,09348

Tab. 4: Účinek extraktů vodních makrofyt na růst sinic vodního květu. I = inhibiční, S = stimulační, Ž = žádný, \* p < 0,05, \*\* p < 0,01.

Druh	Extrakt	Cílový organismus	Koncentrace extraktu (%)						
			0,1	0,3	1	3	10	30	100
<i>Acorus calamus</i>	ethanol.	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž			S*	S**		
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž			S**			
<i>Batrachium peltatum</i>	BG-11	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž					S**	
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž		S**	Ž	S**		
	ethanol.	<i>A. gracile</i> CCALA 008	I**	I**	I**	Ž	S**	S**	S**
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž				S**	S**	
<i>Ceratophyllum demersum</i>	BG-11	<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž				S**		
<i>Elodea nuttallii</i>	BG-11	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž					S**	
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž	I*	Ž		S**	S**	
	ethanol.	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž				S**	S**	
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž			S*	S**	S**	
<i>Glyceria maxima</i>	BG-11	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž					S*	
<i>Groenlandia densa</i>	BG-11	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž				S*	S**	
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	S*	Ž			S**	S**	
	ethanol.	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž				S**	S**	
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž			S**	S**	S**	
<i>Hydrocharis morsus-ranae</i>	BG-11	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž					S*	
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž			S*	S**	S**	
	ethanol.	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž				S**	S**	
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž			S**	S**	S**	
<i>Chara hispida</i>	BG-11	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž						
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž				I*	Ž	
	ethanol.	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž					S*	
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž			S**	S**	S**	
<i>Chara virgata</i>	ethanol.	<i>A. gracile</i> CCALA 008	I*	I*	Ž	I*	Ž	I*	Ž
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž				I*	Ž	I**
<i>Lemna minor</i>	BG-11	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž					S**	
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž				S*	S**	
<i>Myriophyllum spicatum</i>	ethanol.	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž					S*	
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž				S**	Ž	
<i>Nitella flexilis</i>	BG-11	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž					S**	
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž				S**	S**	
	ethanol.	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž						
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž			S**	S**	S**	
<i>Nymphoides peltata</i>	ethanol.	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž				S*	S**	
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž			S**	S**	S**	
<i>Potamogeton acutifolius</i>	BG-11	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž						
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž				S*	S*	
	ethanol.	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž						
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž			S**	S**	S**	
<i>Potamogeton coloratus</i>	BG-11	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž				S*	S**	
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	S**	S*	S**				

Tab. 4 – pokračování: I = inhibiční, S = stimulační, Ž = žádný, \* p < 0,05, \*\* p < 0,01.

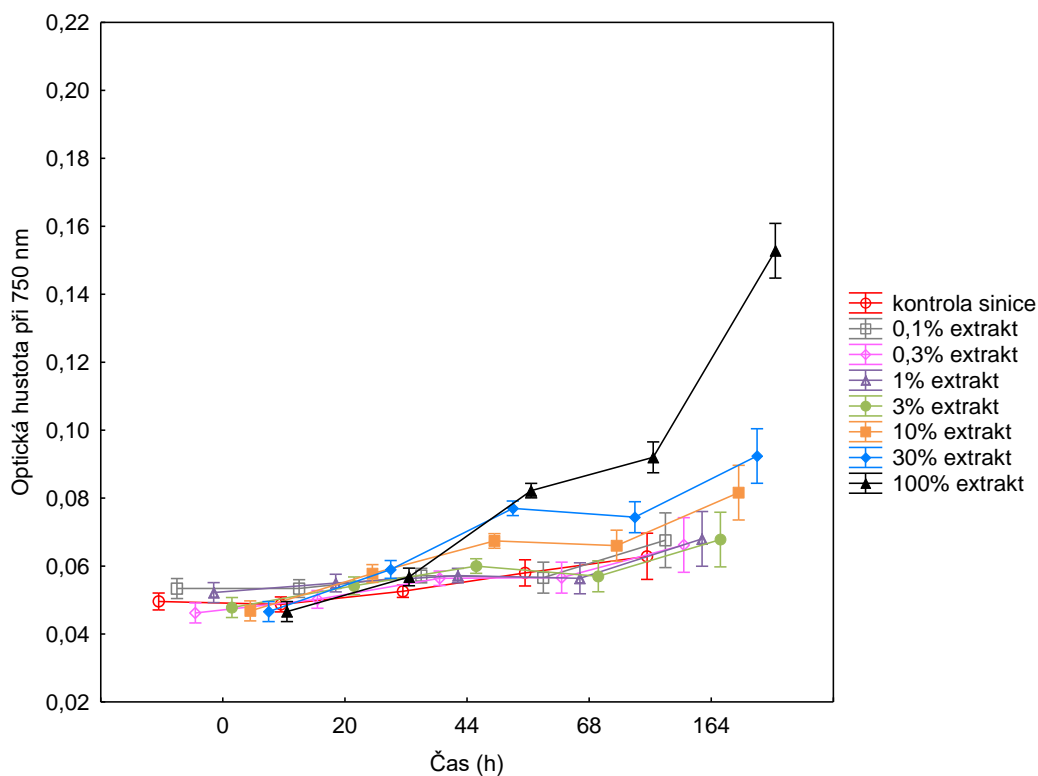
Druh	Extrakt	Cílový organismus	Koncentrace extraktu (%)						
			0,1	0,3	1	3	10	30	100
<i>Potamogeton crispus</i>	BG-11	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž	S**			Ž	S**	
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž						
	ethanol.	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž	I*	Ž	S**	S**		
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž			S**			
<i>Potamogeton lucens</i>	BG-11	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž						
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž						
	ethanol.	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž					S**	
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž				S**		
<i>Potamogeton natans</i>	BG-11	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž		S*	S**			
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž	S*	S**				
	ethanol.	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž					S**	
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž				S**		
<i>Potamogeton pectinatus</i>	BG-11	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž					S**	
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž				S**		
<i>Potamogeton perfoliatus</i>	BG-11	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž					S**	
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž			S**			
<i>Potamogeton praelongus</i>	BG-11	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž						
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž				S*	S**	
	ethanol.	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž					S*	
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž				S**		
<i>Potamogeton pusillus</i>	BG-11	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž			S*	Ž		
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž				S**		
<i>Stratiotes aloides</i>	BG-11	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž				S*	S**	
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž					S**	
<i>Typha angustifolia</i>	ethanol.	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž				S**		
		<i>M. aeruginosa</i> SAG 46.80	Ž				S**		
<i>Typha latifolia</i>	BG-11	<i>A. gracile</i> CCALA 008	Ž			S**			

Extrakt 17 druhů vodních makrofyt v nejvyšších koncentracích v čase 164 h signifikantně stimulovaly růst sinic, zatímco v nižších koncentracích nebyl prokázán žádný účinek (obr. 3-4, elektronická příloha). U ostatních druhů byl sledován inhibiční potenciál nebo pozoruhodný vývoj v průběhu biotestu alespoň v jedné kombinaci typu extraktu a cílového organismu.

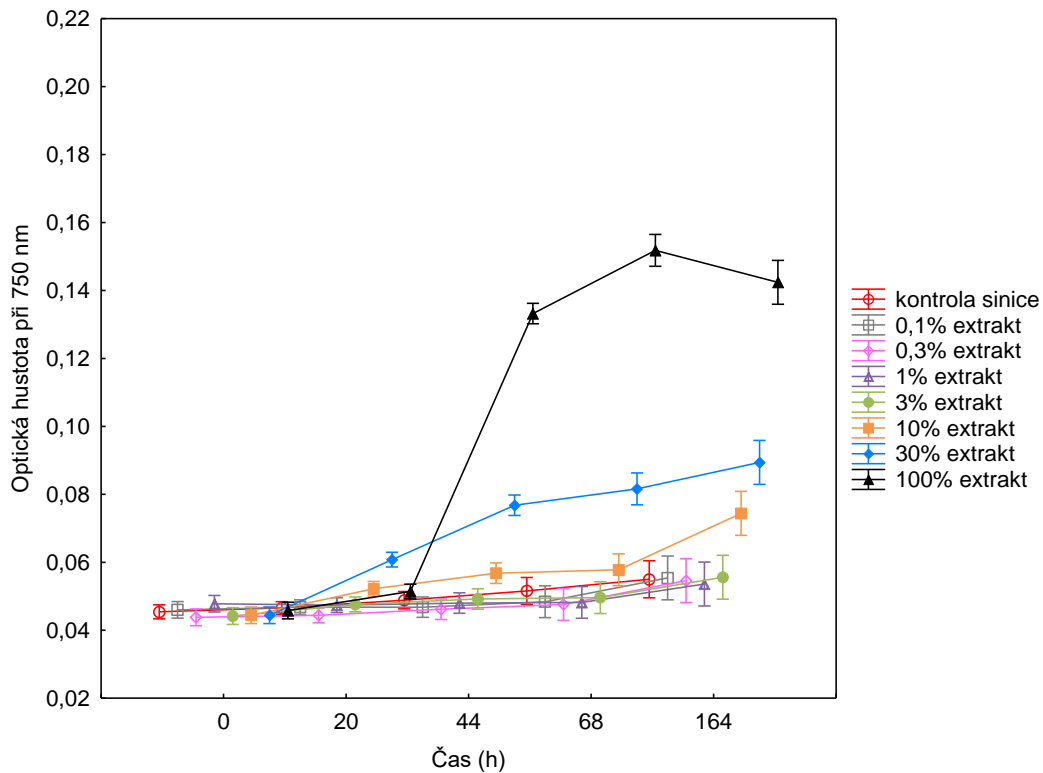
Zajímavý byl účinek ethanolového extraktu z *Batrachium peltatum* na *Aphanizomenon gracile* CCALA 008. Ačkoliv extrakt v koncentracích od 0,1 do 1 % působil inhibičně, ve třech nejvyšších koncentracích měl silně stimulační účinek (obr. 5). V určitých kombinacích typu extraktu a cílového organismu nebyl prokázán žádný signifikantní účinek u *Nitella flexilis* (obr. 6), *Potamogeton acutifolius* (obr. 7-8), *Potamogeton crispus* (obr. 9),



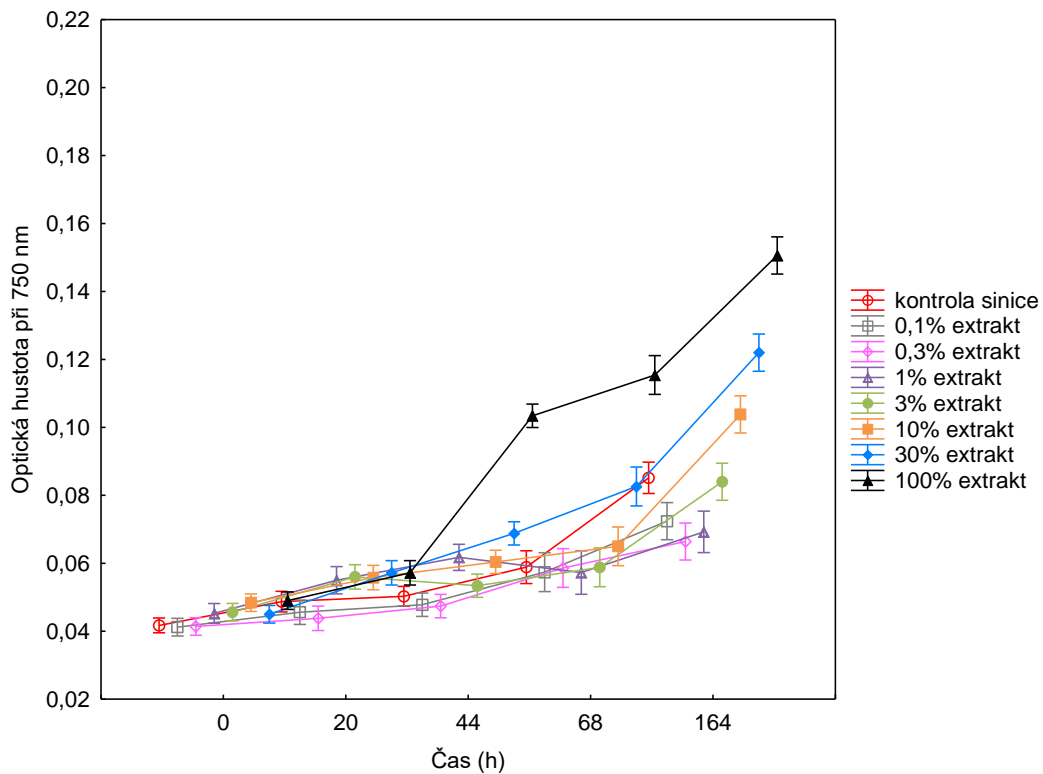
*Potamogeton lucens* (obr. 10-11) a *Potamogeton praelongus* (obr. 12). BG-11 extrakt z *Chara hispida* neměl žádný vliv na růst *A. gracile* CCALA 008 ani na *M. aeruginosa* SAG 46.80 kromě 30% koncentrovaného extraktu, při kterém došlo k inhibici růstu (obr. 13-14). U ethanolového extraktu z *Chara virgata* se v různých koncentracích střídal inhibiční nebo žádný efekt (obr. 15-16). Překvapivě se vyvíjel účinek ethanolového extraktu z *Nymphoides peltata*. Zatímco v prvních čtyřech dnech biotestu se hodnoty optické hustoty reflektující působení 100% extraktu na růst obou cílových organismů držely na stejné úrovni, osmý den byly naměřeny vůbec nejvyšší hodnoty v porovnání s ostatními extrakty (obr. 17-18).



