

Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta



Ekologie pozdních ekotypů poloparazitických rostlin

Bakalářská práce

Autor: **Martin Hlučil**

B1501 Systematická biologie a ekologie
prezenční studium

Vedoucí práce: **Mgr. Jan Mládek, Ph.D.**

Konzultant práce: **RNDr. Jakub Těšitel, Ph.D.**

Olomouc
duben 2016

© Martin Hlučil, 2016

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně s využitím uvedené literatury.

V Olomouci 29. 4. 2016

Podpis:

Poděkování: Rád bych poděkoval všem těm, kteří mi byli nápomocní při řešení této práce, a za jejich trpělivost. Na prvních místech patří poděkování rodičům, vedoucímu mojí práce, Mgr. Janu Mládkovi, Ph.D., a také RNDr. Jakubu Těšitelovi, Ph.D. z Jihočeské univerzity za konzultace, umožnění zpracování materiálu v Českých Budějovicích a spoustu cenných rad.

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora: Martin Hlučil

Název práce: Ekologie pozdních ekotypů poloparazitických rostlin

Typ práce: bakalářská práce

Pracoviště: Katedra zoologie a ornitologická laboratoř PřF UP, 17. listopadu 50, 771 46
Olomouc

Vedoucí práce: Mgr. Jan Mládek, Ph.D.

Rok obhajoby práce: 2016

Abstrakt: Poloparazitické rostliny jsou ekologická skupina čítající 3 – 4 tisíce druhů. Druhově nejpočetnější jsou řád *Santalales* a čeleď *Orobanchaceae*. Rostliny z této čeledi jsou častým objektem výzkumu, protože se zde setkáme s různými typy parazitismu a navíc je mezi nimi mnoho významných polních plevelů. Často jsou tyto rostliny nazývány ekosystémovými inženýry. Byly u nich popsány významné interakce s hostitelem ale i ostatními druhy organismů a také vliv na celé společenstvo. Setkáváme se s nimi často v méně produktivních společenstvech, kde není tak velká konkurence o světlo, které vyžadují k fotosyntéze. Vodu a některé živiny, včetně organického uhlíku, vysávají z dřevních svazků hostitele, v důsledku toho například potlačují jeho růst. Obvykle také dochází k dalšímu snižování produktivity společenstva a často ke změně druhového složení vegetace. Poslední dobou jsou tyto poznatky využívány v ekologii obnovy. Už několik autorů se snažilo odhadnout závislost na hostiteli nebo dokonce procentuální obsah heterotrofně získaného uhlíku v biomase parazita pomocí izotopové analýzy. Tato práce je také příkladem využití izotopové analýzy ve výzkumu ekologie a fyziologie poloparazitických rostlin. V lokalitě nedaleko Ivančic na Brněnsku proběhl polní pokus s cílem zjistit, jestli má heterotrofní zisk uhlíku nějaký přínos pro přežívání světlíku tuhého (*Euphrasia stricta*) během vrcholu vegetační sezóny. Tato hypotéza se nepotvrdila, ukázalo se však, že pro tento podzimní ekotyp poloparazita je příjem uhlíku od hostitele důležitý v období těsně po klíčení.

Klíčová slova: *Orobanchaceae*; *Euphrasia stricta*; parazitické rostliny; pozdní ekotypy; izotopová analýza; uhlíkový metabolismus

Počet stran: 38

Počet příloh: 1

Jazyk: český

Bibliographical identification

Autor's first name and surname: Martin Hlucil

Title: Ecology of autumnal ecotypes of hemiparasitic plants

Type of thesis: Bachelor's thesis

Department: Department of Zoology & Laboratory of Ornithology, Faculty of Science,
Palacky University, 17. listopadu 50, 771 46 Olomouc

Supervisor: Mgr. Jan Mladek, Ph.D.

The year of presentation: 2016

Abstract: Hemiparasitic plants represent an ecological group of 3 – 4 thousand species. Most of these plants belong to order *Santalales* or family *Orobanchaceae*. Plants of this family are the frequent objects of research because they use various types of parasitism and in addition many of them are important weeds in agriculture. These plants are often called ecosystem engineers. There were reported significant interactions with the host but also with other organisms and well described also influence on plant community. We can find them often in less productive communities where it is not so much competition for light that is required for hemiparasite's photosynthesis. They suck water and some nutrients including organic carbon from the host xylem and consequently, for example, they inhibit its growth. Parasitism also usually leads to further reduction of the plant community productivity and often results in changes of vegetation composition. These findings are recently applied in restoration ecology. Several authors have already tried to estimate the dependence of the parasite on the host or even a percentage of heterotrophically obtained carbon in parasite's biomass by using isotope analysis. This thesis is also an example of the use of isotope analysis in ecological and physiological research of hemiparasitic plants. Field experiment was established near Ivančice in the Brno region to determine if heterotrophic carbon gain has some benefit for survival of *Euphrasia stricta* during the peak growing season. This hypothesis was not confirmed. However, it turned out that sucking carbon from the host in the period immediately after germination is important for this autumnal hemiparasitic ecotype.

Keywords: *Orobanchaceae*; *Euphrasia stricta*; parasitic plants; late ecotypes; isotope analysis; carbon metabolism

Number of pages: 38

Number of appendices: 1

Language: Czech

Obsah

1	Úvod.....	1
1.1	Cíle práce	3
2	Literární přehled.....	4
2.1	Obecná charakteristika poloparazitických rostlin	4
2.2	Čeleď <i>Orobanchaceae</i>	6
2.3	Základní poznatky o biologii a ekologii poloparazitických rostlin	7
2.4	Ekotypová variabilita zarázovitých.....	16
2.5	Uhlíkový metabolismus poloparazitů a metody jeho výzkumu	20
2.5.1	Izotopová frakcionace a využití její znalosti	21
3	Speciální část.....	25
3.1	Biologie a ekologie světlíků.....	25
3.2	Lokalita	28
3.3	Metodika	29
3.3.1	Terénní pokus.....	29
3.3.2	Design pokusu.....	30
3.3.3	Sběr materiálu	30
3.3.4	Zpracování materiálu a získání dat.....	31
3.4	Výsledky	34
4	Diskuse.....	36
5	Závěr	38
6	Seznam použité literatury a zdrojů.....	39
	Fotografická příloha	

1 Úvod

Parazitické rostliny jsou taxonomicky a biogeograficky diverzifikovaná skupina čítající asi 3 až 4 tisíce krytosemenných rostlin (Irving & Cameron 2009). Heide-Jørgensen (2008) uvádí dokonce 4 500 druhů. Press (1989) definuje parazitické rostliny, jako rostliny vytvářející haustoria, která jsou nad zemí u stonkových a pod zemí u kořenových parazitů, a tyto skupiny rozděluje podle přítomnosti nebo absence chlorofylu na poloparazity (hemiparazity) a úplné parazity (holoparazity). Poloparazitické rostliny, kterými se v této práci zabývám, získávají téměř všechny minerální látky a vodu od svého hostitele, zatímco organický uhlík je získáván alespoň částečně vlastní fotosyntetickou aktivitou. Část organického uhlíku musí tedy získat heterotrofně od svého hostitele (Těšitel et al. 2010a).

Parazitické rostliny mají hluboký dopad na ekosystémy, ve kterých žijí. A to dokonce i v případě, kdy tvoří pouze jejich minoritní složku. Parazitismus má dopady především na růst, alometrii a reprodukci hostitele. To má dále vliv na kompetici mezi hostitelskými a nehostitelskými druhy a díky tomu i na strukturu společenstev, vegetační zonalitu a populační dynamiku. Dopady na hostitele mohou dále ovlivňovat herbivory, opylovače a přenašeče semen (Press & Phoenix 2005), ale také půdní bakterie a mykorrhizní houby (Cameron & Phoenix 2013). Jen poměrně málo parazitických rostlin napadá zemědělské rostliny. Patří mezi ně především zástupci rodů *Alectra*, *Cuscuta*, *Striga* a *Orobancha* (Wolfe et al. 2005; Heide-Jørgensen 2008).

Vlivu poloparazitických rostlin na společenstva ovšem může být využito i v ekologii obnovy. Introdukce rodu kokrhel (*Rhinanthus* sp.) do společenstva může být vhodným managementovým nástrojem pro obnovu druhově bohatých trávníků, které byly dříve ničeny nadměrným vstupem živin a to především dusíku (Demey et al. 2013).

Sezónní variabilitou u poloparazitických rostlin se zabývalo již mnoho autorů. Byli to např. Sterneck (1895 a 1901), Soó (1926-1927), Ter Bork (1972), Karlsson (1974 a 1976), Bolliger (1989), Zopfí (1993a, 1993b, 1995, 1997, 1998a a 1998b), Štech (2000), Štech & Drábková (2005) Kolseth & Lönn (2005), Koutecký et al. (2012), Blahník (2013) a Průšová et al. (2013). Vysokou míru ekotypové variability vykazuje mnoho evropských druhů poloparazitických rostlin z čeledi *Orobanchaceae*, především zástupci rodů

Euphrasia, *Rhinanthus* a *Melampyrum*. Existovat mohou populace s rozdílnými dobami kvetení a morfologickými charakteristikami. Tyto drobné rozdíly, které závisí na době kvetení, nazval Wettstein (1895) sezonním dimorfismem (Pleines et al. 2013). Tato teorie však byla v minulosti zpochybňována a v minulosti ji podle Zopfi (1993a) kritizoval především Krause (1944) a naopak ji podporoval Karlsson (1974). Podle Wettsteinova konceptu pracoval např. Sterneck (1895), který rozčlenil rod *Rhinanthus* na brzy kvetoucí (aestivální) a pozdě kvetoucí (autumnální) vikarianty (Zopfi 1993a). My je také můžeme nazývat jarní a podzimní, jak je uvedeno v Ekologickém slovníku terminologickém a výkladovém (Jakrllová & Pelikán 1999).

V této práci se snažím zaměřit na ekologii autumnálních typů a především na možnosti využití izotopové analýzy při stanovení příjmu uhlíku z hostitelské rostliny. Těšitel v metodice pro pokusy zaměřené na heterotrofní příjem uhlíku u pozdních ekotypů poloparazitických rostlin (2013) uvedl, že dosavadní studie se zabývaly především časnými ekotypy. Podle jeho hypotézy, ze které vycházím, by příjem uhlíku z hostitele měl být klíčovým faktorem, který umožňuje pozdním ekotypům přežít vrchol vegetační sezóny v travním porostu.

V experimentální části jsem použil metodu, která je založena na stanovení obsahu těžkého izotopu uhlíku ^{13}C . První systematické studie zabývající obsahem izotopu uhlíku ^{13}C u rostlin provedl Craig v 50. letech minulého století. Předtím znalost těžkých izotopů prvků využívaly spíše jiné obory, především geochemie. Rozdílu v izotopovém složení rostlin s C_3 a C_4 metabolismem si všiml až Bender ve své práci z roku 1968 (O'Leary et al. 1992). Doposud nejvíce robustní metodou pro odhad podílu heterotrofního příjmu uhlíku prezentovali Tennakoon a Pate v roce 1996. Je založena na porovnání obsahu těžkého izotopu v biomase poloparazita připojeného na C_3 nebo C_4 hostitele s hodnotami u C_4 hostitele. Tuto metodu dále vylepšil Těšitel et al. (Těšitel et al. 2010a).

1.1 Cíle práce

- sestavení literární rešerše na téma biologie a ekologie pozdních ekotypů poloparazitických rostlin z čeledi *Orobanchaceae*;
- provedení pokusu zaměřeného na popis dynamiky růstu světlíku tuhého (*Euphrasia stricta*) během vegetační sezóny v kontextu zisku heterotrofního uhlíku od hostitele;
- otestování hypotézy, jestli má heterotrofní zisk uhlíku nějaký přínos pro přežívání světlíku během vrcholu vegetační sezóny

2 Literární přehled

2.1 Obecná charakteristika poloparazitických rostlin

Parazitické čeledi jsou zahrnuty asi ve 12 řádech krytosemenných dvouděložných rostlin (Heide-Jørgensen 2013). Westwood et al. (2010) uvádí, že u krytosemenných rostlin se parazitismus vyvinul nezávisle dvanáctkrát nebo třináctkrát. Studium mtDNA ukázalo, že parazitismus vnikl minimálně jedenáctkrát (Barkman et al. 2007). Parazitické rostliny nacházíme ve více než 280 rodech, které náleží do 20 čeledí. Z celkového počtu těchto rostlin náleží asi 40 % druhů mezi stonkové parazity a 60 % mezi kořenové. Hemiparazitismus se vyskytuje u asi 90 % a holoparazitismus u 10 % druhů (Heide-Jørgensen 2008). V rámci čeledi *Orobanchaceae* je přibližně 88 % poloparazitů (McNeal et al. 2013).

Mezi parazitické rostliny patří téměř výhradně zástupci skupiny krytosemenných, ale kromě toho existuje jeden parazitický nahosemenný druh, *Parasitaxus usta*, který ovšem může být považován za hraniční případ, protože není k hostiteli připojen pravým haustoriem a přijímá přímo z xylému pouze vodu, ale uhlík z hostitele získává prostřednictvím mykorrhizních hub (Heide-Jørgensen 2013).

Jak jsem již uvedl výše v úvodu, parazitické rostliny lze rozdělit na hemiparazity a holoparazity a hemiparazité jsou schopni fotosyntézy, ovšem část uhlíku získávají heterotrofně ze svého hostitele. Oproti tomu úplní parazité nejsou schopni fotosyntézy a mají často redukovaný kořenový systém, takže získávají většinu vody a živin od svého hostitele (Heide-Jørgensen 2013). Haustoria poloparazitů jsou napojena zpravidla na xylém hostitele, kdežto haustoria úplných parazitů jsou zpravidla napojena na xylém i floém. Mohou ovšem existovat i výjimky, jako je rod podbílek (*Lathraea* sp.), který je sice holoparazitem, ovšem je napojený pouze na xylém (Těšitel et al. 2015).

Parazitické rostliny bývají také rozdělovány na fakultativní a obligatorní. Fakultativní parazité mohou žít autotrofně a dokončit životní cyklus i bez kontaktu s hostitelem, ale pokud je nějaký dostupný, tak parazitickému způsobu života dávají přednost. Oproti tomu dokončení životního cyklu obligatorních parazitů zcela závisí na hostiteli (Westwood et al. 2010).

Za parazitické rostliny se nepovažují popínavé, epifytické, masožravé a saprofytické rostliny. Dnes je však známo, že některé rostliny dříve považované za saprofytické ve skutečnosti nezískávají organické látky prostřednictvím mykorrhizy z odumřelého materiálu ale z živých zelených rostlin. Takové rostliny se označují jako mykoheterotrofní (Heide-Jørgensen 2008).

Naumann et al. (2013) navrhli temporální specializační hypotézu (TSH - temporal specialization hypothesis), podle které se během evoluce zvyšuje hostitelská specializace v jednotlivých liniích parazitických rostlin. Tento proces je selekčně výhodný, protože umožňuje zvyšovat efektivitu využívání zdrojů. Zpočátku mají parazité široký okruh hostitelů a postupně se stávají kompatibilní třeba jen s jednou čeledí hostitelů. Specializované linie mohou přetrvávat po dlouhou dobu a není zcela jasné, jestli specializace musí nutně vést ke zvýšení rizika vymření. Stejně jako u ostatních organismů jsou však parazitické linie u rostlin často druhově chudé. Druhově nejpočetnější linie jsou pouze čeleď *Orobanchaceae* s více než 1 800 druhy a řád *Santalales* s více než 2 100 druhy. Ostatní linie jsou druhově chudší, většinou s méně než 25 druhy.

Fyziologické poznatky naznačují, že nejdříve se vyvíjel poloparazitismus a z něho holoparazitismus (Irving & Cameron 2009). Searcy (1970) uvádí, že volně žijící organismy si během evoluce nejprve vytvoří symbiotický nebo fakultativně parazitický vztah s hostitelem. Tento krok může zahrnovat vznik nových adaptací. Dále může dojít ke ztrátě některých struktur a vlastností a to může být spojeno se ztrátou genetické informace. Tyto ztráty mohou vést ke vzniku obligátního parazitismu. Může jít např. o ztrátu schopnosti normálního růstu u rodu *Rhinanthus* bez hostitele nebo o ztrátu fotosyntézy u rodu *Orobanche*. Irving & Cameron (2009) uvádí, že v poslední fázi může také dojít ke vzniku specializace na určitý druh hostitele a tyto rostliny mohou vyžadovat např. stimulatory klíčení vypouštěné kořeny hostitele. Podle McNeal et al. (2013) vznikl v čeledi *Orobanchaceae* parazitismus jednou, ale uvnitř této skupiny se z poloparazitů vyvinuly nezávisle tři holoparazitické linie.

