

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ
UNIVERZITA V PRAZE
FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ
KATEDRA EKOLOGIE



**Liší se význam alelopatie u mokřadních ostřic podél
gradientu produktivity stanoviště?**

Does the importance of allelopathy differ among wetland sedges along
gradient of productivity?

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Vedoucí diplomové práce: Ing. Jan Douša, Ph.D.

Diplomant: Bc. Barbora Chovancová

2017

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Bc. Barbora Chovancová

Ochrana přírody

Název práce

Liší se význam alelopatie u mokřadních ostřic podél gradientu produktivity stanoviště?

Název anglicky

Does the importance of allelopathy differ among wetland sedges along gradient of productivity?

Cíle práce

Zjistit význam alelopatických látek pro mezidruhové interakce podél gradientu produktivity stanoviště.

Hypotéza: Protože investice do produkce alelopatických látek je velmi nákladná vzhledem k nutnosti nastartování specifických metabolických procesů při jejich vytváření, očekáváme, že druhy ostřic, které rostou na živinově bohatých stanovištích, budou více investovat do alelopatických látek, které zvyšují jejich konkurenceschopnost, naopak předpokládáme, že živinově chudá stanoviště neumožňují většině druhů ostřic využívat alelopatických látek.

Metodika

Pro zjištění vlivu alelopatických látek na klíčení a růst bylo vybráno 6 druhů mokřadních ostřic, z nichž *Carex rostrata*, *C. nigra* a *C. echinata* jsou vázány na živinově chudá a *C. vesicaria*, *C. acuta* a *C. elongata* na živinově bohatá stanoviště. Budou provedeny klíční a růstové experimenty, ve kterých budou semínka a semenáčky vystaveny působení výluhu z listů a kořenů jednotlivých druhů ostřic.

Doporučený rozsah práce

30 stran

Klíčová slova

Carex, koexistence, klíčení, růstová rychlost, stanoviště

Doporučené zdroje informací

Fiorentino A, D'Abrosca B, Pacifico S, Izzo A, Letizia M, Esposito A et Monaco P 2008: Potential allelopathic effects of stilbenoids and flavonoids from leaves of *Carex distachya* Desf. *Biochemical Systematics and Ecology* 36: 691-698.

Tesio F, Vidotto F, Weston LA et Ferrero A 2008: Allelopathic effects of aqueous leaf extracts of *Helianthus tuberosus* L. *Allelopathy Journal* 22: 47-58.

Wardle DA, Karban R et Callaway RM 2011: The ecosystem and evolutionary contexts of allelopathy. *Trends in Ecology and Evolution* 26: 655-662.

Předběžný termín obhajoby

2017/18 LS – FŽP

Vedoucí práce

Ing. Jan Douda, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra ekologie

Konzultant

Josef Hulík

Elektronicky schváleno dne 21. 2. 2017

Ing. Jiří Vojar, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 23. 2. 2017

prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.

Děkan

V Praze dne 29. 11. 2017

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně pod vedením Ing. Jana Doudy, Ph.D. a že jsem uvedla všechny literární prameny a publikace, ze kterých jsem čerpala.

V Praze dne

.....

.....

Poděkování

Chtěla bych poděkovat vedoucímu Ing. Janu Doudovi, Ph.D. za podnětné poznámky při konzultacích. Zvláštní dík patří konzultantovi Ing. Josefu Hulíkovi za trpělivost, rady a čas, který mi věnoval, a hlavně za ochotnou pomoc při práci v laboratoři a při psaní diplomové práce. Dále děkuji své rodině za pomoc a psychickou podporu.

V Praze dne

.....

.....

Abstrakt

Studium alelopatie získává stále více pozornosti, avšak není dostatečně probádáno, zda mají na tvorbu alelopatických látek u rostlin vliv stanovištní nároky druhů a/nebo příbuznost druhů. V této práci popisují dosavadní poznatky o této problematice a konkrétně se zaměřují na testování vzájemného působení výluhů u šesti druhů mokřadních ostřic (*Carex rostrata*, *C. echinata*, *C. nigra*, *C. acuta*, *C. elongata* a *C. vesicaria*) podél gradientu produktivity stanoviště. Rozdíly vlivů potenciálního působení alelopatických látek na klíčení a růst ostřic byly testovány na dvou úrovních, tj. vzhledem k jejich stanovištním nárokům a v závislosti na fylogenetické příbuznosti druhů.

Sběr biomasy a semen probíhal na třech lokalitách v Jihočeském kraji. Z biomasy všech šesti druhů byly vytvořeny jednotlivé výluhy. Ty byly aplikovány na semena a semenáčky ostřic. Pro porovnání sloužila kontrola, která byla zalita čistou destilovanou vodou. Experiment proběhl v šesti opakováních, v klimaboxech. Rozdíly v klíčivosti semen a v růstu hmotnosti semenáčků byly testovány zobecněnými lineárními modely. Srovnání vzájemných interakcí klíčivosti a růstu hmotnosti semenáčků druhů s kontrolou bylo testováno Tukeyho post-hoc testem.

Výluhy z pěti druhů (*C. echinata*, *C. nigra*, *C. acuta*, *C. elongata* a *C. vesicaria*) snižovaly klíčivost semen *C. elongata*. Výluh *C. acuta* stimuloval růst semenáčků *C. echinata*. Ukázalo se, že ostřice mohou produkovat alelopatické látky a tím potencionálně ovlivnit klíčení a růst rostlin patřící do tohoto rodu. Výsledky však neprokázaly, že by tvorba alelopatických látek u rodu *Carex* závisela na produktivitě stanoviště a fylogenetické příbuznosti druhů.

Klíčová slova: *Carex*, koexistence, klíčení, růstová rychlost, stanoviště

Abstract

The study of allelopathy is gaining more and more attention, but it is not adequately investigated whether plant species habitat requirements and / or their phylogenetic relationship have a role in the production of allelopathic chemicals in plants. In this paper I describe current knowledge of this issue and especially I focus on testing the interaction of extracts in six wetland species (*Carex rostrata*, *C. echinata*, *C. nigra*, *C. acuta*, *C. elongata* and *C. vesicaria*) along the habitat productivity gradient. Differences in the effects of potential allelopathic chemicals on germination and species growth were tested at two levels, i.e. with respect to their habitat requirements and depending on the phylogenetic relationships of the species.

The biomass and seeds were collected at three locations in the South Bohemia Region. From biomass of all six species, individual leachates were created. These were applied to seeds and seedlings of sedges. For comparison, the control was poured with pure distilled water. The experiment was performed in six replicates, in seed germination chambers. Differences in seed germination and in seed weight growth were tested by generalized linear models. Comparison of the interaction between germination and weight growth of tested by Tukey post-hoc assay.

Extracts from five species (*C. echinata*, *C. nigra*, *C. acuta*, *C. elongata* and *C. vesicaria*) reduced the germination of *C. elongata* seeds. The *C. acuta* extract stimulated the growth of *C. echinata* seedlings. It has been shown that leachates of sedges affect the germination and growth of plants belonging to this genus. However, the results did not show that the potential formation of allelopathic chemicals in the *Carex* family depended on habitat productivity and the phylogenetic relationship of species.

Key words: *Carex*, coexistence, germination, growth rate, habitat

Obsah

1. Úvod.....	1
1.1 Cíle práce.....	3
2. Alelopatické látky	4
2.1 Rostlinné orgány vylučující alelopatické látky	5
3. Funkční znaky rostlin ve vztahu k produktivitě stanoviště a příbuznosti druhů..	6
4. Produktivita stanoviště a příbuznost rostlin ve vztahu k alelopatii.....	7
5. Alelopatické studie.....	9
5.1 Vyšší rostliny.....	9
5.2 Čeleď šachorovité (Cyperaceae) a rod ostřice (Carex)	9
6. Metodika	11
6.1 Biologické testy	11
6.2 Výběr druhů.....	11
6.3 Sběr semen	11
6.4 Odběr biomasy a příprava výluhů	12
6.5 Experiment klíčení	13
6.6 Experiment růstu	14
6.7 Analýza dat.....	15
7. Výsledky	16
7.1 Vliv rostlinných výluhů na klíčivost semen	16
7.2 Vliv rostlinných výluhů na hmotnost semenáčků	18
8. Diskuze.....	20
8.1 Prokázání přítomnosti alelopatických látek.....	20
8.2 Investice alelopatických látek podél produktivity stanoviště.....	21
8.3 Tvorba alelopatických látek jako odraz fylogenetických vztahů	21

8.4	Problémy této studie a budoucí výzkum alelopatie	22
9.	Závěr	25
10.	Seznam literatury	27

1. Úvod

Alelopatie je jedním z nejsložitějších mechanismů rostlinné obrany (Scognamiglio et al. 2012). Nemusí se projevovat jen škodlivým vlivem, ale může mít i prospěšné účinky pro rostliny (Rice 1984; Mutlu & Atici 2009; Gatti et al. 2010; Parepa et al. 2012; Scognamiglio et al. 2013). Je chápána jako jeden z hlavních faktorů, které ovlivňují složení, strukturu a produktivitu rostlinného společenstva. Alelopatické rostliny získávají výhody tím, že vylučují chemické látky a jejich působením inhibují koexistující konkurenty, nebo podporují rozvoj a šíření vlastního druhu (Weir et al. 2004; Tesio et al. 2008; Scognamiglio et al. 2012). Alelopatické látky tak mohou ovlivnit růst a vývoj rostlin nebo mikroorganismů (Rice 1984; Mutlu & Atici 2009; Gatti et al. 2010; Parepa et al. 2012; Scognamiglio et al. 2013) v důsledku přítomnosti jiné rostliny (Mutlu & Atici 2009; Gatti et al. 2010).

Tato práce pojednává o tom, zda se liší působení rostlinných výluhů u šesti druhů mokřadních ostřic (*Carex*) podél gradientu produktivity stanoviště. Rozdíly vlivu možného působení alelopatických látek na klíčení a růst ostřic byly testovány ve dvou úrovních, tj. v závislosti na fylogenetické příbuznosti druhů a vzhledem k jejich stanovištním nárokům. Webb et al. (2002) a Núñez-Farfán et al. (2007) uvádějí, že fylogenetická blízkost druhů a vlastnosti získané od společných předků, by měly korelovat s podobnými reakcemi s jejich úlohou ve společenstvu. Tuto hypotézu zkoumali Imatomi et al. (2013), kteří předpokládali, že rostliny několika druhů z čeledi *Myrtaceae*, mohou mít podobné charakteristiky, a to zejména s ohledem na jejich obranné mechanismy, které zahrnují produkci inhibičních sekundárních metabolických sloučenin. Ve studii prokázali různě silnou alelopatickou aktivitu každého druhu. Svou hypotézu vyvrátili a rostliny ze stejného prostředí a s taxonomickou blízkostí nevykazovaly podobnou produkci sekundárních metabolitů. Vyšší produkce alelopatických látek však může být ovlivněna hladinou živin v půdě (Inderjit & Weiner 2001; Grover & Wang 2013). Je pravděpodobné, že v přírodních, na živiny bohatých stanovištích budou převažovat druhy, které vylučují toxické látky, jak uvádějí ve svém modelu, v matematicko-biologické studii, se zaměřením na řasy Grover & Wang (2013). Naopak Rice (1984) tvrdí, že alelopatie by měla být intenzivnější v přirozených společenstvech, které se vyznačují drsnými podmínkami. Podle dosavadních studií mohou stanoviště chudé na živiny zvýšit

produkci alelopatických látek a tím ovlivnit alelopatické vztahy (Rice 1984; Inderjit & Weiner 2001; Usharani & Vasuden 2017).

