Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Ekologie a ochrana prostředí

Studijní obor: Ochrana životního prostředí

Anna Kolářová

Alelopatie vodních rostlin a její možné využití pro kontrolu vodního květu

Allelopathy of aquatic plants and its possible application to control cyanobacterial blooms

Bakalářská práce

Vedoucí práce:

Mgr. Kateřina Jandová, Ph.D.

Praha, 2023

Prohlášení

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

V Praze dne:

Podpis:

Poděkování

Ráda bych poděkovala své školitelce Mgr. Kateřině Jandové, Ph.D. za její čas, cenné rady a ochotu pomoci. Díky patří i mé rodině a přátelům za jejich skvělou podporu při studiu i v životě.

Abstrakt

Nadměrný nárůst fytoplanktonu a rozvoj vodního květu vedoucí k poškozování vodních ekosystémů dnes představuje stále častější problém. Jeho kontrolu umožňuje řada metod, z nichž se v poslední době hodně rozvíjí postupy využívající interakce živých organismů. Mezi ně se řadí i alelopatie vodních rostlin. Alelopatie je vztah mezi dvěma organismy, kdy jeden ovlivňuje druhý pomocí alelopaticky aktivních látek, které vylučuje do prostředí. Efekt těchto sekundárních metabolitů však závisí na řadě biotických a abiotických faktorů, což má důsledky i pro potenciál jejich využití ke kontrole vodního květu. Ač výsledky řady studií naznačují, že alelopatie dokáže ovlivnit společenstvo fytoplanktonu, její význam ve vodních ekosystémech stále není zcela jasný. Tato práce shrnuje poznatky o rozšíření alelopatie v rámci skupin vodních organismů, mechanismech působení alelochemikálií a vlivech klíčových faktorů na alelopatický efekt. Zároveň zhodnocuje možnosti využití alelopatie vodních rostlin ke kontrole vodního květu a uvádí přehled experimentálních metod, které lze ke studiu alelopatických interakcí využít.

Klíčová slova: alelopatie, vodní květ, fytoplankton, makrofyta, sekundární metabolity, experimenty

Abstract

The excessive growth of phytoplankton and the development of water bloom leading to the damage to aquatic ecosystems are becoming a more and more frequent problem. There are many methods to control the water bloom from which mainly those that use interactions of living organisms have been developing lately, with the utilisation of aquatic plant allelopathy being one of them. Allelopathy is a type of relationship between two organisms when one of them influences the other by secreting allelopathically active compounds in the environment. However, the effect of these secondary metabolites depends on many biotic and abiotic factors, which also has consequences for their potential use to control the water bloom. Although the results of many studies suggest that allelopathy can affect the community of phytoplankton, its role in aquatic ecosystems is still unclear. This thesis summarizes the knowledge about the occurrence of allelopathy among aquatic organisms, the modes of action of allelochemicals and the impacts of the key factors influencing the allelopathic effect. At the same time, it evaluates the prospects of using the allelopathy of aquatic plants to control water bloom and reviews experimental approaches to studying allelopathic interactions.

Keywords: allelopathy, water bloom, phytoplankton, macrophytes, secondary metabolites, experiments

Obsah

1. Úvod ... 6
2. Definice alelopatie ... 7
3. Alelopatie ve vodním prostředí ... 8
3.1. Rozšíření alelopatie v rámci skupin vodních autotrofních organismů ... 8
3.1.1. Mořské ekosystémy ... 9
3.1.2. Sladkovodní ekosystémy ... 10
3.2. Alelopaticky aktivní látky ... 12
3.3. Mechanismus působení alelopatických látek ... 14
3.3.1. Vliv na buněčné membrány ... 15
3.3.2. Oxidativní stres ... 15
3.3.3. Změny fotosyntézy ... 16
3.3.4. Vliv na bílkoviny ... 17
3.3.5. Druhová specifita účinků ... 17
3.4. Podmínky ovlivňující efekt alelopatických látek ... 18
3.4.1. Abiotické faktory ... 18
3.4.2. Biotické faktory ... 20
4. Potenciál kontroly vodního květu pomocí alelopatie vodních rostlin ... 22
4.1. Vysazování alelopatických rostlin ... 22
4.1.1. Vliv abiotických podmínek nádrží na využití alelopatických rostlin ... 23
4.1.2. Vliv velikosti populace makrofyt a sezóny na alelopatický účinek ... 24
4.2. Využití samotných alelopatických látek ... 24
4.3. Rizika využití alelopatie ke kontrole vodního květu ... 26
4.3.1. Invazní druhy alelopatických rostlin ... 26
4.3.2. Vliv alelopatie na necílové organismy ... 26
4.3.3. Uvolňování cyanotoxinů do prostředí ... 27
4.3.4. Vývoj rezistence fytoplanktonu vůči alelopatii ... 28
5. Experimenty umožňující studium alelopatie ... 28
5.1. Laboratorní experimenty ... 29
5.2. Experimenty v mezokosmu ... 30
5.3. Experimenty *in situ* ... 31
5.4. Problematika experimentů ... 31
6. Závěr ... 33
7. Seznam literatury ... 35

1. Úvod

Vodní květ patří mezi závažné problémy zhoršující kvalitu vody, se kterými se musíme stále častěji vypořádávat. Jde o nadměrný nárůst fytoplanktonu, jenž zahrnuje zelené řasy, sinice, obrněnky, rozsivky a další skupiny vodních organismů. Ty se ve sladkých i slaných vodách vyskytují přirozeně, avšak v důsledku lidské činnosti dochází k jejich přemnožení, což má vážné následky pro celý ekosystém. Akumulace těchto organismů způsobuje zabarvení vody, zápach, nedostatek kyslíku kvůli nadměrné respiraci a dekompozici, změny společenstev a omezení využití vody jakožto pitné i k rekreačním účelům. Velkým problémem je produkce toxinů, které negativně postihují ostatní organismy, od planktonu až po lidi. Mezi zdravotní problémy způsobené vodním květem patří dýchací potíže, poškození trávicího traktu a podráždění kůže (Herath, 1997, Sellner et al., 2003).

Dle Drábkové (2007) ke zvýšenému výskytu vodního květu přispívá hlavně eutrofizace. Ta probíhá přirozeně, ale lidské činnosti jako zemědělství a vypouštění odpadních vod ji významně urychlují a posilují tak tok živin (především dusíku a fosforu) do vod. Proto se řada metod omezení rozvoje škodlivého fytoplanktonu zaměřuje na snížení množství nutrientů v ekosystémech, například skrze odstraňování sedimentů či srážení fosforu. Dalším způsobem je odstraňování přímo biomasy vodního květu, snížení jeho růstu pomocí ultrazvuku a aplikace algicidů. V posledních letech se rozvíjí metody využívající interakce s dalšími živými organismy, např. rybami, vodními rostlinami a bakteriemi.

V této bakalářské práci se budu zabývat možnostmi kontroly rozvoje vodního květu pomocí alelopatie vodních rostlin. Alelopatie je vztah, kdy jeden organismus ovlivňuje druhý pomocí vylučování metabolitů do prostředí (Gniazdowska a Bogatek, 2005). Efekt těchto látek určuje mnoho fyzikálních, chemických a biotických faktorů, což činí nesnadné alelopatii studovat. Výzkum se zaměřoval hlavně na terestrické ekosystémy a možné využití alelopatie v zemědělství k potlačování plevelů (Cheng a Cheng, 2015). V současnosti se ale studie začínají zabývat i alelopatií ve vodním prostředí, jejími mechanismy a vlivem na společenstva vodních ekosystémů, se zaměřením především na fytoplankton.

Cílem této práce je podat souhrn dosavadních poznatků o alelopatii vodních rostlin, zahrnující rozšíření alelopatie v rámci skupin vodních organismů, podstatu alelopaticky aktivních látek a mechanismus jejich působení. Dále zhodnotím roli klíčových faktorů a jejich vliv na alelopatický efekt a navrhnu způsoby využití alelopatie vodních rostlin pro kontrolu vodního květu. Současně podám přehled experimentálních postupů umožňujících studium alelopatie na různých úrovních, od laboratoře po přirozené ekosystémy, spolu s jejich přednostmi i limitacemi.

2. Definice alelopatie

Jako první definoval fenomén alelopatie v roce 1973 Hans Molish jako biochemické interakce mezi rostlinami. Termín alelopatie vytvořil z řeckých slov *allelon* a *pathos*, která znamenají *vzájemný* a *uškodit* (Bauer, 2011). Formulaci poté v roce 1984 upravil Elroy Leon Rice na jakýkoliv přímý i nepřímý škodlivý i prospěšný účinek jedné rostliny (včetně mikroorganismů) na jinou pomocí produkce a vypouštění chemických látek do prostředí.

Dnes všeobecně přijímanou definici formulovala Mezinárodní společnost pro Alelopatii (International Allelopathy Society) jako „jakýkoli proces zahrnující sekundární metabolity produkované rostlinami, řasami, bakteriemi a viry, který ovlivňuje růst a vývoj zemědělských a biologických systémů; studium funkce sekundárních metabolitů, jejich význam v biologických systémech, evoluční původ a objasnění mechanismů zahrnujících vztahy typu rostlina-rostlina, rostlina-mikroorganismus, rostlina-hmyz a rostlina-půda-rostlina“ (Gniazdowska a Bogatek, 2005).

Existuje více pohledů na alelopatii a její evoluční význam (Lewis, 1986). Dle klasického výkladu donor (rostlina vylučující alelopaticky aktivní látky) z této interakce s akceptorem (příjemcem metabolitů) profituje, protože tím snižuje kompetici o zdroje se sousedními druhy. Tento náhled lze uplatnit v případě alelopatie v terestrických ekosystémech a ve vodním prostředí, pokud je donor přichycen k substrátu (mechanismus interakce s ostatními druhy se tedy děje obdobně jako na souši). Dle Lewise (1986) však tuto klasickou teorii nelze aplikovat na planktonní společenstva, a to hned z několika důvodů: fytoplankton se ve vodě pohybuje a jeho prostorové vztahy se tak neustále mění, alelopaticky aktivní látka vyloučená planktonní buňkou se rychle dostává z jejího dosahu a nelze ji tak zacílit na daného konkurenta. Tím aktivní produkce metabolitů ztrácí význam.