V této práci se budu zabývat kořenovými poloparazity z čeledi zárazovitých (*Orobanchaceae*), do které náleží i světlík tuhý (*Euphrasia stricta*), se kterým jsem pracoval v rámci experimentální části.

2.2 Čeleď *Orobanchaceae*

Systematické postavení: Zárázovité jsou značně diversifikovanou čeledí náležící do řádu hluchavkotvarých (*Lamiales*). Mnoho jejích rodů bylo dříve řazeno do jiných čeledí (Schneeweiss 2013). Jde o monofyletickou skupinu obsahující hemiparazitické i holoparazitické zástupce (Heide-Jørgensen 2008). Náleží sem také neparazitický zástupce, rod *Lindenbergia* (Heide-Jørgensen 2013). V tradičním pojetí tato čeleď zahrnovala pouze holoparazitické rody. Dnešní poloparazitické rody náležely většinou do čeledi krtičníkovitých (*Scrophulariaceae*). Molekulární fylogenetika ovšem zjistila, že čeleď *Scrophulariaceae* není monofyletická a všichni kořenoví poloparazité byli z této čeledi přerazeni právě do čeledi *Orobanchaceae* (Schneeweiss 2013). K tomuto kroku přistoupili Olmstead et al. (2001), kteří svou práci publikovali v *American Journal of Botany*. Změna byla zahrnuta do druhé aktualizace klasifikace řádů a čeledí kvetoucích rostlin AGP (The Angiosperm Phylogeny Group 2003).

Významní zástupci: Rostliny z čeledi *Orobanchaceae* jsou rozšířeny po celém světě, ale především v temperátní zóně a většina druhů a rodů se vyskytuje na severní polokouli v regionech starého světa. Většina rodů má jen 1 až 5 druhů s velmi omezeným rozšířením. Nalezneme v ní však i pět rodů, které mají více než 100 druhů a to jsou *Pedicularis* (více než 350 druhů), *Castilleja* (více než 200 druhů), *Euphrasia* (více než 170 druhů), *Orobanche* (asi 150 druhů) a *Buchnera* (asi 100 druhů) (McNeal et al. 2013). V České republice se z poloparazitických zástupců z této čeledi setkáme s rody *Melampyrum*, *Euphrasia*, *Odontites*, *Orphantha*, *Bartsia*, *Pedicularis* a *Rhinanthus* (Kubát et al. 2002). V rámci čeledi *Orobanchaceae* je přibližně 88 % zástupců poloparazitických (McNeal et al. 2013).

Evoluční historie čeledi: Wolfe et al. (2005) uvádí, že podle dřívějších hypotéz vznikla čeleď *Orobanchaceae* v Gondwaně v období křídy (např. Barker 1982, 1986) nebo Laurasii v terciéru (např. Raven & Axelrod 1972) a že Hong (1983) předpokládal původ ve středním terciéru v oblasti severně od moře Tethys nebo ve východní Asii. Wolfe et al. (2005) shrnuje, že křídový původ čeledi *Orobanchaceae* je nepravděpodobný, ale za pravděpodobnější považují původ ve středním terciéru (asi před 40 až 50 mil. let), tak jako Hong (1983). Čeleď se z dnešní Evropy dostala do Severní Ameriky buď západní cestou kolem ustupujícího moře Tethys nebo východně přes Beringii. Později se dostala do

paleotropis a na jižní polokouli (Wolfe et al. 2005). Celosvětového rozšíření dosáhl rod *Euphrasia* (Těšitel et al. 2010c).

Proč je čeleď *Orobanchaceae* významná z hlediska výzkumu: Zárázovité jsou jednou z nejrozšířenějších a nejpočetnějších skupin poloparazitů (Phoenix & Press 2005). Gressel & Joel (2013) uvádí, že v rámci parazitických rostlin je tato čeleď hlavním předmětem výzkumu a to nejen proto, že se v některých případech jedná o polní plevely s velkými ekonomickými dopady na zemědělskou produkci, ale i proto, že se u této čeledi setkáváme s celou škálou různých typů parazitismu ve vztahu k závislosti na hostiteli. Náleží sem také neparazitický zástupce, rod *Lindenbergia* (Heide-Jørgensen 2013). Zajímavý je rod hornice (*Tozzia* sp.), jehož zástupci svůj životní cyklus začínají jako úplní parazité, ovšem po několika letech vykvetou a v tomto období se stávají fotosynteticky aktivními (Wesselingh & Groenendael 2005). Vhodné pro výzkum je také to, že se mezi nimi vyskytují také zástupci s krátkým jednoletým životním cyklem (Phoenix & Press 2005). Poloparazitické rostliny z této čeledi se také v posledních letech ukázaly jako vhodný nástroj k obnově druhově bohatých trávníků (Mudrák et al. 2014). Některé rody, jako *Euphrasia*, *Rhinanthus*, *Melampyrum* a *Pedicularis*, jsou variabilní, částečně právě díky existenci sezónních ekotypů (Wesselingh & Groenendael 2005).

2.3 Základní poznatky o biologii a ekologii poloparazitických rostlin

Klíčení: Už během klíčení rostliny dochází k ovlivnění ze strany hostitele. Mnoho výzkumů na toto téma bylo prováděno na poloparazitickém rodu *Striga*, který je hospodářsky významným obligátním kořenovým poloparazitem s výskytem v Africe, Asii a Austrálii (Heide-Jørgensen 2008). Klíčení podporují stimulatory produkované hostitelem a adaptace na ně je životně důležitá pro obligátní parazity (Yoneyama et al. 2013), protože jejich semena bývají obvykle produkována ve velkých množstvích, ale jsou velmi malá a obsahují jen málo využitelných zásob (Press et al. 1990). Fakultativní parazité oproti obligátním na stimulatory klíčení produkované hostiteli nereagují (Irving & Cameron 2009). Většina parazitických rostlin také při klíčení reaguje na vhodnou vlhkost, obsah kyslíku, teplotu a světlo (Shen et al. 2006).

Připojení k hostiteli: Během dalšího vývoje se parazitické rostliny na hostitele připojí pomocí haustoria, které tvoří fyzický ale i fyziologický most mezi parazitem a hostitelem (Irving & Cameron 2009), zodpovědný za připojení se a proniknutí do pletiva hostitele a za následný přenos vody a živin (Press et al. 1991). Právě vznik haustoria byl klíčovou evoluční událostí vedoucí ke vniku parazitismu u rostlin vedle dalších důležitých adaptací, jako schopnost rozeznat hostitelskou rostlinu a schopnost regulace přenosu živin a jiných molekul mezi parazitickou a hostitelskou rostlinou (Westwood et al. 2010).

U fakultativních poloparazitů se setkáváme s laterálním typem haustoria, u obligátních se vyskytuje terminální typ (Westwood et al. 2010). Laterální haustoria mají oproti terminálním většinou životnost jeden rok a vytrvalí poloparazité je proto musí obnovovat spolu s každoročním růstem nových kořenů (Joel 2013).

Především v haustoriích kořenových poloparazitů se vyskytují tracheje s obsahem proteinových nebo škrobových zrn, u zástupců zárazovitých konkrétně škrobových. Tyto struktury se vytváří během vývoje cévního svazku (Heide-Jørgensen 2008). Jejich funkce nejsou dosud přesně známy, ale slouží pravděpodobně k regulaci tlaků v trachejích parazita a hostitele, především pokud je parazitická rostlina připojena více haustorii nebo na více hostitelů. Také by mohly sloužit k předcházení vzniku kavitace nebo zabránění zpětného toku do hostitele (Joel 2013).

Vhodnost hostitelů: Obecně se dá konstatovat, že parazitickým rostlinám jako hostitelé vyhovují rostliny s vysokým obsahem dusíku, dobře dostupnými cévními systémy, nižší schopností obrany a také mohou být preferovány rostliny, které představují časově delší zdroj živin (např. preference víceletých dřevin před jednoletými bylinami) nebo mají přístup k limitovaným zdrojům (např. hluboko kořenicí rostliny, které mají přístup k vodě i v období sucha (Press & Phoenix 2005). Dvouděložné rostliny jsou mnohem častějšími hostiteli než rostliny jednoděložné, ačkoli častými hostiteli jsou i traviny (Heide-Jørgensen 2008). Ty mají obvykle hustý kořenový systém s jemnými kořeny, který umožňuje dobré uchycení (Press & Phoenix 2005). Naopak některé skupiny jednoděložných jsou velmi vzácnými hostiteli, např. orchideje (Heide-Jørgensen 2008).

Některé rostliny se však dokáží napadení parazitickou rostlinou bránit. Mohou např. syntetizovat cytotoxické látky, jako jsou fenolické kyseliny nebo fytoalexiny, nebo tvořit fyzikálních bariéry pomocí lignifikace nebo suberinizace buněčných stěn. Další možnou obranou hostitele je abióza, přenos toxických látek z cévního systému hostitele přes

haustorium do parazita (Timko & Scholes 2013). I když se obecně za dobré hostitele považují traviny a bobovité rostliny a za horší hostitele ostatní byliny, tak bylo, co se týče vlivu na parazitické rostliny, doposud prozkoumáno jen omezené spektrum hostitelů a Rowntree et al. (2014) varují před touto generalizací a domnívají se, že kvalitu hostitele nelze věrohodně předpovědět na základě příslušnosti do určité funkční skupiny.

Některé parazitické rostliny využívají pouze jeden hostitelský druh, zatímco jiné využívají více druhů a většina parazitických rostlin využívá široké spektrum hostitelů a někteří mají nízký stupeň hostitelské specifity (Heide-Jørgensen 2008). Dá se předpokládat, že širší spektrum hostitelů mají poloparazitické rostliny než holoparazité. Hostitelské spektrum mnoha druhů je však zatím ne zcela známé (Irving & Cameron 2009). Široké spektrum hostitelů má např. kokrhel menší (*Rhinanthus minor*) s asi 50 známými hostitelskými druhy nebo *Striga asiatica* s více než čtyřiceti planě rostoucími hostitelskými druhy (Cameron & Phoenix 2013) nebo také světlíčník lepkavý (*Parentucellia viscosa*) (Irving & Cameron 2009).

Při napadení kokrhelem menším (*Rhinanthus minor*) byla pozorována lignifikace a suberinizace. K nejslabší lignifikaci docházelo u hostitelů z čeledi *Fabaceae*, traviny (*Poaceae*) reagovaly silnou lignifikací buněk v centrálním válci, u kopretiny bílé (*Leucanthemum vulgare*) byla pozorována silná suberinizace buněk na rozhraní mezi hostitelem a endofytem a nejsilnější byla reakce u jitrocele kopinatého (*Plantago lanceolata*), kde bylo pozorováno několik vrstev odumřelých buněk a haustorium tak bylo zcela izolováno od cévních svazků v kořenech hostitele (Rümer et al. 2007). Špatný růst byl také pozorován na šťovíku kyselém (*Rumex acetosa*) (Stein et al. 2009). Rowntree et al. (2014) ovšem zjistili, že krvavec menší (*Sanguisorba minor*) a řebříček obecný (*Achillea millefolium*) nejsou pro kokrhel menší horšími hostiteli než bobovitá rostlina štírovník růžkatý (*Lotus corniculatus*), stejně dobrými hostiteli byly také traviny medyněk vlnatý (*Holcus lanatus*) a srha laločnatá (*Dactylis glomerata*), naopak bobovité rostliny jehlice plazivá (*Ononis repens*) a jetel luční (*Trifolium pratense*) se neukázaly být dobrými hostiteli. Wesselingh & Groenendael (2005) uvádí, že jitrocel, který není dobrým hostitelem pro rod *Rhinanthus*, je naopak vhodný pro rod *Euphrasia*.

Příjem živin: Parazitické rostliny jsou většinou vázány na živinami chudé prostředí (Cameron & Phoenix 2013). Možnost příjmu dusíku v již redukované nebo organické formě od hostitele však může být výhodná v konkurenčním prostředí. (Westwood 2013).

Již dlouho je známo, že výskyt parazitických rostlin a jejich dopad na společenstvo lze potlačit aplikací hnojiv (Davies & Graves 2000). Eutrofizace a vysoká produktivita může být jednou z příčin úbytku některých druhů světlíků v Krkonoších (Blahník 2013). Existují však i studie, které ukazují, že na živiny bohaté prostředí s vysokou vegetací nemusí být pro poloparazitické rostliny nutně problém. Stejně jako jiné rostliny, tak i poloparazité využívají minerální živiny, zejména dusík a fosfor, ke stavbě svého fotosyntetického aparátu. Zvýšené množství těchto živin v půdě může tedy podporovat míru fotosyntézy a růst nejen u hostitele, ale i u poloparazitické rostliny (Seel & Pess 1994).

Ačkoliv u některých poloparazitů, jako je černýš rolní (*Melampyrum arvense*), vykazují průduchy normální diurnální cyklus (Jiang et al. 2003), poloparazité mají obvykle vyšší míru transpirace než jejich hostitelé (Heide-Jørgensen 2008) díky neustále otevřeným průduchům. To jim také pomáhá udržovat nižší vodní potenciál (Westwood 2013). U některých poloparazitů, jako je *Rhinanthus minor*, zůstávají stomata otevřená po celý den i noc a to i přes vysokou hladinu kyseliny abscisové (ABA). *Rhinanthus minor* nenapojený na hostitele má ovšem uzavřená stomata a to dokonce i na světle. Jejich otevření po napojení na hostitele by mohlo být způsobeno cytokininy nebo zeatinem obsaženými v xylému (Jiang et al. 2003). Pozorováno bylo vadnutí poloparazitů s otevřenými stomaty za vysokých teplot, kdy si hostitelské rostliny stále dokázaly udržet vysoký turgor. Po zlepšení podmínek však rostliny dokázaly regenerovat bez pozorovaného vážnějšího poškození, což by mohlo být důsledkem obsahu dehydrinů nebo jiných protektivních proteinů (Jiang et al. 2004). Někteří xerotermní poloparazité a také úplní parazité mají naopak nižší míru transpirace (Heide-Jørgensen 2008). Poloparazité s nižší mírou transpirace snižují vodní potenciál díky vyšší koncentraci osmoticky aktivních látek (Těšitel et al. 2015). Těmi mohou být např. draslík, cukry a cukerné alkoholy (Westwood 2013). U roku kokrhel se také ukázalo, že dovede vodu aktivně vylučovat pomocí hydratodových trichomů (Světlíková et al. 2015). Některé druhy poloparazitických rostlin, jako je např. *Bartsia alpina*, získávají vodu a živiny z xylému hostitele jiným než výše popsaným způsobem udržování nižšího vodního potenciálu. Transport u nich probíhá přes buněčné stěny, pravděpodobně na principu aktivního transmembránového transportu, který nezávisí na gradientu vodních potenciálů (Těšitel et al. 2010b).

Vzájemné ovlivňování hostitele a poloparazitické rostliny: Parazitické rostliny svému hostiteli odebírají vodu a živiny (Heide-Jørgensen 2008) a mohou na něj mít velký vliv např. tím, že mohou redukovat jeho růst (Keith et al. 2004), jak uvádí např. Jiang et al.