Rod ostřic (*Carex*) byl do studie vybrán, protože je vhodným zástupcem ve srovnávacích studiích, a to zejména u klíčící ekologie rostlin a u mezi-populačních rozdílů (Schütz 2000). Obsahuje alelopatické látky a je vhodným kandidátem pro studium alelopatie (Fiorentino et al. 2006). V rámci rodu lze nalézt zástupce z obou trofických skupin. Tyto druhy jsou nejčastěji spojovány s vlhkými a mokřadními stanovišti, kde tvoří dominanty (Ball & Reznicek 2002) a jejich znaky dobře odrážejí jejich životní historii (Schütz 2000; Global Carex Group 2015).

1.1 Cíle práce

Hlavním cílem této diplomové práce je zjistit, jak se mění investice mokřadních druhů ostřic do alelopatických látek podél gradientu produktivity stanoviště. Součástí práce je literární rešerše pojednávající o dosavadních poznatcích o alelopatii ve vztahu k produktivitě stanoviště a příbuznosti druhů.

Kladla jsem si 2 základní otázky:

- (i) Mohou druhy rostoucí na živinově bohatých stanovištích více investovat do alelopatických látek?
- (ii) Je tvorba alelopatických látek odrazem fylogenetických vztahů v rámci rodu *Carex*?

Z těchto otázek vycházely mé hypotézy. Protože investice do produkce alelopatických látek vzhledem k nutnosti nastartování specifických metabolických procesů při jejich vytváření je velmi nákladná, očekávám, že druhy ostřic, které rostou na živinově bohatých stanovištích, budou více investovat do alelopatických látek, které zvyšují jejich konkurenceschopnost. Naopak předpokládám, že živinově chudá stanoviště neumožňují většině druhů ostřic využívat alelopatické látky.

Pokud je schopnost tvorby alelopatických látek ostřic řízená primárně příbuzností druhů ostřic, nedochází ke změně vytváření alelopatických látek vlivem produktivity stanoviště. Naopak, pokud je tvorba alelopatických látek řízena primárně stanovištěm (tj. lokálními adaptacemi nebo fenotypovou plasticitou), je pro tvorbu alelopatických látek významnější produktivita stanoviště.

2. Alelopatické látky

Alelopatické látky jsou sekundární metabolity, které zajišťují interakce mezi organismy. Některé alelopatické látky jsou přírodní herbicidy. V současnosti známe přes 10 000 těchto látek (Fomsgaard et al. 2004) a většina z nich se v rostlinném těle nachází v neaktivní formě (Whittaker & Fenny 1971). Účinnost alelopatických látek závisí na abiotických a biotických podmínkách prostředí (Inderjit et al. 2011) a jejich množství je závislé nejen na těchto faktorech, ale i na struktuře rostlinné populace (Kruse et al. 2000).

Alelopatické látky mají aditivní nebo synergickou aktivitu (Tesio et al. 2008; Wu et al. 2011) a mohou být přítomné ve všech rostlinných orgánech (Mutlu & Atici 2009; Gatti et al. 2010; Wu et al. 2011). Rostliny uvolňují alelopatické látky do prostředí z nadzemních částí rostlin, kořenovými exudáty, odpařováním a vyplavováním z listů, dekompozicí zbytků rostlinné biomasy a mikrobiální aktivitou (Klejdus & Kubáň 1999; Kruse et al. 2000; Weir et al. 2004; Reigosa et al. 2006; Mutlu & Atici 2009; Wu et al. 2011; Scognamiglio et al. 2012; Scognamiglio et al. 2013). Alelopatické látky modifikují růst, vývoj rostlin, včetně klíčivosti a časného růstu semenáčků (Klejdus & Kubáň 1999; Reigosa et al. 2006). Konkrétně mohou ovlivnit například dýchání, fotosyntézu, enzymové aktivity, otevření průduchů, hladiny hormonů, minerální dostupnost v půdě, buněčné dělení, strukturu a propustnost buněčných membrán a stěn (Rice 1984; Gatti et al. 2010; Imatomi et al. 2013; Scognamiglio et al. 2013). Každý rostlinný orgán produkuje alelopatické látky s různou intenzitou a mohou být v těchto rostlinných částech akumulovány (Klejdus & Kubáň 1999; Gatti et al. 2010; Scognamiglio et al. 2013).

Rostlina přijímající alelopatické látky je ve svých rostlinných částech různě citlivá na alelopatické působení (Gatti et al. 2010). Pokud se látky dostanou k cílové rostlině, dochází k řadě obranných pochodů, například se zvyšuje syntéza ATP, zvyšuje se respirace, dochází ke změně v anatomii, k inhibici membránových funkcí aj. V krajních případech může dojít i k úhynu rostliny (Mallik & Williams 2005).

Alelopatické látky mají silný vliv na vlastnosti ekosystému (Inderjit et al. 2011). Mohou ovlivňovat mikroflóru přímo, ale i nepřímo skrze změnu fyzikálních podmínek substrátu. Například u plevelu *Croton bonplandianum* dochází k vylučování fenolických látek. Tyto látky mění pH půdy a negativně ovlivňují růst některých druhů plevelů a plodin (Sisodia & Siddiqui 2009). Raaijmakers et al. (2009) vysvětlují, že

změna pH se může odrážet ve změně složení mikroorganismů. Ty naopak ovlivňují rostliny a zásahem do jejich složení může dojít ke změně v růstu okolních rostlin.

Alelopatické účinky ovlivňuje i životní cyklus alelopatických rostlin (Rice 1984; Weir et al. 2004; Scognamiglio et al. 2012). Množství alelopatických látek se v rostlině mění s jejím růstem. Například u *Impatiens glandulifera* bylo prokázáno, že obsah alelopatických látek klesá s věkem rostliny, kdy k největšímu uvolňování dochází z kořenového systému. U *I. glandulifera* je to především v prvních dvou měsících života. Toto období je pro rostliny zásadní k přežití a získání výhody vůči ostatním rostlinám. Mladé rostliny mají nízkou hustotu kořenového systému a minimální opad listů, proto je dostatečný přísun látek pravděpodobně zajištěn zvýšenou produkcí v těle rostliny (Ruckli et al. 2014). Mnohé alelopatické látky jsou ve vodě rozpustné (Wang et al. 2009), proto se dostávají do půdy i spolu se stékající dešťovou vodou (Ruckli et al. 2014).

2.1 Rostlinné orgány vylučující alelopatické látky

Chemické látky vylučované do půdy kořeny jsou obecně označovány jako kořenové exudáty a často zahrnují fenyylpropanoidy a flavonoidy. Kořenové sekrety mohou mít symbiotickou nebo obrannou roli, protože rostlina se nakonec zapojí do pozitivní nebo negativní komunikace v závislosti na ostatních prvcích svého půdního prostředí (Walker et al. 2003). Ačkoliv jsou alelopatické látky přítomny v několika tkáních rostliny, kořenové exudáty jsou hlavní cestou, kterou se látky dostávají do půdy (Massalha et al. 2017). Sekundární metabolit vylučovaný kořenem invazní rostliny *Centaurea maculosa* poskytuje klasický příklad kořenových exudátů vykazujících negativní komunikaci v rizosféře (Walker et al. 2003).

V listech se látky hromadí do specifických žláz na povrchu a jsou vyplavovány vodou (Reigosa et al. 2006). Listy působí i v podobě rozkládajícího se materiálu. U *Carduus nutans* se prokázalo uvolňování alelopatických látek z opadu listů a následně z jeho rozkladu. Díky tomu se mohl šířit na pastvinách s rostoucím *Lolium repens* a *Trifolium repens* na Novém Zélandu. Alelopatické látky potlačily *T. repens* a tím poskytly prostor pro semena *C. nutans*. Povaha této alelopatie byla vysoce selektivní (Kruse et al. 2000). Opad listu může mít kromě inhibujících účinků také negativní účinek ve formě zakrytí jiné rostliny. To bylo zkoumáno u 4 druhů ostřic (*Carex communis*, *C. platyphylla*, *C. backii* a *C. plantaginea*). Experiment probíhal

v přírodních podmínkách na studijních plochách. Vždy by zvolen jeden ze čtyř druhů jako ústřední vzrostlá rostlina a byl zkoumán účinek na semena a semenáčky všech 4 druhů. U všech druhů došlo k snížení klíčivosti semen. U každého druhu ale s jinou intenzitou a růst semenáčků byl zpomalen zakrytím opadanými listy (Vellend et al. 2000).

Stonek oproti ostatním rostlinným orgánům obsahuje nejméně alelopatických látek, jak uvádějí ve svých studiích Ruckli et al. (2004), Gatti et al. (2010) a Wu et al. (2011).

3. Funkční znaky rostlin ve vztahu k produktivitě stanoviště a příbuznosti druhů

Druhy vyskytující se na biotopech bohatých na živiny jsou rychle rostoucí, s rychlým zachycováním zdrojů a rychlým nárůstem orgánů vedoucím ke špatné vnitřní ochraně zdrojů. Naopak je tomu u druhů rostoucích na biotopech chudých na živiny. S tímto kompromisem je spojeno mnoho kvantitativních vlastností rostlin (Lavorel & Garnier 2002). Rostlinné znaky a vlastnosti definují schopnost druhu přežít ve specifickém prostředí (Jager et al. 2015; Cássia-Silva et al. 2017).

Ačkoliv je vhodné považovat obranu rostlin za jeden znak, rostliny obvykle využívají široký arzenál obranných znaků. O obraně rostlin uvažujeme jako o sadě vlastností, do kterých lze zahrnout i toxicitu rostliny vůči svému prostředí. Biotické a abiotické podmínky mohou určovat obranné strategie rostlin (Agrawal & Fishbein 2006). Rozdílná stanoviště ukládají různé selektivní tlaky na znaky rostlin (Jager et al. 2015; Cássia-Silva et al. 2017) a u obranných znaků zejména na alelochemii. Jedná se o reakci jednoho organismu na kontakt s biologicky aktivním metabolickým produktem druhého organismu (Schoonhoven et al. 2005). Rostlinné znaky jsou ovlivněny především dostupností zdrojů v půdě (Jager et al. 2015; Cássia-Silva et al. 2017), a proto se významně liší podél gradientu produktivity stanoviště (Jager et al. 2015). Například *Asclepias* spp. v případě prostředí s nízkou dostupností vody zvyšuje množství trichomů v obraně proti herbivorii.