Jiná hypotéza interpretuje alelopatii jako pasivní exkreci vedlejších produktů metabolismu. V takovém případě by se ale cílové organismy měly skrze přírodní výběr na látky adaptovat a došlo by k vymizení účinků. Lewis (1986) tedy přichází s teorií alelopatického signálu, podle které alelochemikálie mají pro cílový organismus informační význam. Signalizují totiž specifickou kombinaci abiotických i biotických podmínek charakterizující daný stav prostředí, čímž vyvolají v akceptorovi fyziologickou odpověď. Toto pojetí tak na rozdíl od klasické teorie vysvětluje inhibiční i stimulační účinky alelopatie.

V praxi se však uvažuje především negativní působení vedoucí k omezení růstu organismu. Inhibice způsobená alelopatií se však těžko rozlišuje od inhibice vzniklé v důsledku jiných dějů, například zmiňované kompetice. Dle Willise (1985) zásadní rozdíl představuje to, že při alelopatii dochází k vylučování nějaké látky do prostředí, kdežto při kompetici je z něj určitá látka naopak odstraňována. Abychom tedy mohli mluvit o alelopatii, musí podle něj jev splňovat několik pravidel:

1) Dochází k inhibici jednoho druhu rostliny jiným druhem.
2) Domnělý agresivní druh produkuje toxin.

3) Dochází k uvolňování toxinu z rostliny do prostředí.
4) Toxin je schopný se v prostředí šířit a/nebo akumulovat.
5) Ovlivňovaná rostlina musí nějakým způsobem toxin přijmout.
6) Pozorovanou inhibici nelze vysvětlit výhradně na základě fyzikálních či biotických faktorů, jakými jsou například kompetice a herbivorie.

3. Alelopatie ve vodním prostředí

3.1. Rozšíření alelopatie v rámci skupin vodních autotrofních organismů

Vodní autotrofní organismy lze rozdělit do dvou kategorií – vyšší vodní rostliny (jinak také makrofyta nebo též hydrofyta) a mikroorganismy. Obě skupiny mohou žít v prostředí přichycené k nějakému substrátu či jinému organismu (v tom případě jde o epibionty), nebo se v něm volně vznášet (u autotrofních mikroorganismů pak mluvíme o fytoplanktonu). Právě poslední jmenovaná třída tvoří při přemnožení vodní květ, jenž zahrnuje především zelené řasy, sinice, obrněnky, rozsivky a další druhy fytoplanktonu.

Ve vodním prostředí rozlišujeme pelagiál a bentos – a v obou oblastech fungují alelopatické interakce trochu jinak (Lewis, 1986; Gross, 2003a). V pelagické zóně představuje hlavní problém dostatečná produkce alelopaticky aktivních látek a jejich transport k cílovým organismům. Voda totiž metabolity rychle ředí a znesnadňuje tak dosažení efektivních koncentrací. Podle Gross (2003a) aby mohlo docházet k jejich distribuci, musí být alelochemikálie dostatečně hydrofilní. V bentické oblasti se ale interagující druhy nachází více u sebe, což umožňuje přenos látek ve vyšších koncentracích vodou nebo přímým kontaktem pomocí trichomů či žláz (např. při obraně proti epifytům). Malé vzdálenosti umožňují produkovat více lipofilní metabolity, protože pro efektivní transport médiem není rozhodující jejich rozpustnost ve vodě.

Význam mají i životní formy vodních rostlin – tedy zda se jedná o emerzní (vynořené) hydrofyty, natantní (s plovoucími listy) či submerzní (zcela ponořené). Fenoly tvoří velkou skupinu alelopaticky působících substancí a dle Smolders et al. (2000) submerzní druhy obsahují méně fenolických látek než emerzní a natantní. Rozdíl vysvětluje na základě ochranné funkce těchto sloučenin proti herbivorům a UV záření. Jelikož obojího je pod vodou méně než nad ní, submerzní rostliny produkují méně fenolů. Navíc jejich tvorbu limituje menší množství světla a anorganického uhlíku. Na druhou stranu ponořené listy mají redukovanou kutikulu, méně těsné spoje mezi buňkami a žádné průduchy – to by jim mělo umožnit lépe uvolňovat látky do prostředí (Gross, 2003a).

Alelopatie byla prokázána i u planktonních druhů, přičemž tyto interakce neprobíhají jen mezi samotným fytoplanktonem, ale dochází i k působení na vyšší vodní rostliny (Gross, 2003a). Dle Keating (1977) mají alelochemikálie těchto mikroorganismů velký význam pro rozvoj vodního květu a mohou tak zásadně měnit strukturu společenstva (Fistarol et al., 2003; Fistarol et al., 2004). Navíc alelopatie

fytoplanktonu v kombinaci s alelopatickým působením vyšších rostlin dokáže ovlivnit výsledný efekt vylučovaných metabolitů (Chang et al., 2012; Pei et al., 2018, Barbosa et al., 2022).

3.1.1. Mořské ekosystémy

V mořích a oceánech jasně dominuje pelagiální oblast nad bentickou. Hustota fytoplanktonu je nízká, ale u pobřeží může narůstat v důsledku přítoku živin z pevniny (Gross, 2003a). Alelopatie byla zjištěna u řady skupin jako jsou krytosemenné rostliny, řasy, korály a houby.

V mořském prostředí nalezneme jen pár druhů krytosemenných rostlin (Les et al., 1997). Laabir et al. (2013) zkoumali inhibiční účinky extraktů ze *Zostera marina* a *Zostera noltii* na obrněnky druhu *Alexandrium catenella* a dali je do souvislosti s nárůstem toxického vodního květu po vymizení nárostů *Zostera* v Thau lagoon. DellaGreca et al. (2000) dokázali *in vitro* vliv diterpenů získaných z *Ruppia maritima* na potlačení růstu *Selenastrum capricornutum*.

Oproti tomu mořské řasy jsou mnohem rozšířenější a jejich alelopatické účinky se často zkoumají ve vztahu k poškozování korálů a využití proti vodnímu květu. Okolní druhy pomocí vylučovaných metabolitů ovlivňují červené, hnědé i zelené řasy. Fong et al. (2019) zjistili, že extrakty z *Bryopsis* sp., *Endosiphonia horrida* a *Lobophora* sp. obsahují alelochemikálie, jež v laboratorních podmínkách zvyšují mortalitu larev korálu *Pocillopora acuta*. Negativní účinky *Lobophora* na korálové útesy prokázali i Slattery a Lesser (2014). Ti prováděli experimenty *in situ*, a to s extrakty z druhu *L. variegata*, které způsobily bělení korálu *Montastraea cavernosa*. Tang a Gobler (2011) uvádí, že zelená řasa *Ulva lactu*ca inhibuje růst sedmi druhů tvořící vodní květ: *Aureococcus anophagefferens*, *Chattonella marina*, *Cochlodinium polykrikoides*, *Karlodinium veneficum*, *Karenia brevis*, *Prorocentrum minimum* a *Pseudo-nitzschia multiseries*.

Fytoplankton způsobuje vznik vodního květu a studie ukazují, že na jeho formaci se významně podílí právě alelopatie. Dle Keating (1977) je sekvence druhů vodního květu daná alelopatickým působením aktuálně dominujících organismů na ty, které převažovaly v předchozí fázi sukcese společenstva fytoplanktonu, což vede k jejich potlačení. Zároveň převládající druhy jsou vždy citlivé k metabolitům vylučovaným svými „následovníky“ v sekvenci. To potvrzuje i studie Fistarol et al. (2003), která se zabývá vlivem *Prymnesium parvum* (Prymnesiophyta) na složení přirozeného planktonního společenstva. Filtráty tohoto druhu v experimentech výrazně snížily abundanci rozsivek, jež ve vodním květu dominují před *P. parvum*, zatímco sinice nastupující po něm se ukázaly rezistentnější. Fistarol et al. (2004) dále prokázali alelopatický účinek filtrátů získaných z *Alexandrium tamarense* (Dinoflagellata) na druhy, které tuto obrněnku přirozeně doprovází, přičemž nejvíce byli negativně ovlivněni nálevníci, nanobičíkovci a obrněnka *Scrippsiella trochoidea*. Výsledky testů tak poukazují na schopnost *A. tamarense* snížit pomocí alelopatie kompetici a zásadně měnit strukturu planktonního společenstva. Jinak je tomu ovšem v případě *Karenia brevis* (Dinoflagellata), kdy experimenty odhalily, že ač její extrakty mají potenciál potlačit několik konkurentů (*Asterionellopsis glacialis*, *Amphora* sp., *Skeletonema grethae* a *Prorocentrum minimum*), v přirozeném společenstvu se

alelopatická interakce neprojeví (Poulson et al., 2010). Alelochemikálie vylučují i některé rozsivky, např. *Pseudo-nitzschia pungens* a *Pseudo-nitzschia multiseries* inhibují *Akashiwo sanguinea*, *Rhodomonas salina* a *Chattonella marina* (Xu et al., 2015). U nich se navíc zjistilo, že alelopatický efekt závisí nejen na druhu, ale i na kmeni. Některé organismy udržují svou dominanci nikoliv inhibicí kompetitorů, nýbrž stimulací růstu stejného či podobného druhu. To bylo pozorováno u sinic *Nodularia spumigena*, *Aphanizomenon* sp. a *Anabaena* sp., které významně podpořily rozvoj *Snowella* spp. a *Pseudanabaena* spp. (Suikkanen et al., 2005).

3.1.2. Sladkovodní ekosystémy

Ve sladkovodních ekosystémech dochází k alelopatickým interakcím v pelagické i bentické a litorální zóně. Na rozdíl od moří a oceánů zde nalezneme mnohem více krytosemenných rostlin, avšak méně makrořas. V tekoucích vodách alelopatie běžně neprobíhá, protože proud rychle odnáší vylučované látky pryč (Gross, 2003a).

Krytosemenné rostliny se vyskytují ve třech životních formách popsaných výše. Emerzní vegetace čelí kompetici o prostor a živiny, na druhou stranu však nemívá problémy s epifyty. Natantní hydrofyta si také konkurují o místo a k tomu stíní vegetaci pod vodou a fytoplankton. Submerzní rostliny proto podléhají nejsilnější kompetici, protože bojují o prostor, živiny a dostatek světla. Alelopatie se tak nabízí jako účinná strategie k získání převahy (Gross, 2003a).

Dle Mohamed (2017) se mezi alelopaticky nejaktivnější druhy řadí *Myriophyllum*, *Ceratophyllum*, *Elodea*, *Najas*, *Stratiotes* a zástupci Charophyta, přičemž všechny jmenované zároveň patří mezi nejhojněji se vyskytující submerzní makrofyta.