(2003) u kokrhele, který odebíral hostiteli téměř 20 % obsahu xylému a bylo pozorováno silné potlačení růstu nadzemní části hostitele a naopak mírné zvýšení růstu kořenů. Parazit naopak reagoval silným zvýšením růstu oproti nepřipojeným jedincům. Tato stimulace růstu je přisuzována především zvýšenému příjmu vody, dusíku a fosforu (Hibberd a Jeschke 2001). Potlačení růstu hostitele je silnější u nadzemních částí a jeho míra také závisí na abiotických podmínkách (Těšitel et al. 2015). Negativně může být ovlivněna i reprodukce (Cameron & Phoenix 2013) a může být také pozměněna alometrie (Quested et al. 2002). Ovlivnění růstu hostitele může být důsledkem odběru živin parazitem, ovšem je možné, že parazitické rostliny mohou snižovat schopnost fotosyntézy u hostitele. Díky ztrátě zdrojů a potlačení metabolismu mohou některé parazitické rostliny snižovat kompetiční schopnost hostitele vůči okolním rostlinám. Ty, pokud nejsou napadené nebo jsou schopny zabránit parazitování, mohou napadené rostliny vytlačit (Cameron & Phoenix 2013). Seel a Press (1993) uvádějí větší počet listů, větviček, pupenů, květů a zralých semen a také větší listy u kokrhele menšího (*Rhinanthus minor*) světlíku chladnomilného (*Euphrasia frigida*) a černýše lesního (*Melampyrum sylvaticum*) připojených na hostitele než u jedinců rostoucích bez něj. U kokrhele a světlíku také zkoumali vliv parazitování na bobovité rostlině a zjistili vyšší stimulaci růstu, větší počet větviček druhého řádu a také vyšší koncentraci některých prvků, především dusíku.

Podle Press & Phoenix (2005) Seel & Press (1996) pozorovali, že kokrhel menší (*Rhinanthus minor*) rostl lépe na lipnici alpské (*Poa alpina*), která byla již dříve parazitována. Jako důvod uvádí její redukované kvetení díky předchozímu parazitování a tím více dostupných zdrojů, které nejsou alokovány do generativních částí hostitele.

Cameron & Phoenix 2013 uvádí, že podle autorů, jako Jiang et al. (2008), Rümer et al. (2007) nebo Cameron et al. (2006), bobovité rostliny nevykazují žádnou redukci růstu nebo plodnosti v důsledku napadení poloparazitem a proto nevykazují ani žádnou obrannou reakci. Ovšem Gibson & Watkinson (1991) uvádí, že kokrhel menší (*Rhinanthus minor*) v jejich pokusech způsobil větší pokles produktivity u jetele plazivého (*Trifolium repens*) než u jílku vytrvalého (*Lolium perenne*). Autoři ovšem upozorňují, že čím je v půdě více živin, tím je dopad na hostitelský jetel nižší. Při výběru hostitelů může hrát roli také denzita jejich kořenů, a proto jsou častěji parazitovány druhy, které jsou ve společenstvu dominantní (Demey et al. 2013).

Ale i parazitické rostliny jsou ovlivňovány svými hostiteli. Přítomnost hostitele v blízkosti poloparazitické rostliny znamená kompetici o světlo (Těšitel et al. 2010b). Interakce mezi parazitem a hostitelem může být ovlivněna faktory jako je hustota populace parazitické rostliny, načasování napadení, genetika a fyziologie (Rümer et al. 2007). Tyto koexistenční vztahy mohou mít i evoluční dopad například na morfologii nebo fyziologii parazitů (Westwood et al. 2010). Asociace s některými bylinami může být např. pro poloparazitický *Rhinanthus* sp. dokonce letální (Cameron & Phoenix 2013).

Důležitým faktorem, který může negativně ovlivňovat poloparazitickou rostlinu, může být zastínění hostitelem nebo okolním porostem. Nižší schopnost přežití v důsledku zastínění byla pozorována např. v podmínkách rhizotronového pokusu, který provedli Keith et al. (2004) na příkladu poloparazita *Rhinanthus minor* a jeho hostitelů *Festuca ovina* a *F. rubra*. Výskyt jiných druhů kokrhele, *R. serotinus* a *R. alectorolophus*, může být také redukován přímou konkurencí o světlo s hostitelem nebo ve vegetaci s vysokým indexem listové plochy (Cameron & Phoenix 2013). Někteří autoři také provedli pokusy se simulovaným spásáním okolního porostu a dokonce hostitelů a zjistili, že parazitická rostlina není odstraněním hostitele negativně ovlivněna a naopak jí vyhovuje odstranění okolních rostlin, které s ní soutěží o světlo. Takové pokusy provedli např. Hellström et al. (2004) u světlíku tuhého (*Euphrasia stricta*), kdy mělo odstranění okolní vegetace tendenci zlepšovat růst a produkci semen poloparazita, který měl poškozený apikální vrchol, nebo Niemelä et al. (2008) u zdravínku *Odontites litoralis* ssp. *litoralis* a jeho hostitelů zblochanu *Puccinellia phryganodes* a psinečku *Agrostis stolonifera*.

Vliv poloparazitismu na rostlinné společenstvo: Parazitické rostliny jsou většinou přítomny ve společenstvech, jako jsou suché trávníky, alpinské louky, vřesoviště, slatiny a lesy na kyselých půdách (Matthies 1995).

Ačkoli parazitismus u rostlin je znám již dávno, tak jejich význam např. v zemědělských ekosystémech začal být zkoumán poměrně nedávno a většina fyziologických výzkumů na plevelných parazitických rostlinách byla provedena až v posledních 30 letech. U ekonomicky méně významných druhů není jejich ekologie dosud popsána do velkých detailů. Je ovšem známo, že parazité mohou měnit strukturu společenstev, ovšem v jejich vlivu na společenstva je značná variabilita. Stále také probíhá debata nad tím, jakým způsobem parazité tato společenstva ovlivňují (Cameron & Phoenix 2013). Parazitické rostliny bývají někdy považovány za klíčové druhy ve společenstvu.

Dopady parazitických rostlin na společenstvo jsou zprostředkovány spektrem hostitelů a preferencí a selekcí určitých hostitelských druhů. Parazitické rostliny mohou také měnit některé fyzikální podmínky prostředí kolem sebe (Press & Phoenix 2005).

Výskyt parazitických rostlin v různých vegetačních zónách a rostlinných společenstvích hodně závisí na přítomnosti hostitele. Dá se tedy předpokládat, že nejrozšířenější budou parazité, kteří využívají široké spektrum hostitelů s velkými areály. U parazitů, kteří mají úzké spektrum méně rozšířených hostitelů, je typické ostrůvkovité rozšíření. K takovému rozšíření ovšem mohou přispívat i jiné faktory, např. šíření semen ptáky, které může být velmi nepravidelné. Ostrůvkovité rozšíření má např. i všivec *Pedicularis dendrothauma*, který je kořenovým parazitem epifytických kvetoucích rostlin, ovšem vázaných pouze na jedli *Abies spectabilis* (Heide-Jørgensen 2008). Podle Press & Phoenix (2005) Joshi et al. (2000) uvádí, že kokrhel luštinec (*Rhinanthus alectorolophus*) měl lepší růst a reprodukční schopnosti, pokud rostl ve vysoce funkčně diverzifikovaném společenstvu. To připisují právě buď lepšímu příjmu živin díky možnému napojení na více typů hostitelů, nebo také vyšší šanci najít vhodného hostitele v takovém společenstvu nebo někdy také možné vyšší produktivitě takového diverzifikovaného společenstva.

V mírné klimatické zóně mohou někteří kořenoví poloparazité tvořit poměrně uniformní porosty a dokonce dominovat ve vegetaci. Někteří mohou dokonce měnit strukturu vegetace, jako bylo prokázáno v případě kokrhele menšího (*Rhinanthus minor*), který může měnit strukturu neobhospodařovaného společenstva např. tak, že potlačuje traviny a tím podporuje růst dvouděložných rostlin (Heide-Jørgensen 2008). I relativně malí poloparazité, jako všivec *Pedicularis canadensis*, mohou mít velký vliv na travní společenstva, kdy silně ovlivňují především růst travin a mohou být vhodným mechanismem ke zvýšení diverzity (Borowicz & Armstrong 2012). Pro tyto schopnosti jsou parazitické rostliny považovány za tzv. ekosystémové inženýry (Press & Phoenix 2005). Díky potlačení dominantních travin může také v některých případech dojít k rozšíření rezistentních dominantních bylin, jako je jitrocel kopinatý (*Plantago lanceolata*) (Mudrák et al. 2014) nebo kopretina bílá (*Leucanthemum vulgare*) (Mudrák & Lepš 2010), a ke zvýšení diverzity vůbec nemusí dojít (Mudrák et al. 2014) a dokonce může dojít k jejímu poklesu (Mudrák & Lepš 2010). I mezi travinami mohou existovat výjimky, jako je medyněk měkký (*Holcus mollis*), který preferoval stanoviště s přítomností kokrhele v polním pokusu, který provedli Mudrák & Lepš (2010). Irving & Cameron (2009) uvádí, že při introdukci kokrhele může nejprve dojít k poklesu diverzity díky

potlačení hostitelů, ovšem z dlouhodobého hlediska dojde k jejímu zvýšení. K poklesu diverzity by mohlo dojít, pokud by parazitem byly preferovány vzácnější druhy. Někteří autoři také uvádí, že jednoleté poloparazitické rostliny, např. kokrhel luštinec (*Rhinanthus alectrolorophus*), mohou zvyšovat nepřímo biodiverzitu vytvářením volných míst po svém odumření, která může být navíc podpořena živinami z odumřelé biomasy poloparazitické rostliny. Zvýšení diverzity společenstva může pozitivně zpětně ovlivnit produktivitu poloparazitické rostliny a to nejspíš kvůli možnosti parazitování na více druzích hostitelů naráz nebo díky vyšší šanci najít snadno napadnutelné hostitele. Společenstvo, kde se nachází parazitické rostliny, může také procházet cykly, ke kterým dochází díky vzájemnému ovlivňování parazitických rostlin, jejich hostitelů a nehostitelských druhů. (Cameron & Phoenix 2013).

Poloparazitické rostliny také snižují produktivitu společenstva, např. kokrhel menší snižuje produktivitu společenstev o 8 až 73 % (Cameron & Phoenix 2013), všivec *P. canadensis* v obnovované prérii o 32 % (Borowicz & Armstrong 2012) nebo kokrhel větší (*Rhinanthus serotinus*) a zdravínek jarní (*Odontites vernus*) kokrhele většího (*Rhinanthus serotinus*) a zdravínku jarního (*Odontites vernus*) v asociaci s tolicí setou (*Medicago sativa*) až o 30 % (Matthies 1995). Tento autor také uvádí, že to poukazuje na špatné hospodaření s vodou a živinami u poloparazitických rostlin, což může být fyziologickým důsledkem parazitického způsobu života. U napojených poloparazitů pozoroval redukci kořenového systému a u hostitelů také k redukci nadzemní (o 53 a 54 %) a podzemní biomasy (o 66 a 69 %). Přítomnost hostitele stimulovala více růst kokrhele, oproti zdravínku. V některých případech ovšem může docházet i ke zvyšování produktivity společenstva. Konkrétně dlouho žijící hemiparazité zvyšují produktivitu na živiny chudých společenstev. Příkladem může být opad z druhu *Castilleja occidentalis*, který urychluje dekompozici v arktické tundře, zvyšuje produktivitu společenstva a obsah dusíku v listech ostatních rostlin. Existují tedy dvě protichůdné cesty, kterými mohou poloparazitické rostliny ovlivňovat společenstvo. Jsou to právě přímý negativní efekt parazitismu, který může způsobovat podstatné změny diverzity a vést k poklesu produktivity, a naopak pozitivní efekt zvýšené dostupnosti dusíku díky opadu z poloparazitů, jehož následkem mohou být spíše malé změny diverzity a zvýšení produktivity. Je možné, že silnější vliv díky parazitismu mají krátce žijící parazitické rostliny, a naopak dlouho žijící mají vliv spíše díky ovlivňování společenstva opadem (Spasojevic & Suding 2011).

Využití v ekologii obnovy: Poloparazitické rostliny mohou mít také využití v ekologii obnovy. Introdukce rodu kokrhel (*Rhinanthus* sp.) do společenstva může být vhodným managementovým nástrojem pro obnovu druhově bohatých trávníků, které byly dříve ničeny nadměrným vstupem živin a to především dusíku, který může vstupovat např. atmosférickým spadem (Demey et al. 2013), ale k ničení těchto stanovišť také docházelo díky intenzifikaci zemědělství a změnami ve využití krajiny (Pywell et al. 2004). Jednou z možností, jak snížit produktivitu společenstva by bylo odstranění svrchní části půdy, ovšem tato metoda je příliš drahá a nešetrná. Jako vhodné řešení ke snížení produktivity se ovšem ukázaly poloparazitické kokrhele (Mudrák et al. 2014). Kokrhel menší (*R. minor*) je znám tím, že jako hostitele preferuje rychle rostoucí traviny, a tudíž je pro toto vhodný (Bardgett et al. 2006). Celkově se toho ovšem zatím o druhových preferencích jednotlivých zástupců tohoto rodu příliš neví a je tedy možné, že existují rozdíly (Mudrák et al. 2014). Ukázalo se, že rod kokrhel (*Rhinanthus* sp.) je schopen vytvářet stabilní populaci, ovšem spíše v málo nebo středně produktivních trávnících (Mudrák et al. 2014), a podle zjištění Hejcmána et al. (2011) je kompetiční schopnost kokrhele menšího (*R. minor*) nízká, pokud roční produktivita biomasy ve společenstvu přesahuje 5t/ha. Populace se potom dlouhodobě těžko udrží a vliv poloparazita na společenstvo je potom žádný nebo jen zanedbatelný (Hejcmán et al. 2011). Při obnově druhově bohatého společenstva pomocí introdukce kokrhelů je také nutné dbát mimo jiné na vhodné načasování kosení, tak aby dozrávala semena poloparazitické rostliny. Příliš intenzivní management není pro jejich udržení ve společenstvu vhodný. Jako nejvhodnější se ukazuje seč v červnu a září (Mudrák et al. 2014).

Ovlivnění ostatních organismů: Poloparazitické rostliny jsou ve společenstvu také ve vzájemné interakci s ostatními organismy, nejen s hostitelskou rostlinou a okolním porostem. Ovlivňování jsou herbivoři, opylovači a přenašeči semen (Press & Phoenix 2005), ale také půdní bakterie a mykorrhizní houby (Cameron & Phoenix 2013). Chování a diverzita těchto organismů může být úzce spojena s přítomností a abundancí parazitických rostlin (Press & Phoenix 2005).

Puustinen & Mutikainen (2001) se zabývali vztahem herbivorního plže *Arianta arbustorum*, poloparazita *Rhinanthus serotinus* a dvou typů hostitele *Trifolium repens*, kdy část rostlin produkovala kyanogenní glykosidy, které odpuzují herbivory, a část nikoliv. Parazitismus vedl ke snížení rozdílu míry herbivorie mezi těmito typy hostitelů redukcí herbivorie nekyanogenního jetele. Rowntree et al (2014) pozorovali negativní ovlivnění

velikosti populace mšic na kokrhelu *Rhinanthus minor* hostitelskou rostlinou, kterým byl štírovník *Lotus corniculatus* obsahující toxické kyanogenní glykosidy. Pro mšice bylo také nevýhodné parazitování jejich hostitele na medvědku *Holcus lanatus* a řebříčku *Achillea millefolium*, naopak se jim dařilo při jeho napojení na jehlici *Ononis repens*. Negativní dopady na populaci mšic byly redukovány při napojení kokrhele na několik odlišných druhů hostitelů. Důležité pro ně bylo také množství dostupných zdrojů, ovšem ne jejich kvalita určená poměrem C : N. Také populace mšic *Nearctaphis kachena* žijící na poloparazitické rostlině *Castilleja wightii* byly ovlivněny druhem parazitované rostliny a množstvím dusíku a obraných látek z ní přijímaných (Marvier 1996). Naopak poloparazitická rostlina může být ovlivněna spásáním, jak ukázali Salonen & Puustinen (1996) na příkladu *R. serotinus* a hostitele *Agrostis capillaris*. K redukci kvetení docházelo především, pokud se k defoliaci hostitele přistoupilo v období, kdy se u poloparazita začaly vyvíjet květy. Dále bylo pozorováno, že kokrhel *Rhinanthus serotinus* má redukovanou biomasu a počet květů, pokud parazituje na jeteli *Trifolium repens*, který je napaden parazitickou hlísticí *Heterodera trifolii* (Puustinen et al 2001). *Castilleja sulphurea* obsahující alkaloidy získané z *Delphinium occidentale* byla vysoce toxická pro herbivorní larvy motýlů *Euphydryas anicia* a *Trichoplusia ni*, a jiné alkaloidy získávané z *Liatris punctata* mohly mít vliv na časný instar larev motýla *Thassalia leanira* (Phoenix & Press 2005). Zvýšení úspěšného opylování parazitické rostliny bylo pozorováno díky napojení na hostitele produkujícího toxické látky. To to bylo pozorováno u poloparazitické rostliny *Castilleja indivisa*, která parazitovala lupinu bílou (*Lupinus albus*) obsahující v xylémové šťávě jedovaté alkaloidy, byla méně spásána ale úspěšněji opylována (Cameron & Phoenix 2013).