Některé studie naznačují, že fylogenetická příbuznost může předpovídat interakce mezi druhy. Pokud příbuznost koreluje s ekologickými znaky rostlin, pak blízké příbuzné druhy mohou sdílet nejen společné půdy, stejné parazity a požadavky

na zdroje, ale i stejné obranné mechanismy (Fitzpatrick et al. 2017). I když jedinci stejného druhu sdílejí podobné znaky, prostorová struktura environmentálních tlaků může mít za následek fenotypovou plasticitu. Rostliny patří mezi nejplastičtější organismy a vzhledem ke své přisedlé povaze musí být schopny zvládnout prostředí, ve kterém žijí. Jedinci stejného druhu žijící na různých stanovištích mají odlišné funkční vlastnosti jako reakci na místní podmínky prostředí (Cássia-Silva et al. 2017). Ve studii s použitím 32 přirozených rostlinných druhů bylo zjištěno, že úzce příbuzné druhy sdílely podobné ekologické znaky a více si konkurovaly než vzdáleně příbuzné druhy (Burns & Strauss 2011). To potvrzuje hypotézu o konkurenci. Ta uvádí, že boj o existenci je větší mezi blízkce příbuznými druhy než mezi vzdáleně příbuznými (Violle et al. 2011). Nedávná meta-analýza několika pokusů o konkurenci u rostlin neprokázala žádný významný vztah mezi fylogenetickou příbuzností a intenzitou konkurence mezi druhy (Cahill et al. 2008). V experimentální testu se zaměřením na bakterie bylo ale prokázáno, že konkurenční vyloučení se objevuje častěji a rychleji mezi druhy, které jsou fylogeneticky úzce spjaté (Violle et al. 2011).

Jak už bylo zmíněno, to, zda se druh odlišuje nebo má podobné znaky, může být určeno přírodními zdroji. V prostředí, které je více stresující, lze nalézt větší fylogenetický signál. To znamená, že více stresující prostředí může vést k podobným rostlinným znakům u příbuzných druhů (Burns & Strauss 2012). Také Fitzpatrick et al. (2017) připouštějí, že některé rostlinné znaky příbuzných druhů mohou být určeny půdními podmínkami. V jejich experimentu toto tvrzení nepotvrdili, ale zaměřili se jen na malý okruh rostlinných znaků a nevyklučují toto spojení u dalších vlastností. Je ale méně jasné, které konkrétní funkční znaky vykazují nejsilnější vazby s úrodností půdy (Jager et al. 2015).

4. Produktivita stanoviště a příbuznost rostlin ve vztahu k alelopatii

Produkce alelopatických látek, které působí proti konkurenčním druhům, potenciálně ovlivňuje konkurenční dynamiku. Společný výsledek v matematických modelech, které kombinují alelopatii a konkurenci o zdroje, spočívá v tom, že při některých podmínkách dochází ke kompromisu mezi schopností soutěžit o živiny a schopností druhu být rezistentní na alelopatickou látku. Byl analyzován model, v němž dva druhy soutěží o živiny. Populační růst pak závisí na množství uložené živiny.

Každý druh také produkuje toxickou látku, která indukuje mortalitu u ostatních druhů a každý druh je imunní vůči působení této látky, kterou produkuje. Výsledek modelu naznačoval, že s vyšším přísunem živin budou dominovat druhy s vyšší produkcí toxických látek. Je tedy pravděpodobné, že na stanovištích, která jsou bohatá na živiny, se budou vyskytovat alelopatické druhy (Grover & Wang 2013). Důkazem je například výzkum zvyšování sekundárních metabolitů u listů *Stevia rebaudiana*. Množství těchto látek bylo ovlivněno vlastnostmi půdy. Po přidání živin došlo k jejich zvýšení. Výsledky naznačovaly, že chemická syntéza sekundárních metabolitů *S. rebaudiana* byla silně kontrolována živinami (Pal et al. 2015). I ve studii Zubek et al. (2015) dospěli k závěru, že pokud se zvýší přísun minerálních látek u rostlinného druhu *Viola tricolor*, dojde také ke zvýšení obsahu sekundárních metabolitů. Pal et al. (2015) a Zubek et al. (2015) se ale nezaměřovali na to, zda tyto metabolické látky mají alelopatický účinek.

Naopak Rice (1984) uvádí, že podmínky chudé na živiny mohou zvýšit produkci alelopatických látek a tím ovlivnit alelopatické působení. Inderjit & Weiner (2001) zmiňují případy, které toto tvrzení dokazují. Například se zvýšeným živinovým stresem u *Helianthus annuus* docházelo k zvyšování obsahu kyseliny fenolové a k zvýšení alelopatického účinku. Zvyšování sekundárních metabolitů bylo prokázáno i u *Cyperus alternifolius*, kdy byl vyvinut stres přidáním těžkých kovů ke kořenům rostliny (Usharani & Vasudevan 2017). Klejdus & Kubáň (1999) také uvádějí, že alelopatický efekt fenolických sloučenin vzrůstá v půdách chudých na živiny.

S rolí produktivity stanoviště v alelopatii se ve studiích setkáváme zřídka. Studium alelopatie je hlavně zaměřeno na účinky alelopatických rostlin na jiné rostlinné druhy. U role příbuznosti se dostáváme k ještě většímu nedostatku studií a zmíněna je spíše okrajově jako v případě Webb et al. (2002) a Núñez-Farfán et al. (2007). Imatomi et al. (2013) se zcela zaměřili na vliv příbuznosti v rámci alelopatie, ten však nebyl prokázán.

5. Alelopatické studie

5.1 Vyšší rostliny

Alelopatie je jeden z faktorů ovlivňující schopnost rostliny uchytit se v novém prostředí (Kruse et al. 2000). Studie alelopatie jsou proto převážně zaměřeny na invazní druhy (Wang & Zhu 1996; Murrell et al. 2011; Wu et al. 2011; Parepa et al. 2012). Ostatní studie se zaměřují na mnoho rozdílných druhů vyšších rostlin. Například *Aristolochia esperanzae*, liána s opadavými listy, u které byl studován alelopatický účinek za použití výluhů ze všech částí rostliny. Testován byl účinek látek na klíčení sezamových semínek a růst jeho semenáčků. Klíčení bylo nejvíce inhibováno výluhem z kořenů, naopak růst semenáčků byl nejvíce potlačen listy a stonky (Gatti et al. 2010). Alelopatie u *Nepeta meyeri* byla prokázána za pomoci výluhů z listů a kořenů s vlivem na klíčení semen a růst semenáčků několika hospodářsky významných plodin (ječmen, pšenice, řepka, světlice barvířská a slunečnice). Zajímavostí je, že oba výluhy při nižších koncentracích zvyšovaly růst semenáčků, ale tato stimulace nebyla pozorována při vyšších koncentracích. Jen u slunečnice měly inhibující účinek na klíčení semen i na růst semenáčků. Maximální alelopatický efekt nastal z listového výluhu (Mutlu & Atici 2009).

Dokonce i semena mohou vylučovat alelopatické látky. Příkladem jsou *Sagittaria trifolia*, *Sagittaria lancifolia*, *Polygonum hydropiper* a *Monochoria korsakowii*. Výluhy ze semen těchto čtyř mokřadních druhů měly silný účinek na klíčení a růst semenáčků *Brassica rapa* spp. *Pekinensis*, *Oryza rufipogon* a *M. korsakowi*. Na *O. rufipogon* měli alelopatické látky pozitivní vliv, kdežto u zbylých dvou druhů docházelo k inhibici jak u klíčení, tak u růstu (Wang et al. 2009).

5.2 Čeleď šáchorovité (*Cyperaceae*) a rod ostřice (*Carex*)

Čeleď *Cyperaceae*, do které patří i rod *Carex* (Hedrichs et al. 2004a,b), je studována převážně se zaměřením na konkrétní vylučované alelopatické látky. Například u *Kobresia myosuroides* byla potvrzena fenolická sloučenina zvaná sacyliát, která vykazuje alelopatické působení na okolní rostliny (Schmidt et al. 2000). *Cyperus iria* obsahuje hormon zvaný JH III, inhibuje klíčivost salátu a rýže a tím získává ekologickou výhodu, jak uvádí Bede & Tobe (2000). Vodný metanolový výluh z celé

části rostliny *Cyperus difformis* byl použit na čtyři dvouděložné a čtyři jednoděložné rostliny a vykazoval inhibiční účinky na růst jak plodin, tak na plevely (Islam & Kato-Noguchi 2016).

V případě *Carex geyeri* byli zjištěny fenolické sloučeniny ve výluhu z listů. Některé tyto fenoly se podílejí na alelopatii (MacKenzie & DeLuca 2006). U *Carex distachya*, bylo zjištěno, že produkuje metabolické látky pojmenované carexanes. Když byly tyto sloučeniny testovány na dvouděložné rostlině *Lactuca sativa*, došlo v případě působení některých látek k inhibičnímu účinku na klíčení semen a stimulačnímu účinku na růst rostlin (Fiorentino et al. 2006). Fiorentino et al. (2008) znovu potvrdili působení alelopatických látek za použití sekundárních metabolitů. Tentokrát testovali působení dvou konkrétních látek (stilbenoidy a flavonoidy) odebraných z listů *C. distachya* na *Dactylis hispanica*, *Petrorhagia velutina* a *Phleum subulatum*. Došli k závěru že *C. distachya* potencionálně ovlivňuje růst i klíčení koexistujících bylin. Inhibice klíčení i růstu byla nejsilnější u *P. subulatum*.

6. Metodika

6.1 Biologické testy

Alelopatické studie zjišťují přítomnost alelopatických látek biologickými testy. V těchto testech se zaměřují na klíčivost semen a růst semenáčků (Reigosa et al. 2006). Ty jsou zalévány rostlinnými výluhy z celé rostliny, nebo z různých rostlinných orgánů a je sledován jejich účinek (Kruse et al. 2000). Rychlost klíčení a růst semenáčků se pak porovnávají s kontrolními vzorky (Reigosa et al. 2006). Testování probíhá na semenech a semenáčcích, protože se obecně považují za nejvíce náchylné stádium ve vývoji rostlin a v těchto raných fázích jsou účinky alelopatie nejvíce viditelné (Kruse et al. 2000).