Zhao et al. (2013) provedli v laboratoři koexistenční experimenty, při kterých pozorovali působení exudátů šesti druhů emerzních rostlin (*Typha orientalis*, *Acorus calamus*, *Oenanthe javanica*, *Scirpus validus*, *Sagittaria sagittifolia*, a *Pontederia cordata*, tedy zástupců šesti různých čeledí) na *Microcystis aeruginosa*. Ukázalo se, že všechny uvedené hydrofyty inhibují jednobuněčnou *M. aeruginosa*, zatímco na koloniální formu měli vliv jen *A. calamus* a *P. cordata*. V *in vitro* pokusech Aliotta et al. (1990) extrakty z *Typha latifolia* dokázaly inhibovat růst řady řas (např. *Synechococcus leopoliensis*, *Anabaena flos-aquae*, *Navicula pelliculosa*, *Chlorella vulgaris*, *Selenastrum capricornutum*). Li a Hu (2005) se povedlo izolovat z *Phragmites communis* (Poaceae) látky, které potlačily *Chlorella pyrenoidosa* a *M. aeruginosa*. Dle Zhang et al. (2011b) extrakty z kořenů *Thalia dealbata* (Marantaceae) negativně ovlivňují *M. aeruginosa* a *A. flos-aquae* a jejich přirozená společenstva tím, že indukují oxidativní stres. Stejný mechanismus působení zaznamenali i Li et al. (2016) při interakci extraktů z hlíz *Sagittaria trifolia* (Alismataceae) a *M. aeruginosa*.

Jang et al. (2007) odhalili oboustranný alelopatický vztah mezi natantní *Lemna japonica* (Araceae) a *M. aeruginosa*, kdy došlo ke vzájemnému snížení růstu a zároveň ke zvýšení produkce extracelulárního i intracelulárního mikrocystinu v *M. aeruginosa*. Produkty dekompozice, výluhy z listů a hlavně kořenové exudáty z *Pistia stratiotes* (Araceae) v experimentech Wu et al. (2015) vykázaly

negativní vliv na *M. aeruginosa*. Růst této sinice dokáže potlačit i *Eichhornia crassipes* (Pontederiaceae). Pei et al. (2018) zkoumali inhibiční účinky této nebezpečné invazní rostliny na *M. aeruginosa* a *Scenedesmus quadricauda*. Zjistili, že *N*-fenyl-2-naftylamin (metabolit z *E. crassipes*) zvyšuje alelopatický efekt *M. aeruginosa* vůči *S. quadricauda*, což vede k dominanci sinic v nádrži.

Ze submerzních rostlin jsou alelopaticky aktivní např. *Potamogeton maackianus* a *P. malaianus* (Potamogetonaceae), jejichž exudáty potlačují růst *Selenastrum capricornutum* a *M. aeruginosa* (Zhang et al., 2011a). Mulderij et al. (2006) zjistili, že exudáty *Stratiotes aloides* mají vliv na přirozené společenstvo fytoplanktonu a snižují tak turbiditu vody způsobenou jeho buňkami. Ze stejné čeledi (Hydrocharitaceae) pochází i *Hydrilla verticillata* a *Vallisneria spiralis*, které obsahují látky schopné inhibovat *M. aeruginosa* (Gao et al., 2011). Přítomnost dalšího zástupce, *Elodea nuttallii*, omezila rozvoj fytoplanktonu (Vanderstukken et al., 2014). Dong et al. (2019) ukázali, že extrakty z *Ceratophyllum demersum* (Ceratophyllaceae) působí inhibičně na *C. vulgaris* a zvyšují formaci kolonií této řasy, což pro ni může být energeticky náročné a dochází tak ke zpomalení jejího růstu. Pełechata a Pełechaty (2010) pozorovali u porostů *C. demersum* nižší abundanci skupin Cryptophyta, Dinophyta, Chlorophyta a Chrysophyceae, zatímce sinice nebyly touto rostlinou ovlivněny. Alelochemikálie najdeme i v rodu *Myriophyllum* (Haloragaceae). Koexistenční experimenty Zhu et al. (2010) odhalily, že *M. spicatum* obsahuje látky snižující aktivitu fotosystému II *M. aeruginosa*. Dalším alelopaticky aktivním zástupcem je *M. verticillatum* (Bauer, 2011).

Ačkoliv jsou makrořasy ve sladkovodních ekosystémech rozšířené méně než v mořských, i mezi nimi najdeme alelopatické druhy. Mähnert et al. (2017) testovali účinky čerstvých výhonků a extraktů čtyř zástupců Charophyceae (*Chara aspera*, *C. globularis*, *C. rudis* a *C. tomentosa*) na zelené řasy *C. vulgaris* a *Acutodesmus acuminatus* a sinice *Synechococcus elongatus* a *S. leopoliensis*, přičemž sinice se ukázaly jako citlivější vůči vylučovaným látkám. Trochine et al. (2011) zaznamenali inhibici přirozeného společenstva fytoplanktonu u *Cladophora* sp. (Cladophorophyceae) a *Spirogyra* sp. (Zygnematophyceae).

Autotrofní mikroorganismy se musí vyrovnávat s kompeticí o světlo a živiny (Gross, 2003a). Vylučování alelopaticky aktivních látek představuje kompetiční výhodu a umožňuje řadě fytoplanktonních druhů dosáhnout dominance, což má význam pro rozvoj vodního květu a sukcesi společenstva (Keating, 1977). Přemnožení řas a sinic pak dále vede ke zvyšování jejich alelopatického efektu (Pflugmacher, 2002; Carey a Rengefors, 2010).

Rengefors a Legrand (2007) pozorovali algicidní efekt obrněnky *Peridinium aciculiferum* na *Rhodomonas lacustris*, *Cryptomonas* sp., *Cyclotella* sp., *Synura petersenii* a *P. inconspicuum*, zatímco růst *Chlamydomonas reinhardtii* byl stimulován. Podle autorů by odolnost této zelené řasy vůči inhibici mohla být způsobena tím, že sama produkuje alelochemikálie. Ty negativně ovlivnily *Cryptomonas ozolinii* v experimentech Barreiro a Hairston (2013). Dle Chiang et al. (2004) extrakty z *Botryococcus braunii* (Chlorophyta) dokázaly potlačit 16 druhů planktonu ze skupin zelených řas, sinic a rozsivek, přičemž tyto výsledky souhlasily s pozorováním složení společenstva v Liyu Lake při rozvoji vodního

květu *B. braunii*. Fergola et al. (2007) ukázali, že extrakty z řasy *Chlorella vulgaris* inhibují *Pseudokirchneriella subcapitata*.

Sinice jsou skupina velice rozšířená ve vodním prostředí, která vylučuje řadu sekundárních metabolitů. Ma et al. (2015) ukázali, že některé tyto látky mohou umožňovat *Microcystis* získat převahu ve vodním květu nad *Aphanizomenon flos-aquae*. Produkovaný toxin microcystin-LR dokáže navíc potlačit makrofyta jako např. *Ceratophyllum demersum*, *Myriophyllum spicatum* (Pflugmacher, 2002), *Chara hispida* a *C. aspera* (Rojo et al., 2013a). Přemnožení fytoplanktonu se ale děje i díky stimulačním účinkům. V experimentech El-Sheekh et al. (2010) filtráty z *M. aeruginosa* podpořily růst *Oscillatoria angutissima*, *Anabaena* a *Chlorella vulgaris*, jen *Scendesmus obliquus* byl negativně ovlivněn. Carey a Rengefors (2010) zaznamenali, že *Gloeotrichia echinulata* může zvyšovat eutrofizaci jezer a nárůst vodního květu vylučováním látek, jež podporují růst *Anabaena circinalis*, *Cyclotella* sp., *Peridinium inconspicuum*, *Rhodomonas lacustris* a *M. aeruginosa*. Naopak k potlačení *M. aeruginosa* došlo působením cylindrospermopsinu vylučovaného *Cylindrospermopsis raciborskii* (Rzymski et al., 2014). Gross et al. (1991) zjistili, že druhy rodu *Fisherella* produkují toxin fisherellin, který inhibuje řadu sinic (např. *Anabaena* sp., *Synechococcus* sp.) a zelených řas (např. *Scenedesmus* spp.). Růst zástupců obou skupin snižují i látky z *Oscillatoria* sp. (Chauhan et al., 1992).

Alelopatie byla zaznamenána i na úrovni celého společenstva v perifytonu. V terénních experimentech Wu et al. (2011) biofilm složený především z rozsivek a bakterií (hlavně *Synedra ulna*, *Gomphonema parvulum*, *Fragilaria vaucheriae*, *Melosira varians* a *Nitzschia amphibia*) dokázal zamezit výskytu vodního květu sinic pomocí vylučovaných alelochemikálií, které narušily fotosyntézu fytoplanktonu.

3.2. Alelopaticky aktivní látky

Termíny „alelopaticky aktivní látky“ a „alelochemikálie“ se vztahují k roli chemických sloučenin, kterou v prostředí hrají, ne přímo k jejich chemickému složení. Účinek těchto látek totiž určují nejen různé parametry prostředí ale i to, s jakým organismem interagují (Inderjit a Duke, 2003).

Alelochemikálie podobně jako jiné sekundární metabolity běžně plní více funkcí. To vede k nižším nákladům na tvorbu a udržování těchto produktů (Hilt a Gross, 2008). Do prostředí se tyto sloučeniny dostávají jako exudáty, vytěkáním nebo jako produkty dekompozice (Gniazdowska a Bogatek, 2005). Po vyloučení mohou být dále transformovány, např. činností bakterií či působením záření (Bauer, 2011).

Transport látek ve vodě vyžaduje alespoň částečnou hydrofilitu dané sloučeniny, protože ta umožňuje přenos metabolitu k cílovému organismu. Na druhou stranu se látka nesmí dostat příliš daleko od svého producenta, kde by mu už nebyla prospěšná. Tudíž je žádoucí i určitý stupeň hydrofobicity, který umožňuje přenos i přímým kontaktem buněk (Gross, 2003a; Macías et al., 2008). Gross et al. (2003) naznačují, že účinnou strategií by mohla být produkce metabolitů hydrofilních i hydrofobních, což by umožnilo zacílit alelopatický efekt na více organismů najednou (první jmenované na plankton,

druhé na epibionty). Dle Macías et al. (2008) mají nejúčinnější alelochemikálie alespoň jednu volnou hydroxylovou skupinu způsobující rozpustnost ve vodě a zároveň obsahují lipofilní části, jež umožňují průnik látek buněčnými membránami, a tedy indukují biologickou aktivitu.