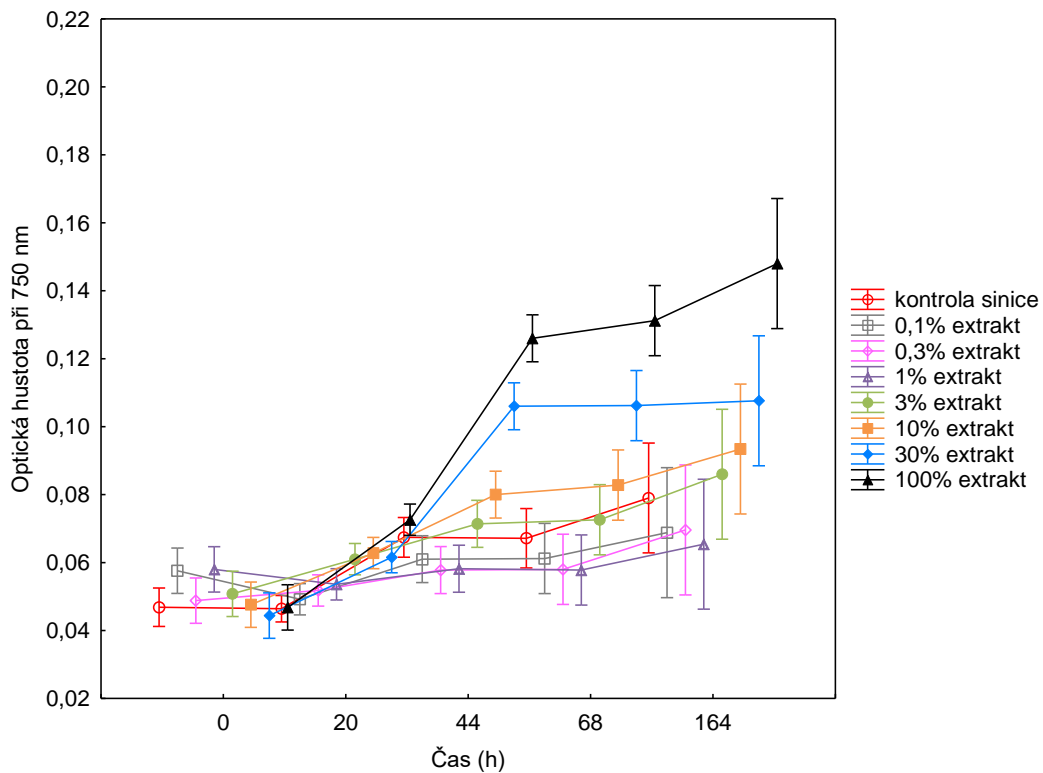
Obr. 3: Účinek ethanolového extraktu z *Groenlandia densa* na růst *Microcystis aeruginosa* SAG 46.80 (příklad stimulačního účinku).



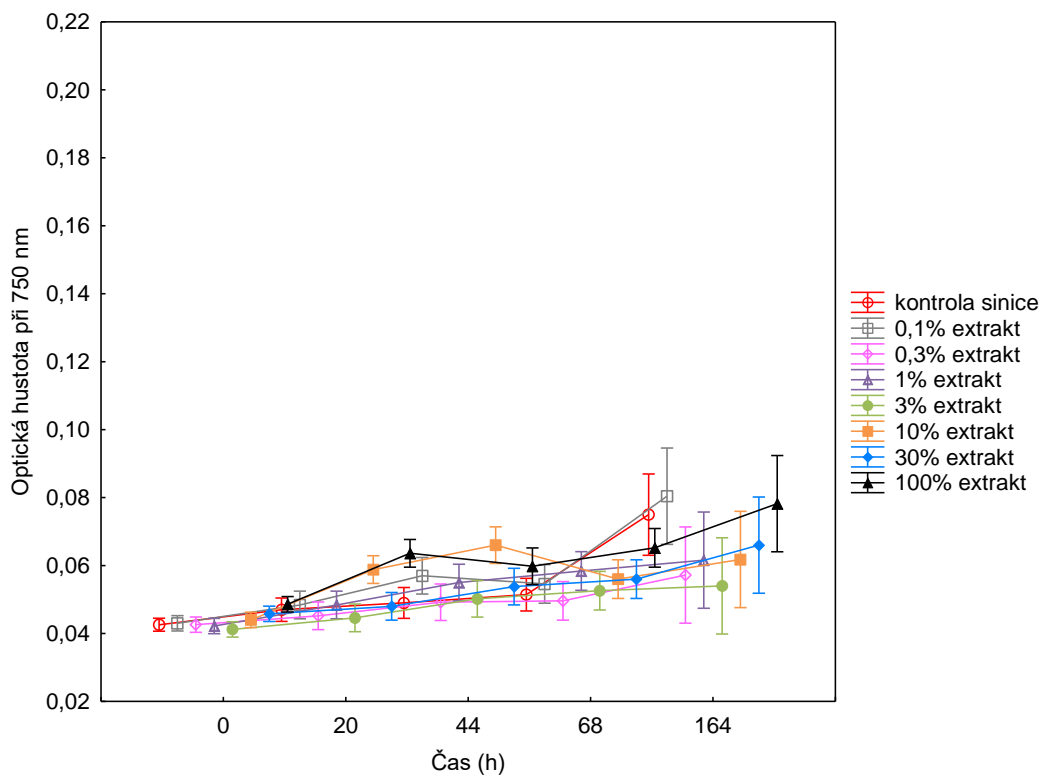
Obr. 4: Účinek BG-11 extraktu z *Typha latifolia* na růst *Aphanizomenon gracile* CCALA 008 (příklad stimulačního účinku).



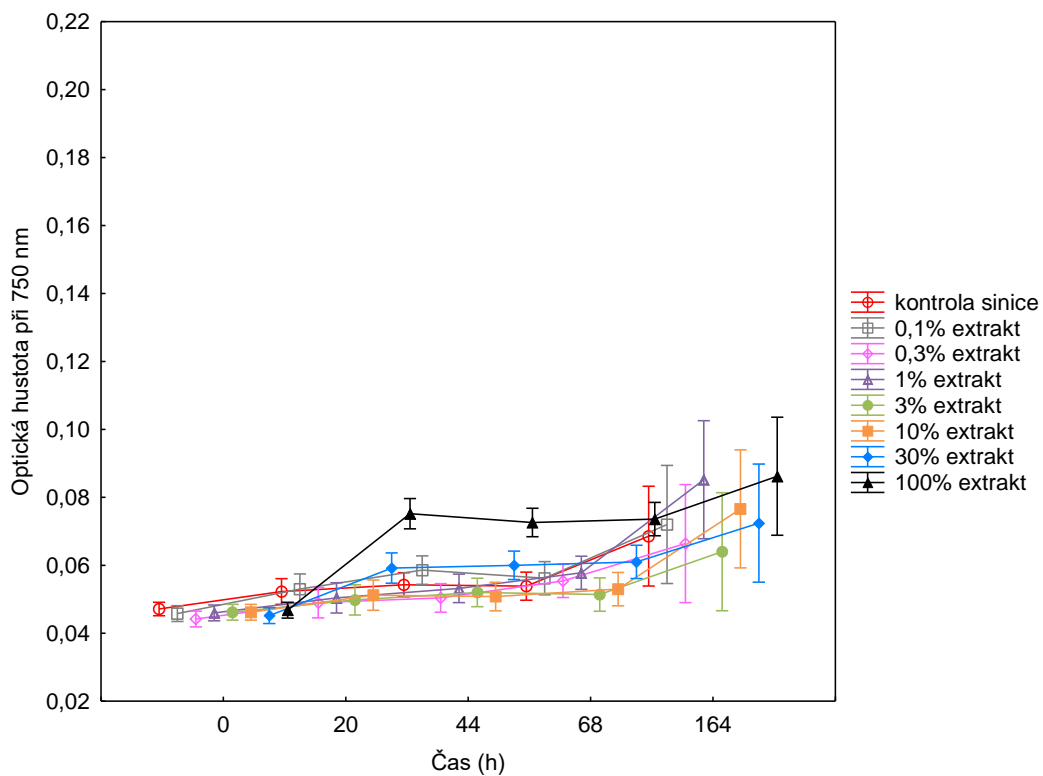
Obr. 5: Účinek ethanolového extraktu z *Batrachium peltatum* na růst *Aphanizomenon gracile* CCALA 008.



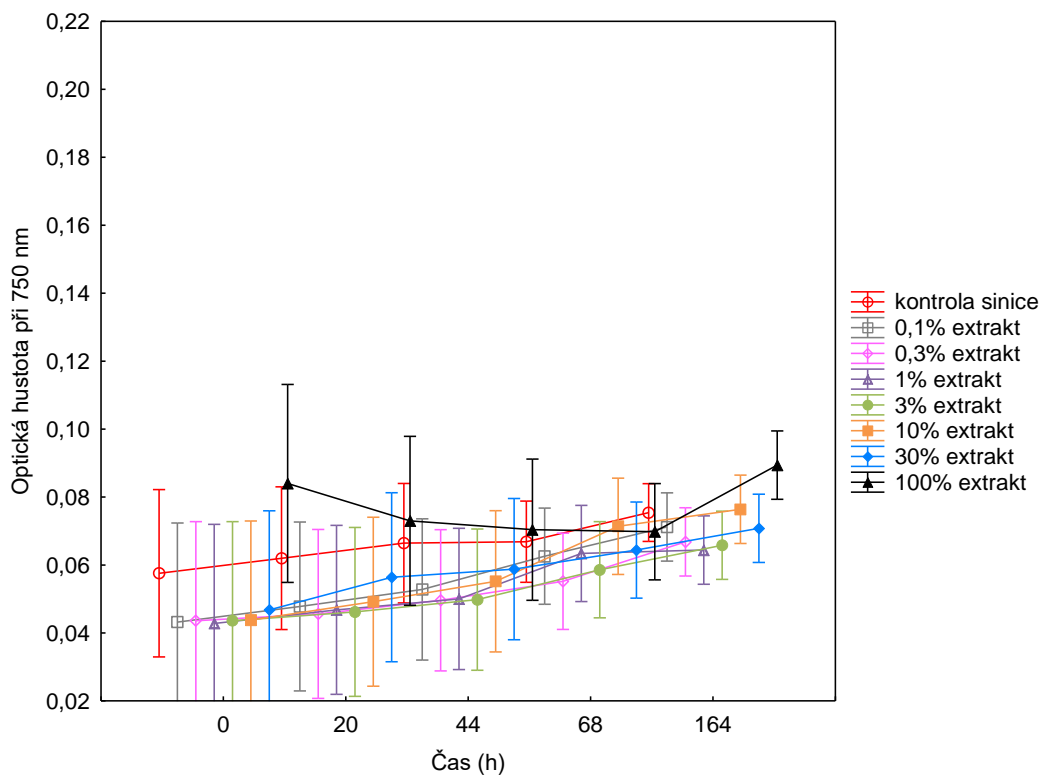
Obr. 6: Účinek ethanolového extraktu z *Nitella flexilis* na růst *Aphanizomenon gracile* CCALA 008.



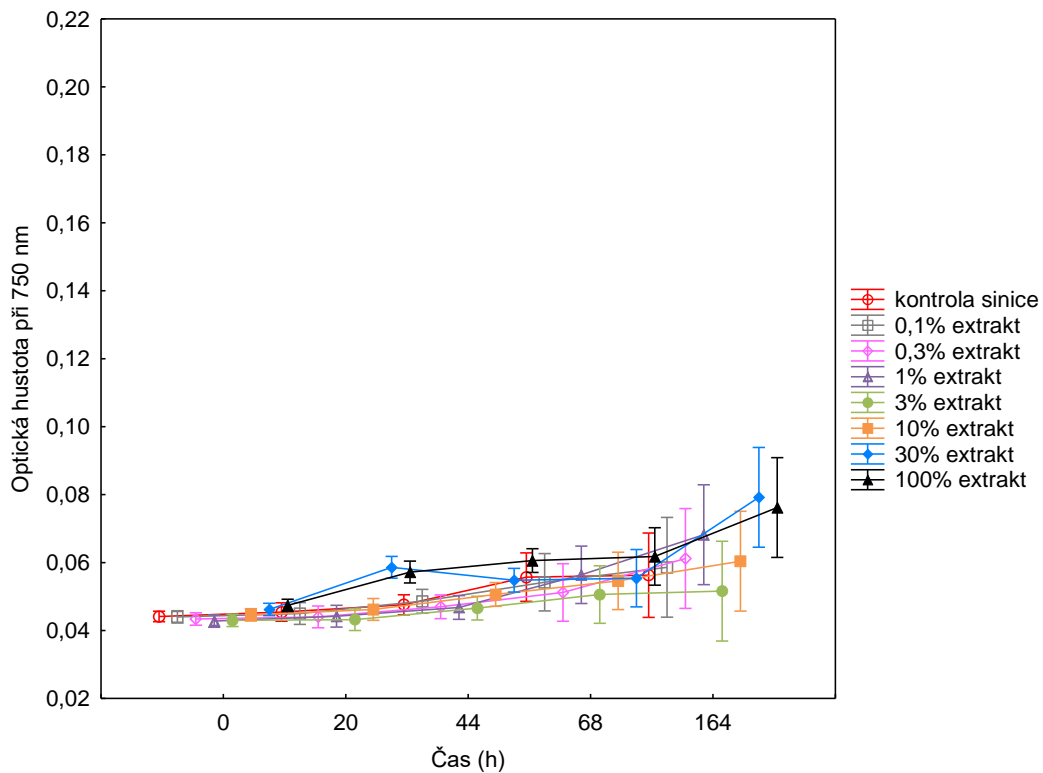
Obr. 7: Účinek BG-11 extraktu z *Potamogeton acutifolius* na růst *Aphanizomenon gracile* CCALA 008.