6.2 Výběr druhů

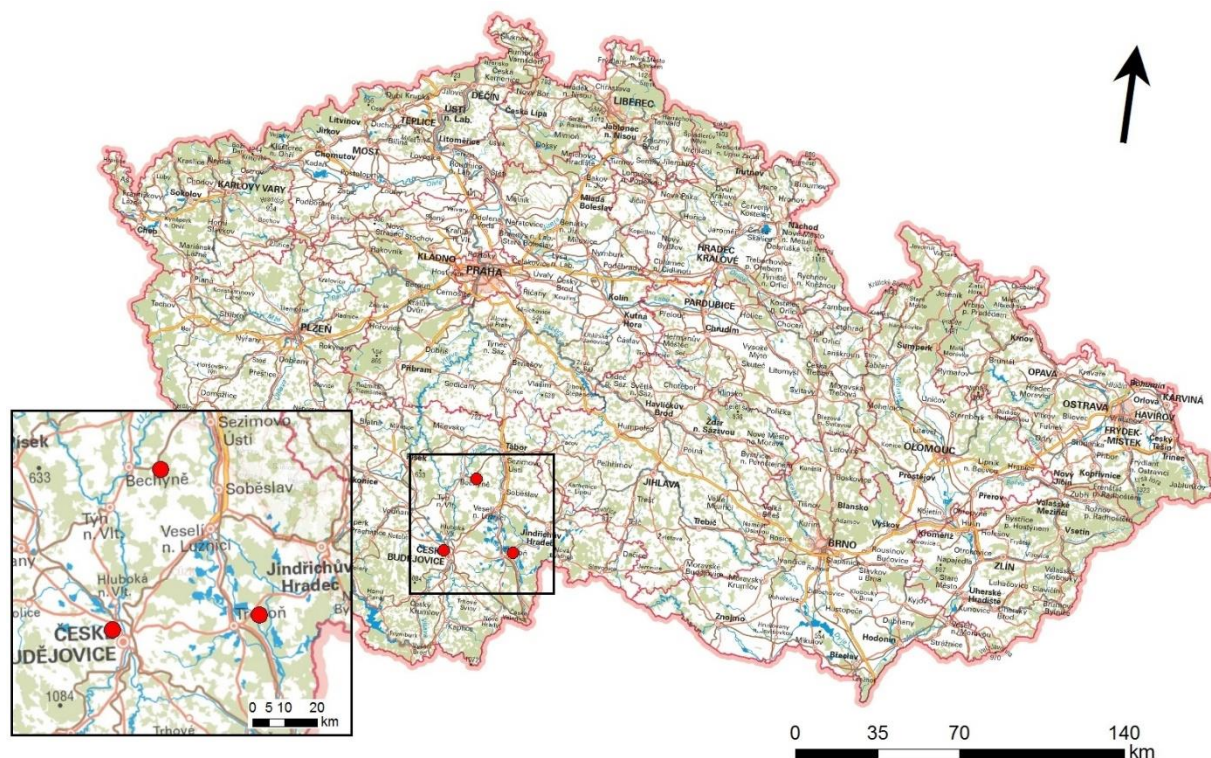
Rozdíly vlivu působení alelopatických látek na klíčení a růst ostřic byly testovány na dvou úrovních: 1) trofické – byly sledovány rozdíly tolerance druhů na působení výluhů rostlin rostoucích na živinově bohatých a chudých stanovištích; 2) příbuznosti – byly sledovány rozdíly tolerance druhů na působení výluhů rostlin fylogeneticky příbuzných a nepříbuzných.

Bylo vybráno šest druhů mokřadních ostřic: (i) *Carex rostrata*, *C. nigra* a *C. echinata* se společně vyskytují na živinově chudých a *C. vesicaria*, *C. acuta* a *C. elongata* na živinově bohatých stanovištích. Zároveň (ii) jsou v nich zastoupeni zástupci ze 3 odlišných fylogenetických sekcí: *Physocarpae* (*C. rostrata* a *C. vesicaria*), *Phacocystis* (*C. nigra* a *C. acuta*) a *Elongatae* (*C. echinata* a *C. elongata*; Hedrichs et al. 2004a,b).

6.3 Sběr semen

Nažky každého z 6 druhů ostřic byly sebrány z dvaceti rostlin na třech lokalitách v Jihočeském kraji (obr. č. 1). Lokality byly vybrány podle přítomnosti stabilní populace při předchozím průzkumu a na základě fytoecologických snímků, získaných z dostupných databází. Sběr byl proveden na začátku července poté, co všechny druhy dosáhly zralosti (Kettering & Galatowitsch 2007a,b). Pro synchronizaci úplné zralosti byla semena ponechána po dobu čtrnácti dní při pokojové teplotě,

uložená v prodyšných papírových sáčcích (Esmaeili et al. 2009). Část semen byla použita do experimentu klíčení a byla klíčena ve výlužích, které byly vytvořeny z nasbírané biomasy. Z druhé části byly vypěstovány semenáčky pro experiment růstu.



Obr. č. 1: Poloha lokalit sběru semen a biomasy.

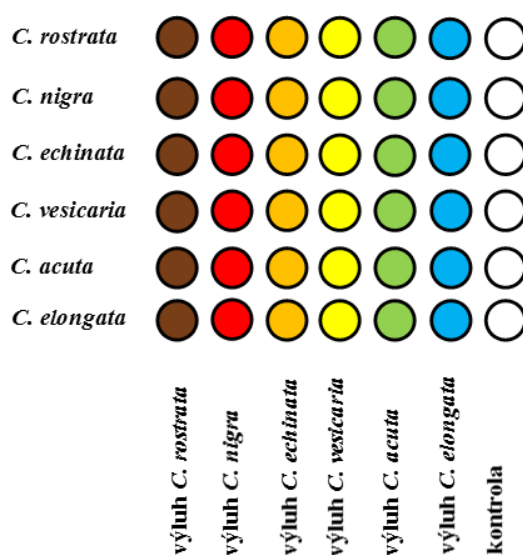
6.4 Odběr biomasy a příprava výluhů

Na každé ze tří lokalit byla odebrána biomasa z dvaceti rostlin od každého druhu. Obsahovala listy, kořeny i plodné lodyhy včetně semen. Odebraná čerstvá biomasa rostlin byla transportována do laboratoře v chladících boxech a až do přípravy výluhu skladována v mrazícím boxu. Po vyjmutí z mrazícího boxu byla očištěna od zbytků odumřelých částí, půdy, opláchnuta dešťovou a následně destilovanou vodou. Po očištění došlo k hrubému namletí, z čehož vzniklo 64 g čerstvě namleté biomasy, která byla vyluhována v 100 ml destilované vody v uzavřených plastových lahvích o objemu 500 ml na třepačce po dobu 8 hodin. Roztok výluhu byl dále ředěn destilovanou vodou na koncentraci 80 g/l (Tesio et al. 2008). Výluhy byly použity k zalití semen v experimentu klíčení a k zalití semenáčků v experimentu růstu.

6.5 Experiment klíčení

Semena byla zbavena plev a následně promíchána. Padesát semen od každého druhu bylo přemístěno na dvě vrstvy navlhčeného filtračního papíru v Petriho miskách o průměru 90 mm a stratifikováno za temna při 4 °C po dobu čtyř měsíců k prolomení dormance (Kettering & Galatowitsch 2007a,b).

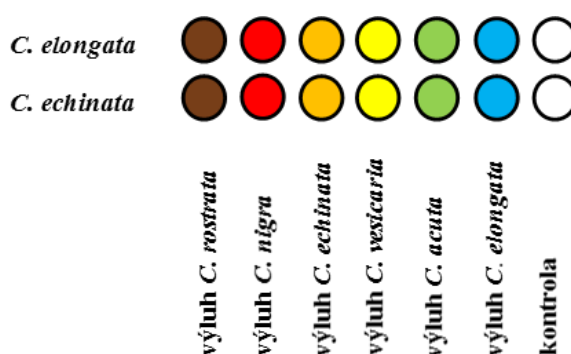
Úroveň příbuznosti a úroveň trofie byly sledovány na základě rozdílů klíčivosti. Experiment klíčení probíhal od září roku 2015 a trval 97 dní. Na každé Petriho misce bylo umístěno padesát semen. Pro každý jednotlivý druh bylo použito sedm Petriho misek. Šest bylo zalito výluhy a jedna sloužila jako kontrola. Experiment proběhl v šesti opakováních. Semena byla klíčena v klimaboxu při střídavém teplotním režimu 22/10 °C, délce světelné fáze 16 hodin a temné fáze 8 hodin denně. Experimentálně bylo zjištěno, že většina mokřadních ostřic dosahuje nejvyšší klíčivosti při tomto režimu (Schütz 1999; Kettering & Galatowitsch 2007a,b). Semena každého ze šesti druhů byla zalita výluhy 5 druhů ostřic a svým vlastním (5 ml o koncentraci 80 g/l). Misky kontroly byly zality pouze čistou destilovanou vodou (obr. č. 2). Odečítání vyklíčených semen bylo prováděno ve dvoudenních intervalech. Vyklíčená semena byla vždy vyjmuta a odstraněna z misky. Při každém odečítání bylo prováděno dovlhčování čistou destilovanou vodou.



Obr. č. 2: Ukázka jednoho z opakování uspořádání Petriho misek experimentu klíčení šesti druhů ostřic. Různé barvy reprezentují zalití jednotlivými výluhy, bílá kontrolu.

6.6 Experiment růstu

Pro tento experiment byl vybrán jeden zástupce od každé trofické skupiny a to *C. echinata*, vázaná na živinově chudá a *C. elongata*, vázaná na živinově bohatá stanoviště. Na každé Petriho misce byl umístěn jeden semenáček. Pro oba druhy bylo použito sedm Petriho misek. Šest bylo zalito výluhy a jedna sloužila jako kontrola. Celkem proběhlo šest opakování. Semenáčky obou druhů byly zality výluhy 5 druhů ostřic a svým vlastním (5 ml o koncentraci 80 g/l). Misky kontroly byly zality pouze čistou destilovanou vodou (obr. č. 3). Experiment růstu každého semenáčku trval jedenáct dní. Na začátku byla změřena hmotnost nevysušené biomasy celého semenáčku (na analytických vahách) včetně kořene a stonku. Následně byly semenáčky umístěny do klimaboxu při střídavém teplotním režimu 22/10 °C, délce světelné fáze 16 hodin a temné fáze 8 hodin denně (Schütz 1999; Kettering & Galatowitsch 2007a,b). Po vyjmutí z klimaboxu byly semenáčky opět zváženy stejným způsobem.



Obr. č. 3: Ukázka jednoho z opakování uspořádání Petriho misek experimentu růstu dvou druhů ostřic. Různé barvy reprezentují zalití jednotlivými výluhy, bílá kontrolu.