Dalších příkladů vzájemného ovlivnění poloparazitické rostliny a dalších organismů bychom v literatuře našli ještě spoustu. Stejně tak bychom narazili na další zajímavé ekologické aspekty poloparazitů. Není ovšem v možnostech rozsahu této práce všechny tyto poznatky do ní zahrnout.

2.4 Ekotypová variabilita zárazovitých

Určitá variabilita, částečně způsobená i výskytem sezónních ekotypů s odlišnou dobou kvetení, je u poloparazitických rostlin z čeledi zárazovitých (*Orobanchaceae*) známa u

rodů světlík (*Euphrasia* sp.), kokrhel (*Rhinanthus* sp.), černýš (*Melampyrum* sp.) a všivec (Wesselingh & Groenendael 2005). Existovat mohou populace s rozdílnými dobami kvetení a morfologickými charakteristikami. Tyto drobné morfologické rozdíly nazval poprvé Wettstein (1895) sezonním dimorfismem (Pleines et al. 2013). Podle konceptu sezonního dimorfismu pracoval např. Sterneck (1895), který rozčlenil rod kokrhel (*Rhinanthus* sp.) na brzy kvetoucí (aestivální) a pozdě kvetoucí (autumnální) vikarianty (Zopfi 1993a).

Později přišel ve své monografii o rodu černýš (*Melampyrum* sp.) Soó (1926-1927) s novým konceptem pseudosezonního polymorfismu, kde rozeznával hned několik typů podle habitu a doby kvetení a jejichž vznik dával do souvislosti s environmentálními faktory (Karlsson 1974). Poukazoval na to, že morfologické rozdíly nesouvisí jen s dobou kvetení, ale např. i s nadmořskou výškou (Pleines et al. 2013). Konkrétně odlišoval typ autumnální, aestivální, montánní, alpský, mokřadní a segetální (Karlsson 1974). S dalším konceptem přišel Schwarz (1935) a nazval ho sezonním polymorfizmem (Zopfi 1993a).

Pojem ekotyp použil poprvé v roce 1922 Turesson (Turrill 1946). Definoval ho takto: Ekotyp je ekologická jednotka, která popisuje produkt vznikající genotypovou odpovědí ekospecie na konkrétní prostředí. Ekotypy jsou tedy ekologické podjednotky ekospecií (Turesson 1922). Dnes Dictionary of Botany ekotypy definuje jako oddělené populace organismů uvnitř druhu, které jsou geneticky přizpůsobené na místní prostředí. Např. některé organismy mohou být schopny tolerovat odlišné teplotní nebo světelné podmínky než ostatní jedinci téhož druhu. To může vést ke změnám v jejich morfologii nebo fyziologii. Nicméně jsou schopny reprodukce s ostatními ekotypy stejného druhu a produkovat fertilní potomstvo. Tyto ekotypy mohou být natolik odlišné, že mohou být odlišovány poddruhovými jmény a v tomto případě se nazývají ekospecie (Dictionary of Botany 2001). Z české literatury vybírám definici podle Ekologického slovníku terminologického a výkladového, kde se uvádí, že ekotyp je tvarová (morfologická) nebo funkční (fyziologická) varianta druhu podmíněná prostředím (klimatem, půdou apod.), která je dědičná. Ekotypy zastupují příslušný druh na stanovištích s určitou vyhraněnou kombinací životních podmínek (Jakrlová & Pelikán 1999). Všechny výše uvedené definice mají společné především to, že ekotypovou variabilitu považují za geneticky podmíněnou, dědičnou.

Karlsson (1974) uvádí, že výrazná ekotypová variabilita je patrná u Evropských jednoletých poloparazitů temperátní zóny. Zmiňuje se o tom, že tato variabilita není patrná u víceletých druhů a také v sušších regionech, jako je v případě rodů *Bellardia*, *Parrentucellia* a *Odontites* v mediteránu. Absenci variability u víceletých druhů (např. rodu *Pedicularis*) vysvětluje schopností vegetativního rozmnožování nebo znovuvykvetení po pomnutí méně příznivého období (např. probíhající pastva) a také obvykle delší generační dobou, díky níž by ekotypy nemohly tak rychle vzniknout.

Existují dva názorové směry na vznik sezónní variability u poloparazitických zárazovitých (*Orobanchaceae*). Jedni autoři (např. Wettstein 1895 a Karlsson 1974) zastávají názor, že vznikla v nedávných dobách jako reakce na různé obhospodařování luk (Pleines et al. 2013). Wettsteinova teorie o vzniku sezónního dimorfismu považuje za rozhodující faktor selekce právě každoročně se pravidelně opakující kosení luk, které mělo působit tak, že eliminovalo ty jedince, kteří byli v době senoseče v plném květu, zatímco jedinci, kteří už vykvetli a fruktifikovali před započítím senoseče nebo naopak uzavřeli svůj životní cyklus po jejím skončení, se udrželi a dlouhodobým opakováním tohoto procesu své biologické vlastnosti stabilizovali (Smejkal & Dvořáková 2000).

Jiní (např. Soó 1929, Schwarz 1935, Krause 1944 a Bolliger 1989) zastávají názor, že variabilita vznikla daleko dříve, nejpozději během poslední doby ledové (Pleines et al. 2013). Smejkal & Dvořáková (2000) uvádí, že tato teorie umísťuje proces diferenciaci původně monomorfních druhů do pleistocénu, kdy se v podmínkách periglaciálního klimatu (při značně zkrácených vegetačních obdobích) separoval aestivální typ, zatímco jedinci autumnálního typu (blížíci se spíše ancestrálním monomorfním druhům) uhájili existenci až v oblastech ledovcům vzdálenějších. To by se údajně dalo podložit tím, že dnešní aestivální druhy rostou ve vyšších nadmořských výškách nebo severnějších zeměpisných šířkách a autumnální typy se vyskytují na otevřenějších, sušších a výslunnějších stanovištích. Sezónní dimorfismus se navíc nevyskytuje u vysokohorských druhů, jako jsou *Euphrasia minima* nebo *E. tatrae*.

Podle Zopfi (1993a) celou Wettsteinovu teorii sezónního dimorfismu v minulosti kritizoval především Krause (1944), protože delimitaci na dva sezónní typy považoval za příliš zjednodušenou, stejně jako kosení jakožto jediný selekční faktor. Dále poukazoval na příliš krátkou evoluční dobu trvající asi jen 400 let. Po publikování této práce byla Wettsteinova teorie nějaký čas odmítána (Zopfi 1993a). Karlsson však uvádí, že u

poloparazitických zárazovitých ze skupiny *Rhinantheae* je recentní vznik ekotypové variability během několika málo generací možný (Karlsson 1974).

Důsledkem variability je i to, že jen zřídka existuje shoda v počtu uznávaných taxonů a údaje v různých flórách se mohou lišit. Jednotlivé poddruhy a sezónní varianty byly dříve odlišovány pouze na základě odlišných morfologických charakteristik, dnes je ale možné používat i molekulární metody (Wesselingh & Groenendael 2005). Podle Karlsson (1974) na genetický základ ekotypové variability v minulosti poukazovali např. Rottgardt (1956) u rodu *Odontites*, Smith (1964) u černýše lučního (*Melampyrum pratense*), ter Borg (1972) u kokrhele většího (*Rhinanthus serotinus*) a (Karlsson 1974) u rodu *Euphrasia*, který uvádí, že alespoň část ekotypové variability by mohla být geneticky podmíněná. Genetická struktura ekotypů uvnitř čeledi zárazovitých (*Orobanchaceae*) ovšem není téměř vůbec prozkoumána. Jedinou takovou studii vytvořili v roce 2005 Kolseth & Lonn pro světlík tuhý (*Euphrasia stricta*) na ostrově Gotland (Pleines et al. 2013).

V minulosti se dosti měnil taxonomický přístup k ekotypové variabilitě poloparazitických rostlin. Někteří autoři ekotypové varianty na taxonomické úrovni vůbec nerozlišovali, příkladem mohou být práce Petera F. Yeo od 50. let 20. století na rodu světlík (Zopfi 1998) nebo Zopfi (1993a, 1993b, 1997), který popisoval variabilitu kokrhele luštince (*Rhinanthus alectorolophus*) a později světlíku lékařského (*Euphrasia rostkoviana*) ve Švýcarských Alpách. Vždy popsal několik typů, které dostaly názvy, které ale neodpovídaly žádné oficiální taxonomické kategorii. Ani Flora Europaea z roku 1972 ekotypové varianty na taxonomické úrovni neodlišovala (Zopfi 1993a). Většina autorů však variabilitu popisuje na taxonomické úrovni. Někteří variabilitu popisovali na úrovni variet, např. Mayer (1972) v případě rodu *Rhinanthus* v Jugoslávii (Karlsson 1974) nebo Kolseth & Lönn (2005) u světlíku tuhého na ostrově Gottland. Úroveň variet doporučuje i Štech (2000) u rodu *Melampyrum*, který dodává, že tato kategorie lépe vystihuje charakter proměnlivosti, vzniku a rozšíření tohoto rodu, než kategorie poddruhu. Méně časté bylo také rozlišení přímo do druhů. Jako samostatné druhy popisovala sezónní formy rodů *Euphrasia*, *Melampyrum* a *Rhinanthus* již dříve zmíněná takzvaná Wettsteinova škola (Karlsson 1974). Většina autorů ale ekotypy popisuje na úrovni poddruhů, ať už Schäftlein (1969), který popsal wettsteinův jarní ekotyp *Euphrasia montana* jako *E. rostkoviana* subsp. *montana* nebo Karlsson, který také popsal několik poddruhů světlíku (Zopfi 1997). Koutecký et al. (2012) se zmiňují o častém rozlišování zdravínku jarního na poddruhy

Odontites vernus subsp. *vernus* a *O. vernus* subsp. *serotinus* a dále o tom, že by měl být tento okruh druhů revidován.

2.5 Uhlíkový metabolismus poloparazitů a metody jeho výzkumu

Poloparazitické rostliny jsou schopny fixovat část uhlíku pomocí fotosyntézy, na rozdíl od plně parazitických rostlin, které jsou na svém hostiteli zcela závislé (Westwood 2013).

Existuje několik typů fotosyntézy, všechny poloparazitické rostliny však používají nejvíce rozšířený C3 typ (Heide-Jørgensen 2008). Zde je CO₂ fixován v Calvinově cyklu pomocí enzymu rubulóza-1,5-bisfosfát karboxylázy/oxidázy (Rubisco) na ribulózu-1,5-bisfosfát. Prvním stabilním produktem je 3-fosfoglycerát, a proto se rostliny s tímto typem fixace CO₂ označují jako C3 (Nátr 1998).

Ačkoli u poloparazitických rostlin bývá obvyklá vyšší míra transpirace, než u jejich hostitelů, účinnost fotosyntézy bývá nižší (Heide-Jørgensen 2008). Toto naznačuje, že i přes absenci napojení na floém hostitele, musí poloparazité přijímat část organického uhlíku, aby zajistili svůj růst a vývoj. Existence tohoto toku byla prokázána u mnoha kořenových poloparazitů pomocí značení radioaktivním ¹⁴CO₂ (Těšitel et al. 2010b).

Některé práce uvádí přítomnost rozpustných uhlovodíků v xylému poloparazitů. Může to být např. glukóza, fruktóza nebo mannitol. Tyto látky hrají roli v tvorbě gradientu vodních potenciálů mezi hostitelem a parazitem a tedy ve vodním provozu (Shen et al. 2006). Govier et al. (1967) zkoumali uhlíkový tok z ječmene do zdravínku jarního (*Odontites vernus*) a pomocí značení radioaktivním ¹⁴CO₂ zjistili, že 53 % organického uhlíku zdravínek přijímal ve formě cukrů, 35 % ve formě aminokyselin a amidů a 12 % ve formě organických kyselin. Na rozdíl od xylémové šťávy hostitele, xylémová šťáva parazita neobsahovala žádnou sacharózu (Govier et al. 1967).

Vzhledem k velké složitosti interakcí mezi hostitelem a parazitem je nemožné provést přímé kvantitativní určení podílu zdrojů uhlíku poloparazitické rostliny. Doposud nejvíce robustní metodou pro odhad podílu heterotrofního příjmu uhlíku prezentovali Tennakoon a Pate v roce 1996. Je založena na porovnání hodnot $\delta^{13}\text{C}$ poloparazita

připojeného na C₃ nebo C₄ hostitele s hodnotami u C₄ hostitele. Tuto metodu dále vylepšil Těšitel et al. (Těšitel et al. 2010a).

Nejprve se ovšem podívejme zblízka na izotopy uhlíku a jejich frakcionaci během různých typů fotosyntézy, abychom později pochopili princip izotopové analýzy.

2.5.1 Izotopová frakcionace a využití její znalosti

Historické pozadí: Jednotlivé izotopy jsou tvořeny stejnými prvky, které ale mají rozdílný počet neutronů ve svém jádře. Termín izotop poprvé prezentoval Frederick Soddy ve svém projevu k britské Královské společnosti v roce 1913. Za své výzkumy v oblasti původu a podstaty izotopů získal v roce 1921 Nobelovu cenu za chemii. Celkově se předpokládá existence asi 120 prvků s 3 100 izotopovými nebo nuklidovými formami. Většina jich však náleží mezi radionuklidy s krátkou dobou existence a je známo jen 283 stabilních izotopů různých prvků. Radionuklidy obsahují v jádře více neutronů než protonů. Neutrony slouží k udržování klidu v jádře tím, že brání blízkému kontaktu silně kladně nabitých protonů. Pokud je neutronů příliš, tak to ovšem vede k nestabilitě jádra. Stabilní izotopy obsahují stejný nebo jen nepatrně vyšší počet neutronů než protonů, pouze stabilní izotopy vodíku a helia mají počet neutronů nižší. V přírodě se obvykle ve vyšším množství vyskytují lehké izotopy, to platí pro vodík, uhlík, dusík, kyslík a síru. U některých prvků, jako je bór nebo lithium je však více rozšířen těžký izotop. U brómu, stříbra a europia je výskyt lehkého a těžkého izotopu v rovnováze. Některé prvky mohou mít více stabilních izotopů, jako cín, který jich má 10. Naopak fluor a fosfor mají jen jeden stabilní izotop. První přístroje pro detekci izotopů existovaly zhruba před 100 lety. To, že mnoho prvků má více izotopových forem, objevil Francis W. Aston svým hmotnostním spektrometrem sestaveným v roce 1919 (Fry 2006). První práce zabývající se izotopy prováděli především geochemici. Praktické využití stabilních izotopů v oborech jako je geologie, chemie, biochemie, biologie, ekologie a medicína, muselo počkat až do poslední čtvrtiny 20. století, kdy již byly běžně dostupné komerčně vyráběné hmotnostní spektrometry (O’Leary et al. 1992).

Počátky využití znalosti izotopů uhlíku v oblasti botaniky: V oblasti ekologie znalosti izotopů poskytují možnost přímého pozorování cyklů prvků (Fry 2006). Atmosférický oxid uhličitý obsahuje asi 1, 1 % stabilního těžkého izotopu uhlíku ¹³C a 98, 9 % izotopu ¹²C (O’Leary 1988). První systematické studie zabývající obsahem těžkého izotopu uhlíku ¹³C

u rostlin provedl Craig v 50. letech minulého století. Rozdílu v izotopovém složení C₃ a C₄ rostlin si ovšem všiml až Bender ve své práci z roku 1968, poté, co byl objeven nový typ metabolismu C₄ (O’Leary et al. 1992). Ale už několik dřívějších autorů si všimlo vyššího obsahu ¹³C u kukuřice a některých travin. Tomu však nevěnovali pozornost a tento jev přisuzovali zvýšenému obsahu uhličitanu vápenatého v půdě nebo specifickému mikroklimatu. Bender však provedl analýzu kukuřičných zrn z několika lokalit, včetně zrn z archeologických nalezišť, a také analýzu několika dalších druhů rostlin. Z analýz vyplynulo, že obohacení ¹³C se vyskytuje u tropických travin (kukuřice, čirok, proso, cukrová třtina), u kterých byl popsán nový způsob fixace oxidu uhličitého (Bender 1968). U těchto C₄ rostlin je první krok fixace CO₂ katalyzován enzymem fosfoenolpyruvát a díky tomu zde dochází k menší izotopové frakcionaci (Fry 2006)

Vyjádření obsahu izotopů: Obsah izotopů se nejčastěji vyjadřuje jako rozdíl vzhledem ke standardu a označuje se malým řeckým písmenem delta (δ). Tento rozdíl se vyjadřuje v jednotkách promile (‰). Při výpočtu postupujeme podle tohoto vzorce:

$$\delta^H X = [(R_{\text{vzorek}} / R_{\text{standard}} - 1)] * 1\ 000$$

kde pod písmenem *X* si můžeme představit konkrétní prvek (např. C), horní index *H* vyjadřuje těžký izotop a *R* je poměr obsahu těžkého a lehkého izotopu vyjádřeného v procentech.