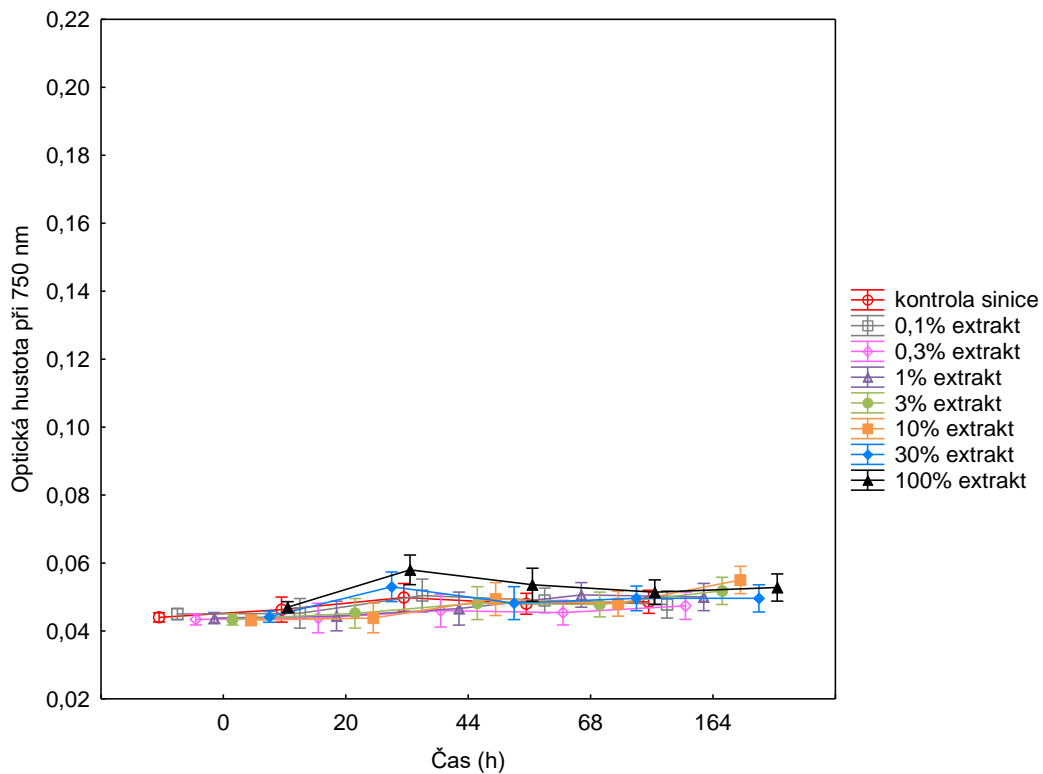
Obr. 8: Účinek ethanolového extraktu z *Potamogeton acutifolius* na růst *Aphanizomenon gracile* CCALA 008.



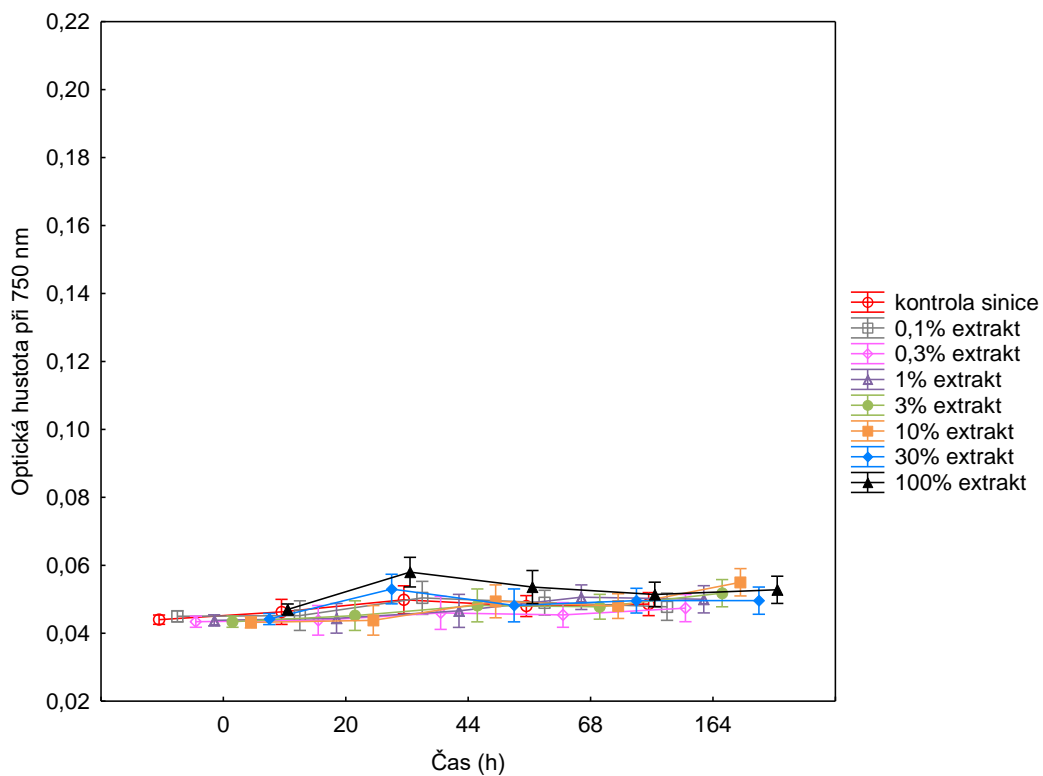
Obr. 9: Účinek BG-11 extraktu z *Potamogeton crispus* na růst *Microcystis aeruginosa* SAG 46.80.



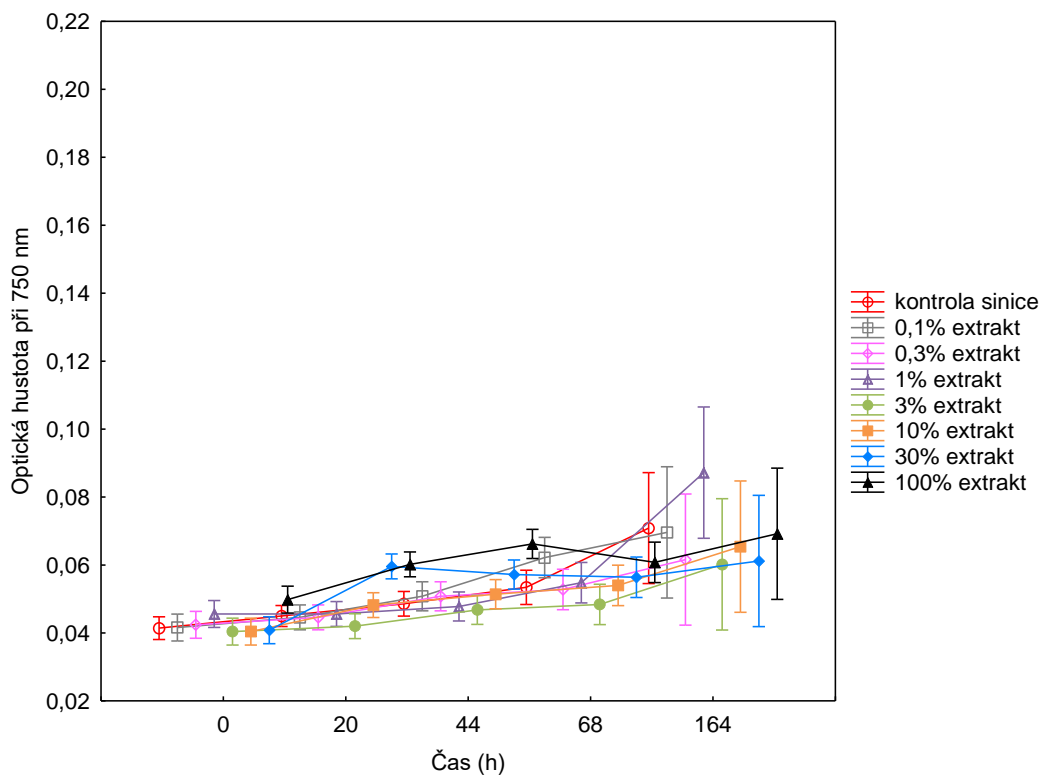
Obr. 10: Účinek BG-11 extraktu z *Potamogeton lucens* na růst *Aphanizomenon gracile* CCALA 008.



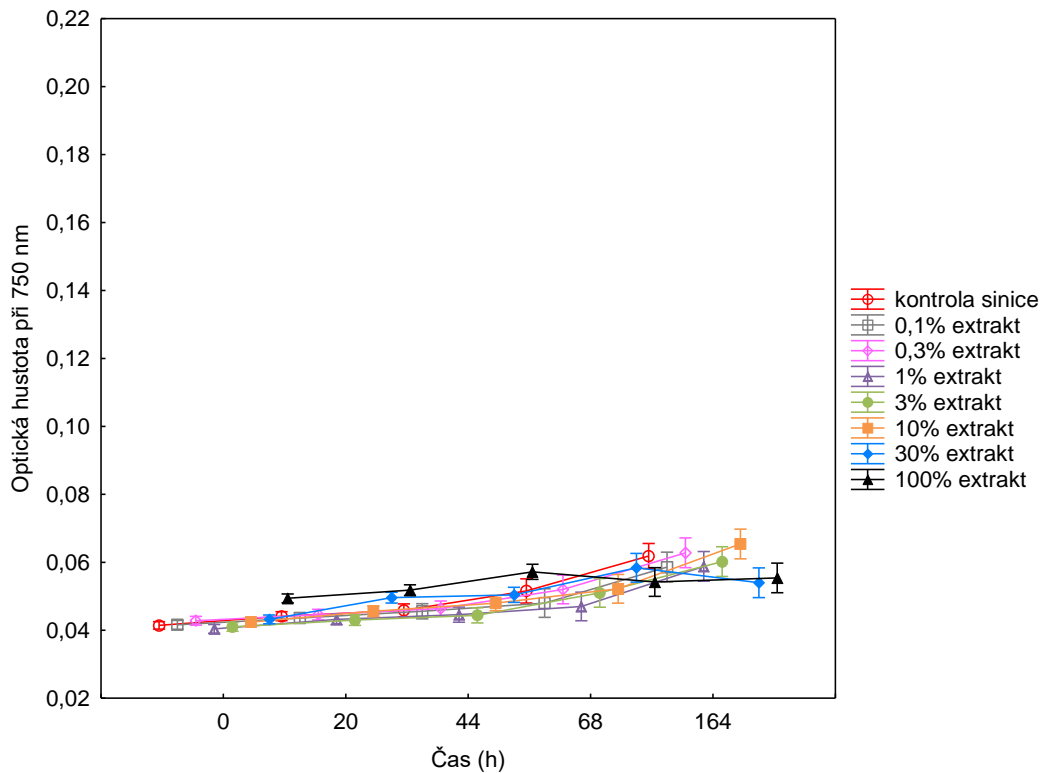
Obr. 11: Účinek BG-11 extraktu z *Potamogeton lucens* na růst *Microcystis aeruginosa* SAG 46.80.



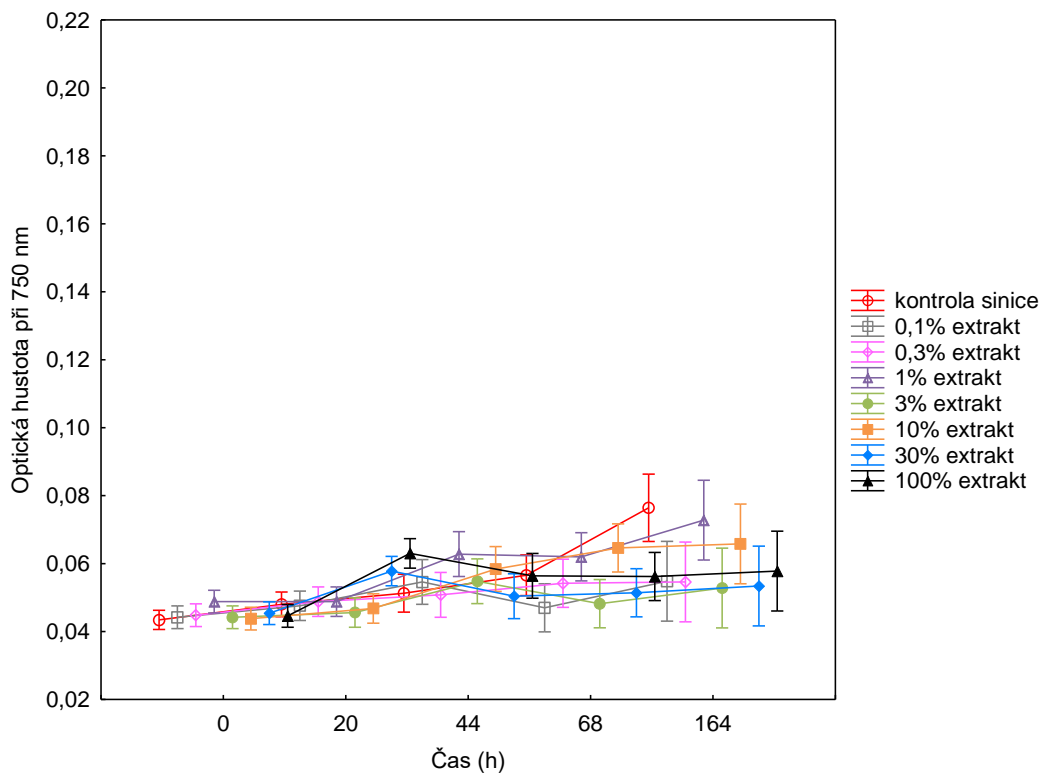
Obr. 12: Účinek BG-11 extraktu z *Potamogeton praelongus* na růst *Aphanizomenon gracile* CCALA 008.