Rice (1984) alelopatické látky rozděluje podle chemické struktury do několika kategorií: ve vodě rozpustné organické kyseliny, alkoholy, alifatické aldehydy a ketony; jednoduché nenasycené laktony; mastné kyseliny s dlouhým řetězcem a polyacetyleny; benzochinony, anthrachinony a komplexní chinony; jednoduché fenoly, kyselina benzoová a její deriváty; kyselina skořicová a její deriváty; kumariny; flavonoidy; taniny; terpenoidy a steroidy; aminokyseliny a peptidy; alkaloidy a kyanhydriny; sulfidy a glukosinoláty; puriny a nukleosidy.

Podle Macías et al. (2008) alelochemikálie vyšších vodních rostlin připomínají látky z terestrických rostlin, kdežto vodní mikroorganismy si vyvinuly k tomuto účelu úplně jiné sloučeniny. Řasy (zejména obrněnky) využívají polyethery, sinice mikrocystiny, makrořasy mastné kyseliny a polysacharidy a makrofyta vylučují terpeny, fenoly, mastné kyseliny a alkaloidy. Oproti alelopaticky aktivním látkám z terestrických ekosystémů mají metabolity ve vodním prostředí komplexnější strukturu a široký rozsah molekulových hmotností. Navíc vykazují vysokou biologickou aktivitu, aby předešly efektu zřeďování (Macías et al., 2008).

Wu et al. (2006) testovali účinky několika mastných kyselin na *Chlorella vulgaris*, *Monoraphidium contortum* a *Anabaena*. Zjistili, že kyselina oleová, linolová, alfa-linolenová, palmitová, stearová, eicosapentaenová, docosahexaenová, laurová a myristová způsobují poškození membrán testovaných organismů. Autoři dle svých slov využili příliš vysoké, v přírodě spíše vzácné koncentrace, ale navrhují, že tvorba micel by mohla umožnit dosažení lokálně vyšších koncentrací a zvýšit tak alelopatický efekt látek. První čtyři jmenované sloučeniny detekovali také Chiang et al. (2004) v extraktech z *Botryococcus braunii* a další kyseliny identifikovali Dong et al. (2019) v extraktech *Ceratophyllum demersum* (kyselina kapronová, ftalová, suberová, krotonová, azelaová a glutarová). Kyselinu linolovou a alfa-linolenovou spolu s ještě jednou neznámou mastnou kyselinou izolovali i Aliotta et al. (1990) z *Typha latifolia*. Poškození plazmatických membrán způsobil taktéž ethyl-2-methylacetoacetát z *Phragmites communis* (Li a Hu, 2005).

Nakai et al. (2001) zkoumali efekt několika fenolických látek na *M. aeruginosa*. Její růst inhibovaly kyselina kávová a protokatechová, pyrokatechol, hydrochinon, hydroxyhydrochinon, floroglucinol, kyselina vanilová, sinapová a syringová. Zjistili, že vyšších účinků dosahovaly sloučeniny s hydroxyskupinami v polohách *ortho* a *para* a že látky s methoxyskupinami působily slaběji. Dále jejich výsledky naznačily, že autooxidace posiluje inhibiční efekt fenolů v důsledku vzniku radikálů. Gross et al. (1996) se podařilo izolovat z *Myriophyllum spicatum* tellimagrandin II, hlavní alelopaticky působící látku v této rostlině, a dále kyselinu gallovou a ellagovou. *Hydrilla verticillata* a *Vallisneria spiralis* obsahují kyselinu vanilovou, protokatechovou, ferulovou a kávovou (Gao et al., 2011) a v *Zostera marina* a *Z. noltii* detekovali Laabir et al. (2013) spolu s flavonoidy kyselinu zosterovou a rozmarýnovou.

Řada alelopaticky aktivních terpenoidů byla objevena v rodu *Potamogeton*, konkrétně v *P. natans*, *P. pectinatus* a *P. lucens* (DellaGreca et al., 2001; Waridel et al., 2003; Waridel et al., 2004), a v *Ruppia maritima* (DellaGreca et al., 2000). Dle DellaGreca et al. (2001) a Waridel et al. (2003) algicidní efekt těchto sloučenin záleží na základním uhlovodíkovém řetězci a jednotlivých substituentech. Ikawa et al. (2001) zkoumali účinky volatilních organických částic produkovaných řasami a bakteriemi na *Chlorella pyrenoidosa*. Zjistili, že geosmin, β-cyclocitral, α- a β-jonony a geranylaceton dokážou inhibovat růst této zelené řasy. Stejný efekt zaznamenali Zhao et al. (2016) při interakci eukalyptolu a limonenu z *Microcystis* s *C. vulgaris*. Dle Wu et al. (2011) biofilm perifytonu produkuje indol a 3-oxo-α-jonon. Další jonony (4-oxo-β-jonon, 3-hydroxy-5,6-epoxy-β-jonon a 6-hydroxy-3-oxo-α-jonon) byly detekovány v listech *Vallisneria spiralis* spolu s 2-ethyl-3-methylmaleimidem (alkaloidem vzniklým fotooxidací chlorofylu) a terpenoidy dihydroactinidiolidem a loliolidem. Kromě uvedeného alkaloidu jde o produkty dekompozice β-karotenu a všechny tyto sloučeniny potlačily *M. aeruginosa* (Xian et al., 2006). Aliotta et al. (1990) identifikovali tři steroidy (β-sitosterol, 24-methylenlofenol a stigmast-4-en-3,6-dion) z extraktů *T. latifolia*.

Mezi další alelopatické alkaloidy patří nufarolutin a 6,6'-dihydroxythiobinufaridin izolované v *Nuphar lutea* (Elakovich a Yang, 1996). Do této skupiny spadá i řada alelochemikálií vylučovaných sinicemi, např. hapalindoly produkované *Fischerella* sp. (Gantar et al., 2008), cylindrospermopsin z *Cylindrospermopsis raciborskii* (Rzymski et al., 2014) a nostocin z *Nostoc spongiaeforme* (Hirata et al., 2003). Poslední jmenovaný představuje fialový pigment, jehož redukovaná forma slouží svému producentovi jako obrana při oxidativním stresu a zároveň je po oxidaci ROS (reactive oxygen species) vylučován do prostředí, kde působí alelopaticky vůči kompetitorům *N. spongiaeforme*.

Dle Todorova a Jüttner (1995) a Jüttner et al. (2001) rod *Nostoc* dále tvoří cyklické peptidy nostocyclamid a nostocyclamid M obsahující thiazol a oxazol. Látky ze skupiny cyklických peptidů identifikovali i Leão et al. (2010) v *Oscillatoria* sp.

Obávanými sekundárními metabolity sinic, jež vykazují alelopatii, jsou také microcystin-LR (Pflugmacher, 2002; Rojo et al., 2013a) a cyanobacterin, který má ve své struktuře γ-lakton a chlorovaný aromatický řetězec (Mason et al, 1982). *Eichhornia crassipes* vylučuje *N*-fenyl-2-naftylamin potlačující zelené řasy a sinice (Pei et al., 2018). Jin et al. (2003) identifikovali v extraktech této rostliny pyranózu, isocyanoethylacetát, 2-2-dimethylcyklopentanon a propanamid. Dle Wium-Andersen et al. (1983) *Ceratophyllum demersum* využívá k potlačení epifytů elementární síru.

3.3. Mechanismus působení alelopatických látek

Alelopatické látky ovlivňují cílový organismus řadou způsobů. Působí na více úrovních organizace a zasahují tak do biochemických pochodů, buněčné struktury i fyziologie akceptora (Gniazdowska a Bogatek, 2005).

3.3.1. Vliv na buněčné membrány

Poulin et al. (2018) se zabývali mechanismem, jakým *Karenia brevis* potlačuje *Asterionellopsis glacialis* and *Thalassiosira pseudonana*. Zjistili, že její alelochemikálie ovlivňují metabolismus lipidů těchto kompetitorů, což má poté následky na různé fyziologické procesy. Po vystavení alelopatickým metabolitům došlo ke změně koncentrací jednotlivých lipidů, a tedy k poškození buněčných membrán, jež se tak staly propustnější. Dle autorů vylučované látky mohly způsobit buď degradaci komplexních lipidů nebo inhibici jejich syntézy. Dle Li a Hu (2005) sloučeniny izolované z *Phragmites communis* způsobily únik iontů draslíku, magnezia a vápníku z buněk fytoplanktonu. To připisují zvýšení množství nenasycených mastných kyselin v buněčných membránách a tím pádem porušení jejich integrity. Vyšší koncentraci K^+ mimo buňky spolu s uvolněním fykobilinů zaznamenali Wu et al. (2006) po vystavení zelených řas a sinic vysokým koncentracím některých mastných kyselin (konkrétně kyseliny oleové, linolenové, alfa-linolenové, palmitové, stearové, eicosapentaenové, docosahexaenové, laurové a myristové). Všimli si také, že nenasycené kyseliny vedly k většímu úniku iontů než nasycené. V experimentech Rengefors a Legrand (2007) s *Peridinium aciculiferum* buňky všech testovaných druhů fytoplanktonu vykazovaly deformaci a rozpad, podobné účinky pozorovali i Xu et al. (2015) u *Pseudo-nitzschia pungens* a *P. multiseries*.

3.3.2. Oxidativní stres

K poškození membrán dochází i v důsledku jejich peroxidace při působení oxidativního stresu, který patří dle řady autorů k dalšímu mechanismu účinku alelochemikálií (Li a Hu, 2005; Zhang et al., 2011b; Li et al., 2016; Pei et al., 2018). Jako indikátor peroxidace lipidů lze využít malondialdehyd. Li et al. (2016) detekovali jeho zvýšený obsah v buňkách *M. aeruginosa* po jejich vystavení extraktům ze *Sagittaria trifolia*, obdobný efekt spolu s vyšším množstvím radikálu O_2^- pozorovali Zhang et al. (2011b) při interakci této sinice s extrakty z *Thalia dealbata* a Pei et al. (2018) při působení směsi *N*-fenyl-2-naftylaminu z *Eichhornia crassipes* a exudátů z *M. aeruginosa* na *Scenedesmus quadricauda*.

Oxidativní stres má dále vliv na enzymatické antioxidanty, mezi které patří superoxid dismutáza a peroxidáza. Ty jsou produkovány rostlinami k eliminaci ROS (Li et al., 2016). Li et al. (2016) pozorovali jejich zvýšené množství v *M. aeruginosa* po jejím vystavení alelochemikáliím, což dle nich naznačovalo aktivaci enzymů určených k detoxifikaci. Po 48 hodinách však aktivita superoxid dismutázy a peroxidázy poklesla v důsledku neustálé nadměrné produkce O_2^- a vyčerpání těchto antioxidantů. Podobný trend ukázal i neenzymatický antioxidant glutathion, jehož hladiny klesly po 72 hodinách vystavení oxidativnímu stresu. Zhang et al. (2011b) si v *M. aeruginosa* všimli obdobné tendence k nárůstu a následnému poklesu i u katalázy a glutathion peroxidázy.