6.7 Analýza dat

Pro zjišťování vlivu alelopatických látek byly testovány vzájemné rozdíly mezi druhy v rychlosti klíčení a celkovém poměru vyklíčených/nevyklíčených semen, dále rozdíly v rychlosti růstu hmotnosti semenáčků. Pro testování vlivu alelopatie na klíčivost semen byly použity semena od pěti z šesti studovaných druhů. *C. vesicaria* nemohla být testována, protože žádné z jejích semen nevyklíčilo.

Rozdíly v klíčivosti semen a v růstu hmotnosti semenáčků byly testovány zobecněnými lineárními modely (GLM). Srovnání vzájemných interakcí klíčivosti druhů s kontrolou a růstu hmotnosti semenáčků druhů s kontrolou bylo testováno Tukeyho post-hoc testem za použití funkce `glht` v package `multcomp` (Lepš & Šmilauer 2016).

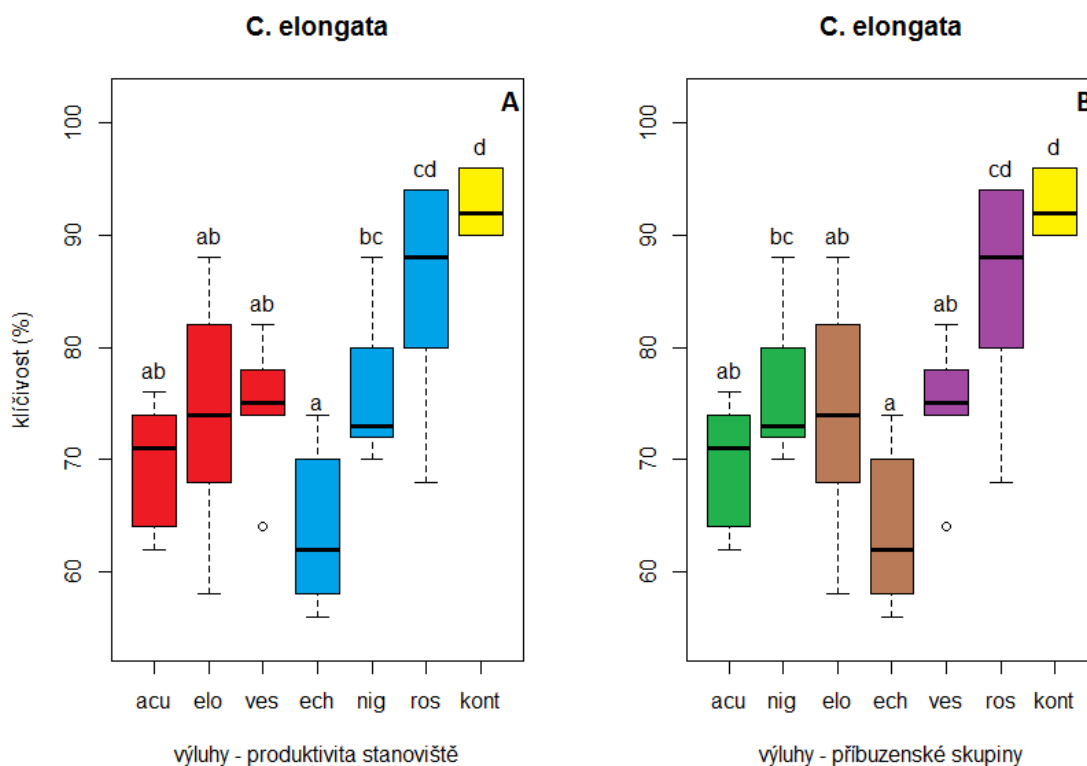
Relativní rychlost růstu (RGR – Relative Grow Rate) byla počítána ze vzorce (1), kde relativní přírůstky biomasy semenáčků reprezentují rozdíly lineárních logaritmů hmotností rostlinné sušiny v čase. Vzorec byl použit pro srovnání nárůstu hmotnosti jednoho jedince v čase (Hoffmann & Poorter 2002). Všechny analýzy byly provedeny v nadstavbě R-studio statistického programu R (R. Core Team 2015).

$$r = \frac{\ln(W_2) - \ln(W_1)}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

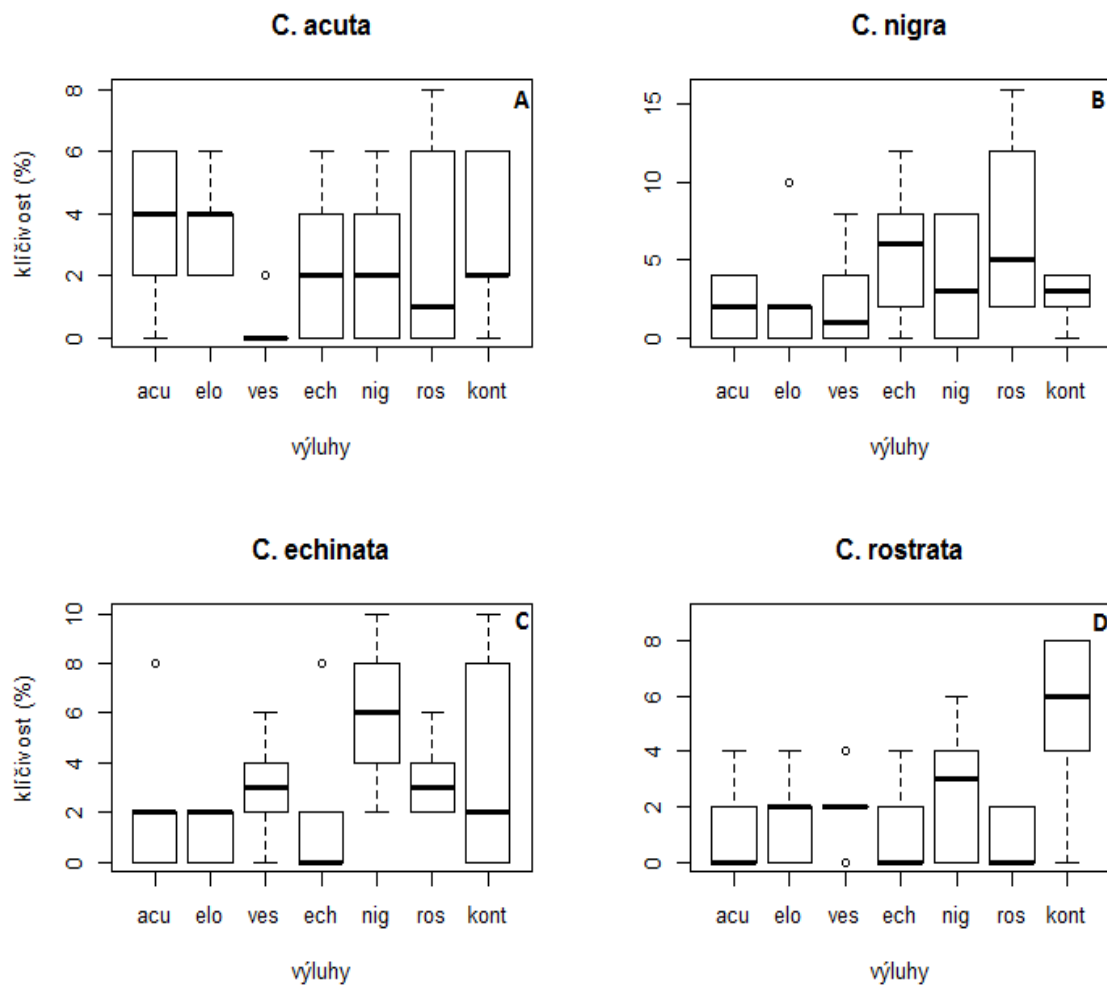
7. Výsledky

7.1 Vliv rostlinných výluhů na klíčivost semen

Byl zjištěn významný vliv jednotlivých výluhů na klíčivost semen *C. elongata* (obr. č. 4). Pět výluhů snižovalo klíčivost semen oproti kontrole (*C. echinata*, *C. elongata*, *C. vesicaria*, *C. nigra* a *C. acuta*; $P < 0.001$). Statisticky významné rozdíly byly prokázány mezi výluhem *C. rostrata* a čtyřmi dalšími výluhy (*C. acuta* $P < 0.001$, *C. elongata* $P = 0.0112$, *C. vesicaria* $P = 0.0201$ a *C. echinata* $P < 0.001$) a také mezi výluhem *C. nigra* a *C. echinata* ($P = 0.0175$; obr. č. 4). U ostatních druhů semen nebyl prokázán žádný signifikantní vztah mezi jednotlivými výluhy a kontrolou (obr. č. 5).



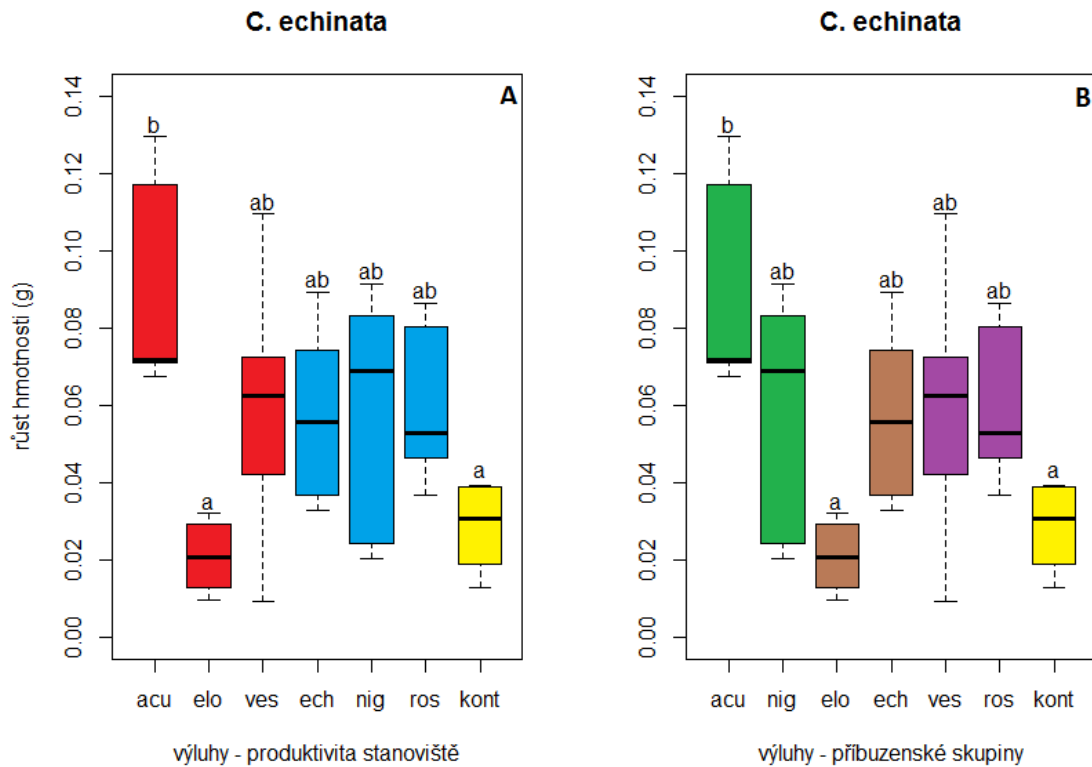
Obr. č. 4: Účinek výluhů *C. acuta* (acu), *C. elongata* (elo), *C. vesicaria* (ves), *C. echinata* (ech), *C. nigra* (nig) a *C. rostrata* (ros) na klíčivost semen *C. elongata* porovnané s kontrolou (kont). Výluhy označené stejnými písmeny se od sebe významně neliší. **4A:** Rozdělení výluhů podle produktivity stanoviště, na kterých jednotlivé druhy rostou (bohaté na živiny - *C. acuta*, *C. elongata* a *C. vesicaria*; chudé na živiny - *C. echinata*, *C. nigra* a *C. rostrata*). **4B:** Rozdělení výluhů podle příbuzenských skupin (*Phacocystis* - *C. acuta* a *C. nigra*, *Elongatae* - *C. elongata* a *C. echinata*, *Physocarpae* - *C. vesicaria* a *C. rostrata*).