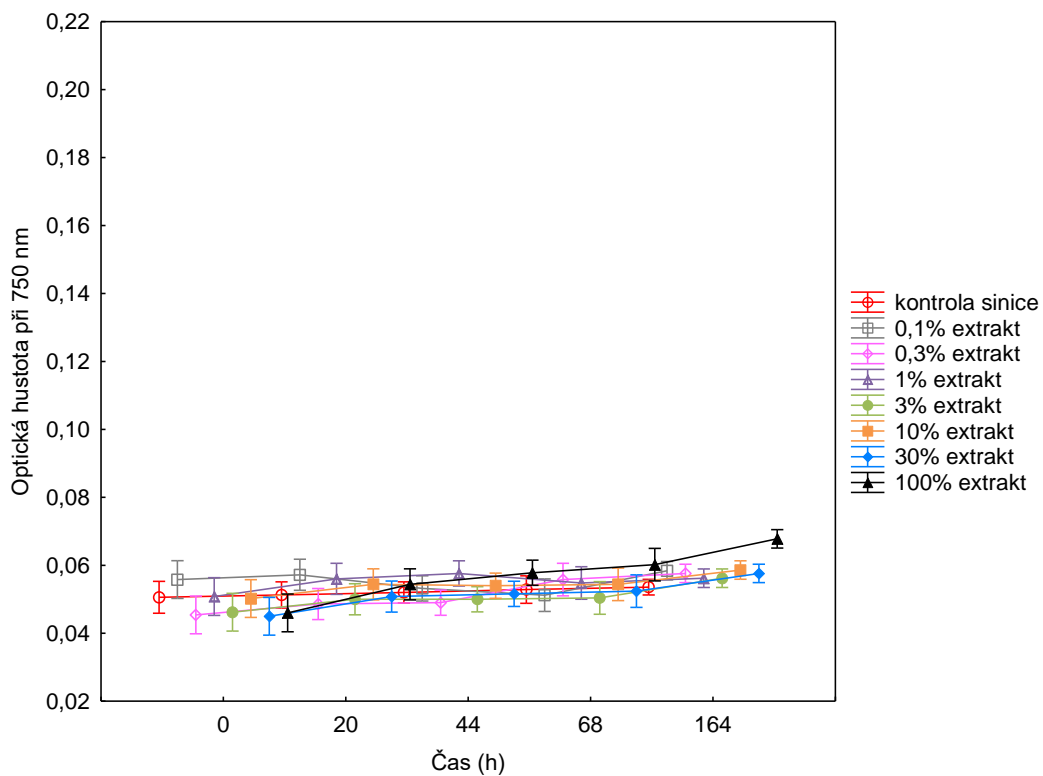
Obr. 13: Účinek BG-11 extraktu z *Chara hispida* na růst *Aphanizomenon gracile* CCALA 008.



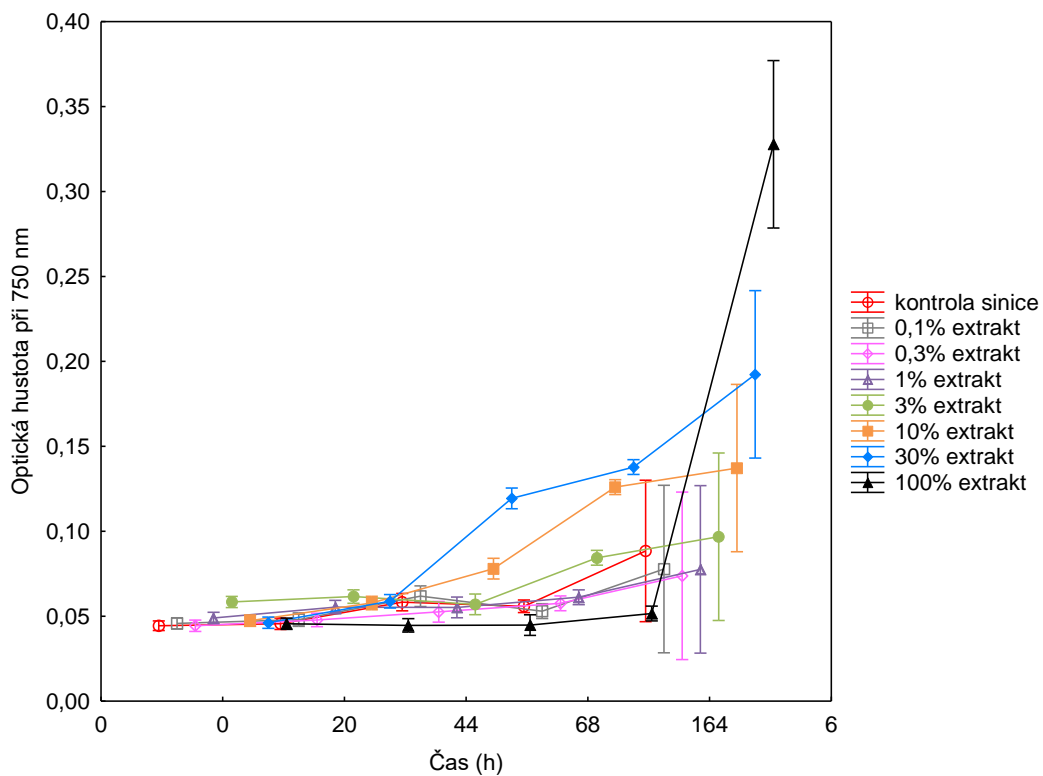
Obr. 14: Účinek BG-11 extraktu z *Chara hispida* na růst *Microcystis aeruginosa* SAG 46.80.



Obr. 15: Účinek ethanolového extraktu z *Chara virgata* na růst *Aphanizomenon gracile* CCALA 008.

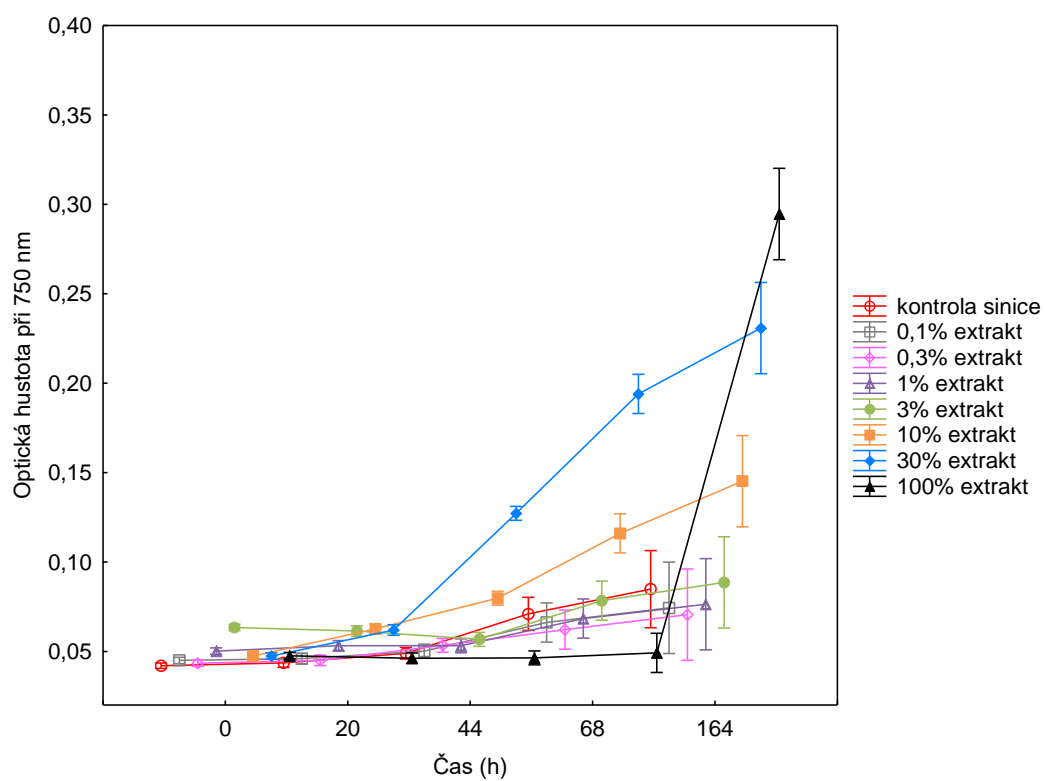


Obr. 16: Účinek ethanolového extraktu z *Chara virgata* na růst *Microcystis aeruginosa* SAG 46.80.



Obr. 17: Účinek ethanolového extraktu z *Nymphoides peltata* na růst *Aphanizomenon gracile* CCALA 008.





Obr. 18: Účinek ethanolového extraktu z *Nymphoides peltata* na růst *Microcystis aeruginosa* SAG 46.80.

## 6 DISKUZE

### 6.1 Metodika

Přestože byly interakce mezi vodními makrofyty a sinicemi/řasami v posledních desetiletích intenzivně zkoumány, v důsledku rozličných metodických přístupů nejsou výsledky studií porovnatelné a nelze z nich vyvozovat obecně platné závěry. V této práci byla vytvořena metodika, pomocí které bylo možné zhodnotit a porovnat účinek pestré škály druhů vodních makrofyt na růst sinic vodního květu, sledovat širší souvislosti (např. liší-li se účinek mezi různými růstovými formami nebo v rámci druhů stejného rodu) a vybrat druhy, které vykazují inhibiční účinek, k dalšímu studiu. Ačkoliv zvolená metodika skvěle vyhovuje účelům této práce, přesto se zde vyskytuje několik úskalí, která je třeba vzít v potaz pro budoucí výzkum a o kterých se zmíním v následujícím textu.

Pro biotest byly použity druhy pokrývající celé spektrum růstových forem vodních makrofyt. Nejvíce však byla zastoupena submerzní makrofyta. Byl použit i u nás kriticky ohrožený druh *Groenlandia densa* a silně ohrožený druh *Hydrocharis morsus-ranae* (Danihelka et al., 2012), u kterých samozřejmě nelze předpokládat, že by mohly být samy o sobě potenciálně využívány jako prostředek pro omezení rozvoje vodních květů. Nicméně v případě, že by vykazovaly inhibiční účinek, by mohly následovat snahy o izolaci, identifikaci a umělou syntézu účinných látek.

Otázkou je, zda bylo nejvhodněji zvoleno období odběru vodních makrofyt, tedy v druhé polovině vegetační sezóny. Z ekologického pohledu by se dalo předpokládat, že vodní makrofyta budou vylučovat látky potlačující růst fytoplanktonu v době, kdy se začíná intenzivněji rozvíjet, tedy v průběhu dubna/května (Wetzel, 2001). Bauer et al. (2009) sledovali po dobu čtyř let meziměsíční rozdíly celkového obsahu fenolických látek v *Myriophyllum verticillatum* (některé z nich jsou považovány za alelopatické) od května do září. Výsledky se meziročně značně lišily. Během dvou let byl celkový obsah fenolických látek v apikálních meristémech nejvyšší v červenci a další roky v květnu a v červnu. V listech a stoncích byl obsah těchto látek v některých letech nejvyšší v květnu, v jiných letech ve stejném měsíci nejnižší nebo se obsah fenolických látek během sezóny vůbec nelišil. Hilt et al. (2006) provedly podobnou, ale pouze jednoróční studii, ve které zjistily, že celkový obsah fenolických látek v apikálních meristémech od července do září klesá, zatímco ve stoncích a listech po květnovém vrcholu mírně klesá a v dalších měsících se pohybuje na stejné úrovni. Přestože nebyla ani v jedné studii zjištěna konzistentní sezónní dynamika,

autoři zhodnotili, že nejvyšší obsah potenciálně alelochemických látek je v květnu. Tudíž by bylo možná vhodnější sbírat vodní makrofyta pro tuto práci na jaře.

Provedení biotestu v 96jamkových mikrotitračních destičkách umožnilo jednoduše testovat tak velké množství kombinací, jaké bylo vytvořeno ze dvou typů extraktů v sedmi koncentracích z 35 druhů vodních makrofyt a dvou cílových organismů. Ačkoliv se tato miniaturizovaná metoda může oproti klasické metodě v Erlenmeyerových baňkách lišit například různým pronikáním světla a CO<sub>2</sub> ke kulturám (Maršálek, 2017), výsledná koncentrace EC50 zkoumané toxické látky se nemění (St-Laurent et al., 1992, Rojíčková et al., 1998).

Jako extrakční činidlo bylo použito médium BG-11. Bylo použito místo destilované vody, která se pro extrakci běžně používá. Voda nebyla použita z důvodu, že by mohla sama o sobě způsobit poškození buněk sinic v důsledku změny jejich osmotického tlaku po přidání extraktu (Gross et al., 2007). Nicméně tuto hypotézu jsem nakonec sama vyvrátila po tom, co jsem si pro několik náhodně vybraných druhů vodních makrofyt připravila vodné extrakty, provedla stejný biotest a zjistila, že výsledky jsou velmi podobné.