ROS fungují také jako spouštěče programované buněčné smrti (PCD – programmed cell death). He et al. (2016) provedli kokultivační experimenty s *Myriophyllum spicatum* a *M. aeruginosa*, při kterých zaznamenali zvýšenou aktivitu proteáz z rodiny kaspáz. Ta indikuje, že vyšší mortalita *M. aeruginosa* v přítomnosti fenolických látek z *M. spicatum* byla způsobena PCD. Smrt buněk

provázely fragmentace DNA a změny v buněčné ultrastruktuře zahrnující rozpad thylakoidů a změnu hustoty cytoplazmy. Druhým možným spouštěčem je radikál NO. Dle He et al. (2016) větší produkce fenolických látek z *M. spicatum* vedla k větší tvorbě ROS a NO, které měly za následek zvýšenou aktivitu kaspáz 3, a tedy i PCD a vyšší mortalitu *M. aeruginosa*.

3.3.3. Změny fotosyntézy

Další mechanismus působení představuje ovlivnění fotosyntézy, zejména fotosystému II. V koexistenčních experimentech Zhu et al. (2010) došlo v přítomnosti *M. spicatum* k inhibici nefotochemického zhášení a kvantového výtěžku v *M. aeruginosa*. Tyto jevy korelují s imobilizací fykobilizomů a znemožnění jejich distribuce mezi fotosystémem I (PSI) a II (PSII) a snížením fotosyntetické kapacity, tedy schopnosti převádět světelnou energii na chemickou. Autoři dále poukázali na to, že kyselina gallová a pyrogallová z *M. spicatum* ovlivnily aktivitu celého elektrontransportního řetězce. Respirace a činnost PSI se naopak zvýšily, pravděpodobně z důvodu zajištění tvorby energie potřebné k opravě PSII a jeho ochraně proti nadbytku excitační energie.

Podobné efekty dokázali i Zhao et al. (2016) u *Chlorella vulgaris* po vystavení limonenu a eukalyptolu. Inhibici kvantového výtěžku a transportu elektronů v PSII doprovázelo snížení množství reakčních center v PSII a degradace fotosyntetických pigmentů, tedy omezení absorpce světla. Kořenové exudáty *Pistia stratiotes* zredukovaly v *M. aeruginosa* obsah fykocyaninu a snížily poměr fykocyaninu ku allofykocyaninu (Wu et al., 2015). Microcystin-LR v *Ceratophyllum demersum* způsobil vzrůst chlorofylu *b* a úbytek chlorofylu *a*, zároveň poklesla fotosyntetická produkce kyslíku (Pflugmacher, 2002). K poslednímu jmenovanému došlo i u *Anabaena* sp. po vystavení extraktům *M. spicatum* (Leu et al., 2002).

Dle Poulin et al. (2018) změna metabolismu lipidů v důsledku působení alelopatických látek vede také ke snížení fotosyntézy, a to skrze poškození membrán thylakoidů.

V pokusech Shao et al. (2009) pyrogallol podnítil v *M. aeruginosa* upregulaci exprese genu *psb*A, který kóduje protein D1 – klíčovou součást PSII. Zvýšená transkripce a translace mRNA pro *psb*A naznačuje negativní vliv pyrogallolu na fotosyntetické procesy. Yang et al. (2013) zjistili, že hydrochinon má potenciál snížit transkripci genů spojených s fotosyntézou (*psb*A, *psa*B) a respirací (*nad1* a *cob*) v mořské obrněnce *Phaeodactylum tricornutum*. *N*-fenyl-2-naftylamin dokázal v *M. aeruginosa* snížit přepis genů *psa*B, *psb*D1 kódující D2 protein tvořící reakční centrum v PSII a genu *rbc*L kódující podjednotku enzymu Rubisco (Qian et al., 2010). Dále polární sloučeniny z *Karenia brevis* způsobily v *Thalassiosira pseudonana* úbytek 12 proteinů spojených s fotosyntézou a zároveň stimulovaly β-oxidaci mastných kyselin, což dle Poulson-Ellestad et al. (2014) vyvolává v konkurentech *K. brevis* limitaci uhlíkem.

3.3.4. Vliv na bílkoviny

Karenia brevis podle výsledků Poulson-Ellestad et al. (2014) svými alelopatickými látkami mění tvorbu bílkovin, jež se podílí na nejrůznějších metabolických procesech a buněčných funkcích. Alelochemikálie zvýšily koncentraci proteinů souvisejících např. s transportem protonů proti elektrochemickému gradientu, transmembránovým přenosem iontů, oxidativní fosforylací a navázáním kofaktorů. Naopak snížení množství bílkovin se týkalo např. organizace buněčných makromolekulárních komplexů, uspořádání chromatinu, elektronového transportu a vázání iontů železa. Autoři pozorovali v *T. pseudonana* intenzivnější glykolýzu a syntézu a β-oxidaci mastných kyselin. Dále došlo k narušení fotorespirace a osmotické regulace, změně koncentrací některých aminokyselin a několika enzymů potřebných k replikaci DNA.

Alelopaticky aktivní látky působí i na extracelulární enzymy. Gross et al. (1996) ukázali, že extrakty z *M. spicatum* inhibují alkalickou fosfatázu (APA) v *Trichormus* var. P-9. Tento enzym slouží organismům k hydrolýze a využití organických sloučenin obsahujících fosfor, což jim umožňuje se vyhnout limitaci tímto prvkem. Obdobně extrakty ze *Stratiotes aloides* snížili aktivitu APA v *Anabaena variabilis* (Mohamed a Al Shehri, 2010). Dziga et al. (2009) zkoumali vliv pyrogallolu a hydrochinonu na extracelulární a membránově vázané enzymy. Konstatovali, že tyto dvě látky potlačují funkci APA, leucin aminopeptidázy a β-glukosidázy. Na druhou stranu Wu et al. (2007) si všimli, že při kultivaci *Scenedesmus obliquus* v přítomnosti *Potamogeton malaianus* došlo v případě nízké počáteční hustoty buněk této zelené řasy ke stimulaci aktivity APA, avšak při vysoké hustotě enzym nebyl vůbec ovlivněn. Bar-Yosef et al. (2010) zjistili, že *Aphanizomenon ovalisporum* při limitaci fosforem produkuje cylindrospermopsin, který indukuje zvýšenou tvorbu APA v ostatních druzích fytoplanktonu (*Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella* sp., *Debarya* sp.), a následně využívá fosfor uvolněný jejich aktivitou. Dle Zhang et al. (2017) i filtráty z *Chrysosporum ovalisporum*, taktéž produkující cylindrospermopsin, stimulovaly APA v *Microcystis panniformis*.

3.3.5. Druhová specifita účinků

Řada studií ukazuje odlišnou citlivost různých druhů k vylučovaným látkám (ať už jde o inhibici či stimulaci), a tedy že alelopatické účinky jsou druhově specifické (Fistarol et al., 2003; Fistarol et al., 2004; Suikkanen et al., 2005; Rengefors a Legrand, 2007; Zhang et al., 2011a; Rojo et al., 2013a; Pei et al., 2018). Dle Rengefors a Legrand (2007) by to mohlo být způsobeno genetickými a morfologickými rozdíly mezi cílovými organismy. Mezi takové morfologické odlišnosti patří tloušťka buněčné stěny a slizové obaly (Barreiro a Hairston, 2013). V experimentech Zhu et al. (2010) koexistence s *M. spicatum* ovlinila *M. aeruginosa*, ne však *Selenastrum capricornutum* – autoři to vysvětlují lišícím se fotosyntetickým aparátem sinic a zelených řas. Význam má podle Barreiro a Hairston (2013) i způsob výživy, kdy osmotrofové mohou přijmout alelochemikálie snáze než autotrofové.

Dle Hilt a Gross (2008) bývají rozsivky a sinice více inhibovány než méně citlivé zelené řasy, což souhlasí i s výsledky Mähnert et al. (2017). Dle pozorování Pełechata a Pełechaty (2010) však

přítomnost *Ceratophyllum demersum* snížila abundanci skrytěnek, obrněnek, zlativek a zelených řas, ale sinice zůstaly neovlivněny. V pokusech Fistarol et al. (2003) se sinice a obrněnky ukázaly odolnější vůči *Prymnesium parvum* než rozsivky a nálevníci. Efekt alelochemikálií může záležet na příbuznosti druhů. Fistarol et al. (2004) ukázali, že filtráty z *Alexandrium* spp. (Dinoflagellata) stimulovaly obrněnky a inhibovaly ostatní druhy planktonu, a tudíž mohou významně měnit strukturu společenstva.

3.4. Podmínky ovlivňující efekt alelopatických látek

Výsledky mnoha studií naznačují, že alelopaticky aktivní látky působí různými způsoby na více místech a úrovních organizace organismu zároveň (Pflugmacher, 2002; Li a Hu, 2005; Mohamed a Al Shehri, 2010; Zhao et al., 2016; Zhang et al., 2017). Dle Zhu et al. (2010) jsou ale koncentrace alelochemikálií vyloučených vodními makrofyty do prostředí nižší než jejich účinné koncentrace EC_{50}. To potvrzují i Gao et al. (2011), kteří kvantifikovali jednotlivé fenolické látky v tkáních a roztoku kultury *Hydrilla verticillat*a a *Vallisneria spiralis* a změřili za použití *M. aeruginosa* EC_{50} pro každou z těchto sloučenin. Zjistili, že jen zlomek z nich se dostal do prostředí a toto množství proporčně neodpovídalo koncentracím v tkáních a ani nedosahovalo EC_{50}. Avšak při testování účinků směsí detekovaných fenolických látek se projevily aditivní a synergické účinky alelochemikálií. Obdobný kombinovaný vliv polyfenolů z *M. spicatum* pozorovali i Zhu et al. (2010). Jejich výsledky nasvědčují tomu, že vlastnosti, poměry a počet alelochemikálií se významně podílí na výsledném efektu.