Vyjádření δ v promilích umožňuje porovnávat i velmi malé rozdíly v izotopovém složení. Většina hodnot v tzv. přirozeném rozpětí se pohybuje mezi – 100 a + 50 ‰, tedy v rozpětí 15 ‰. Hodnoty jsou často negativní. To ovšem znamená pouze to, že vzorek obsahuje méně těžkého izotopu než standard. Ten má vždy hodnotu 0 ‰. Vzorkům s nižším obsahem těžkého izotopu se říká lehké nebo ochuzené, těm s vyšším obsahem těžkého izotopu se říká těžké nebo obohacené (Fry 2006). V izotopové analýze uhlíku se jako standard využívá CO₂ získaný z fosilií belemnitů ve vápenci Pee Dee formace v Jižní Karolíně v 50. letech 20. století. Uvádí se pod zkratkou PDB (Coplen et al. 1983; O’Leary 1988). Dnes se využívá také ekvivalentní standard VPDB (Vienna-PDB). Poměr ¹³C / ¹²C je u těchto standardů 0,011180 (Fry 2006).

Izotopová frakcionace uhlíku v rostlinách: Izotopová frakcionace je změna izotopového složení, ke kterému dochází díky fyzikálním, chemickým a biologickým procesům (O’Leary et al. 1992). Jak už bylo uvedeno výše, atmosférický oxid uhličitý (dále CO₂)

obsahuje asi 98,9 % izotopu ^{12}C a 1,1 % izotopu ^{13}C a díky malým chemickým a fyzikálním rozdílům rostliny během fotosyntézy upřednostňují izotop ^{12}C (O'Leary 1988). Proces frakcionace spolu s mísením izotopů patří k důležitým procesům v cyklu izotopů prvků. Frakcionaci značíme velkým písmenem delta (Δ) a lze ji vyjádřit takto:

$$\Delta = \delta_{\text{ZDROJ}} - \delta_{\text{PRODUKT}}$$

nebo

$$\delta_{\text{PRODUKT}} = \delta_{\text{ZDROJ}} - \Delta$$

Jde tedy o rozdíl v obsahu ^{13}C u zdroje a produktu. Tedy např. atmosférický CO_2 obsahuje – 8 ‰ ^{13}C a cukry vyprodukované C_3 rostlinami obsahují přibližně – 28 ‰ ^{13}C . Frakcionace Δ je zde tedy 20 ‰.

Frakcionace během fotosyntézy také způsobuje např. kolísání obsahu ^{13}C v atmosféře během vegetační sezóny. Jeho koncentrace v atmosférickém CO_2 roste během vegetační sezóny. To je způsobeno frakcionací během fotosyntézy, kdy jsou upřednostňovány molekuly CO_2 s ^{12}C .

Na atomární úrovni se rozlišuje frakcionace fyzikální a chemická. K fyzikální frakcionaci dochází například při difúzi, kdy jeden neutron navíc snižuje její rychlost. Tento izotopový efekt je nejvyšší ve vakuu, pomalejší ve vzduchu a zanedbatelný ve vodě. K chemické frakcionaci dochází během tvorby a štěpení chemických vazeb. Vazby tvořené těžkým izotopem obtížněji tvoří i štěpí. Toto vede k pomalejším reakcím těžkých izotopů. V kinetických reakcích, kde dochází ke štěpení chemických vazeb, musí být v případě těžkého izotopu dodáno více energie, protože tato chemická vazba sama o sobě obsahuje méně potenciální energie než je tomu v případě lehkého izotopu. Při tvorbě chemické vazby musí být těžkému izotopu dodáno více aktivační energie a to reakci opět zpomaluje. Během fotosyntézy se projevuje tzv. kinetický izotopový efekt. Je to rozdíl rychlostí kinetických reakcí v důsledku rozdílných vlastností izotopů (Fry 2006).

U rostlin dochází k frakcionaci během procesů zahrnutých do příjmu CO_2 , jako jsou difuze, rozpouštění, karboxylace. CO_2 z atmosféry musí být nejprve přijat přes stomata do vnitřních prostorů, poté se rozpustí v buněčné šťávě a difuzí se dostává do chloroplastů, kde probíhá karboxylace, během které dochází k největší frakcionaci. O'Leary (1988)

uvádí, že pokud je difuze průduchy rychlá a karboxylace je limitující pro příjem CO_2 u C3 rostlin, tak je odhadovaná frakcionace 28 ‰ a $\delta^{13}\text{C}$ u listů – 36 ‰. Pokud je limitující pomalá difuze skrze průduchy, tak je odhadovaná frakcionace 4 ‰ a $\delta^{13}\text{C}$ u listů – 12 ‰. Skutečné hodnoty se obvykle vyskytují mezi těmito dvěma extrémy a jako průměrná hodnota $\delta^{13}\text{C}$ se uvádí – 28 ‰ a to poukazuje to, že u C3 rostlin je pro příjem CO_2 limitující spíše karboxylace.

U C4 rostlin je situace odlišná. U rostlin s tímto typem metabolismu je limitujícím faktorem spíše difuze, než karboxylace. CO_2 , který vstupuje přes stomata je nejprve vychytáván fosfoenolpyruvát (PEP) v mezofylových buňkách. Produkt této karboxylace je přeměněn na malát nebo aspartát, které putují do buněk pochvy cévního svazku, kde je uvolňován CO_2 a vychytáván enzymem RUBISCO. Efekt frakcionace se však neprojevuje, protože je tento krok předcházen výše zmíněnou karboxylací enzymem PEP. Pokud by byla difuze stomaty rychlá a karboxylace limitující pro příjem CO_2 , tak by byla odhadovaná $\delta^{13}\text{C}$ u listů – 1 ‰. Pokud by byla limitující pomalá difuze skrze stomata, by hodnota $\delta^{13}\text{C}$ u listů byla – 12 ‰. Pozorované hodnoty $\delta^{13}\text{C}$ u C4 rostlin mají průměr přibližně – 14 ‰. To ukazuje na to, že limitující pro příjem CO_2 je difuze. Předpokládá se, že pozorované hodnoty jsou mimo předpokládané rozpětí hodnot díky tomu, že dochází k určitému niku CO_2 ven z buněk cévní pochvy (O'Leary 1988).

3 Speciální část

V této části práce se zaměřím na terénní experiment provedený na světlíku tuhém (*Euphrasia stricta*), který náleží do čeledi zárazovitých (*Orobanchaceae*). Tento experiment byl zaměřen na heterotrofní příjem uhlíku od hostitele. Cílem bylo pokusit se zjistit, jestli má heterotrofní zisk uhlíku nějaký přínos pro přežívání světlíku během vrcholu vegetační sezóny. Použité názvy rostlin byly sjednoceny podle Kubát et al. 2002.

3.1 Biologie a ekologie světlíků

Rod *Euphrasia*

Do rodu světlík patří jednoleté poloparazitické byliny se slabě vyvinutým kořenovým systémem. Známé je asi 150 – 180 druhů světlíků (liší se podle taxonomického pojetí) v mírném pásu celé severní polokoule a v mírném pásu Jižní Ameriky, Austrálie a Nového Zélandu. Několik druhů se vyskytuje také na Filipínách, Borneu, Celebesu a Nové Guineji. Rod světlík patří v naší a evropské flóře k taxonomicky velmi obtížným a komplikovaným. Příčinou je habituální podobnost většiny druhů a jejich velká individuální variabilita. Jedním z diagnosticky důležitých znaků je délka koruny. U světlíků také dochází k rozvoji procesů hybridizace a introgresivní hybridizace, důsledkem čehož je existence hybridních rojů. Také mají silný sklon k tvorbě lokálních endemických typů. Znám je více nebo méně vyhraněný sezónní dimorfismus (Smejkal & Dvořáková 2000). Rod *Euphrasia* se rozpadá do 14 sekcí, z nichž většina se ale vyskytuje na jižní polokouli. Protože rod *Euphrasia* má dvě centra diverzity a to na jižní a na severní polokouli, dříve se myslelo, že tento rod vznik v období křídly a rozdělení jeho distribuce souvisí s rozpadem Gondwany. Později bylo odhadováno stáří rodu na 27 mil. let a původ na severní polokouli (Wolfe et al. 2005). Gussarova et al. (2008) odhadli stáří rodu *Euphrasia* na 20 – 30 milionů let s následnou diverzifikací. Bipolárního rozšíření mohl rod dosáhnout před 5 – 7 miliony let, když se nezávisle na sobě rozšířil do Jižní Ameriky a do Austrálie. Podle posledního odhadu vznikl klád obsahující rody *Euphrasia*, *Tozzia*, *Parentucellia* a *Bartsia* před 16, 4 miliony let (Wolfe et al. 2005). Rody ze subkládu *Bartsia-Euphrasia-Odontites* mají afinitu k mediterránu. Původ převážně alpských druhů *Bartsia alpina* a *Euphrasia* ssp. může souviset s výzdvihem Alp a vznikem pro ně vhodného prostředí. U rhinanthoidního kládu

čeledi *Orobanchaceae* můžeme pozorovat trend vzniku jednoletých druhů z předků, kteří byli vytrvalí (Těšitel et al. 2010c). Na severní polokouli docházelo k šíření rodu *Euphrasia* v interglaciálech nebo postglaciálech a diverzifikace byla podporována pravděpodobně polyploidizací, tranzicí, samoopylením a parazitismem. Většina druhů je diploidních a mnoho tetraploidních druhů se vyskytuje v oblastech dřívějšího zalednění, jako jsou hory a boreální nebo arktické oblasti, kde je málo opylovačů a jsou charakteristické malou korunou (Gussarova et al. 2008).

Sezónní variabilita světlíků

První, kdo se zabýval sezónní variabilitou světlíků, byl již Wettstein v práci z roku 1896, který rozlišoval dva sezónní vikarianty světlíku lékařského – jarní ekotyp *Euphrasia montana* a podzimní ekotyp *E. rostkoviana*. Jasnou delimitaci těchto dvou vikariantů popřel Krause v roce 1944, ovšem Smejkal v roce 1963 uvádí, že rozlišování sezonních vikariantů je u některých druhů rodu světlík včetně světlíku lékařského (*Euphrasia rostkoviana*), možné. Schäftlein v roce 1969 uvádí, že tyto dva vikarianty není možné rozlišovat na úrovni druhů a jarní ekotyp popsal jako *E. rostkoviana* subsp. *montana*. Rodem světlík se také od 50. let 20. století zabýval Yeo, ovšem infraspecifické vztahy ve svých pracích opomíjel, pouze uvádí, že u některých druhů je existence ekotypů možná. Infraspecifickými vztahy se později zabýval Karlsson ve Švédsku a u každého druhu popsal minimálně dva poddruhy (Zopfi 1997). Světlíky se podrobně zabýval také Zopfi, jehož výzkum probíhal ve švýcarských Alpách na 42 populacích z lokalit s devíti odlišnými typy managementu. Ve své práci uvádí, že stejně jako v případě kokrhele luštince (*Rhinanthus alectorolophus*), kterým se zabýval dříve, tak i v případě světlíku lékařského (*Euphrasia rostkoviana*) a světlíku tuhého (*E. stricta*) platí, že počet internodií na stonku koreluje s dobou kvetení (Zopfi 1997). Pozdně kvetoucí typy mají tedy v průměru více internodií (Zopfi 1993a, 1993b). Později Zopfi kultivoval rostliny z 39 populací, aby byly zjištěny genetické základy ekotypů. Jako geneticky dobře ukotvené se ukázaly délka vegetativního stonku, počet a délka internodií a počet větviček, které jsou tedy vhodné pro delimitaci poddruhů. Naopak určitý stupeň plasticity vykazovaly znaky jako počet prodloužených internodií, průměrná délka internodií uvnitř květenství a délka prvního internodia v květenství. Největší byla plasticita u délky květenství, počtu internodií v květenství a v délce větviček. Zopfi v této práci upozorňuje, že k delimitaci ekotypů je vhodné používat pouze vegetativní část stonku pod květenstvím právě díky variabilitě v délce květenství (Zopfi 1998). Genetickou variabilitu a sezónní ekotypy

světlíku tuhého (*Euphrasia stricta*) studovali také švédští vědci na ostrově Gottland (Kolseth & Lönn 2005). V českých podmínkách se konkrétně pozdními ekotypy světlíků zabýval Jan Blahník, který prováděl managementový pokus v Krkonoších. Ten byl proveden v roce 2011 na šesti lokalitách a cílem bylo zjistit, jaký mají rozdílné typy managementu vliv na početnost světlíku lékařského (*Euphrasia rostkoviana* ssp. *rostkoviana*). Výsledky ukázaly, že termín seče populaci světlíků výrazně ovlivňuje s tím, že čím dříve byla plocha pokosena, tím se zde vyskytovalo více světlíků. V podmínkách Krkonoš doporučuje kosení kolem poloviny června a odstraňování posečené biomasy. Vhodným managementem by mohla být také pastva. Tam, kde dochází ke dvěma sečím, by mohla být první seč kombinována a následnou pastvou a druhá seč provedena až po dozrání semen. Jako účel pastvy autor uvádí rozrušení drnu. Zdá se, že světlíky v Krkonoších ubývají a to z důvodu eutrofizace a vysoké produktivity porostů a také díky upouštění od hospodaření na málo produktivních loukách (Blahník 2013).

Světlíky aestiválního typu mají lodyhu jednoduchou, řidčeji v horní polovině chudě větvenou, s malým počtem dlouhých lodyžních článků. Dolní lodyžní listy a často i dělohy přetrvávají ještě za květu. Zuby horních lodyžních listů a listenů jsou tupěji špičaté, neosinkaté nebo krátce osinkaté. Lodyha autumnálního typu je obvykle bohatě větvená už od báze nebo alespoň v dolní polovině, lodyžní i větevní články jsou krátké, četné. Dolní lodyžní listy jsou za květu opadané a také dělohy přetrvávají jen výjimečně. Zuby horních lodyžních listů a listenů jsou špičaté, někdy zřetelně až nápadně osinkaté. Mezi naše autumnální druhy patří světlík větvený (*E. nemorosa*), světlík krátký (*E. curta*), světlík tuhý (*E. stricta*), světlík tatarský (*E. tatarica*) a světlík lékařský pravý (*E. rostkoviana* subsp. *rostkoviana*). Aestivální druhy rostou ve vyšších nadmořských výškách nebo severnějších zeměpisných šířkách a autumnální typy se vyskytují na otevřenějších, sušších a výslunnějších stanovištích. Sezónní dimorfismus se nevyskytuje u vysokohorských druhů, jako jsou *Euphrasia minima* nebo *E. tatrae* (Smejkal & Dvořáková 2000).