Zásadním krokem v přípravě extraktů je sterilizace. Nicméně v mnoha studiích, ve kterých byl zkoumán efekt extraktů (potažmo výluhů) vodních makrofyt na růst sinic/řas, se autoři sterilizací vůbec nezabývali a extrakty/výluhy pouze zfiltrovali přes filtrační papír (Zhang et al., 2015, Elakovich et Wooten, 1987, Li et al., 2006), přes 0,7 $\mu$ m (Nakai et al., 2010, Mulderij et al., 2005, 2007) nebo 0,45 $\mu$ m filtr (Shan et al., 2015). V některých studiích (Gross et al., 2003, Mohamed et Al Shehri, 2010, Takeda et al., 2011, Ghobrial et al., 2015) byla provedena sterilizace přes 0,22 $\mu$ m filtr, stejně jako v této práci. Sterilizace přes 0,22 $\mu$ m filtr se mi jeví jako nejšetrnější a nejvhodnější možná metoda sterilizace s ohledem na cíle práce. Póry o velikosti 0,22  $\mu$ m by měly zabránit průchodu bakterií a zároveň umožnit průchod i vysokomolekulárních organických látek (Andersen, 2005).

Jako cílové organismy byly použity dva kmeny sinic ze světových sbírek. Oba kmeny vykazovaly vhodné vlastnosti, aby mohla být změna jejich růstu vyhodnocena spektrofotometricky. *Microcystis aeruginosa* SAG 46.80 netvoří kompaktní kolonie. Zhao et al. (2013) navíc zjistili, že kmeny *M. aeruginosa* rozpadlé na jednotlivé buňky jsou citlivější na přítomnost alelochemikálií. Vlákna *Aphanizomenon gracile* CCALA 008 nemají tendenci se slučovat do svazečků v nízkých koncentracích buněk v kultuře.

Optickou hustotou při vlnové délce 750 nm byla měřena turbidita vzorku. Díky tomu bylo také možné sledovat potenciální změny v samotných extraktech během trvání biotestu. Ač se může zdát tento krok samozřejmý, oproti ostatním studiím je zcela inovativní. V žádné publikaci nebyla nalezena zmínka o tom, že by byl sledován vývoj extraktu.

## 6.2 Výsledky

Téměř u poloviny z 61 extraktů připravených celkem z 35 druhů vodních makrofyt nebylo možné zamezit kontaminaci bakteriemi. Přítomnost bakterií v extraktech ukázala jako největší překážka v mé práci. Avšak v literárních pramenech jsem nenašla jedinou zmínku o výskytu bakterií a snaze o jejich odstranění (viz kap. 6.1). Ačkoliv předpokládám, že bakterie, přirozeně se vyskytující na povrchu vodních makrofyt (Zhang et al., 2016) a konzumující organickou hmotu, jsou nevyhnutelnou součástí těchto extraktů. S přihlédnutím k tomu, že se mnozí autoři nezabývali ani sterilizací extraktů, ani sledováním jejich vývoje, lze polemizovat o tom, do jaké míry mohly být výsledky jejich biotestů ovlivněny aktivní činností bakterií.

Statisticky byl vyhodnocen účinek 25 druhů vodních makrofyt alespoň v jedné kombinaci typu extraktu a cílového organismu. Má práce přinesla vůbec první poznatky o účinku devíti druhů na růst sinic vodního květu. Extrakty z *Glyceria maxima*, *Groenlandia densa*, *Hydrocharis morsus-ranae*, *Potamogeton coloratus* a *Potamogeton perfoliatus* měly v nejvyšších koncentracích stimulační efekt, zatímco v nižších koncentracích nebyl prokázán žádný efekt. Extrakty z *Batrachium peltatum* účinkovaly ve vyšších koncentracích stimulačně, zatímco v nižších koncentracích dokonce inhibičně. Účinek extraktů z *Nitella flexilis*, *Potamogeton acutifolius* a *Potamogeton praelongus* nebyl žádný, nebo byl stimulační pouze v nejvyšších koncentracích.

Porovnání mých výsledků s výsledky ostatních autorů je do značné míry problematické z důvodu rozličných metodických přístupů, různého původu vodních makrofyt a taxonomicky odlišných cílových organismů. Spíše než o porovnání se jedná o „přidání dalších dílků do skládačky a zhodnocení správnosti dílků již zasazených“. Přesto však srovnání některých mých výsledků s některými dalšími studiemi přináší zajímavé motivy pro další směry uvažování. Také vyplývá nutnost komplexnějšího a hlubšího zamyšlení se při zpracování takovýchto studií.

Inhibiční účinek *Acorus calamus* na růst sinic nebo přírodní směsi fytoplanktonu prokázali Zhang et al. (2015) a Zhao et al. (2013). Výsledky mého biotestu naopak ukázaly stimulační účinek vysoce koncentrovaných extraktů. Zhang et al. (2015) připravili hexanové, ethanolové a ethylacetátové extrakty z kořenů *A. calamus* odebraného v blíže nespecifikovaném malém jezeře na předměstí Kchun-mingu. Účinek extraktů rozpuštěných v dimethylsulfoxidu byl sledován na třech kmenech sinic vodního květu, včetně *Microcystis aeruginosa*, a přírodní směsi fytoplanktonu při teplotě 25 °C a světelném toku 47,5  $\mu\text{mol fotonů} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ . Po 72 h prokázali podle obsahu chlorofylu *a* signifikantní alelopatický inhibiční účinek v koncentraci 100 mg sušiny  $\cdot \text{l}^{-1}$ . Pro srovnání, 100% koncentrace mých extraktů použitá v biotestu se rovnala 6250 mg sušiny  $\cdot \text{l}^{-1}$ . Zhao et al. (2013) prokázali inhibiční účinek *A. calamus* na růst *Microcystis aeruginosa* v koexistenčním experimentu provedeném při teplotě 25 °C a světelném toku 47,5  $\mu\text{mol fotonů} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ . Použitý *A. calamus* byl odebrán z jezera Yangzong, které se taktéž nachází poblíž města Kchun-ming. Otázkou je, jestli se opravdu jedná o zmiňovanou alelopatii, nebo byl inhibiční účinek zapříčiněn akumulací těžkých kovů v této rostlině. V okolí Kchun-mingu byla prokázána vysoká přítomnost těžkých kovů, a to jak v půdě, tak v sedimentu jezer Dianchi a Yangzong (Li et al., 2007, Zhang et al., 2012, Yuan et al., 2013, Wang et al., 2014). Těžké kovy se akumulují v těle *A. calamus*, především v jeho kořenech, pokud roste na takto zatíženém sedimentu (Deng et al., 2004, Sarma et al., 2011, Jeelani et al., 2017). Vybereme-li si jako příklad těžkého kovu Cd, zjistíme, že je pro *Microcystis aeruginosa* ve vysokých koncentracích toxický (Zhou et al., 2006) a navíc se jeho inhibiční efekt zvyšuje s teplotou a světelným tokem (Zeng et Wang, 2011).

*Ceratophyllum demersum* je jeden z nejvíce studovaných druhů v rámci alelopatie. Körner a Nicklisch (2002) provedli koexistenční experiment, ve kterém vložili dialyzační membránu obsahující kulturu *Aphanizomenon flosaquae* Ralfs ex Bornet & Flahault do akvária s *C. demersum*. Podle obsahu chlorofylu *a* nebyl zjištěn žádný signifikantní rozdíl oproti kontrole, zatímco aktivita PS II se výrazně snížila. Jasser (1995) provedla podobný experiment s tím rozdílem, že do dialyzační membrány byla vložena přírodní směs fytoplanktonu o známém taxonomickém složení druhů a zastoupení jednotlivých skupin. V přítomnosti *C. demersum* byla biomasa sinic výrazně vyšší oproti kontrole, zatímco v biomase zelených řas nebyly zaznamenány žádné rozdíly. Jasser (1995) a Celewicz-Gołdyn (2010) uskutečnily *in situ* experimenty ve dvou polských jezerech. Jasser (1995) zjistila, že v přítomnosti *C. demersum* byla biomasa sinic a obrněnek menší, zatímco biomasa zelených

řas a nanoplaktonu mnohem vyšší. Biomasa rozsivek se oproti kontrole nelišila. Celewicz-Goldyn (2010) porovnávala rozdíly ve složení fytoplanktonu mezi pelagickou zónou a zónami emerzní a submerzní vegetace. Na lokalitách hustého porostu *C. demersum* byla zaznamenána největší diverzita zelených řas a sinic, největší biomasa zelených řas a nejmenší biomasa rozsivek. Množství biomasy sinic se oproti jiným zónám nelišilo. Obě studie se tedy shodují v tom, že v přítomnosti *C. demersum* byl výrazně stimulován růst zelených řas. Studie se ale rozcházejí v účinku této rostliny na biomasu sinic a rozsivek, který varioval mezi inhibičním a žádným. Zajímavé je porovnání studií, ve kterých bylo použito více typů extraktů z *C. demersum*. Ghobrial et al. (2015) i El-Sheek et al. (2017) mimo jiné zjistili, že acetonové extrakty stimulují růst *Microcystis aeruginosa*, zatímco ethanolové extrakty mají inhibiční účinek. To je v rozporu s mými výsledky, protože v případě ethanolového (i BG-11) extraktu byl růst *M. aeruginosa* stimulován. Jasser (1995) zjistila, že vodný extrakt z *C. demersum* ovlivní složení fytoplanktonu tak, že dojde ke zvýšení biomasy zelených řas a snížení biomasy sinic. Inhibiční účinek *C. demersum* na růst sinic prokázali v koexistenčním experimentu Nakai et al. (1999) a v diskovém difúzním testu Gross et al. (2003).

Methanolvý extrakt a frakce z *Elodea nuttallii* inhibovaly růst šesti kmenů sinic a *Chlorella* cf. *vulgaris* Beyerinck, pouze u *Scenedesmus brevispina* (G. M. Smith) Chodat došlo ke stimulaci růstu (Erhard et Gross, 2006). BG-11 a ethanolové extrakty z *E. nuttallii* použité v mém biotestu signifikantně stimulovaly růst sinic v nejvyšších koncentracích. Vanderstukken et al. (2014) prokázali v dlouhodobém *in situ* experimentu, že *E. nuttallii* inhibuje růst fytoplanktonu a navíc se u tohoto společenstva nevytvoří resistance proti působení této rostliny.

Rojo et al. (2013) zjistily, že výluh z *Chara hispida* inhibuje růst fytoplanktonu. BG-11 extrakty z *Ch. hispida* použité v mé práci neměly žádný signifikantní účinek na růst sinic vodního květu, zatímco ethanolové extrakty stimulovaly jejich růst.

*Chara virgata* vyšla v mnou provedeném biotestu jako druh s největším inhibičním potenciálem. Inhibiční účinek této parožnatky na růst několika kmenů sinic prokázali také Berger et Schagerl (2004) v diskovém difúzním testu. Překvapivě ale nezpozorovali žádný účinek na růst zelených řas.

*Myriophyllum spicatum* bývá obecně považován za druh vodní rostliny s největším alelopatickým inhibičním účinkem. Byla z něj vyizolována látka zvaná tellimagrandin II,

kteřá se zdá býti nejvíce odpovědná za inhibiční účinek (Gross et al., 1996). Inhibiční účinek této látky, ale i jiných vyzolovaných látek nebo separovaných frakcí byl potvrzen v šesti pracích (Leu et al., 2002, Nakai et al., 2000, 2005, 2014, Sun et al., 2014). Koexistenční experimenty *M. spicatum* s *Microcystis aeruginosa* (Nakai et al., 1999), *Tetradesmus obliquus* (Turpin) M. J. Wynne (Lürling et al., 2006) a přírodní směsí fytoplanktonu (Švaný et al., 2013) se jednoznačně shodovaly v inhibičním účinku této rostliny. Nicméně ve dvou dalších studiích byl pozorován stimulační efekt, podobně jako v případě mých výsledků. Vodný extrakt stimuloval růst zelených řas (Jasser, 1995). V *in situ* experimentu byla prokázána zvýšená primární produkce fytoplanktonu v přítomnosti *M. spicatum* (Godmaire et Planas, 1986).

Zasadíme-li výsledky studií zabývajících se účinky alelopatických látek vyzolovaných z *M. spicatum* do širšího ekologického kontextu, vyplynou zajímavé skutečnosti. Většina inhibujících látek této rostliny má lipofilní charakter, a protože jejich přenos ve vodě je z podstaty nemožný, lze předpokládat, že jsou mířeny na organismy přisedlé na jejím povrchu (Gross, 2003). Nicméně tato hypotéza se neslučuje s poznatky získanými v přírodě. Nikdy nebylo prokázáno, že by tato rostlina skutečně hostila menší procento epifytonu než ostatní vodní makrofyta. Primární produkce epifytních řas se mezi *Potamogeton richardsonii* (A. Benn.) Rydb., *Vallisneria americana* Michx. a umělými rostlinami výrazně nelišila, zatímco největších hodnot dosahovala na *M. spicatum* (Cattaneo et Kalff, 1979). Žádné rozdíly v hustotě epifytních řas nebyly prokázány mezi *M. spicatum* a deseti dalšími invazními i původními vodními rostlinami a jednou umělou rostlinou (Grutters et al., 2017). Ani žádné rozdíly v hustotě, biomase a druhovém složení epifytních bezobratlých živočichů nebyly nalezeny mezi *M. spicatum* a dalšími čtyřmi druhy vodních rostlin (Baron et Ostrofsky, 2010).