Nicméně i přes působení více látek najednou jejich koncentrace zůstává důležitým faktorem a závislost efektu na ní dokázala řada autorů (Gross et al., 1996; Li a Hu, 2005; Mohamed a Al Shehri, 2010; Zhang et al., 2011b; Li et al., 2016; Zhao et al., 2016; Fong et al., 2019). Dle Zhu et al. (2010) se s rostoucí biomasou *M. spicatum* zvyšovala i inhibice *M. aeruginosa*, vliv množství *Potamogeton malaianus* zaznamenal také Wu et al. (2007). Avšak podle Barbosa et al. (2022) větší biomasa *Egeria densa* nezpůsobila silnější efekt na *Raphidiopsis raciborskii*, protože došlo k větší vnitrodruhové kompetici mezi jedinci *E. densa*, což tyto rostliny znevýhodnilo a naopak podpořilo *R. raciborskii*.

Rozličné faktory prostředí mají potenciál ovlivnit produkci a transport alelochemikálií a narušit tak alelopatické interakce. Tran et al. (2020) pozorovali biochemické odpovědi *Azolla* spp. na kombinaci různých environmentálních podmínek a stresu a dle jejich výsledků došlo ke zvýšení tvorby fenolických látek, antokyanů, flavonoidů, kondenzovaných taninů a sacharidů. Naopak koncentrace lipidů a bílkovin poklesly.

3.4.1. Abiotické faktory

Nakai et al. (2014) zkoumali, jak se mění inhibice *M. aeruginosa* zprostředkovaná pěti polyfenoly a třemi mastnými kyselinami z *M. spicatum* v závislosti na teplotě a světelné intenzitě. Zjistili, že k největšímu potlačení růstu došlo při nižší teplotě a ozářenosti. Podle autorů k rozdílné reakci cílového organismu vedly možné změny v degradaci alelochemikálií nebo změny v senzitivitě *M. aeruginosa*. Jejich výsledky naznačují, že inhibice této sinice by během léta mohla poklesnout, avšak

autoři zároveň upozorňují, že jejich výzkum neuvažoval možný vliv teploty a intenzity na míru vylučování alelopatických látek donorem.

Erhard a Gross (2005) poukázaly na proměnlivost produkce sekundárních metabolitů v *Elodea nuttallii*, kdy vyšší teplota negativně ovlivnila všechny fenolické látky kromě luteolin diglukuronidu. Avšak Zhang et al. (2019) žádný vliv teploty na celkový obsah fenolů v *Potamogeton lucens*, *Vallisneria spiralis* ani *E. nuttallii* nezaznamenali. Teplota dále působí na aktivitu enzymů, a tedy i na náchylnost fytoplanktonu vůči alelopatickým látkám, a bakterie, tudíž i na biodegradaci těchto sloučenin a na interakce mezi bakteriemi a fytoplanktonem, jež mohou alelopatický efekt narušit (Bauer, 2011).

Rozpuštěné organické látky ve vodním prostředí, včetně těch vylučovaných rostlinami, podléhají fotooxidaci, která vede k tvorbě anorganických sloučenin. Dle Farjalla et al. (2001) rychlost a míra fotolýzy závisí na chemickém složení látek (např. obsahu kyslíku), energii záření a době trvání ozáření, čímž autoři vysvětlují odlišnou fototransformaci výluhů z *Phragmites australis* a *Hydrocaris morsus-ranae*. Za různých podmínek tedy vznikají různé produkty, což má vliv na jejich biologickou dostupnost pro bakterie, a tudíž i na jejich další přeměny v prostředí. Účinkem světla se z alelochemikálií mohou tvořit sloučeniny rekalcitrantní (např. huminové látky), dále s vysokou molekulovou hmotností, anebo s nízkou molekulovou hmotností, přičemž poslední jmenované jsou snadno biodegradovatelné (Bauer, 2011). Zároveň dochází k poklesu celkových fenolických látek a SUVA (specifická UV absorbance). Nicméně, dle Bauer (2011) i tak může alelopatický efekt přetrvat, a to díky rekalcitrantním produktům fototransformace, jež odolávají bakteriálnímu rozkladu.

Dle Nakai et al. (2014) množství záření ovlivňuje senzitivitu organismů. Senavirathna et al. (2021) ukázali, že interakce mezi *Egeria densa* a *M. aeruginosa* je funkcí světelné intenzity a oba extrémy (nižší i vyšší intenzita záření mimo optimální rozmezí) zvyšují stres *M. aeruginosa* a tím prohlubují alelopatický efekt *E. densa*. Dle Smolders et al. (2000) slouží rostlinám fenolické látky jako ochrana proti UV záření, tedy jeho větší množství vede ke značnějšímu obsahu těchto substancí. S tím souhlasí výsledky Cronin a Lodge (2003), podle kterých se obsah fenolů v *Potamogeton amplifolius* zvýšil při větší dostupnosti světla. Nicméně studie Gross (2003b) ukázala, že ačkoliv více světla vyvolalo zvýšení koncentrací fenolických látek v tkáních i exudátech *M. spicatum*, zároveň došlo ke snížení obsahu tellimagrandinu II (hlavní alelopaticky působící látky v této rostlině). Při nižší ozářenosti naopak poměr tellimagrandinu II vzrostl. Současně, ač za horších světelných podmínek *M. spicatum* vylučuje méně fenolů, jejich relativní zastoupení vůči celkovému rozpuštěnému organickému uhlíku v mediu se zvýšilo. To může této rostlině pomoci při kompetici o světlo v případě zastínění okolním fytoplanktonem a epifyty.

Dle Reigosa et al. (1999) limitace živinami působí jako stres a prohlubuje tak alelopatický efekt skrze intenzivnější produkci alelochemikálií nebo větší náchylnost cílových organismů. Mulderij et al. (2007a) ale ukázali, že limitace fosforem a draslíkem naopak snížila citlivost *Synechococcus elongatus* a *Scenedesmus obliquus* vůči látkám ze *Stratiotes aloides*, a dokonce pozorovali stimulační účinky extraktů z této rostliny při limitaci živinami. To autoři vysvětlují tím, že extrakty posloužily testovanému

fytoplanktonu jako zdroj potřebných nutrientů. Vanderstukken et al. (2014) nezjistili žádný vliv živin na efekt *Elodea nuttallii*.

Při větším množství nutrientů byly koncentrace fenolů v *Potamogeton amplifolius* v listech vyšší, ale obsah v kořenech se nezměnil (Cronin a Lodge, 2003). Zároveň došlo ke zvýšení obsahu dusíku v tkáních, a tedy snížení C/N poměru. Autoři si ale všimli, že nízký C/N poměr způsobený nedostatkem světla na rozdíl od nízkého C/N poměru vyvolaného nadbytkem živin vedl ke snížení koncentrací fenolů. Dle Gross (2003b) při vyšší dostupnosti dusíku klesl obsah tellimagrandinu II, současně ale celkový rozpuštěný organický uhlík a celkové fenoly v *M. spicatum* zůstaly nezměněny.

Gao et al. (2020) zkoumali vliv alkality na inhibici *M. aeruginosa* pyrogallolem. Jejich experimenty dokázaly, že toxicita této látky roste se stoupající alkalitou kultivačního media a zároveň dochází ke zvýšené autooxidaci pyrogalllolu. Vznikají tak nejen ROS, ale i produkty vykazující vyšší efekt na *M. aeruginosa*. Dle Bährs et al. (2013) účinek hydrochinonu na fytoplankton závisí na pH. Ze začátku oxidace této sloučeniny vede ke zvyšování její toxicity, avšak při vysokém pH může dojít k polymerizaci a vzniku huminových látek, jež zcela ztrácí alelopatický účinek. Dle jejich výsledků při pH = 7 zůstává inhibiční efekt hydrochinonu stabilní, ale při pH = 11 rychle vymizel. To souhlasí s výsledky Laue et al. (2014), podle kterých pH >10 vedlo k polymerizaci alelochemikálií způsobující jejich nižší biologickou dostupnost. Schmidt a Hansen (2001) se zabývali vlivy na produkci alelopatických látek v *Chrysochromulina polylepis*. Poukázali na to, že vysoké pH může snížit dostupnost anorganického uhlíku v podobě CO_2 a omezit tak produkci metabolitů obsahujících tento prvek.

Hodnota pH dále způsobuje různou míru adsorpce látek na sedimenty skrze ionizaci jednotlivých funkčních skupin (např. karboxylové a aminoskupiny), což ovlivňuje výsledný náboj a hydrofobicitu sloučeniny. Míra adsorpce je závislá i na obsahu organické hmoty v sedimentech, která efektivně váže aromatické sloučeniny s benzenovým jádrem a tvorbou komplexů s přítomnými látkami ovlivňuje jejich mobilitu v prostředí (Munusamy et al., 2012).

3.4.2. Biotické faktory

Dle Bauer (2011) bakterie interferují *in situ* skoro se všemi environmentálními faktory a komplikují tak studium alelopatie. Tyto organismy mohou transformovat jednotlivé alelopatické látky, ale i produkty jejich předešlých přeměn, a využívat je jako substrát. Bakteriální aktivita se však odvíjí od řady proměnných, jakými jsou např. teplota, záření, interakce s dalšími organismy a molekulová hmotnost dostupných látek. Sloučeniny s vysokou molekulovou hmotností jsou pro bakterie hůře dostupné než s nízkou molekulovou hmotností.

Experimenty Bauer (2011) ukázaly, že v přítomnosti menšího počátečního množství fytoplanktonu kyselina tříslová slouží bakteriím jako substrát, čímž dochází k zeslabení alelopatického efektu této látky. Avšak v případě většího množství fytoplanktonu bakterie preferenčně využívají jeho exudáty, což vede k vyšším koncentracím kyseliny tříslové v prostředí, a tedy větší inhibici. Dle Müller

et al. (2007) některé bakterie asociované s *M. spicatum* (např. *Matsuebacter* sp. FB25) dokážou využívat vylučované polyfenoly jako výhradní zdroj uhlíku a energie, což vysvětluje rychlý zánik tellimagrandinu II. Dle autorů však nelze říct, zda bakterie zcela potlačují účinek alelopatických látek, protože to záleží nejen na jejich degradaci, ale i míře produkce a uvolňování.

Bauer (2011) dále poukazuje na to, že tyto organismy mohou měnit prostředí řas v tzv. fykosféře, což je kontaktní zóna fytoplanktonu s okolím sloužící některým specializovaným bakteriím jako habitat. Biofilm bakterií ve fykosféře tvoří bariéru mezi alelochemikáliemi a řasami a brání tak působení metabolitů. Avšak bakterie mají potenciál fytoplanktonu i škodit a zvýšit jeho náchylnost k alelopatii lytickou a parazitickou aktivitou, kompeticí o živiny a produkcí toxických vedlejších produktů. Fistarol et al. (2003) uvádí, že lýza buněk řas zasažených alelopatickými látkami zvyšuje koncentrace organických látek, což vede k dalšímu nárůstu bakterií. Bauer (2011) tedy shrnuje, že alelopatické interakce jsou značně ovlivněny nejen vztahy mezi bakteriemi a fytoplanktonem, ale také jejich vzájemným poměrem a složením bakteriálního společenstva.