Světlík tuhý (*Euphrasia stricta*)

Světlík tuhý (viz obr. 2 v příloze) nemá na rozdíl od druhů z okruhu *Euphrasia rostkoviana* a *E. slovacca* stopkaté žláznaté chlupy na listech a listenech. V některých případech na horách je ovšem nemá ani *E. rostkoviana* a tato forma je někdy popisována jako *E. picta*. Pro světlík tuhý a další světlíky ovšem platí, že korunní trubka je při odkvětu

neprodloužená a nepřechňívá kalich. Na rozdíl od dalších světlíků má *E. stricta* dlouze osinkaté zuby listenů a osinky bývají tmavé, většinou červenohnědé. Oproti podobnému světlíku tatarskému (*E. tatarica*) má listeny a listy lysé nebo jen na okraji (vzácně žilnatině) řídce a krátce štětinkatě chlupaté. Lodyha světlíku tuhého také bývá obvykle více větvená a obvykle celá červenavě naběhlá. *E. tatarica* je dlouze a obvykle hustěji chlupatý, má méně větvenou lodyhu a jen zřídka červenavě naběhlou, většinou však tmavozelenou. *E. stricta* má bledě fialovou, lilákovou až bělavou, řidčeji modravou až téměř fialovou korunu, které je na rozdíl od *E. tatarica* téměř vždy lysá. Dolní pysk je světlejší s úzkými fialovými proužky a žlutou skvrnou v ústí. *E. tatarica* patří mezi silně ohrožené druhy naší květeny a vyskytuje se pouze v Českém středohoří, dolním Povltaví, Doupovském podhůří, na Pavlovských vrších a pahorkatinách jihovýchodně od Brna. *E. stricta* je poměrně běžný ale i tak je dnes spíše roztroušeně rozšířen a je méně hojný než dříve (Dvořáková 2002). *E. stricta* kvete v červenci až září (říjnu). V oblastech se společným výskytem se světlíkem tatarským jsou známy jedinci světlíku tuhého modifikované transgresí odění světlíku tatarského. *E. stricta* se vyskytuje na suchých loukách, pastvinách, vřesovištích, mezích a travnatých okrajích cest, travnatých lesních světlinách a lesních lemech, křovinatých stráních. Oproti světlíku lékařskému (*E. rostkoviana*) preferuje sušší a výslunnější stanoviště. Je to evropský druh, na severu se vyskytuje do středu Skandinávie a středu Finska, na západě v celé atlantské Evropě (mimo Britské ostrovy). Na jihu zasahuje do severního Španělska, jižní Francie, severní a západní Itálie a střední části Balkánského poloostrova. Odtud je rozšířen dále na východ přes Rumunsko do povodí horního Dněpru a horní Volhy (Smejkal & Dvořáková 2000). Zavlečen byl i do Severní Ameriky (Mrázek 2008). U nás se vyskytuje roztroušeně na celém území od nížin a zejména pahorkatin až do podhorského stupně (v 50. a 60. letech 20. století ještě dosti hojně), v horském a vyšším horském stupni vzácně, v subalpinském stupni a v karech jen ojediněle (Hrubý Jeseník, svah Pradědu, cca 1 350 m n. m.; Krkonoše, Studniční hora, cca 1 250 m n. m.) (Smejkal & Dvořáková 2000).

3.2 Lokalita

Území PR Nad řekami, kde se nachází lokalita, leží v katastru obce Hrubšice nedaleko Ivančic na Brněnsku. Území má statut přírodní rezervace a bylo vyhlášeno v roce 1979.

Výměra rezervace je 6, 62 ha + 3, 5 ha ochranného pásma. Nachází se na severně a severozápadně orientovaných svazích nad pravým břehem řeky Jihlavy. Jedná se o bývalé pastviny na hadcovém podkladu s významnou stepní vegetací, přecházející do náletových borových porostů. Od roku 2003 bylo přistoupeno k údržbě travinobylinných porostů řízeným vypásáním stádem ovcí (Mackovčín et al. 2007). Během svých návštěv lokality jsem se se stádem několikrát setkal dole u řeky a dá se tedy usuzovat, že je lokalita stále spásaná (pozn. autor).

3.3 Metodika

3.3.1 Terénní pokus

Byl založen terénní pokus na lokalitě PR Nad řekami v katastru obce Hrubšice u Ivančic na Brněnsku. Cílem bylo se zjistit, jestli má heterotrofní zisk uhlíku nějaký přínos pro přežívání světlíku během vrcholu vegetační sezóny. Ke zjištění výsledku byla využita metoda analýzy stabilních izotopů uhlíku.

Hlavní hypotéza zní, že uhlík získaný z hostitele by měl být klíčovým zdrojem umožňujícím pozdním ekotypům poloparazitických rostlin přežít vrchol vegetační sezóny pod vegetačním krytem. Dosavadní studie se obvykle zabývaly pouze časnými ekotypy.

Ve střední Evropě jde také o první experiment zabývající se tokem uhlíku z hostitele do poloparazitické rostliny provedený v polním experimentu.

Experiment v Hrubšicích byl součástí projektu Katedry botaniky PřF JU, v rámci kterého zároveň probíhaly podobné experimenty také u zdravínku jarního (*Odontites vernus*) v pohoří Cserhát v Maďarsku a u zahořanky žluté (*Orphantha lutea*) v okolí Banské Bystrice na Slovensku.

3.3.2 Design pokusu

Hlavním záměrem experimentu bylo sledovat podíl heterotrofního uhlíku v biomase poloparazita během vegetační sezóny.

Experimentální plocha byla založena již na podzim předešlého roku, kdy proběhl také výsev poloparazitů. Výběr lokality a založení pokusu provedl Jakub Těšitel z Katedry botaniky PřF JU v Českých Budějovicích.

Bylo vybráno 7 plošek (viz obr. 1, 3 a 6 v příloze) v porostu vousatky prstnaté (*Bothriochloa ischaemum*), která je trávou s C4 metabolismem a je tedy vhodným hostitelem pro tento typ experimentu, kdy potřebujeme zjistit podíl heterotrofního příjmu uhlíku na biomase poloparazitické rostliny. Pokusné plošky byly zakládány na místech s homogenními plochami porostu této trávy o minimální ploše asi 25 cm × 25 cm. Plošky neobsahovaly jiné druhy C4 trav.

Na podzim byly odstraněním nadzemní biomasy vytvořeny kruhové plošky o průměru asi 15 – 20 cm. Aby byly dohledatelné v příštím roce, kdy probíhal sběr vzorků, tak byly označeny bambusovými tyčemi v kombinaci s pivními víčky přitlučenými hřebíkem do země, aby bylo možné v případě nutnosti plošky najít i za pomoci detektoru kovů.

Do plošek byla nakonec vyseta semena světlíku tuhého, která pocházela z této lokality, kde se tento druh přirozeně vyskytuje. Na jednu plošku bylo vyseto asi 100 semen, protože ne všechny rostliny musí úspěšně vyklíčit. Takto bylo zajištěno, že bude v příštím roce na ploškách dostatek rostlin pro provedení experimentu.

3.3.3 Sběr materiálu

Na jaře bylo nejprve potřeba sledovat vývoj semenáčků a rozhodnout se, kdy začít se sběrem materiálu. Ke klíčení obvykle dochází hned po ústupu sněhové pokrývky, ovšem v prvním měsíci jsou rostliny ještě příliš malé. Semenáčky mohou být viditelné a připojené k hostiteli někdy v průběhu měsíce dubna. Se sběrem je vhodné začít, když mají rostliny první jeden až dva páry listů. U nás tomu byla na konci dubna.

Na konci dubna 2013 jsem tedy provedl první sběr materiálu a dále jsem postupoval stejně v měsíčních intervalech a poslední sběr jsem provedl na konci srpna téhož roku. Celkem bylo tedy provedeno 5 sběrů.

Sběr materiálu probíhal tak, že byly vždy z každé ze sedmi ploch sebrány tři reprezentativní vzorky poloparazitického světlíku (viz obr. 5 v příloze) Nevybíral jsem si tedy nikdy tři rostliny vedle sebe a také se snažil, aby mezi nimi bylo nějaké rozpětí ve velikosti. Reálně ovšem nebylo možné tento způsob přesně dodržet, protože na některých plochách bylo rostlinek méně a na některých došlo k odumření poloparazitů během suchého a teplého léta. Důležité však bylo především pokrýt nepřerušenu řadou vzorků začátek sezóny. Dále byl z každé plochy odebrán jeden vzorek vousatky prstnaté a také jeden kontrolní vzorek, kterým byla travina s C3 metabolismem rostoucí v blízkosti plošky. Obvykle šlo o nějaký druh kostřavy (*Festuca* sp.). U kontrolního vzorku bylo vždy potřeba dodržovat sběr stejného druhu traviny jako na začátku. Kromě toho byly jako kontrola vždy sebrány i tři světlíky a C3 travina rostoucí v jejich blízkosti někde mimo pokusné plochy (viz obr. 4 v příloze) Tento sběr jsem prováděl na protější straně cesty, která procházela lokalitou.

Ve všech případech byla sbírána pouze nadzemní biomasa ustřižením rostliny těsně u povrchu země. Poloparazity bylo nutné sbírat celé, aby mohla být zvážena jejich nadzemní biomasa. U vzorků travin (hostitel a kontrolní vzorek) stačilo sebrat jen několik lisů pro potřeby izotopové analýzy, pro kterou se používá asi 1 – 5 mg sušiny. Během sezóny bylo nutné pravidelně odstraňovat nežádoucí rostliny z pokusných plošek, tak aby zde rostl jen poloparazit a dalo se předpokládat, že je připojený na vousatku.

Rostliny byly jednotlivě ukládány do označených papírových sáčků. Na každém sáčku byl uveden kód, který uváděl číslo plošky a číslo vzorku, dále byl také uveden druh rostliny a datum sběru. Takto označené vzorky byly převezeny k dalšímu zpracování.

3.3.4 Zpracování materiálu a získání dat

Sebrané vzorky bylo vždy nutné co nejdříve vysušit, aby nedocházelo k jejich zapaření nebo zahnívání. Sáčky s rostlinami jsem tedy ihned po příjezdu domů rozložil na topení. Vždy následující den jsem vzorky převezl do herbaria Katedry botaniky PřF UP

v Olomouci. Zde probíhalo sušení vzorků. To probíhalo v sušičce při teplotě 80 °C po dobu 48 hodin. Po uplynutí této doby jsem si vzorky odvezl a skladoval doma na suchém místě.

Další zpracování vzorků jsem provedl až ve dnech 21. – 24. 10. 2013 na PřF JU v Českých Budějovicích.

Protože vzorky ležely dlouhou dobu doma a mohly nasávat vzdušnou vlhkost, bylo nutné je před dalším zpracováním alespoň krátce ještě jednou vysušit. Vzorky jsem proto dal už 20. 10. 2013 večer do sušárny na Katedře botaniky PřF JU. Zde jsem nechal vzorky vysoušet přes noc asi 12 hodin. Poté jsem vzorky vložil do tašky spolu s několika sáčky silikagelu, aby opět zbytečně nenasávaly vzdušnou vlhkost. Zpracování totiž probíhalo několik dní, kdy bylo potřeba nejprve zvážit sušinu světlíků, potom materiál pomlet a následně navážit přesné množství a připravit vzorky k odeslání na izotopovou analýzu. Během tohoto procesu bylo nutné absolvovat několik přechodů mezi katedrou botaniky a areálem Biologického centra AV ČR, v. v. i., kde probíhalo zpracování materiálu.

Nejprve jsem pro potřeby další analýzy zvážil všechny světlíky na vahách s přesností 0,001 mg. Potom jsem vzorky zpracoval podle požadavků UC Davis Stable Isotope Facility, kam byly vzorky zaslány na izotopovou analýzu.

Zpracování spočívalo v namletí materiálu v laboratorním mlýnku, kdy byla rostlina vždy nalámána do mikrozkuřavky (pokud byla příliš velká, tak jen část), potom byla přidána kovová kulička a takto připravené vzorky byly po několika vloženy do přístroje a mlety několik minut na jemný prášek. Vzorky byly opět označeny stejným číslem, které bylo uvedeno na sáčkách. Poté jsem vždy přibližně 1 – 5 mg vzorku v souladu s doporučením laboratoře v Davisu, která provedla izotopovou analýzu. Podle jejich doporučení by měl každý vzorek pevného materiálu na izotopovou analýzu ^{13}C vážit ideálně 2 – 3 mg. Limit detekovatelnosti uhlíku v přírodním materiálu je 100 µg. Laboratoř by měla být schopna ještě i vzorek vážící 0,5 mg, ale to záleží na procentu obsahu uhlíku v něm. Váha také nesmí být překročena, protože potom je měření přístroje nepřesné. Navážené vzorky byly vloženy do cínových kapsulí ze kterých jsem udělal malé kuličky, které jsem vkládal do mikrotitrační destičky s 96 jamkami. Celkem jsem použil dvě destičky, do kterých jsem vložil celkově 151 vzorků. Cín, ze kterého jsou vyrobeny kapsule, slouží také jako katalyzátor spalování během analýzy. Potom jsem destičky uzavřel a zabezpečil a takto připravené vzorky (viz obr. 7 v příloze) byly spolu

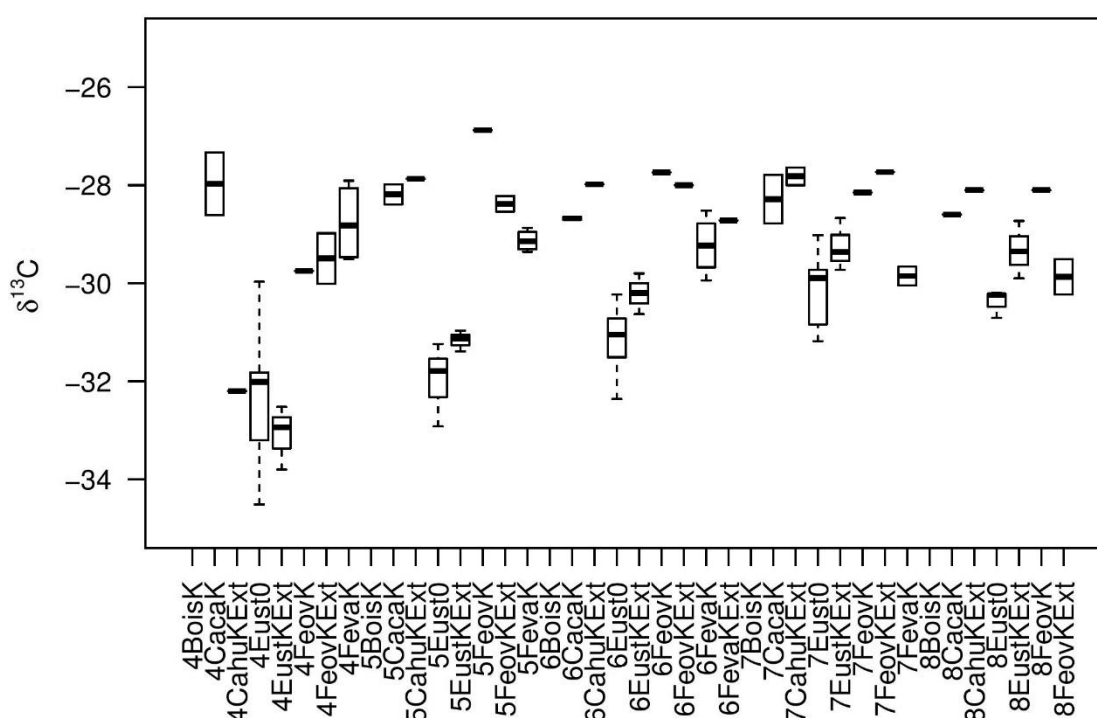
s objednávkou analýzy a seznamem vzorků zaslány na analýzu do Davisu. Zde jejich zpracování trvalo asi dva měsíce.

V následujícím odstavci se budu snažit stručně vysvětlit princip zpracování vzorků pomocí izotopového hmotnostního spektrometru. Fry (2006) uvádí, že připravený (tedy namletý) vzorek je nutné nejprve spálit a převést na jednoduchý plyn, který bude analyzován. K tomu může být použit elementární analyzátor, plynový chromatograf nebo laser.