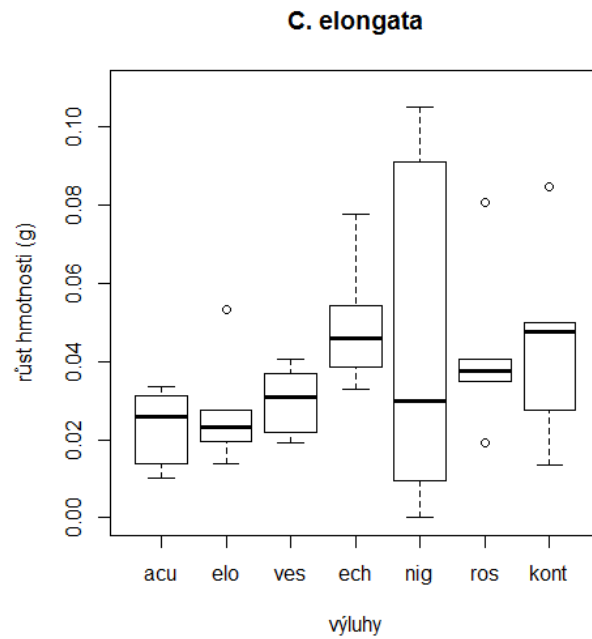
Obr. č. 5: Účinek jednotlivých výluhů *C. acuta* (acu), *C. elongata* (elo), *C. vesicaria* (ves), *C. echinata* (ech), *C. nigra* (nig) a *C. rostrata* (ros) na klíčivost semen *C. acuta* (**5A**), *C. nigra* (**5B**), *C. echinata* (**5C**) a *C. rostrata* (**5D**) porovnané s kontrolou (kont). U žádného z uvedených druhů semen nebyl prokázán signifikantní vztah mezi jednotlivými výluhy a kontrolou.

7.2 Vliv rostlinných výluhů na hmotnost semenáčků

Výluh *C. acuta* stimuloval růst hmotnosti semenáčků *C. echinata* oproti kontrole ($P < 0.001$). Statisticky významný rozdíl byl prokázán mezi výluhy *C. acuta* a *C. echinata* ($P < 0.001$; obr. č. 6). U semenáčků *C. elongata* nebyl prokázán žádný signifikantní vztah mezi jednotlivými výluhy a kontrolou (obr. č. 7).



Obr. č. 6: Účinek výluhů *C. acuta* (acu), *C. elongata* (elo), *C. vesicaria* (ves), *C. echinata* (ech), *C. nigra* (nig) a *C. rostrata* (ros) na růst hmotnosti semenáčků *C. echinata* porovnané s kontrolou (kont). Výluhy označené stejnými písmeny se od sebe významně neliší. **6A:** Rozdělení výluhů podle produktivity stanoviště, na kterých jednotlivé druhy rostou (bohaté na živiny - *C. acuta*, *C. elongata* a *C. vesicaria*; chudé na živiny - *C. echinata*, *C. nigra* a *C. rostrata*). **6B:** Rozdělení výluhů podle příbuzenských skupin (*Phacocystis* - *C. acuta* a *C. nigra*, *Elongatae* - *C. elongata* a *C. echinata*, *Physocarpae* - *C. vesicaria* a *C. rostrata*).



Obr. č. 7: Účinek jednotlivých výluhů *C. acuta* (acu), *C. elongata* (elo), *C. vesicaria* (ves), *C. echinata* (ech), *C. nigra* (nig) a *C. rostrata* (ros) na růst hmotnosti semenáčků *C. elongata* porovnané s kontrolou (kont). Nebyl prokázán žádný signifikantní vztah mezi jednotlivými výluhy a kontrolou.

8. Diskuze

8.1 Prokázání přítomnosti alelopatických látek

Rod *Carex* je jedním z nejrozsáhlejších rodů cévnatých rostlin a tvoří dominanty ve vlhkých a mokřadních stanovištích (Ball & Reznicek 2002). Výskyt alelopatických látek a alelopatické účinky u tohoto rodu byly doposud zkoumány jen v několika studiích (Elakovich & Wooten 1989; MacKenzie & Deluca 2006; Fiorentino et al. 2006; Fiorentino et al. 2008).

Výsledky této studie ukázaly, že díky působení výluhů druhů *Carex* docházelo k inhibici klíčení semen *C. elongata* oproti kontrole. Podobné výsledky byly prokázány i v případě působení konkrétních izolovaných metabolických látek z listů *C. distachya* na semena *L. sativa* (Fiorentino et al. 2006), *D. hispanica*, *P. velutina* a *P. subulatum* (Fiorentino et al. 2008). Potenciální alelopatický účinek je znám i u druhů *Carex hudsonii*, *Carex elata* (MacKenzie & Deluca 2006) a *C. geyeri* (Elakovich & Wooten 1989).

Na růst hmotnosti semenáčků *C. elongata* jednotlivé výluhy neměly vliv. Ke stejným závěrům došli Mutlu & Atici (2009) při zkoumání alelopatického účinků na růst hmotnosti semenáčků pšenice při použití výluhu z listů *N. meyeri*.

U klíčení semen *C. elongata* docházelo k jejich inhibici, ale u *C. echinata*, docházelo k stimulaci růstu hmotnosti semenáčků, ačkoliv významné výsledky byly prokázány jen u výluhu *C. acuta*. Alelopatické látky mohou mít pro rostliny prospěšné účinky (Rice 1984; Mutlu & Atici 2009; Gatti et al. 2010; Parepa et al. 2012; Scognamiglio et al. 2013), ale tento jev rozdílného působení na klíčení a růst nebývá často pozorován. Především dochází buď ke stimulaci nebo jen k inhibici klíčení a růstu, jako například v případě Wang et al. (2009) nebo Mutlu & Atici (2009). Ke stejným závěrům, ale dospěli ve studii Fiorentino et al. (2006) u již zmíněného druhu *C. distachya*, kdy při testování metabolických látek (carexanes) na dvouděložnou rostlinu *L. sativa*, došlo k inhibičnímu účinku na klíčení semen a stimulačnímu účinku na růst semenáčků této rostliny (Fiorentino et al. 2006).

Podle výsledků mé studie se lze přiklonit k tomu, že testované druhy z rodu *Carex* pravděpodobně obsahují alelopatické látky. Pro přímé potvrzení je ale nutné izolovat

sekundární metabolity z těchto druhů a samostatně testovat jejich účinky, jako v případě Fiorentino et al. (2006) a Fiorentino et al. (2008).

8.2 Investice alelopatických látek podél produktivity stanoviště

Výluhy z druhů rostoucích jak na živinami bohatém stanovišti, tak na živinami chudém stanovišti, měly inhibiční efekt na klíčení semen *C. elongata*. Druhy rostoucí na živinami bohatém stanovišti vykazovaly podobné účinky na klíčení semen, na rozdíl od druhů rostoucích na chudých stanovištích. Ty sice měly rozdílné účinky v rámci této trofické skupiny, ale v případě výluhu *C. echinata* docházelo k nejsilnějšímu inhibičnímu účinku na klíčení semen *C. elongata*. Podle matematicko-biologické studie by se na stanovištích, která jsou bohatá na živiny, mělo vyskytovat více alelopatických látek (Grover & Wang 2013). Přímých důkazů je ale málo a pokud se studie zabývají problematikou vlivu bohatosti živin, nezaměřují se přímo na alelopatické účinky, ale na sekundární metabolity (Pal et al. 2015; Zubeck et al. 2015). Objevily se ale opačné názory, kdy jsou alelopatické látky podporovány stresujícím a na živiny chudým stanovištěm (Rice 1984). Tato hypotéza byla potvrzena přímými studiemi (Inderjit & Weiner 2001; Usharani & Vasuden 2017).

Rozdílnost studií lze vysvětlit různými postupy v biologických testech, ale také různorodostí druhů testovaných rostlin (Inderjit & Weiner 2001). Studie se ale obecně shodují na tom, že živiny hrají značnou roli v expresi alelopatie (Rice 1984; Inderjit & Weiner 2001; Grover & Wang 2013; Pal et al. 2015; Zubeck et al. 2015; Usharani & Vasuden 2017). I když v této práci výsledky nepotvrzují hypotézu, že by na produkci alelopatických látek měla silnější vliv stanoviště bohatá na živiny, zmíněné studie naznačují, že na jejich tvorbu mají naopak vliv stanoviště, která jsou na živiny chudá. To dokládá i tvrzení, že alelopatie je funkčním znakem rostlin a může být podporována při nízké dostupnosti živin (Agrawal et al. 2006).

8.3 Tvorba alelopatických látek jako odraz fylogenetických vztahů

Fylogenetická skupina *Phacocystis* vykazovala podobné inhibiční účinky na klíčení semen *C. elongata* a podobné stimulační účinky na růst hmotnosti semenáčků *C. echinata*. To by potvrzovalo, že tvorba alelopatických látek, která je jedním z funkčních znaků rostlin, může být pevně daná mezi příbuznými druhy (Agrawal et al.

2006). U zbylých dvou příbuzenských skupin ale k podobnému působení nedocházelo. Proto nelze podpořit tvrzení, že je tvorba alelopatických látek odrazem fylogenetických vztahů v rámci rodu *Carex*. Ke stejnému závěru došli i Imatomi et al. (2013). U čeledi *Myrtaceae* také prokázali různě silnou alelopatickou aktivitu, ale v jejich studii příbuzné druhy nevykazovaly podobnou produkci alelopatických látek.