*Potamogeton crispus* v mém biotestu stimuloval růst sinic nebo neměl žádný účinek. Také v koexistenčním experimentu nebyl prokázán žádný účinek *P. crispus* na růst tří druhů sinic vodního květu (Nakai et al., 1999). Shan et al. (2015) zjistili, že přidavek extraktů ani výluhů z *P. crispus* ke kultuře *Microcystis aeruginosa* nemá žádný vliv na její růst. Extrakt o koncentraci 1 g sušiny/100 ml neměl žádný účinek na *Scenedesmus communi* E. Hegewald, ale inhiboval růst *Trichormus variabilis* (Kützing ex Bornet & Flahault) Komárek & Anagnostidis (Pakdel et al., 2013).

Jasser (1995) zaznamenala snížení biomasy sinic a naopak zvýšení biomasy zelených řas po přidavku extraktu z *Potamogeton lucens*. Výsledky mého biotestu ukázaly, že extrakty z této rostliny nemají žádný účinek na růst sinic nebo jejich růst podporují v nejvyšších koncentracích.

DellaGreca et al. (2001b) vyizolovali šest nových furano-diterpenů z *Potamogeton natans* a prokázali jejich inhibiční účinek na růst *Raphidocelis subcapitata* (Korshikov) Nygaard et al. Cangiano et al. (2001) chromatograficky separovali šest dalších frakcí z *P. natans* a zjistili, že jednotlivé frakce buď inhibují, nebo stimulují růst *R. subcapitata*. Mé výsledky ukázaly stimulační efekt vysoce koncentrovaných extraktů na růst sinic.

Stejně tak diterpeny vyizolované z *Potamogeton pectinatus* potlačovaly růst *R. subcapitata* (Waridel et al., 2003). Ghobrial et al. (2015) prokázali inhibiční účinek extraktů z *P. pectinatus* na růst dvou kmenů sinic. Nicméně inhibiční účinek na sinice vodního květu nebyl prokázán ani v koexistenčním experimentu (Körner et Nicklisch, 2002), ani v mém biotestu.

V jediné práci, která se dosud zabývala studiem alelopatického potenciálu *Potamogeton pusillus*, byl prokázán inhibiční účinek výluhu na růst *Microcystis aeruginosa* (Takeda et al., 2011). V mé práci byl zjištěn protichůdný účinek této rostliny.

*Stratiotes aloides* je jedním z intenzivněji zkoumaných druhů. Účinek extraktů z této rostliny značně varioval od inhibičního až po stimulační v závislosti na kmenu cílového organismu, stimulační efekt byl prokázán mimo jiné na *Microcystis aeruginosa*, stejně jako v mé práci (Mulderij et al., 2007). Podobně variabilní výsledky získali i Mohamed a Al Shehri (2010) po přidání extraktů ke kmenům epifytních a planktonních sinic. Mulderij et al. (2005, 2007) prokázali, že výluhy inhibovaly růst dvou kmenů sinic vodního květu a dvou kmenů řas. V *in situ* experimentu byla zjištěna výrazně nižší hustota buněk fytoplanktonu na lokalitách výskytu *S. aloides* (Mulderij et al., 2006).

Extrakty *Typha angustifolia* a *Typha latifolia* projevily v mém biotestu silný stimulační účinek. Nicméně ve všech předchozích studiích byl prokázán inhibiční účinek extraktů nebo vyizolovaných látek z těchto emerzních makrofyt na růst širokého spektra sinic a řas (Aliotta et al., 1990, DellaGreca et al., 1990, Nakai et al., 2010, Zhang et al., 2012).

Ve všech rešerších shrnujících poznatky o alelopatii mezi vodními makrofyty a sinicemi nebo řasami je vyzdvihován pouze inhibiční efekt daných druhů (Elakovich et Wooten, 1994,



Gross, 2003, Hu et Hong, 2008, Shao et al., 2013, Mohamed, 2017). Rozborem a porovnáním primárních publikací však zjistíme, že ve většině případů nebyl inhibiční efekt jednotlivých druhů jednoznačně prokázán. Ačkoliv se tedy na první pohled mohlo zdát, že jsou mé výsledky ukazující stimulační efekt většiny druhů v rozporu s ostatními studii, po detailní analýze studií jsem našla i podobné výsledky, ale především zásadní nedostatky v metodice a faktory, kterými mohly být výsledky negativně ovlivněny.

## 7 ZÁVĚR

Byl zkoumán účinek extraktů z 35 druhů vodních makrofyt na růst dvou kmenů sinic vodního. V důsledku kontaminace bakteriemi mohl být statisticky vyhodnocen účinek jen 25 druhů. Extrakty 17 druhů v nejvyšších koncentracích stimulovaly růst sinic, zatímco v nižších koncentracích nebyl prokázán žádný signifikantní rozdíl oproti kontrole. Inhibiční potenciál proti sinicím vodního květu byl nalezen u pěti druhů – *Nitella flexilis*, *Potamogeton acutifolius*, *Potamogeton crispus*, *Potamogeton lucens*, *Potamogeton praelongus* a především *Chara virgata*.

## 8 LITERATURA

ANDERSEN, Robert A., ed., 2005. *Algal culturing techniques*. Singapore: Elsevier Academic Press. ISBN 0-12-088426-7.

ALIOTTA, Giovanni, Marina DELLAGRECA, Pietro MONACO, Gabriele PINTO, Antonino POLLIO a Lucio PREVITERA, 1990. In vitro algal growth inhibition by phytotoxins of *Typha latifolia* L. *Journal of Chemical Ecology*. **16**(9), 2637-2646.

ALIOTTA, Giovanni, Antonio MOLINARO, Pietro MONACO, Gabriele PINTO a Lucio PREVITERA, 1992. Three biologically active phenylpropanoid glucosides from *Myriophyllum verticillatum*. *Phytochemistry*. **31**(1), 109-111.

ALIOTTA, Giovanni, Pietro MONACO, Gabriele PINTO a Lucio PREVITERA, 1991. Potential allelochemicals from *Pistia stratiotes* L. *Journal of Chemical Ecology*. **17**(11), 2223-2234.

BARON, Julianne L. a Milton L. OSTROFSKY, 2010. The effects of macrophyte tannins on the epiphytic macroinvertebrate assemblages in Sandy Lake, Pennsylvania. *Journal of Freshwater Ecology*. **25**(3), 457-465.

BAUER, Nadine, Ulrike BLASCHKE, Eike BEUTLER, Elisabeth M. GROSS, Kristina JENETT-SIEMS, Karsten SIEMS a Sabine HILT, 2009. Seasonal and interannual dynamics of polyphenols in *Myriophyllum verticillatum* and their allelopathic activity on *Anabaena variabilis*. *Aquatic Botany*. **91**(2), 110-116.

BERGER, Johanna a Michael SCHAGERL, 2003. Allelopathic activity of *Chara aspera*. *Hydrobiologia*. **501**, 109-115.

BERGER, Johanna a Michael SCHAGERL, 2004. Allelopathic activity of Characeae. *Biologia*. **59**(1), 9-15.

BORMANS, Myriam, Blahoslav MARŠÁLEK a Daniel JANČULA, 2016. Controlling internal phosphorus loading in lakes by physical methods to reduce cyanobacterial blooms: a review. *Aquatic Ecology*. **50**(3), 407-422.

BOYD, Claude E., John A. DAVIS a Ellen JOHNSTON, 1978. Die-offs of the blue-green alga, *Anabaena variabilis*, in fish ponds. *Hydrobiologia*. **61**(2), 129-133.

CANGIANO, Tiziana, Marina DELLAGRECA, Antonio FIORENTINO, Marina ISIDORI, Pietro MONACO a Armando ZARELLI, 2001. Lactone diterpenes from the aquatic plant *Potamogeton natans*. *Phytochemistry*. **56**, 469-473.

CAREY, Cayelan C., Bas W. IBELINGS, Emily P. HOFFMANN, David P. HAMILTON a Justin D. BROOKES, 2012. Eco-physiological adaptations that favour freshwater cyanobacteria in a changing climate. *Water Research*. **46**, 1394-1407.

CARR, N. G. a Brian A. WHITTON, 1982. *The Biology of cyanobacteria*. Berkeley: University of California Press. ISBN 05-200-4717-6.

CATTANEO, A. a Jaap KALFF, 1979. Primary production of algae growing on natural and artificial aquatic plants: A study of interactions between epiphytes and their substrate. *Limnology and Oceanography*. **24**(6), 1031-1037.

CELEWICZ-GOŁDYN, Sofia, 2010. Influence of *Ceratophyllum demersum* L. on phytoplankton structure in a shallow eutrophic lake. *Oceanological and Hydrobiological Studies*. **39**(3), 121-128.

DANIHELKA, Jiří, Jindřich CHRTEK Jr. a Zdeněk KAPLAN, 2012. Checklist of vascular plants of the Czech Republic. *Preslia*. **84**, 647-811.

DELLAGRECA, Marina, Antonio FIORENTINO, Pietro MONACO, Gabriele PINTO, Antonino POLLIO a Lucio PREVITERA, 1996. Action of antialgal compounds from *Juncus effusus* L. on *Selenastrum capricornutum*. *Journal of Chemical Ecology*. **22**(3), 587-603.

DELLAGRECA, Marina, Antonio FIORENTINO, Marina ISIDORI, Pietro MONACO a Armando ZARRELLI, 2000. Antialgal *ent*-labdane diterpenes from *Ruppia maritima*. *Phytochemistry*. **55**, 909-913.

DELLAGRECA, Marina, Antonio FIORENTINO, Pietro MONACO, Gabriele PINTO, Lucio PREVITERA a Antonio ZARRELLI, 2001a. Synthesis and antialgal activity of dihydrophenanthrenes and phenanthrenes II: Mimics of naturally occurring compounds in *Juncus effusus*. *Journal of Chemical Ecology*. **27**(2), 257-271.

DELLAGRECA, Marina, Antonio FIORENTINO, Marina ISIDORI, Pietro MONACO, Fabio TEMUSSI a Armando ZARELLI, 2001b. Antialgal furano-diterpenes from *Potamogeton natans*. *Phytochemistry*. **58**, 299-304.

DELLAGRECA, Marina, Rosa LANZETTA, Antonio MOLINARO, Pietro MONACO a Lucio PREVITERA, 1992. Phenalene metabolites from *Eichhornia crassipes*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **2**(4), 311-314.

DELLAGRECA, Marina, Lorenzo MANGONI, Antonio MOLINARO, Pietro MONACO a Lucio PREVITERA, 1990. (20S)-4 $\alpha$ -methyl-24-methylenecholest-7-en-3 $\beta$ -ol, an allelopathic sterol from *Typha latifolia*. *Phytochemistry*. **29**(6), 1797-1798.

DELLAGRECA, Marina, Pietro MONACO, Lucio PREVITERA, Giovanni ALIOTTA, Gabriele PINTO a Antonino POLLIO, 1989. Allelochemical activity of phenylpropanes from *Acorus gramineus*. *Phytochemistry*. **28**(9), 2319-2321.

DENG, Hong, Zhi Hong YE a Ming Hung WONG, 2004. Accumulation of lead, zinc, copper and cadmium by 12 wetland plant species thriving in metal-contaminated sites in China. *Environmental Pollution*. **132**, 29-40.

DRÁBKOVÁ, Michaela a Blahoslav MARŠÁLEK, 2004. *Přehled možností principů omezování masového rozvoje sinic*. Brno: Vodní zdroje EKOMONITOR spol., 113-142. Cyanobakterie: Biologie, toxikologie a možnosti nápravných opatření.

ELAKOVICH, Stella D. a Jean W. WOOTEN, 1987. An examination of the phytotoxicity of the water shield, *Brasenia schreberi*. *Journal of Chemical Ecology*. **13**(9), 1935-1940.

ELAKOVICH, Stella D. a Jean W. WOOTEN, 1994. Allelopathic, herbaceous, vascular hydrophytes. INDERJIT, K. M. M. DAKSHINI a Frank A. EINHELLIG, ed. *Allelopathy: organisms, processes, and applications*. Washington, D.C.: American Chemical Society, s. 58-73. ISBN 0-8412-3061-7.

EL-SHEEKH, Mostafa, Amany M. HAROON a Shawky Z. SABAE, 2017. Activity of some Nile River aquatic macrophyte extracts against the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *African Journal of Aquatic Science*. **42**(3), 271-277.

- ERHARD, Daniela a Elisabeth M. GROSS, 2006. Allelopathic activity of *Elodea canadensis* and *Elodea nuttallii* against epiphytes and phytoplankton. *Aquatic Botany*. **85**(3), 203-211.
- ESPINOSA-RODRÍGUEZ, Cristian A., Ligia RIVERA-DE LA PARRA, Aurora MARTÍNEZ-TÉLLEZ, Gisela C. GÓMEZ-CABRAL, S.S.S. SARMA a Sarma NANDINI, 2016. Allelopathic interactions between the macrophyte *Egeria densa* and plankton (alga, *Scenedesmus acutus* and cladocerans, *Simocephalus* spp.): a laboratory study. *Journal of Limnology*. **75**(1), 151-160.
- FORSBERG, Curt, Synne KLEIVEN a Torbjörn WILLÉN, 1990. Absence of allelopathic effects of *Chara* on phytoplankton in situ. *Aquatic Botany*. **38**, 289-294.
- GAO, Yun-Ni, Bi-Yun LIU, Dong XU, Qiao-Hong ZHOU, Chen-Yan HU, Fang-Jie GE, Li-Ping ZHANG a Zhen-Bin WU, 2011. Phenolic compounds exuded from two submerged freshwater macrophytes and their allelopathic effects on *Microcystis aeruginosa*. *Polish Journal of Environmental Studies*. **20**(5), 1153-1159.
- GHOBRIAL, Mary G. N., H. S. NASSR a A. W. KAMIL, 2015. Bioactivity effect of two macrophyte extracts on growth performance of two bloom-forming cyanophytes. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*. **41**(1), 69-81.
- GODMAIRE, Hélène a Dolors PLANAS, 1986. Influence of *Myriophyllum spicatum* L. on the species composition, biomass and primary productivity of phytoplankton. *Aquatic Botany*. **23**, 299-308.
- GOPAL, Brij a Usha GOEL, 1993. Competition and allelopathy in aquatic plant communities. *The Botanical Review*. **59**(3), 155-210.
- GROSS, Elisabeth M., 2003. Allelopathy of aquatic autotrophs. *Critical Reviews in Plant Science*. **22**, 313-339.
- GROSS, Elisabeth M., Daniela ERHARD a Enikő IVÁNYI, 2003. Allelopathic activity of *Ceratophyllum demersum* L. and *Najas marina* ssp. *intermedia* (Wolfgang) Casper. *Hydrobiologia*. **506-509**, 583-589.