Další faktor představuje herbivorie a vliv přítomné fauny. Lemoine et al. (2009) ukázali, že spásání sladkovodním plžem *Lymnaea stagnalis* vedlo ke zvýšení obsahu fenolů v *M. spicatum*, ale v *Elodea canadensis* a *Elodea nuttallii* změna nenastala. Zároveň herbivorie vyvolala v *E. canadensis* a *M. spicatum* růst více výhonků, což by u druhé jmenované rostliny mohlo vysvětlit větší množství fenolů, protože dle Gross (2000) její apikální meristémy obsahují vyšší koncentrace těchto látek. Přítomnost bentické fauny zahrnující zástupce kroužkovců (*Limnodrilus hoffmeisteri*), hmyzu (*Chironomus plumosus*), korýšů (*Palaemonetes sinensis*) a měkkýšů (*Corbicula fluminea*) v experimentech Zuo et al. (2016) zvýšila alelopatický efekt *Potamogeton crispus*, *Typha angustifolia*, a *Nymphoides peltatum* vůči *M. aeruginosa*. To by dle autorů mohlo být výsledkem produkce vlastních metabolitů těchto organismů, spásání fytoplanktonu nebo stimulace růstu testovaných makrofyt. Obdobně kombinace dravého zooplanktonu (*Stentor polymorphus*, *Brachionus calyciflorus*, *Acartia spinicauda* a *Moina macrocopa*) a *N. peltatum* vykázala vyšší inhibici *M. aeruginosa* a *Chlorella pyrenoidosa* (Zuo et al., 2015).

Podle výsledků Poulson et al. (2010) přítomnost dalších kompetitorů může zvýšit náchylnost cílových organismů vůči alelopatii. Na význam mezidruhových interakcí poukázali i Pei et al. (2018), kteří zjistili, že ač alelochemikálie z *Eichhornia crassipes* inhibují izolovaně *Scenedesmus quadricauda* i *M. aeruginosa*, ve společné kultuře obou druhů dojde ke zvýšení alelopatického efektu *M. aeruginosa* vůči *S. quadricauda*, což vede k větší úspěšnosti této sinice. Experimenty Chang et al. (2012) dokonce překvapivě odhalili, že v přítomnosti *Myriophyllum verticillatum* a zelené řasy *Desmodesmus armatus* byla *M. aeruginosa* stimulována, ačkoliv při absenci *M. verticillatum* zmíněná řasa tuto sinici potlačila. Také Barbosa et al. (2022) zjistili, že řasa *Chlorella vulgaris* snižuje negativní účinek *Egeria densa* na sinici *Raphidiopsis raciborskii*.

Dle Carey a Rengefors (2010) má hustota cílového organismu vliv na efekt alelochemikálií, kdy se při velkém množství buněk akceptora na každou dostane méně metabolitů vyloučených donorem,

tedy účinek bude nižší. To však neodpovídá pozorování Rengefors a Legrand (2007), kdy při vyšší počáteční hustotě buněk cílového organismu nastal větší efekt. Poulson et al. (2010) poukazují na to, že odolnost akceptora může ovlivnit i poměr plochy ku objemu buňky či vlákna, kdy alelochemikálie napadají rychleji ty s menšími rozměry. Tento poměr se však během růstu cílového organismu mění, proto je i náchylnost akceptora proměnlivá během různých růstových fázích.

4. Potenciál kontroly vodního květu pomocí alelopatie vodních rostlin

Výsledky řady studií ukazují, že vodní rostliny mají potenciál potlačit rozvoj vodního květu pomocí vylučování alelopaticky aktivních látek. Mezi nejhojněji se vyskytující submerzní makrofyta patří druhy *Myriophyllum*, *Ceratophyllum*, *Elodea*, *Najas*, *Stratiotes* a zástupci Charophyta, přičemž všechny jmenované se zároveň řadí mezi alelopaticky nejaktivnější druhy (Mohamed, 2017). Dle Hilt a Gross (2008) však byla většina experimentů prokazujících schopnost alelopatických vodních rostlin inhibovat škodlivý fytoplankton prováděna v laboratořích a skutečný důkaz potvrzující význam alelopatie *in situ* stále chybí. Zjištění relevance alelopatie na úrovni ekosystémů totiž značně ztěžuje druhová specifita účinků alelochemikálií a faktory prostředí, jež ovlivňují produkci a přeměny těchto látek a senzitivitu cílových organismů.

Hu a Hong (2008) a Zhu et al. (2021) navrhli více způsobů využití alelopatie vodních rostlin v praxi. Jednou možností je přímé vysazování těchto rostlin, což by umožnilo kontinuální uvolňování alelochemikálií rovnou do prostředí k cílovým organismům. Avšak tato metoda může být hodně finančně a časově náročná, vyžadujíc neustálý management. Druhou alternativu představuje aplikace samotných alelopatických metabolitů, umožňující snadnou a rychlou kontrolu vodního květu. Na druhou stranu jejich efekt rychle vymizí v důsledku degradace látek.

Dále je potřeba před využitím vodní vegetace ke kontrole škodlivého fytoplanktonu zvážit řadu faktorů, např. výběr rostlin vhodných pro dané místo při daných podmínkách prostředí, zda se k akceptorům dostane dostatečné množství alelochemikálií, účinek těchto substancí na necílové organismy, reakce druhů vodního květu na působení metabolitů a možné důsledky pro fungování ekosystému jako celku.

4.1. Vysazování alelopatických rostlin

Potenciální role alelopatie ve vodních ekosystémech zůstává stále nejasná a dle Mulderij et al. (2007b) za to může její prolínání s dalšími jevy způsobenými přítomností vodních rostlin, jako např. stínění, kompetice o živiny a snížení resuspenze sedimentů (což vede k menšímu uvolňování živin ze sedimentů zpět do vodního sloupce). Relativní význam těchto procesů při potlačování vodního květu závisí na jednotlivých vodních nádržích i druzích hydrofyt. Experimentů studujících využití alelopatických rostlin k potlačení vodního květu v přírodních podmínkách je málo, a ne vždy dokážou

od sebe oddělit efekty jednotlivých jevů (více budou rozebrány v kapitole *5. Experimenty umožňující studium alelopatie*).

Podle Rojo et al. (2013b) odolnost a náchylnost fytoplanktonu vůči makrofytům záleží na druhovém složení společenstva obou zmíněných. Dle jejich laboratorních experimentů s exudáty alelopatická vegetace složená z více druhů (konkrétně *Chara hispida*, *C. vulgaris*, *C. baltica*, *Nitella hyalina* a *Myriophyllum spicatum*) působí více inhibičně než jednotlivé monokultury těchto rostlin.

K interakcím ale dochází i mezi samotnými hydrofyty, kdy se jejich vzájemné vztahy mohou měnit od facilitace ke kompetici v závislosti na přítomných druzích vodních rostlin, jejich poměru a množství živin. Jako nejvhodnější k vysazování v eutrofizovaných nádržích Hao et al. (2013) uvádí *M. spicatum* a *Potamogeton maackianus*, a to v poměru 1:3, při němž dochází k největší produkci biomasy těchto rostlin a k nejsnazší facilitaci umožňující kolonizaci vodních ekosystémů makrofyty.

4.1.1. Vliv abiotických podmínek nádrží na využití alelopatických rostlin

Rozvoj vodního květu doprovází specifické podmínky prostředí, které mohou ovlivnit výsledný alelopatický efekt. Dle Nakai et al. (2014) *Microcystis* dominuje během léta, při vysokých teplotách a intenzitách záření. Za takových laboratorních podmínek však autoři zaznamenali nižší schopnost *M. spicatum* inhibovat růst této sinice. Na druhou stranu větší množství fytoplanktonu může způsobit stínění submerzních makrofyt, což vyvolá rychlejší růst a uvolňování alelopatických látek (Gross, 2003a).

Nástup vodního květu souvisí s eutrofizací nádrží, tedy větším přísunem především dusíku a fosforu do vod (Drábková, 2007), což některým druhům nemusí vyhovovat. Výběr makrofyt, které využijeme k alelopatickému potlačení přemnoženého fytoplanktonu, je proto potřeba přizpůsobit množství živin v daném systému. Jako vhodnější se jeví krytosemenné rostliny ve srovnání se zástupci Charophyta, protože dle Blindow et al. (2014) dobře snáší vyšší koncentrace živin, zatímco druhá jmenovaná skupina upřednostňuje jejich menší množství. Podle Zhang et al. (2022) se v eutrofizovaných nádržích často vyskytují rostliny se strategií rychlého růstu (např. *Hydrilla verticillata*), jež mají nízkou homeostázu fosforu (tzn. obsah fosforu v jejich tkáních se mění s obsahem tohoto prvku v prostředí). Tato strategie jim umožňuje přerůst a zastínit rostliny s vysokou homeostázou fosforu (tedy konstantním obsahem fosforu ve tkáních nezávislým na jeho množství v prostředí), které rostou pomaleji (např. *P. maackianus*). Autoři však zjistili, že *P. maackianus* dokáže inhibovat fytoplankton lépe než *H. verticillata* a navrhují, že změna společenstva rostlin upřednostňující druhy s vysokou homeostázou fosforu by mohla zvýšit průhlednost vod.

Gao et al. (2020) poukázali na fakt, že řada experimentů využívá při kultivaci BG-11 medium (růstové medium používané pro kultivaci řas a sinic s definovaným obsahem živin a pH = 7,2; George et al., 2014), jehož alkalita neodpovídá alkalitě většiny jezer, což má pak důsledky pro inhibiční účinky alelochemikálií. Podle Moss et al. (2003) pH v eutrofizovaných nádržích během dne poměrně běžně přesahuje hodnotu 10, což by dle Bährs et al. (2013) mělo vést k vymizení efektu alelopatických látek

v důsledku jejich polymerizace. Na druhou stranu v mezokosmových experimentech Švanys et al. (2014) s *M. spicatum* došlo k alelopatickému potlačení fytoplanktonu i přes nárůst pH nad tuto hodnotu.