V rámci fylogenetické skupiny *Elongatae* bylo zřejmé, že u semen *C. elongata* docházelo k snížení klíčivosti v přítomnosti vlastního i příbuzného druhu (*C. echinata*). U růstu hmotnosti semenáčků *C. echinata* docházelo také k potlačení růstu působením příbuzného druhu (*C. elongata*). Tento výsledek nebyl statisticky významný, ale výluh *C. elongata* byl jediný který inhiboval růst semenáčků. Výraznou rozdílnost působení příbuzenské skupiny *Elongatae* oproti zbylým dvou skupinám vysvětluje studie Burns & Strauss (2011), ve které autoři došli k závěru, že si blízcí příbuzné rostlinné druhy konkurují více než vzdáleně příbuzné druhy.

8.4 Problémy této studie a budoucí výzkum alelopatie

Během experimentu nedošlo u druhu *C. vesicaria* k vyklíčení ani jednoho semene. Tento jev není připisován vlivu alelopatie. Nízká klíčivost u rodu *Carex* není neobvyklou záležitostí a byla pozorována i u jiných druhů (Grime et al. 1981; Schütz 2000; Esmaeili et al. 2009).

Dalším problémem v této studii byly neprokázané výsledky u ostatních testovaných druhů. Důležité je uvědomit si, že testy probíhají v laboratorních podmínkách a je tak ignorována celá řada faktorů (Parepa et al. 2012). I když jsou alelopatické účinky potvrzeny a demonstrovány biologickými testy v laboratoři nebo ve skleníků (Inderjit & Weiner 2001), pouhá přítomnost alelopatických látek nezajišťuje jejich alelopatický potenciál (Tesio et al. 2008; Inderjit et al. 2011). Podmínky laboratorních testů mají vliv na koncentraci a účinek látek. Jak už bylo zmíněno, stres v přirozeném prostředí posiluje tvorbu alelopatických látek. Proto může být v těchto umělých podmínkách snížen účinek alelopatie, nebo se nemusí projevit vůbec. Samotné klíčení semen silně ovlivňují světelné a teplotní podmínky, osmotický potenciál a interakce mezi těmito faktory. Výsledek mohou ovlivnit také objemy roztoku a počet semen. Faktory, jako je velikost, dormance a délka období pro zrání mohou mít vliv na koncentraci alelopatických látek (Kruse et al. 2000).

Aplikováním výluhu do půdy lze eliminovat některé faktory a tím lépe simulovat přirozené podmínky (Parepa et al. 2012). Jednotlivé fenolické alelopatické látky vstupující do půdního systému jsou vystaveny procesům jako transport, retence nebo transformace. Na vstup do půdy a působení fenolických látek mají vliv rovněž půdní charakteristiky (Klejdus & Kubáň 1999). K určení působení alelopatie v půdě je potřeba mnoho biotických a abiotických podmínek. Rozdíly v interakci mezi alelopatickými látkami a prostředím činí alelopatii obtížně demonstrovatelnou v terénu. V přirozeném prostředí dochází k přímým i nepřímým alelopatickým účinkům. Například fenolické sloučeniny mohou inhibovat růst kořenů nepřímo prostřednictvím interakce s půdními organismy (Inderjit et al. 2011).

Dále se setkáváme s problémem výběru rostlinných orgánů, které budou v biologického testu použity. Nelze potvrdit, zda se do výluhu dostávají všechny alelopatické látky (Parepa et al. 2012), proto se převážně studie zabývají tím, u které části rostliny je alelopatický účinek nejsilnější (Wang & Zhu 1996; Mutlu & Atici 2009; Wang et al. 2009; Gatti et al. 2010; Wu et al. 2011; Ruckli et al. 2014). Nicméně existují i studie, které se zaměřují na testování jednoho rostlinného orgánu, například listového opadu (Vellend et al. 2000; Kruse et al. 2009; Parepa et al. 2012). V této práci rostlinný výluh obsahoval všechny části potenciálně alelopatické rostliny, aby byl účinek viditelný, jako v případě Islam & Kato-Noguchi (2016).

Cílem vědeckých studií je úplné objasnění mechanismů alelopatie (Inderjit & Weiner 2001). Účinky alelopatie prokázané v laboratorních podmínkách neposkytují důkaz, že alelopatie je opravdu jediným faktorem, který způsobuje inhibici nebo stimulaci dané rostliny (Tesio et al. 2008; Wu et al. 2011). Je téměř nemožné prokázat, že je alelopatie výhradně zodpovědná za účinky působící na pozorovaný vzorek v terénu. Může však být nejjednodušším vysvětlením (Inderjit & Weiner 2001). Biologické testy jsou však rychlé a opakovatelné nástroje k vysvětlení potencionální role alelopatických interakcí (Tesio et al. 2008; Wu et al. 2011).

Případná studie zabývající se alelopatií v kontextu ekologických a chemických vlastností půdy by mohla vést k pokroku ve studii této problematiky. Doposud známé studie zkoumají převážně přímé chemické interakce mezi rostlinami (Inderjit & Weiner 2001). Je důležité kvantifikovat různé aspekty, jak ekosystémové faktory ovlivňují alelopatii. Dalším důležitým krokem by mělo být zaměření se na provádění

experimentů v přírodních podmínkách, porovnávání jednotlivých chemických účinků alelopatie, profilování metabolitů a provádění biologických testů při hledání neznámých látek, které zprostředkovávají tyto interakce. Obecně je třeba pochopit, jaký vliv mají biotické a abiotické podmínky prostředí a vývojová historie na produkci a účinek alelopatických látek v půdě (Inderjit et al. 2011).

9. Závěr

Hlavním cílem této práce bylo zjistit, jak se mění investice mokřadních druhů ostřic do alelopatických látek podél gradientu produktivity stanoviště. Konkrétně zda mohou druhy rostoucí na živinově bohatých stanovištích více investovat do alelopatických látek a jestli je tvorba alelopatických látek odrazem fylogenetických vztahů v rámci rodu *Carex*. V experimentu byly testovány alelopatické účinky výluhů z šesti druhů ostřic (*C. rostrata*, *C. echinata*, *C. acuta*, *C. elongata*, *C. vesicaria* a *C. nigra*) a zkoumaná byla klíčivost semen a růst hmotnosti semenáčků všech šesti druhů. Rozdíly působení alelopatických látek byly zkoumány na dvou úrovních, tj. vzhledem k jejich stanovištním nárokům a v závislosti na fylogenetické příbuznosti druhů. V případě stanovištních nároků byly sledovány rozdíly tolerance druhů na působení výluhů rostlin rostoucích na živinově bohatých (*C. rostrata*, *C. echinata* a *C. nigra*) a živinově chudých stanovištích (*C. acuta*, *C. elongata* a *C. vesicaria*). Zároveň v nich byly zastoupeny tři fylogenetické skupiny *Physocarpae* (*C. rostrata* a *C. vesicaria*), *Phacocystis* (*C. nigra* a *C. acuta*) a *Elongatae* (*C. echinata* a *C. elongata*), u kterých byly sledovány rozdíly tolerance rostlin na působení výluhů rostlin příbuzných nebo nepříbuzných druhů.

Inhibiční a stimulační účinky alelopatie byly pozorovány u mnoha rostlinných druhů, konkrétně i u rodu *Carex*. Právě pro své potencionální alelopatické účinky byl tento rod vhodným kandidátem do této studie. Navíc je vhodným zástupcem ve srovnávacích studiích, zejména u klíčící ekologie rostlin.

Výluhy z pěti druhů (*C. echinata*, *C. nigra*, *C. acuta*, *C. elongata* a *C. vesicaria*) snižovaly klíčivost semen *C. elongata*. Výluh *C. acuta* stimuloval růst semenáčků *C. echinata*. U ostatních druhů nebyl prokázán žádný významný vztah. Ukázalo se, že ostřice mohou produkovat alelopatické látky a tím potencionálně ovlivnit klíčení a růst rostlin patřících do tohoto rodu. Druhy rostoucí na živinami bohatém stanovišti nevykazovaly větší tvorbu alelopatických látek než druhy rostoucí na živinami chudém stanovišti. Proto nebylo prokázáno, že by tvorba alelopatických látek u rodu *Carex* byla řízena produktivitou stanoviště. Většina zdrojů ale uvádí, že alelopatie by měla být řízena stanovištěm chudým na živiny a podpořena stresujícím prostředím. V případě příbuzenských skupin se neprokázalo, že by tvorba alelopatických látek byla řízena fylogenetickou příbuzností druhů.

V dalším výzkumu bude nutné aplikovat výluh přímo do půdy a tím lépe simulovat přírodní podmínky. K přímému prokázání přítomnosti alelopatických látek u druhů z rodu *Carex* zahrnutých do této studie bude také třeba izolovat jejich sekundární metabolity a zvláště testovat jejich účinky.

10. Seznam literatury

- Agrawal A. A. & Fishbein M., 2006:** Plant defense syndromes. *Ecology* 87 (7): 132-149.
- Ball P. W. & Reznicek A. A., 2002:** *Carex* Linnaeus, Sp. Flora of North America North of Mexico, Oxford University Press 23: 254-258.
- Bede J. C. & Tobe S. S., 2000:** Activity of insect juvenile hormone III: seed germination and seedling growth studies. *Chemoecology* 10: 89-97.
- Burns J. H. & Strauss S. Y., 2011:** More closely related species are more ecologically similar in an experimental test. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108: 5302-5307.
- Burns J. H. & Strauss S. Y., 2012:** Effects of competition on phylogenetic signal and phenotypic plasticity in plant functional traits. *Ecology* 93 (8): 126-137.
- Cahill J. F., Kembel S. W., Lamb E. G. & Keddy P. A., 2008:** Does phylogenetic relatedness influence the strength of competition among vascular plants? *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 10: 41-50.
- Cássia-Silva C., Cianciaruso M. V., Maracahipes L. & Collevatti R. G., 2017:** When the same is not the same: phenotypic variation reveals different plant ecological strategies within species occurring in distinct Neotropical savanna habitats. *Plant Ecology* 218: 1221-1231.
- Elakovich S. D. & Wooten J. W., 1989:** Allelopathic aquatic plants for aquatic plant management; a feasibility study. *Journal of Aquatic Plant Management* 27: 78-84.
- Esmaili M. M., Sattarian A., Bonis A. & Bouzillé J. B., 2009:** Ecology of seed dormancy and germination of *Carex divisa* Huds.: Effects of stratification, temperature and salinity. *International Journal of Plant Production* 3 (2): 27-40.
- Fiorentino A., D'Abrosca B., Pacifico S., Natale A. & Monaco P., 2006:** Structures of bioactive carexanes from the roots of *Carex distachya* Desf. *Phytochemistry* 67: 971-977.