- GROSS, Elisabeth M., Sabine HILT, Paola LOMBARDO a Gabi MULDERIJ, 2007. Searching for allelopathic effects of submerged macrophytes on phytoplankton – state of the art and open questions. *Hydrobiologia*. **584**(1), 77-88.
- GROSS, Elisabeth M., Holger MEYER a Gerhard SCHILLING, 1996. Release and ecological impact of algicidal hydrolysable polyphenols in *Myriophyllum spicatum*. *Phytochemistry*. **41**, 133-138.
- GRUTTERS, Bart M. C., Elisabeth M. GROSS a Ellen VAN DONK, 2017. Periphyton density is similar on native and non-native plant species. *Freshwater Biology*. **62**(5), 1-10.
- HARPER, John L., 1977. *Population biology of plants*. New York: Academic Press. ISBN 0123258502.
- HASLER, Arthur D. a Elizabeth JONES, 1949. Demonstration of the antagonistic action of large aquatic plants on algae and rotifers. *Ecology*. **30**(3), 359-364.
- HILT, Sabine, Mary G. N. GHOBRIAL a Elisabeth M. GROSS, 2006. *In situ* allelopathic potential of *Myriophyllum verticillatum* (Haloragaceae) against selected phytoplankton species. *Journal of Phycology*. **42**, 1189-1198.
- HILT, Sabine, a Paola LOMBARDO, 2010. Effects of macrophytes on phytoplankton: nutrient uptake versus allelopathy. *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Verhandlungen*. **30**(9), 1317-1320.
- HE, Chi-quan a Chang-ke WANG, 2001. Allelopathic effect of *Acorus tatarinowii* upon algae. *Journal of Environmental Sciences*. **13**(4), 481-484.
- HE, Lian-Sheng, Fan-Li MENG, Xiao-Jun DIAO, Yi WEI LI, Rui MENG a Jian-Min SHU, 2013. Allelopathic effect of *Nelumbo nucifera* stem and leaf tissue extract on the growth of *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus quadricauda*. *Huanjing Kexue = Environmental Science*. **34**(7), 2637-2641.
- HU, Hongying a Yu HONG, 2008. Algal-bloom control by allelopathy of aquatic macrophytes – A review. *Frontiers of Environmental Science & Engineering in China*. **2**(4), 421-438.

- HUANG, Y., Y. BAI, Y. WANG a H. KONG, 2013. Allelopathic effects of the extracts from an invasive species *Solidago canadensis* L. on *Microcystis aeruginosa*. *Letters in Applied Microbiology*. **57**, 451-458.
- HUA, Quan, Yun-guo LIU, Zhi-li YAN, et al., 2018. Allelopathic effect of the rice straw aqueous extract on the growth of *Microcystis aeruginosa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. **148**, 953-959.
- CHENG, Wu, Chang XUEXIU, Dong HONGJUAN, Li DIFU a Liu JUNYAN, 2008. Allelopathic inhibitory effect of *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc. on *Microcystis aeruginosa* and its physiological mechanism. *Acta Ecologica Sinica*. **28**(6), 2595-2603.
- CHIA, Mathias, Michael ADELANWA, Zakari LADAN, Dora IORTSUUN, Sewuese ADANYI a Bala STEPHEN, 2012. Interactions of *Ipomoea aquatica* and *Utricularia reflexa* with phytoplankton densities in a small water body in northern Nigeria. *Oceanological and Hydrobiological Studies*. **41**(2), 39-47.
- CHORUS, Ingrid a Jamie BARTRAM, ed., 1999. *Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their public health consequences, monitoring and management*. London: E & FN Spon. ISBN 0-419-23930-8.
- INDERJIT a K. M. M. DAKSHINI, 1994. Algal allelopathy. *The Botanical Review*. **60**(2), 182-196.
- INDERJIT a Roger DEL MORAL, 1997. Is separating resource competition from allelopathy realistic? *The Botanical Review*. **63**(3), 221-230.
- JANČULA, Daniel a Blahoslav MARŠÁLEK, 2011. Critical review of actually available chemical compounds for prevention and management of cyanobacterial blooms. *Chemosphere*. **85**, 1415-1422.
- JASSER, Iwona, 1995. The influence of macrophytes on a phytoplankton community in experimental conditions. *Hydrobiologia*. **306**, 21-32.
- JEELANI, Nasreen, Wen YANG, Lingqian XU, Yajun QIAO, Shuqing AN a Xin LENG, 2017. Phytoremediation potential of *Acorus calamus* in soils co-contaminated with cadmium and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Scientific Reports*. **7**(1), 8028.



JEPPESSEN, Erik, 1998. *The ecology of shallow lakes – trophic interactions in the pelagial*. Silkeborg. Disertační práce. National Environmental Research Institute.

KALINA, Tomáš a Jiří VÁŇA, 2005. *Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii*. Praha: Karolinum. ISBN 80-246-1036-1.

KEATING, Kathleen I., 1978. Blue-green algal inhibition of diatom growth: Transition from mesotrophic to eutrophic community structure. *Science*. **199**(3), 971-973.

KÖRNER, Sabine a Andreas NICKLISCH, 2002. Allelopathic growth inhibition of selected phytoplankton species by submerged macrophytes. *Journal of Phycology*. **38**, 862-871.

LEBLANC, Susan, Frances R. PICK a Rocio ARANDA-RODRIGUEZ, 2005. Allelopathic effects of the toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* on duckweed, *Lemna gibba* L. *Environmental Toxicology*. **20**(1), 67-73.

LEFLAIVE, Joséphine a Loïc TEN-HAGE, 2007. Algal and cyanobacterial secondary metabolites in freshwaters: a comparison of allelopathic compounds and toxins. *Freshwater Biology*. **52**(2), 199-214.

LEGRAND, Catherine, Karin RENGEFORS, Giovana O. FISTAROL a Edna GRANALI, 2003. Allelopathy in phytoplankton – biochemical, ecological and evolutionary aspects. *Phycologia*. **42**(4), 406-419.

LEU, Eva, Anja KRIEGER-LISZKAY, Charilos GOUSSIAS a Elisabeth M. GROSS, 2002. Polyphenolic allelochemicals from the aquatic angiosperm *Myriophyllum spicatum* inhibit photosystem II. *Plant Physiology*. **130**(4), 2011-2018.

LI, Dunhai, Genbao LI, Wuxiong CHEN a Yongding LIU, 2009. Interactions between a cyanobacterial bloom (*Microcystis*) and the submerged aquatic plant *Ceratophyllum oryzetorum* Kom. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*. **27**(1), 38-42.

LI, Feng-Min a Hong-Ying HU, 2005. Isolation and characterization of a novel antialgal allelochemical from *Phragmites communis*. *Applied and environmental microbiology*. **71**(11), 6545–6553.

- LI, Jiang, Yunguo LIU, Pingyang ZHANG, et al., 2016. Growth inhibition and oxidative damage of *Microcystis aeruginosa* induced by crude extract of *Sagittaria trifolia* tubers. *Journal of Environmental Sciences*. **43**, 40-47.
- LI, Ren-Ying, Hao YANG, Zhi-Gao ZHOU, Jun-Jie LÜ, Xiao-Hua SHAO a Feng JIN, 2007. Fractionation of heavy metals in sediments from Dianchi Lake, China. *Pedosphere*. **17**(2), 265-272.
- LÜRLING, Miquel, Gerben VAN GEEST a Marten SCHEFFER, 2006. Importance of nutrient competition and allelopathic effects in suppression of the green alga *Scenedesmus obliquus* by the macrophytes *Chara*, *Elodea* and *Myriophyllum*. *Hydrobiologia*. **556**, 209-220.
- MÄHNERT, Barbara, Michael SCHAGERL a Liselotte KRENN, 2017. Allelopathic potential of stoneworts. *Fottea*. **17**(2), 137-149.
- MARŠÁLEK, Blahoslav, 2017. *Řasové testy trofie a toxicity* [online]. Brno [cit. 2018-03-11]. Dostupné z: <https://is.muni.cz/el/1431/jaro2017/Bi5620/um/RasoveTestyPrehled.pdf>. Učební materiál. Masarykova univerzita.
- MENG, Panpan, Haiyan PEI, Wenrong HU, Zhongde LIU, Xiuqing LI a Hangzhou XU, 2015. Allelopathic effects of *Ailanthus altissima* extracts on *Microcystis aeruginosa* growth, physiological changes and microcystins release. *Chemosphere*. **141**, 219-226.
- MOHAMED, Zakaria A., 2017. Macrophytes-cyanobacteria allelopathic interactions and their implications for water resources management – A review. *Limnologia*. **63**, 122-132.
- MOHAMED, Zakaria A. a Abdulrahman M. AL SHEHRI, 2010. Differential responses of epiphytic and planktonic toxic cyanobacteria to allelopathic substances of the submerged macrophyte *Stratiotes aloides*. *International Review of Hydrobiology*. **95**(3), 224-234.
- MULDERIJ, Gabi, Birgit MAU, Ellen VAN DONK a Elisabeth M. GROSS, 2007. Allelopathic activity of *Stratiotes aloides* on phytoplankton – towards identification of allelopathic substances. *Hydrobiologia*. **584**, 89-100.
- MULDERIJ, Gabi, Wolf M. MOOIJ, Alfons J. P. SMOLDERS a Ellen VAN DONK, 2005. Allelopathic inhibition of phytoplankton by exudates from *Stratiotes aloides*. *Aquatic Botany*. **82**, 284-296.

- MULDERIJ, Gabi, Alfons J. P. SMOLDERS a Ellen VAN DONK, 2006. Allelopathic effect of the aquatic macrophyte, *Stratiotes aloides*, on natural phytoplankton. *Freshwater Biology*. **51**, 554-561.
- MULDERIJ, Gabi, Ellen VAN DONK a Jan G. M. ROELOFS, 2003. Differential sensitivity of green algae to allelopathic substances from *Chara*. *Hydrobiologia*. **491**, 261-271.
- NAKAI, Satoshi, Satoshi ASAOKA, Tetsuji OKUDA a Wataru NISHIJIMA, 2014. Growth Inhibition of *Microcystis aeruginosa* by allelopathic compounds originally isolated from *Myriophyllum spicatum*: Temperature and light effects and evidence of possible major mechanisms. *Journal of Chemical Engineering of Japan*. **47**(6), 488-493.
- NAKAI, Satoshi, Yutaka INOUE, Masaaki HOSOMI a Akihiko MURAKAMI, 1999. Growth inhibition of blue-green algae by allelopathic effects of macrophytes. *Water Science and Technology*. **39**(8), 47-53.
- NAKAI, Satoshi, Yutaka INOUE, Masaaki HOSOMI a Akihiko MURAKAMI, 2000. *Myriophyllum spicatum*-released allelopathic polyphenols inhibiting growth of blue-green algae *Microcystis aeruginosa*. *Water Research*. **34**(11), 3026-3032.
- NAKAI, Satoshi, Shingo YAMADA a Masaaki HOSOMI, 2005. Anti-cyanobacterial fatty acids released from *Myriophyllum spicatum*. *Hydrobiologia*. **543**, 71-78.
- NAKAI, Satoshi., G. ZOU, Tetsuji OKUDA, T. Y. TSAI, X. SONG, Wataru NISHIJIMA a M. OKADA, 2010. Anti-cyanobacterial allelopathic effects of plants used for artificial floating islands. *Allelopathy Journal*. **26**(1), 113-121.
- PAERL, Hans W., Rolland S. FULTON, Pia H. MOISANDER a Julianne DYBLE, 2001. Harmful Freshwater Algal Blooms, With an Emphasis on Cyanobacteria. *The Scientific World Journal*. (1), 76-113.
- PAKDEL, Fariba M., Lien SIM, John BEARDALL a Jenny DAVIS, 2013. Allelopathic inhibition of microalgae by the freshwater stonewort, *Chara australis*, and a submerged angiosperm, *Potamogeton crispus*. *Aquatic Botany*. **110**, 24-30

R CORE TEAM, 2017. *R: A language and environment for statistical* [online]. Wien: R Foundation for Statistical Computing [cit. 2018-03-20]. Dostupné z: <https://www.r-project.org/>

REIGOSA, Manuel J., Adela SÁNCHEZ-MOREIRAS a Luis GONZÁLEZ, 1999. Ecophysiological approach in allelopathy. *Critical Reviews in Plant Sciences*. **18**(5), 577-608.

REYNOLDS, Colin S. a Anthony E. WALSBY, 1975. Water-blooms. *Biological Reviews*. **50**(4), 437-481.

RICE, Elroy L., 1984. *Allelopathy*. 2. New York: Academic Press. ISBN 9780125870559.