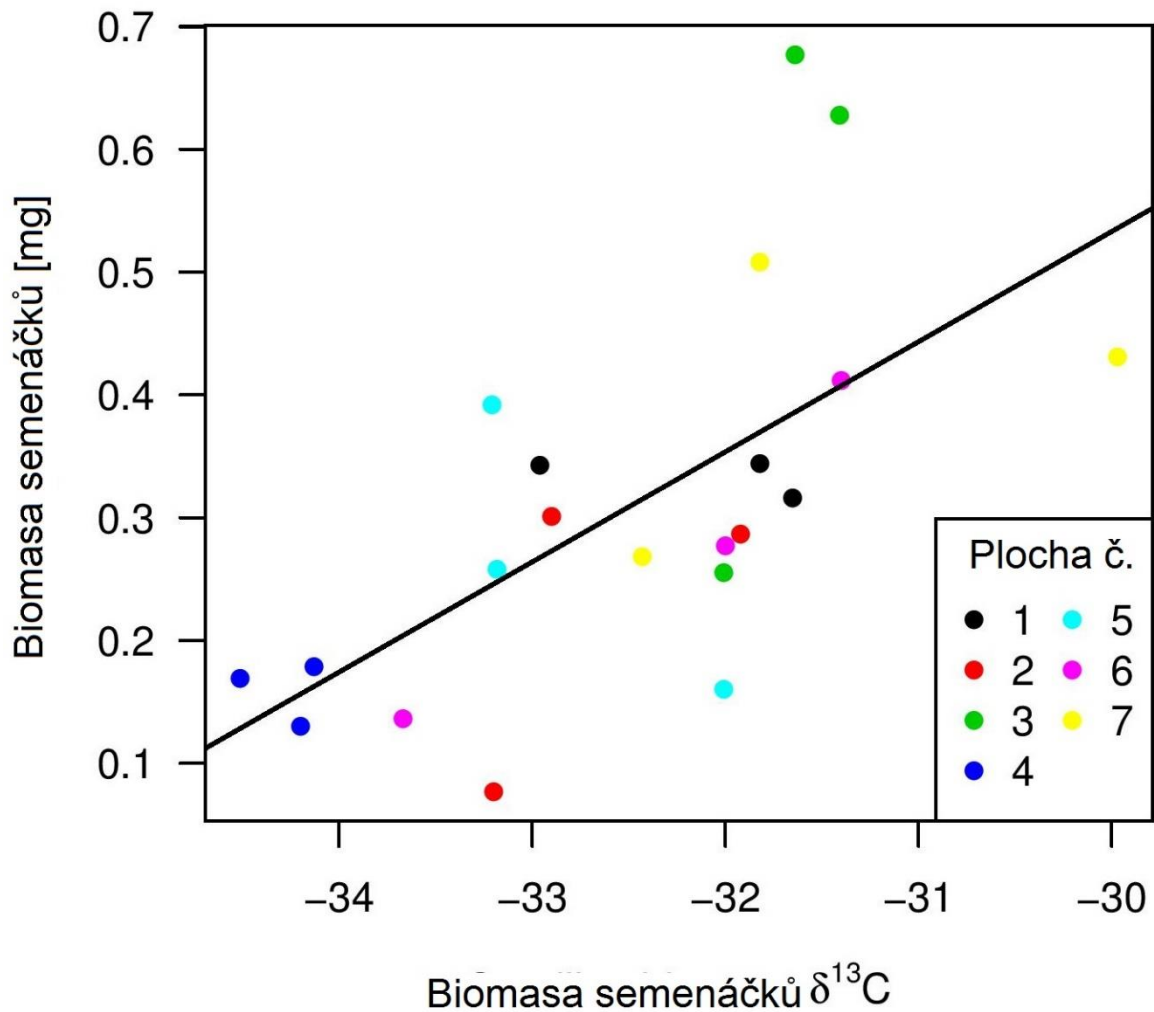
Analýza probíhá pomocí elementárního analyzátoru PDZ Europa ANCA-GSL, který je propojen s izotopovým hmotnostním spektrometrem PDZ Europa 20-20 (Sercon Ltd., Cheshire, UK). Vzorky jsou spalovány při 1 000 °C v tzv. reaktoru, kde je obsažen oxid chromitý a oxid měďný se stříbrem. Oxidy jsou odstraňovány v redukčním reaktoru (redukovaná měď za 650 °C). Heliový nosič potom proudí odlučovačem vody (chloristan hořečnatý). Během analýzy bývají vzorky proloženy několika opakováními alespoň dvou laboratorních standardů, které bývají svým složením podobné analyzovaným vzorkům a jsou již dříve kalibrovány podle standardních referenčních materiálů National Institute of Standards and Technology. Předběžný poměr izotopů ve vzorku je měřen ve vztahu k referenčním plynům analyzovaných s každým vzorkem. Tyto předběžné hodnoty jsou potom upraveny korekcí za pomoci laboratorních standardů. Konečná data jsou vyjádřena relativně k mezinárodním standardům. V případě izotopu ^{13}C je to Vienna PeeDee Belemnite (V-PDB) (Stable Isotope Facility, 2014).

3.4 Výsledky

Porovnání obsahu těžkého izotopu uhlíku $\delta^{13}\text{C}$ (Graf 1) v prvním měsíci měření (duben) ukazuje výskyt méně negativních hodnot ve vzorcích *E. stricta* z pokusných plošek (4Eust0) oproti kontrolním vzorkům (4EustKext). Toto naznačuje závislost *E. stricta* na heterotrofním příjmu uhlíku v raných stádiích růstu semenáčků. V ostatních měsících už není tato závislost prokazatelná. Nepotvrdila se tedy hypotéza, že by byl heterotrofní příjem uhlíku stěžejní pro přežití světlíku ve vrcholu vegetační sezóny.



Graf 1: Porovnání obsahu těžkého izotopu uhlíku ($\delta^{13}\text{C}$) ve vzorcích z lokality. V popisku vodorovné osy značí první číslice měsíc sběru, následuje zkratka druhu rostliny (Eust = *Euphrasia stricta*, Bois = *Bothriochloa ischaemum*, Caca = *Carex caryophylla*, Cahu = *Carex humilis*, Feov = *Festuca ovina*, Feva = *Festuca valesiaca*), písmeno K na konci označuje, že jde o kontrolní vzorky, zkratka Ext značí externí kontrolu (rostliny sebrané mimo pokusné plochy), číslice 0 za světlíky označuje, že jde o soubor vzorků ze všech pokusných ploch 1 - 7. Krabicové diagramy znázorňují medián hodnot, mezikvartilové rozpětí a rozsah hodnot. Z grafu bylo z praktických důvodů vypuštěno znázornění hodnot u druhu *Bothriochloa ischaemum*, protože se rozsah hodnot vyskytuje v jiné oblasti než u rostlin z C3 metabolismem.



Graf 2: Graf závislosti izotopového složení a množství biomasy semenáčků (mg) v prvním měsíci pokusu.

Další analýza dubnového měření na všech pokusných plochách (Graf 2) ukazuje, že větší semenáčky mají méně zápornou hodnotu $\delta^{13}\text{C}$. To indikuje, že velké semenáčky v době těsně po klíčení získávaly ze svého C4 hostitele (*Bothriochloa ischaemum*) více organického uhlíku než ty malé a to se projevilo v izotopovém složení jejich biomasy. To také dokazuje, že příjem uhlíku od hostitele hraje určitou roli v období těsně po klíčení. Tato role se projevuje rychlejším nárůstem biomasy připojených světlíků.

4 Diskuse

Dosavadní studie zaměřené na význam heterotrofního příjmu uhlíku od hostitele (např. Těšitel 2013) se zabývaly především časnými ekotypy poloparazitických rostlin. Pozdní ekotypy se vyskytují na otevřenějších, sušších a výslunnějších stanovištích a typicky pozdním druhem je i například světlík tuhý (Skála & Štech 2000).

Ačkoli v tradičním pojetí je u poloparazitů zdůrazňován především příjem anorganických látek, především dusíku (Těšitel et al. 2010b), příjem organického uhlíku prokázal už např. (Govier et al. 1967) pomocí značení radioaktivním $^{14}\text{CO}_2$. Jak uvádí Press et al. (1991), o odhad závislosti na hostitelském uhlíku pomocí $\delta^{13}\text{C}$ se pokusili už Press et al. v roce 1987 u druhu *Striga hermontica* a zjistili silou závislost na hostiteli především před objevením se prvních nadzemních částí rostliny, která se postupně během růstu snižovala. Stejně tak i výsledky mého pokusu potvrdily nejsilnější závislost na hostiteli v raném vegetačním stádiu, i když světlík je fakultativním poloparazitem, který může začít klíčit bez hostitele.

Podle Press et al. (1991) se o přesné stanovení podílu heterotrofně získaného uhlíku se pokusili už Farquhar, O'Leary & Berry (1982) a dále třeba Graves, Press & Stewart (1989) a Graves et al. (1990), opět u tohoto hospodářsky významného plevelného druhu. Později se Těšitel et al. (2010a) pokusil o stanovení podílu heterotrofního uhlíku u druhů *Rhinanthus minor* and *Euphrasia rostkoviana* v klimaboxovém pokusu. K výpočtu byl použit lineární dvouzdrojový isotope-mixing model podle Marshall and Ehleringer (1990), kde výsledek získáme vydělením rozdílu hodnot $\delta^{13}\text{C}$ parazitů připojených na C4 a C3 hostitele rozdílem hodnot $\delta^{13}\text{C}$ C4 a C3 hostitelů a vynásobením výsledku stem pro převod na procenta. Mnou získaná data by bylo možné k takovému výpočtu rovněž použít, pokud bychom porovnávali data z pokusných ploch s daty získanými z kontrolních vzorků mimo tyto plochy, kde byly světlíky napojeny na C3 hostitele. Cílem této práce bylo ale zjistit, jestli má heterotrofní zisk uhlíku nějaký přínos pro přežívání světlíku během vrcholu vegetační sezóny. K tomuto výsledku bylo možné dojít pouze porovnáním hodnot $\delta^{13}\text{C}$ světlíků z plochy s C4 hostitelem s kontrolními vzorky. Navíc, doposud provedené pokusy, kde bylo cílem odhadnout přesný podíl heterotrofního uhlíku, jsou standardně prováděny jako klimaboxové/skleníkové pokusy jaký provedli např. Těšitel et al. (2010a).

Na začátku jsem vycházel z hypotézy, že příjem uhlíku z hostitele by měl být klíčovým faktorem, který umožňuje pozdním ekotypům přežít vrchol vegetační sezóny v travním porostu. Tato hypotéza vychází ze zjištění, že růst poloparazitických rostlin je i přes příjem uhlíku od hostitele limitován kompeticí o světlo s hostitelem a okolním porostem, jak uvádí např. Těšitel et al. (2010b) a je to v souladu s dřívějšími zjištěními (např. Keith et al. 2004; Hellström et al 2004; Niemelä et al. 2008), viz str. 11 – 12. Tato hypotéza však nebyla v této práci potvrzena.

5 Závěr

Ve své práci jsem se zaměřil na pochopení ekologie poloparazitických rostlin a to jak na jejich vztah k hostiteli, tak i jiným organismům, neživému prostředí a k sobě vzájemně. Neopominul jsem ani vztahy na úrovni celého společenstva a schopnosti poloparazitických rostlin měnit strukturu a druhové složení společenstva. Poznání v této oblasti nachází v posledních letech i praktické uplatnění v ekologii obnovy. Ve své práci jsem se zaměřil především na rostliny z čeledi *Orobanchaceae*, která je pro výzkum stěžejní, především kvůli velkému množství druhů, kosmopolitnímu rozšíření a velké variabilitě ve způsobech parazitování. Díky tomu se na rostliny z této čeledi soustředí velké množství autorů.

Dále jsem se zaměřil na možnosti využití izotopové analýzy při stanovování vlivu příjmu uhlíkatých látek od hostitele na poloparazitickou rostlinu.

Součástí práce byl i praktický pokus se světlíkem tuhým (*Euphrasia stricta*), který ukázal to, že příjem živin od hostitele má určitý vliv na růst světlíku ve stádiu semenáčku. Vliv v pozdějších vegetačních stádiích nebyl prokazatelný a původní hypotéza, ze které jsem vycházel, se nepotvrdila.

6 Seznam použité literatury a zdrojů

- Angiosperm Phylogeny Group 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* **141**: 399-436.
- Blahník, J. 2013. Vliv termínu seče na početnost populací světlíku *Euphrasia rostkoviana* ssp. *rostkoviana* v Krkonoších. *Opera Corcontica*, **50**: 81-88.
- Bardgett, R. D., R. S. Smith, R. S. Shiel, S. Peacock, J. M. Simkin, H. Quirk, and P. J. Hobbs. 2006. Parasitic plants indirectly regulate below-ground properties in grassland ecosystems. *Nature* **439**:969-972.
- Barkman, T. J., J. R. McNeal, S. H. Lim, G. Coat, H. B. Croom, N. D. Young, and C. W. dePamphilis. 2007. Mitochondrial DNA suggests at least 11 origins of parasitism in angiosperms and reveals genomic chimerism in parasitic plants. *Bmc Evolutionary Biology* **7**.
- Bender, M. M. 1968. Mass spectrometric studies of carbon 13 variations in corn and other grasses. *Radiocarbon* **10**:468-&.
- Bolliger, M. 1989. *Odontites-lanceolata* gaudin reichenbach a polymorphic endemic of the western alps. *Botanische Jahrbuecher fuer Systematik Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie* **111**:1-28.
- Borowicz, V. A., and J. E. Armstrong. 2012. Resource limitation and the role of a hemiparasite on a restored prairie. *Oecologia* **169**:783-792.
- Cameron, D. D. and G. K. Phoenix 2013, Ecology of Hemiparasitic Orobanchaceae with Special Reference to Their Interaction with Plant Communities. - In: Joel D. M., J. Gressel and L. J. Musselman (eds.), *Parasitic Orobanchaceae: Parasitic Mechanisms and Control Strategies*, pp. 287 – 305, Springer, New York, ISBN 978-3-642-38145-4
- Coplen, T. B., C. Kendall, and J. Hople. 1983. Comparison of stable isotope reference samples. *Nature* **302**:236-238.
- Davies, D. M., and J. D. Graves. 2000. The impact of phosphorus on interactions of the hemiparasitic angiosperm *Rhinanthus minor* and its host *Lolium perenne*. *Oecologia* **124**:100-106.
- Demey, A., E. Ameloot, J. Staelens, A. De Schrijver, G. Verstraeten, P. Boeckx, M. Hermy, and K. Verheyen. 2013. Effects of two contrasting hemiparasitic plant species on biomass production and nitrogen availability. *Oecologia* **173**:293-303.
- Dictionary of Botany. [online]. 2001 [cit. 2015-02-02]. Available at: <http://botanydictionary.org/ecotype.html>

- Dvořáková, M. 2002. *Euphrasia* L. – světlík. – In: Kubát, K. (ed.), Klíč ke květeně České republiky, pp. 560 - 562 Academia, Praha. ISBN 80-200-0836-5.
- Fry, B. 2006. Stable isotope ecology. Springer, New York, NY, ISBN 9780387305134
- Gressel, J. and D. M. Joel 2013. Weedy Orobanchaceae: The Problem. - In: Joel D. M., J. Gressel & L. J. Musselman (eds.), Parasitic Orobanchaceae: Parasitic Mechanisms and Control Strategies, pp. 309 – 312, Springer, New York, ISBN 978-3-642-38145-4
- Gibson, C. C., and A. R. Watkinson. 1991. Host selectivity and the mediation of competition by the root hemiparasite *rhinanthus-minor*. *Oecologia* **86**:81-87.
- Govier, R. N., M. D. Nelson, and J. S. Pate. 1967. Hemiparasitic nutrition in angiosperms .i. Transfer of organic compounds from host to *odontites verna* (bell) dum (scrophulariaceae). *New Phytologist* **66**:285-&.
- Gussarova, G., M. Popp, E. Vitek, and C. Brochmann. 2008. Molecular phylogeny and biogeography of the bipolar *Euphrasia* (Orobanchaceae): Recent radiations in an old genus. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **48**:444-460.
- Heide-Jørgensen, H. S. 2008. Parasitic flowering plants. Brill, Leiden, ISBN 978-90-04-16750-6
- Heide-Jørgensen, H. S. 2013. Introduction: The Parasitic Syndrome in Higher Plants. - In: Joel D. M., Gressel J. and Musselman L. J. (eds.), Parasitic Orobanchaceae: Parasitic Mechanisms and Control Strategies, pp. 1 – 18, Springer, New York, ISBN 978-3- 642-38145-4
- Hejcman, M., J. Schellberg, and V. Pavlů. 2011. Competitive ability of *Rhinanthus minor* L. in relation to productivity in the Rengen Grassland Experiment. *Plant Soil and Environment* **57**:45-51.
- Hellstrom, K., P. Rautio, A. P. Huhta, and J. Tuomi. 2004. Tolerance of an annual hemiparasite, *Euphrasia stricta* agg., to simulated grazing in relation to the host environment. *Flora* **199**:247-255.
- Hibberd, J. M., and W. D. Jeschke. 2001. Solute flux into parasitic plants. *Journal of Experimental Botany* **52**:2043-2049.
- Irving, L. J., and D. D. Cameron. 2009. You are What You Eat: Interactions Between Root Parasitic Plants and Their Hosts. *Advances in Botanical Research*, Vol 50 **50**:87-138.
- Jarklová, J. and Pelikán J. 1999. *Ekologický slovník terminologický a výkladový*. 1. vyd. Praha: Fortuna, ISBN 80-7168-644-1.
- Jiang, F., W. D. Jeschke, and W. Hartung. 2003. Water flows in the parasitic association *Rhinanthus minor* *Hordeum vulgare*. *Journal of Experimental Botany* **54**:1985-1993.