- Fiorentino A., D'Abrosca B., Pacifico S., Izzo A., Letizia M., Esposito A. & Monaco P., 2008:** Potential allelopathic effects of stilbenoids and flavonoids from leaves of *Carex distachya* Desf. *Biochemical Systematics Ecology* 36: 691-698.
- Fitzpatrick C. R., Gehant L., Kotanen P. M. & Johnson M. T. J., 2017:** Phylogenetic relatedness, phenotypic similarity and plant–soil feedbacks. *Journal of Ecology* 105: 786-800.
- Fomsgaard I. S., Mortensen A. G. & Carlsen S. C. K., 2004:** Microbial transformation products of benzoxazolinone and benzoxazinone allelochemicals - a review. *Chemosphere* 54: 1025-1038.
- Gatti A. B., Ferreira A. G., Arduin M. & Perez S. C. J. G. A., 2010:** Allelopathic effects of aqueous extracts of *Artistolochia esperanzae* O. Kuntze on development of *Sesamum indicum* L. seedlings. *Acta Botanica Brasiliensis* 24 (2): 454-461.
- Global Carex Group, 2015:** Making *Carex* monophyletic (*Cyperaceae*, tribe *Cariceae*): a new broader circumscription. *Botanical Journal of the Linnean Society* 179: 1-42.
- Grime J. P., Mason G., Curtis A. V., Rodman J., Band S. R., Mowforth M. A. G., Neal A. M. & Shaw S., 1981:** A comparative study of germination characteristics in a local flora. *Journal of Ecology* 69: 1017-1059.
- Grover J. P. & Wang F. B., 2013:** Competition for one nutrient with internal storage and toxin mortality. *Mathematical Biosciences* 244: 82-90.
- Hendrichs M., Michalski S., Begerow D., Oberwinkler F. & Hellwig F. H., 2004a:** Phylogenetic relationships in *Carex* subgenus *Vignea* (*Cyperaceae*) based on ITS sequences. *Plant Systematics and Evolution* 246: 109-125.
- Hendrichs M., Oberwinkler F., Begerow D., & Bauer R., 2004b:** *Carex*, subgenus *Carex* (*Cyperaceae*) - A phylogenetic approach using ITS sequences. *Plant Systematics and Evolution* 246: 89-107.
- Hoffmann W. A. & Poorter H., 2002:** Avoiding Bias in Calculations of Relative Growth Rate. *Annals of Botany* 80: 37-42.

Imatomi M., Novaes P. & Gualtieri S. C. J., 2013: Interspecific variation in the allelopathic potential of the family *Myrtaceae*. *Acta Botanica Brasiliensis* 27 (1): 54-61.

Inderjit & Weiner J., 2001: Plant allelochemical interference or soil chemical ecology. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 4: 3-12.

Inderjit, Wardle D. A., Karban R. & Callaway R. M., 2011: The ecosystem and evolutionary contexts of allelopathy. *Trends in Ecology & Evolution* 26: 655-662.

Islam M. S. & Kato-Noguchi H., 2016: Phytotoxicity assessment of *Cyperus difformis* (L.) towards a sustainable weed management option. *The Journal of Animal & Plant Sciences. Faculty of Agriculture*. 26 (6): 1765-1771.

Jager M. M., Richardson S. J., Bellingham P. J., Clearwater M. J. & Laughlin D. C., 2015: Soil fertility induces coordinated responses of multiple independent functional traits. *Journal of Ecology* 103: 374-385.

Kettering K. M. & Galatowitsch S. M., 2007a: Temperature requirements for dormancy break and seed germination vary greatly among 14 wetlands *Carex* species. *Aquatic Botany* 87: 209-220.

Kettenring K. M. & Galatowitsch S. M., 2007b: Tools for *Carex* revegetation in freshwater wetlands: understanding dormancy loss and germination temperature requirements. *Plant Ecology* 193: 157-169.

Klejdus B. & Kubáň V., 1999: Rostlinné fenoly v allelopatii. *Ustav chemie a biochemie, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. Chem. Listy* 93: 243-248.

Kruse M., Strandberg M. & Strandberg B., 2000: Ecological effects of allelopathic plants – a review. National Environmental Research Institute, Silkeborg, Denmark. NERI Technical Report 315: 66 s.

Lavorel S. & Garnier E., 2002: Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: revisiting the Holy Grail. *Functional Ecology* 16: 545-556.

Lepš J. & Šmilauer P., 2016: Biostatistika. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích: 438 s.

MacKenzie M. D. & DeLuca T. H., 2006: Charcoal and shrubs modify soil processes in ponderosa pine forests of western Montana. *Plant Soil* 287: 257-266.

Mallik M. A. B. & Williams R. D., 2005: Allelopathic growth stimulation of plants and microorganisms. *Allelopathy Journal* 16 (2): 175-198.

Murrell C., Gerber E., Krebs CH., Parepa M., Schaffner U. & Bossdorf O., 2011: Invasive knotweed affects native plants through allelopathy. *American Journal of Botany* 98 (1): 38-43.

Massalha H., Korenblum E., Tholl D. & Aharoni A., 2017: Small molecules below-ground: the role of specialized metabolites in the rhizosphere. *The Plant Journal* 90: 788-807.

Mutlu S. & Atici Ö., 2009: Allelopathic effect of *Nepeta meyeri* Benth. extracts on seed germination and seedling growth of some crop plants. *Acta Physiol Plant* 31: 89-93.

Núñez-Farfán J., Fornoni J. & Valverde P. L., 2007: The evolution of resistance and tolerance to herbivores. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 38: 541-566.

Pal P. K., Kumar R., Guleria V., Mahajan M., Prasad R., Pathania V., Gill B. S., Singh D., Chand G., Singh B. & Singh R. D., 2015: Crop-ecology and nutritional variability influence growth and secondary metabolites of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *BMC Plant Biology* 15 (67): 1-16.

Parepa M., Schaffner U. & Bossdorf O., 2012: Sources and modes of action of invasive knotweed allelopathy: the effects of leaf litter and trained soil on the germination and growth of native plants. *NeoBiota* 13: 15-30.

R Core Team (2015). **R:** A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, URL: <http://www.R-project.org/>.

Raaijmakers J. M., Paulitz T. C., Steinberg CH., Alabouvette C. & Moënnelocoz Y., 2009: The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant Soil* 321: 341-361.

Reigosa M. J., Pedrol N. & González L., 2006: Allelopathy: A physiological process with ecological implications. The Netherlands, Springer: 637 s.

Rice E. L., 1984: Allelopathy. 2nd ed. Academic Press, Orlando: 368 s.

Ruckli R., Hesse K., Glauser G., Rusterholz H. P. & Baur B., 2014: Inhibitory potential of naphthoquinones leached from leaves and exuded from roots of the invasive plant *Impatiens glandulifera*. *Journal of Chemical Ecology* 40: 371-378.

Scognamiglio M., Fiumano V., D'Abrosca B., Pacifico S., Messere A., Esposito A. & Fiorentino A., 2012: Allelopathic potential of alkylphenols from *Dactylis glomerata* subsp. *Hispanica* (Roth) Nyman. *Phytochemistry Letters* 5: 206-210.

Scognamiglio M., D'Abrosca B., Esposito A., Pacifico S., Monaco P. & Fiorentino A., 2013: Plant growth inhibitors: allelopathic role or phytotoxic effects? Focus on Mediterranean biomes. *Phytochemistry Reviews* 12: 803-830.

Schmidt S. K., Lipson D. A. & Raab T. K., 2000: Effects of willows (*Salix brachycarpa*) on populations of salicylate-mineralizing microorganisms in alpine soils. *Journal of Chemical Ecology* 26 (9): 2049-2057.

Schütz W., 1999: Germination responses of temperate *Carex* species to diurnally fluctuating temperatures - a comparative study. *Flora* 194 (1): 21-32.

Schütz W., 2000: Ecology of seed dormancy and germination in sedges (*Carex*). *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 3: 67-89.

Schoonhoven L. M., van Loon J. J. A. & Dicke M., 2005: Insect-Plant Biology. Oxford: Oxford University Press.

Sisodia S. & Siddiqui M. B., 2009: Allelopathic potential of rhizosphere soil of *Croton bonplandianum* on growth and establishment of some crop and weed plants. *African Journal of Agricultural Research* 4 (5): 461-467.

Tesio F., Vidotto F., Weston L. A. & Ferrero A., 2008: Allelopathic effects of aqueous leaf extracts of *Helianthus tuberosus* L. *Allelopathy Journal* 22: 47-58.

Usharani B. & Vasudevan N., 2017: Root Exudates of *Cyperus alternifolius* in Partial Hydroponic Condition under Heavy Metal Stress. *Pharmacognosy Research* 9 (3): 294-300.

Vellend M., Lechowicz M. J. & Waterway M. J., 2000: Germination and establishment of forest sedge (*Carex*, *Cyperaceae*): test for home-site advantage and effects of leaf litter. *American Journal of Botany* 87 (10): 1517-1525.

Violle C., Nemergut D. R., Pu Z. & Jiang L., 2011: Phylogenetic limiting similarity and competitive exclusion. *Ecology Letters* 14: 782-787.

Walker T. S., Bais H. P., Grotewold E. & Vivanco J. M., 2003: Root exudation and rhizosphere biology. *Plant Physiol* 132: 44-51.

Wang D. L. & Zhu X. R., 1996: Allelopathic research of *Ambrosia Trifid*. *Acta Phytocologica Sinica* 20 (4): 330-337.

Wang X. F., Xing W., Wu S. H. & Liu G. H., 2009: Allelopathic effects of seed extracts of four wetland species on seed germination and seedling growth of *Brassica rapa* spp. *pekinensis*, *Oryza rufipogon* and *Monochoria korsakowii*. *Fresenius Environmental Bulletin* 18 (10): 1832-1838.

Webb C. O., Ackerly D. D., McPeck M. A. & Donoghue M. J., 2002: Phylogenies and community ecology. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 33: 475-505.

Weir T. L., Park S. W. & Vivanco J. M., 2004: Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. *Current Opinion in Plant Biology* 7: 472-479.

Whittaker R. H. & Fenny P. P., 1971: Allelochemicals.: Chemical interactions between species. *Science* 171:575-570.

Wu G. L., Ren G. H. & Shi Z. H., 2011: Phytotoxic effects of a dominant weed *Ligularia virgaurea* on seed germination of *Bromus inermis* in an alpine meadow community. *Plant Ecology and Evolution* 144 (3): 275-280.

Zubek S., Rola K., Szewczyk A., Majewska M. L. & Turnau K., 2015: Enhanced concentrations of elements and secondary metabolites in *Viola tricolor* L. induced by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil* 390: 129-142.