ROJČKOVÁ, Renata, Dagmar DVOŘÁKOVÁ a Blahoslav MARŠÁLEK, 1998. The use of miniaturized algal bioassays in comparison to the standard flask assay. *Environmental Toxicology and Water Quality*. **13**(3), 235-241.

ROJO, Carmen, Matilde SEGURA a Maria A. RODRIGO, 2013. The allelopathic capacity of submerged macrophytes shapes the microalgal assemblages from a recently restored coastal wetland. *Ecological Engineering*. **58**, 149-155.

SAITO, Kazuki, Makoto MATSUMOTO, Toshikazu SEKINE, Isamu MURAKOSHI, Naoko MORISAKI a Shigego IWASAKI, 1989. Inhibitory substances from *Myriophyllum brasiliense* on growth of blue-green algae. *Journal of Natural Products*. **52**(6), 1221-1226.

SARMA, Hemen, Suresh DEKA, Hemen DEKA a Rashmi Rekha SAIKIA, 2011. Accumulation of heavy metals in selected medicinal plants. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. **214**, 63-68.

SHANAB, Sanaa M. M., Emad A. SHALABY, David A. LIGHTFOOT a Hany A. EL-SHEMY, 2010. Allelopathic Effects of Water Hyacinth [*Eichhornia crassipes*]. *PLoS One*. **5**(10), e13200.

SHAN, Ying, Zhengfang WANG, Xingzhang LUO a Zheng ZHENG, 2015. Allelopathic inhibition effect of four aquatic macrophytes on *Microcystis aeruginosa* growth. *Fresenius Environmental Bulletin*. **24**(11b), 4025-4033.

SHAO, Jihai, Renhui LI, Joe Eugene LEPO a Ji-Dong GU, 2013. Potential for control of harmful cyanobacterial blooms using biologically derived substances: Problems and prospects. *Journal of Environmental Management*. **125**, 149-155.

SCHINDLER, David W., 1977. Evolution of phosphorus limitation in lakes. *Science*. **195**(4275), 260-262.

SCHREITER, Trude, 1927. Untersuchungen über den Einfluss einer Helodeawucherung auf das Netzplankton des Hirschberger Grossteiches in Böhmen in den Jahren 1921 bis 1925 incl. In: *Sborník výzkumných ústavů zemědělských RČS*. Praha: Ministerstvo zemědělství republiky Československé, s. 98.

SMITH, Val H., G. David TILMAN a Jeffrey C. NEKOLA, 1999. Eutrophication: impacts of excess nutrient inputs on freshwater, marine, and terrestrial ecosystems. *Environmental Pollution*. **100**, 179-196.

STANIER, R. Y., R. KUNISAWA, M. MANDEL a G. COHEN-BAZIRE, 1971. Purification and properties of unicellular blue-green algae (order Chroococcales). *Bacteriological Reviews*. **35**(2), 171-205.

ST-LAURENT, D., C. BLAISE, P. MACQUARRIE, R. SCROGGINS a B. TROTTIER, 1992. Comparative assessment of herbicide phytotoxicity to *Selenastrum capricornutum* using microplate and flask bioassay procedures. *Environmental Toxicology and Water Quality*. **7**, 35-48.

SUN, X. M., Z. Y. LU, B. Y. LIU, Q. H. ZHOU, Y. Y. ZHANG a Z. B. WU, 2014. Allelopathic effects of pyrogallol acid secreted by submerged macrophytes on *Microcystis aeruginosa*: Role of ROS generation. *Allelopathy Journal*. **33**(1), 121-130.

SÜTFELD, Rainer, Frank PETEREIT a Adolf NAHRSTEDT, 1996. Resorcinol in exudates of *Nuphar lutea*. *Journal of Chemical Ecology*. **22**(12), 2221-2231.

ŠVANYS, Algirdas, Ričardas PAŠKAUSKAS a Sabine HILT, 2014. Effects of the allelopathically active macrophyte *Myriophyllum spicatum* on a natural phytoplankton community: a mesocosm study. *Hydrobiologia*. **737**(1), 57-66.

TAKEDA, Fumihiko, Kazunori NAKANO, Osamu NISHIMURA, Yoshihiko SHIMADA, Shota FUKURO, Hitoshi TANAKA, Norio HAYASHI a Yuhei INAMORI, 2011. Allelopathic potential of *Potamogeton pusillus* community against *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Water and Environment Technology*. **9**(1), 21-28.

TAMIRE, Girum, Seyoum MENGISTOU a Gezahegn DEGEFE, 2016. Potential allelopathic impact of *Potamogeton schweinfurthii* on phytoplankton in Lake Ziway, Ethiopia. *Inland Waters*. **6**(3), 336-342.

VAN ALLER, Robert T., George F. PESSONEY, Van A. ROGERS, Edward J. WATKINS a Harold G. LEGGETT, 1985. Oxygenated fatty acids: A class of allelochemicals from aquatic plants. THOMPSON, Alonzo C. *The chemistry of allelopathy: Biochemical interactions among plants*. Washington, DC: American Chemical Society, s. 387–400. ISBN 9780841208865.

VANDERSTUKKEN, Maarten, Steven A. J. DECLERCK, Ellen DECAESTECKER a Koenraad MUYLAERT, 2014. Long-term allelopathic control of phytoplankton by the submerged macrophyte *Elodea nuttallii*. *Freshwater Biology*. **59**(5), 930-941.

VANDERSTUKKEN, Maarten, Néstor MAZZEO, Willem VAN COLEN, Steven A. J. DECLERCK a Koenradd MUYLAERT, 2011. Biological control of phytoplankton by the subtropical submerged macrophytes *Egeria densa* and *Potamogeton illinoensis*: a mesocosm study. *Freshwater Biology*. **56**, 1837-1849.

WANG, Haiping, Feng LIU, Pei LUO, Zihan LI, Ligu ZHENG, Hua WANG, Dongsheng ZOU a Jinshui WU, 2017. Allelopathic effects of *Myriophyllum aquaticum* on two cyanobacteria of *Anabaena flos-aquae* and *Microcystis aeruginosa*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. **98**(4), 556-561.

WANG, Hong-Qiang, Shui-Ping CHENG, Sheng-Hua ZHANG, et al., 2010. Chemical composition in aqueous extracts of *Potamogeton malaiianus* and *Potamogeton maackianus* and their allelopathic effects on *Microcystis aeruginosa*. *Polish Journal of Environmental Studies*. **19**(1), 213-218.

WANG, Li, Guo-Xiang WANG, Xiao-Yan TANG, Zheng-Yong CHEN a Wen-Lin WANG, 2010. Inhibitory effect of *Nymphoides peltatum* on *Microcystis aeruginosa* and its mechanism. *Journal of Ecology and Rural Environment*. **26**(3), 257-263.

- WANG, Li-xin, Ling ZHANG, Chun-Yan, Yu-Xia ZHANG, Chang-Mei LU a Guo-Rong WU, 2006. The inhibitory effect of *Hydrilla verticillata* culture water on *Microcystis aeruginosa* and its mechanism. *Zhi wu sheng li yu fen zi sheng wu xue xue bao = Journal of plant physiology and molecular biology*. **32**(6), 672-678.
- WANG, Wei-hong, Min JI, Nan ZHANG a Miao-miao WANG, 2007. Allelopathy of *Ruppia maritima* on *Chlorella vulgaris* in reclaimed wastewater. *Journal of Lake Sciences*. **3**, 321–325.
- WANG, Zhixiu, Lu YAO, Guihua LIU a Wenzhi LIU, 2014. Heavy metals in water, sediments and submerged macrophytes in ponds around the Dianchi Lake, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. **107**, 200-206.
- WARIDEL, Patrice, Jean-Luc WOLFENDER, Jean-Bernard LACHAVANNE a Kurt HOSTETTMANN, 2003. Ent-Labdane diterpenes from the aquatic plant *Potamogeton pectinatus*. *Phytochemistry*. **64**, 1309-1317.
- WATSON, Sue B., Brian A. WHITTON, Scott N. HIGGINS, Hans W. PAERL, Bryan W. BROOKS a John D. WEHR, 2015. Harmful Algal Blooms. WEHR, John D., Robert G. SHEATH a J. Patrick KOCIOLEK, ed. *Freshwater Algae of North America: Ecology and Classification*. 2. London: Elsevier, 2015, s. 873-920. ISBN 978-0-12-385876-4.
- WETZEL, Robert G., 2001. *Limnology: lake and river ecosystems*. 3. San Diego: Academic Press. ISBN 978-0-12-744760-5.
- WILLIS, Rick J., 1985. The historical bases of the concept of allelopathy. *Journal of the History of Biology*. **18**(1), 71-102.
- WIUM-ANDERSEN, Søren, Uffe ANTHONI, Carsten CHRISTOPHERSEN a Gunnar HOUEN, 1982. Allelopathic effects on phytoplankton by substances isolated from aquatic macrophytes (Charales). *OIKOS*. **39**(2), 187-190.
- WU, Xiang, Hao WU, Junren CHEN a Jinyun YE, 2013. Effects of allelochemical extracted from water lettuce (*Pistia stratiotes* Linn.) on the growth, microcystin production and release of *Microcystis aeruginosa*. *Environmental Science and Pollution Research*. **20**(11), 8192-8201.

- WU, Zhenbin, Ping DENG, Xiaohui WU, Sha LUO a Yunni GAO, 2007. Allelopathic effects of the submerged macrophyte *Potamogeton malaianus* on *Scenedesmus obliquus*. *Hydrobiologia*. **592**, 465-474.
- XIAN, Qiming, Haidong CHEN, Huili LIU, Huixian ZOU a Daqiang YIN, 2006. Isolation and identification of antialgal compounds from the leaves of *Vallisneria spiralis* L. by activity-guided fractionation. *Environmental Science and Pollution Research*. **13**(4), 233-237.
- XIAN, Qiming, Haidong CHEN, Huixian ZOU a Daqiang YIN, 2007. Allelopathic activity and nutrients competition between *Ceratophyllum demersum* and *Microcystis aeruginosa*. *Allelopathy Journal*. **19**(1), 227-232.
- YUAN, Zhang, Shi TAORAN, Zhang YAN a Yu TAO, 2014. Spatial distribution and risk assessment of heavy metals in sediments from a hypertrophic plateau lake Dianchi, China. *Environmental Monitoring and Assessment*. **186**(2), 1219–1234.
- ZENG, Jin a Wen-Xiong WANG, 2011. Temperature and irradiance influences on cadmium and zinc uptake and toxicity in a freshwater cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Hazardous Materials*. **190**, 922-929.
- ZHANG, Enlou, Enfeng LIU, Ji SHEN, Yanmin CAO a Yanling LI, 2012. One century sedimentary record of lead and zinc pollution in Yangzong Lake, a highland lake in southwestern China. *Journal of Environmental Sciences*. **24**(7), 1189-1196.
- ZHANG, Sheng-hua, Li GUO, Jin-yan CAO a Jun-jun CHANG, 2015. Allelopathic activities of three emergent macrophytes on several monospecific cyanobacterial species and natural phytoplankton assemblages. *Polish Journal of Environmental Studies*. **24**(1), 397-402.
- ZHANG, Tingting, Lu LIU, Xiaohui YANG, Shengjuan ZHANG, Wentong XIA a Cheng LI, 2014. Allelopathic control of freshwater phytoplankton by the submerged macrophyte *Najas minor* All. *Acta Ecologica Sinica*. **34**, 351-355.
- ZHANG, T.-T., M. HE, A.-P. WU a L.-W. NIE, 2012a. Inhibitory effects and mechanisms of *Hydrilla verticillata* (Linn.f.) Royle extracts on freshwater algae. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. **88**, 477-481.



ZHANG, Ting-ting, Wei HU a Dian ZHANG, 2012b. Allelopathic effect of *Typha angustifolia* L. on phytoplankton. *Advanced Materials Research*. **383-390**, 3724-3728.

ZHANG, Songhe, Si PANG, Peifang WANG, Chao WANG, Chuan GUO, Felix Gyawu ADDO a Yi LI, 2016. Responses of bacterial community structure and denitrifying bacteria in biofilm to submerged macrophytes and nitrate. *Scientific Reports*. **6**, 36178.

ZHAO, Jing, Xiao-min HE, Pei-shi SUN a Sheng-hua ZHANG, 2013. Different sensitivities of unicellular and colonial *Microcystis* strains (Cyanophyceae) to six emergent macrophytes. *Polish Journal of Environmental Studies*. **22(5)**, 1539-1546.

ZHOU, Qing, Shiqun HAN, Shaohua YAN, Junyao GUO, Wei SONG a Guofeng LIU, 2014. Impacts of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms stress on the physiological characteristics, microcystin production and release of *Microcystis aeruginosa*. *Biochemical Systematics and Ecology*. **55**, 148-155.

ZHOU, Wenbin, Philippe JUNEAU a Baosheng QIU, 2006. Growth and photosynthetic responses of the bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* to elevated levels of cadmium. *Chemosphere*. **65**, 1738-1746.

ZHU, Junying, Biyun LIU, Jing WANG, Yunni GAO a Zhenbin WU, 2010. Study on the mechanism of allelopathic influence on cyanobacteria and chlorophytes by submerged macrophyte (*Myriophyllum spicatum*) and its secretion. *Aquatic Toxicology*. **98**, 196-203.

ZIWEN, Yu, Sun WENHAO, Guo KEQIN a Yu SHUWEN, 1992. Allelopathic effects of several aquatic plants on algae. *Acta Hydrobiologia Sinica*. **16(1)**, 1-7.