- Jiang, F., W. D. Jeschke, and W. Hartung. 2004. Abscisic acid (ABA) flows from *Hordeum vulgare* to the hemiparasite *Rhinanthus minor* and the influence of infection on host and parasite abscisic acid relations. *Journal of Experimental Botany* **55**:2323-2329.
- Joel, D. M. 2013. Functional Structure of the Mature Haustorium. - In: Joel D. M., J. Gressel and L. J. Musselman (eds.), *Parasitic Orobanchaceae: Parasitic Mechanisms and Control Strategies*, pp. 25 – 60, Springer, New York, ISBN 978-3-642-38145-4
- Karlsson, T. 1974. Recurrent ecotypic variation in rhinanthae and gentianaceae in relation to hemiparasitism and mycotrophy. *Botaniska Notiser* **127**:527-539.
- Karlsson, T. 1976. *Euphrasia* in Sweden - hybridization, parallelism, and species concept. *Botaniska Notiser* **129**:49-60.
- Keith, A. M., D. D. Cameron, and W. E. Seel. 2004. Spatial interactions between the hemiparasitic angiosperm *Rhinanthus minor* and its host are species-specific. *Functional Ecology* **18**:435-442.
- Kolseth, A. K., and M. Lonn. 2005. Genetic structure of *Euphrasia stricta* on the Baltic island of Gotland, Sweden. *Ecography* **28**:443-452.
- Koutecký, P., G. Tuleu, T. Bad'urová, J. Kosnar, M. Štech, and J. Těšitel. 2012. Distribution of cytotypes and seasonal variation in the *Odontites vernus* group in central Europe. *Preslia* **84**:887-904.
- Kubát, K. (ed.) 2002. *Klíč ke květeně České republiky*. Academia, Praha. ISBN 80-200-0836-5.0
- Mackovčín, P. et al. (eds.) 2007. *Chráněná území ČR. Brněnsko, svazek IX. AOPK ČR & EkoCentrum Brno, Praha*. ISBN 978-80-86064-66-6.
- Marvier, M. A. 1996. Parasitic plant-host interactions: Plant performance and indirect effects on parasite-feeding herbivores. *Ecology* **77**:1398-1409.
- Matthies, D. 1995. Parasitic and competitive interactions between the hemiparasites *rhinanthus-serotinus* and *odontites-rubra* and their host *medicago-sativa*. *Journal of Ecology* **83**:245-251.
- McNeal, J. R., J. R. Bennett, A. D. Wolfe, and S. Mathews. 2013. Phylogeny and origins of holoparasitism in orobanchaceae. *American Journal of Botany* **100**:971-983.
- Mrázek, T. 2008. *Euphrasia stricta* J. P. Wolff – světlík tuhý / očianka tuhá. – In: *Botany.cz* [online]. 26. 9. 2008 [cit. 2015-18-02]. Available at: <http://botany.cz/cs/euphrasia-stricta/>
- Mudrák, O., and J. Lepš. 2010. Interactions of the Hemiparasitic Species *Rhinanthus minor* with its Host Plant Community at Two Nutrient Levels. *Folia Geobotanica* **45**:407-424.

- Mudrak, O., J. Mladek, P. Blaek, J. Lep, J. Doleal, E. Nekvapilova, and J. Teitel. 2014. Establishment of hemiparasitic *Rhinanthus* spp. in grassland restoration: lessons learned from sowing experiments. *Applied Vegetation Science* **17**:274-287.
- Naumann, J., K. Salomo, J. P. Der, E. K. Wafula, J. F. Bolin, E. Maass, L. Frenzke, M.-S. Samain, C. Neinhuis, C. W. dePamphilis, and S. Wanke. 2013. Single-Copy Nuclear Genes Place Haustorial Hydnoraceae within Piperales and Reveal a Cretaceous Origin of Multiple Parasitic Angiosperm Lineages. *Plos One* **8**.
- Natr, L. 1998. Fotosynteza. – In: Prochazka S. et al. (eds.), *Fyziologie rostlin*, pp. 124 – 174, Academia, Praha, ISBN 9788020005861
- Niemela, M., A. Markkola, and P. Mutikainen. 2008. Modification of competition between two grass species by a hemiparasitic plant and simulated grazing. *Basic and Applied Ecology* **9**:117-125.
- Oleary, M. H. 1988. Carbon isotopes in photosynthesis. *Bioscience* **38**:328-336.
- Oleary, M. H., S. Madhavan, and P. Paneth. 1992. Physical and chemical basis of carbon isotope fractionation in plants. *Plant Cell and Environment* **15**:1099-1104.
- Olmstead, R. G., C. W. DePamphilis, A. D. Wolfe, N. D. Young, W. J. Elisons, and P. A. Reeves. 2001. Disintegration of the Scrophulariaceae. *American Journal of Botany* **88**:348-361.
- Phoenix, G. K., and M. C. Press. 2005. Linking physiological traits to impacts on community structure and function: the role of root hemiparasitic Orobanchaceae (ex-Scrophulariaceae). *Journal of Ecology* **93**:67-78.
- Pleines, T., K. Esfeld, F. R. Blattner and M. Thiv. 2013. Ecotypes and genetic structure of *Rhinanthus alectorolophus* (Orobanchaceae) in southwestern Germany. *Plant Systematics and Evolution* **299**:1523-1535.
- Press, M. C. 1989. Autotrophy and heterotrophy in root hemiparasites. *Trends in Ecology & Evolution* **4**:258-263.
- Press, M. C., J. D. Graves, and G. R. Stewart. 1990. Physiology of the interaction of angiosperm parasites and their higher-plant hosts. *Plant Cell and Environment* **13**:91-104.
- Press, M. C., and G. K. Phoenix. 2005. Impacts of parasitic plants on natural communities. *New Phytologist* **166**:737-751.
- Press, M. C., S. Smith, and G. R. Stewart. 1991. Carbon acquisition and assimilation in parasitic plants. *Functional Ecology* **5**:278-283.
- Prušova, M., J. Lep, M. Stech, and J. Teitel. 2013. Growth, survival and generative reproduction in a population of a widespread annual hemiparasite *Melampyrum pratense*. *Biologia* **68**:65-73.

- Puustinen, S., O. Jarvinen, and K. Tiilikkala. 2001. Asymmetric competition between a hemiparasitic plant and a cyst nematode on a shared host plant. *Ecoscience* **8**:51-57.
- Puustinen, S., and P. Mutikainen. 2001. Host-parasite-herbivore interactions: Implications of host cyanogenesis. *Ecology* **82**:2059-2071.
- Pywell, R. F., J. M. Bullock, K. J. Walker, S. J. Coulson, S. J. Gregory, and M. J. Stevenson. 2004. Facilitating grassland diversification using the hemiparasitic plant *Rhinanthus minor*. *Journal of Applied Ecology* **41**:880-887.
- Quested, H. M., M. C. Press, T. V. Callaghan, and J. H. C. Cornelissen. 2002. The hemiparasitic angiosperm *Bartsia alpina* has the potential to accelerate decomposition in sub-arctic communities. *Oecologia* **130**:88-95.
- Rowntree, J. K., D. F. Barham, A. J. A. Stewart, and S. E. Hartley. 2014. The effect of multiple host species on a keystone parasitic plant and its aphid herbivores. *Functional Ecology* **28**:829-836.
- Ruemer, S., D. D. Cameron, R. Wacker, W. Hartung, and F. Jiang. 2007. An anatomical study of the haustoria of *Rhinanthus minor* attached to roots of different hosts. *Flora* **202**:194-200.
- Salonen, V., and S. Puustinen. 1996. Success of a root hemiparasitic plant is influenced by soil quality and by defoliation of its host. *Ecology* **77**:1290-1293.
- Searcy, D. G. 1970. Measurements by dna hybridization in-vitro of genetic basis of parasitic reduction. *Evolution* **24**:207-&.
- Seel, W. E., and M. C. Press. 1994. Influence of the host on 3 sub-arctic annual facultative root hemiparasites .2. Gas-exchange characteristics and resource use-efficiency. *New Phytologist* **127**:37-44.
- Shen, H., W. Ye, L. Hong, H. Huang, Z. Wang, X. Deng, Q. Yang, and Z. Xu. 2006. Progress in parasitic plant biology: Host selection and nutrient transfer. *Plant Biology* **8**:175-185.
- Schneeweiss, G. M. 2013. Phylogenetic Relationships and Evolutionary Trends in Orobanchaceae. - In: Joel D. M., J. Gressel and L. J. Musselman (eds.), *Parasitic Orobanchaceae: Parasitic Mechanisms and Control Strategies*, pp. 243 – 265, Springer, New York, ISBN 978-3-642-38145-4
- Smejkal, M. & Dvořáková M. 2000. *Euphrasia* L. – světlík. – In: Slavík B. (ed), *Květena České republiky* 6., p 430 – 449, Academia, Praha
- Soó, R. 1926–1927. Systematische Monographie der Gattung *Melampyrum* I., II., III. – Feddes Repert. 23: 159–176, 385–397, 24: 127–193.
- Spasojevic, M. J., and K. N. Suding. 2011. Contrasting effects of hemiparasites on ecosystem processes: can positive litter effects offset the negative effects of parasitism? *Oecologia* **165**:193-200.

- Stable Isotope Facility. [online] [cit. 2014-15-06], University of California. Available at: <http://stableisotopefacility.ucdavis.edu/>
- Štech, M. 2000. Seasonal variation in *Melampyrum nemorosum*. *Preslia* (Prague) **72**:345-368.
- Štech, M., and L. Drábková. 2005. Morphometric and RAPD study of the *Melampyrum sylvaticum* group in the Sudeten, the Alps and Carpathians. *Folia Geobotanica* **40**:177-193.
- Stein, C., C. Rissmann, S. Hempel, C. Renker, F. Buscot, D. Prati, and H. Auge. 2009. Interactive effects of mycorrhizae and a root hemiparasite on plant community productivity and diversity. *Oecologia* **159**:191-205.
- Sterneck, J. v. 1895. Beitrag zur Kenntnis der Gattung *Alectorolophus* All. – *Österr. Bot. Z.*, **45**:295–303.
- Sterneck, J. v. 1901. Monographie der Gattung *Alectorophus*. – *Abh. Zool.-Bot. Ges. Wien*, **1(2)**:1–150.
- Světlíková, P., T. Hájek, and J. Těšitel. 2015. Hydathode trichomes actively secreting water from leaves play a key role in the physiology and evolution of root-parasitic rhinanthoid Orobanchaceae. *Annals of Botany* **116**:61-68.
- Ter Bork, S. J. 1972. Variability of *Rhinanthus Serotinus* (SCHÖNH.) OBORNY in Relation to Environment. – Thesis, R. U. Groningen, 153 pp.
- Těšitel, J., L. Plavcová, and D. D. Cameron. 2010a. Heterotrophic carbon gain by the root hemiparasites, *Rhinanthus minor* and *Euphrasia rostkoviana* (Orobanchaceae). *Planta* **231**:1137-1144.
- Těšitel, J., L. Plavcová, and D. D. Cameron. 2010b. Interactions between hemiparasitic plants and their hosts: the importance of organic carbon transfer. *Plant signaling & behavior* **5**:1072-1076.
- Těšitel, J., P. Říha, S. Svobodová, T. Malinová, and M. Štech. 2010c. Phylogeny, Life History Evolution and Biogeography of the Rhinanthoid Orobanchaceae. *Folia Geobotanica* **45**:347-367.
- Těšitel, J. 2013. Host-derived carbon in late ecotypes of hemiparasitic species – principle, experimental design & protocol. Unpublished manuscript. České Budějovice: PřF JU.
- Těšitel, J., T. Těšitelová, J. P. Fisher, J. Lepš, and D. D. Cameron. 2015. Integrating ecology and physiology of root-hemiparasitic interaction: interactive effects of abiotic resources shape the interplay between parasitism and autotrophy. *New Phytologist* **205**:350-360.

- Timko, M. P. and J. D. Scholes 2013. Host Reaction to Attack by Root Parasitic Plants.
- In: Joel D. M., J. Gressel and L. J. Musselman (eds.), *Parasitic Orobanchaceae: Parasitic Mechanisms and Control Strategies*, pp. 115 – 141, Springer, New York, ISBN 978-3-642-38145-4
- Turesson, G. 1922 The species and the variety as ecological units. *Hereditas* **3**, 100–113
- Turrill, W. B. 1946. The ecotype concept - a consideration with appreciation and criticism, especially of recent trends. *New Phytologist* **45**:34-43.
- Wesselingh, R. A., and J. M. van Groenendael. 2005. The biology of non-weedy hemiparasitic Orobanchaceae: Synthesis and perspectives. *Folia Geobotanica* **40**:311-318.
- Westwood, J. H., J. I. Yoder, M. P. Timko, and C. W. dePamphilis. 2010. The evolution of parasitism in plants. *Trends in Plant Science* **15**:227-235.
- Westwood, J. H. 2013. The Physiology of the Established Parasite–Host Association. - In: Joel D. M., J. Gressel and L. J. Musselman (eds.), *Parasitic Orobanchaceae: Parasitic Mechanisms and Control Strategies*, pp. 87 – 114, Springer, New York, ISBN 978-3-642-38145-4
- Wolfe, A. D., C. P. Randle, L. Liu, and K. E. Steiner. 2005. Phylogeny and biogeography of Orobanchaceae. *Folia Geobotanica* **40**:115-134.
- Yoneyama et al. 2013. Induction of Germination. - In: Joel D. M., J. Gressel & L. J. Musselman (eds.), *Parasitic Orobanchaceae: Parasitic Mechanisms and Control Strategies*, pp. 167 – 194, Springer, New York, ISBN 978-3-642-38145-4
- Zopfi, H. J. 1993a. Ecotypic variation in *Rhinanthus alectorolophus* (scopoli) pollich (Scrophulariaceae) in relation to grassland management. *Flora* **188**:15-39.
- Zopfi, H. J. 1993b. Ecotypic variation in *Rhinanthus alectorolophus* (scopoli) pollich (Scrophulariaceae) in relation to grassland management 2. The genotypic basis of seasonal ecotypes. *Flora* **188**:153-173.
- Zopfi, H. J. 1995. Life history variation and infraspecific heterochrony in *Rhinanthus glacialis* (Scrophulariaceae). *Plant Systematics and Evolution* **198**:209-233.
- Zopfi, H. J. 1997. Ecotypic variation of *Euphrasia rostkoviana* Hayne (Scrophulariaceae) in relation to grassland management. *Flora* **192**:279-295.
- Zopfi, H. J. 1998a. Life-history variation among populations of *Euphrasia rostkoviana* Hayne (Scrophulariaceae) in relation to grassland management. *Biological Journal of the Linnean Society* **64**:179-205.
- Zopfi, H. J. 1998b. The genetic basis of ecotypic variants of *Euphrasia rostkoviana* Hayne (Scrophulariaceae) in relation to grassland management. *Flora* **193**:41-58.

Fotografická příloha



Obr. 1: Mladé rostliny *Euphrasia stricta* v jedné z pokusných plošek. Na obrázku je patrné i označení plochy pomocí bambusové tyče a pivního víčka (kvůli možnosti nalezení za pomoci detektoru kovů).



Obr. 2: *Euphrasia stricta* (srpen).



Obr. 3: Umístění pokusných plošek. Plošky byly umístěny v prostoru kolem této cesty.



Obr. 4: Plocha, odkud byly odebírány kontrolní vzorky, se nacházela na protější terénní nerovnosti.



Obr. 5: Sběr vzorků na lokalitě – pomocí nůžek byla odstřižena celá nadzemní část rostliny a pinzetou přenesena do papírového sáčku, ve kterých se rostliny sušily.



Obr. 6: *Euphrasia stricta* uvnitř porostu *Bothriochloa ischaemum*.



Obr. 7: Vzoroky připravené k odeslání na izotopovou analýzu.