S pH souvisí i druhová skladba makrofyt (Vestergaard a Sand-Jensen, 2000), kdy se v jezerech s vyšší alkalitou objevují jedny z alelopaticky nejaktivnějších druhů *Ceratophyllum demersum* a *Myriophyllum spicatum*. Zároveň zde ale najdeme i druhy s nižším alelopatickým potenciálem jako *Potamogeton lucens*, *P. pectinatus* a *P. crispus* (Vestergaard a Sand-Jensen, 2000; Hilt a Gross, 2008).

4.1.2. Vliv velikosti populace makrofyt a sezóny na alelopatický účinek

Při vysazování alelopatických rostlin musíme uvážit, zda produkují dostatečné koncentrace alelochemikálií. Dle Hilt a Gross (2008) k negativním efektům na fytoplankton došlo při pokrytí vodních nádrží makrofyty od 3 do 100 % plochy. Účinek však nezpůsobila jen alelopatie, ale i další mechanismy, např. kompetice o světlo a živiny, spásání zooplanktonem a snížená resuspenze. Na základě řady laboratorních koexistenčních experimentů autoři usuzují, že k dosažení dostatečně významného alelopatického efektu je potřeba biomasa o přibližném množství 80 až 800 g suché váhy m^{-2} ve vodě hluboké 1 metr. Tyto hodnoty podle Hilt a Gross (2008) submerzní rostliny v mělkých eutrofizovaných nádržích snadno přesáhnou. Podle modelu Mulderij et al. (2007b) je alelopatický efekt přímo úměrný biomase rostlin, autoři však upozorňují, že v něm nezahrnuli vliv sezonality produkce metabolitů, difuzi a rozklad těchto látek. Produkovaná biomasa se navíc odvíjí od druhu hydrofyt. Blindow et al. (2014) ukázali, že v jezerech, kde dominují krytosemenné rostliny, bývají nižší hustoty vegetace a biomasy než v ekosystémech s převládajícími Charophyta. Výsledky studie Barbosa et al. (2022) zkoumající inhibici *Raphidiopsis raciborskii* působením *Egeria densa* ale ukazují, že příliš velká biomasa makrofyt může vést k vyšší vnitrodruhové kompetici, a tedy podpoření fytoplanktonu.

Vylučování alelopatických látek navíc vykazuje sezónní dynamiku, protože souvisí s vývojovou fází makrofyt. Dle Mulderij et al. (2005) mladší rostliny *S. aloides* dokážou inhibovat *Scenedesmus obliquus* účinněji než starší. Autoři to vysvětlují tím, že mladí jedinci musí při růstu ke hladině překonat kompetici o světlo a živiny, zatímco starší již plovou na povrchu vody, kde je světlo nelimituje. To potvrzuje i Bauer (2011) u *M. verticillatum*, podle níž k největší produkci alelopatických fenolů došlo v průběhu května při růstu této rostliny ode dna ke hladině. Erhard a Gross (2005) detekovaly v srpnu v *E. nuttallii* větší množství sekundárních metabolitů než v září a říjnu. Naopak dle Zuo et al. (2016) u *Potamogeton crispus*, *Typha angustifolia*, a *Nymphoides peltatum* došlo k maximální inhibici fytoplanktonu během senescence a k minimální během klíčení.

4.2. Využití samotných alelopatických látek

Dle Hu a Hong (2008) extrakce alelochemikálií a jejich přímá aplikace do vodních nádrží teoreticky představuje snadnou a rychlou metodu kontroly vodního květu. Samotné metabolity by navíc mohly být syntetizovány uměle bez pěstování alelopatických rostlin, přičemž během procesu výroby by bylo možné zvýšit jejich účinnost. Velkou výhodu těchto látek ve srovnání s jinými algicidy vidí Jančula

a Maršálek (2011) v tom, že se jedná o biodegradabilní přírodní produkty, které se neakumulují v prostředí, a navíc jsou účinné i při nízkých koncentracích. Na druhé straně však stojí jejich komplikovaná, a tedy i drahá produkce. To také nejspíš představuje důvod, proč se studie zabývající se využitím samotných alelopatických metabolitů provádí především v laboratořích. Navíc u řady alelochemikálií stále neznáme jejich potenciální toxické účinky na necílové organismy (Jančula a Maršálek, 2011).

Techer et al. (2016) provedli mezokosmový experiment v přírodních podmínkách s kyselinou gallovou a pelargonovou, přičemž cílem autorů bylo zjistit využitelnost těchto dvou látek v praxi vzhledem k jejich zjištěným inhibičním účinkům a dobré komerční dostupnosti. Kyselina pelargonová nevykázala v podstatě žádné negativní působení na sinice. Naproti tomu kyselina gallová dokázala jejich růst alespoň částečně potlačit a zároveň nedošlo k žádným škodlivým účinkům na necílové organismy. Nicméně v testovaném společenstvu fytoplanktonu se nevyskytovaly žádné toxické druhy sinic a dle autorů je otázkou, zda by samotná alelopatie stačila k omezení rozvoje vodního květu a zda by nebyla lépe využita spíše jen jako komplementární metoda k jiným postupům.

Dle Gao et al. (2017) účinek záleží na dávkování alelopaticky aktivních látek. Při opakované aplikaci nízkých koncentrací *N*-fenyl-2-naftylaminu došlo k výraznější a dlouhodobější inhibici *Microcystis aeruginosa* ve srovnání s jednorázovým přídavkem o vyšší koncentraci, ač výsledné celkové množství látky bylo stejné. Autoři to vysvětlují tím, že první zmíněný způsob vede ke kontinuálnímu dlouhodobému stresu akceptora, kdy koncentrace *N*-fenyl-2-naftylaminu byly sice nižší, ale stabilní. Naopak při jednorázové dávce obsah této sloučeniny rychle poklesl a s ním i jeho inhibiční účinky, což vedlo k regeneraci kultury *M. aeruginosa*.

Poznatky ohledně dávkování vedou k pokusům vytvořit prostředky, které by umožnily kontinuální aplikaci alelochemikálií do prostředí. Ni et al. (2015), Huang et al. (2016) a Li et al. (2021) se zabývali vývojem tzv. mikrosfér, jež dokážou postupně uvolňovat v sobě zabudované alelopatické látky (konkrétně kyselinu linolovou, 5,4′-dihydroxyflavon a luteolin), čímž napodobují přirozené vylučování těchto metabolitů rostlinami. Tyto mikrosféry obsahují kromě uvedených alelochemikálií netoxické a biodegradabilní přírodní materiály (polysacharidy chitosan a alginát sodný), a proto představují k přírodě šetrnou metodu aplikace alelochemikálií (Huang et al., 2016). Zároveň dosahují ve srovnání s uvedenými sloučeninami v čisté formě vyšší účinnosti, kdy míra inhibice *M. aeruginosa* přesahuje 90 %. Efekt je navíc dlouhodobý – luteolin dokázal potlačovat *M. aeruginosa* po dobu 49 dní (Li et al., 2021) a 5,4′-dihydroxyflavon inhiboval sinice do posledního, tedy 30. dne experimentu (Huang et al., 2016). Dle modelu Huang et al. (2016) by optimálně připravené mikrosféry mohly vylučovat alelochemikálie až 120 dní, což by pokrylo celé období sinicového květu. Technologie mikrosfér má tedy řadu výhod, avšak její aplikaci *in situ* brání zatím ne zcela prozkoumaná potenciální rizika vůči životnímu prostředí (Li et al., 2023a).

4.3. Rizika využití alelopatie ke kontrole vodního květu

Vysazování alelopaticky aktivních rostlin má potenciál ovlivnit řadu dějů ve vodních ekosystémech, od fyzikálních vlastností prostředí (Zeng et al., 2022) přes cykly prvků (Weisner et al., 1994; Horppila a Nurminen, 2005; Brothers et al., 2013) po druhové složení společenstva organismů (Blindow et al., 2014). Někdy se jedná o pozitivní změny – např. redukce uvolňování fosforu ze sedimentů snižuje vnitřní zatížení vodních ekosystémů tímto prvkem (Horppila a Nurminen, 2005) a rozvoj fytoplanktonu vhodného pro spásání zooplanktonem vede k nižší turbiditě (Rojo et al., 2013b). Současně však využití alelopatie může způsobit řadu negativních efektů jako šíření invazních druhů, ovlivnění necílových organismů a uvolnění cyanotoxinů do prostředí.

4.3.1. Invazní druhy alelopatických rostlin

Před samotným využitím a vysazováním alelopatických rostlin je potřeba zvážit jejich původnost v daném prostředí. Dle Muthukrishnan a Larkin (2019) přítomnost invazních druhů vede k biotické homogenizaci (tedy snížení odlišnosti společenstev) a ztrátě diverzity. Dále invadovaná jezera vykazují nestálé druhové složení společenstva ve srovnání s jezery s původními druhy, což může vést ke změnám ve fungování a stabilitě ekosystémů. Řada alelopatických rostlin patří v některých evropských zemích mezi nepůvodní – např. *Ceratophyllum demersum*, *Egeria densa*, *Eichhornia crassipes*, *Elodea canadensis*, *E. nuttallii*, *Hydrilla verticillata*, *Pistia stratiotes*, *Stratiotes aloides* a *Vallisneria spiralis* (Hussner, 2012). Dle Pergl et al. (2016) se *E. canadensis* a *E. nuttallii* řadí mezi druhy, které se v České republice zatím divoce nevyskytují, ale je potřeba je v rámci prevence monitorovat.

4.3.2. Vliv alelopatie na necílové organismy

Dopady využití alelopatických metabolitů na necílové organismy záleží na formě jejich aplikace – tedy zda byla použita jedna větší dávka, více menších opakovaných či mikrosféry (Li et al., 2023a, 2023b). Li et al. (2023b) zkoumali v laboratoři vedlejší efekty kyseliny gallové a pyrogallolu na úmrtnost, příjem potravy, trávení a asimilaci *Daphnia magna*. Jejich výsledky ukázaly, že vyšší jednorázová a nižší opakovaná dávka působily ve všech zkoumaných případech negativně, přičemž první jmenovaná účinkovala vždy toxičtěji. To autoři vysvětlují tím, že nižší opakovaná dávka zvyšuje toleranci a adaptibilitu *D. magna*. Mikrosféry měly naopak pokaždé pozitivní účinek. Dle Li et al. (2023a) aplikace samotných alelopatických látek v laboratorních podmínkách negativně snížila obsah chlorofylu, poškodila fotosyntetický aparát, zvýšila oxidativní stres a ovlivnila růst *Vallisneria natans*, zatímco mikrosféry neměly téměř žádný negativní efekt. Techer et al. (2015) ukázali, že kyselina gallová a pelargonová mohou působit nepříznivě na ryby (konkrétně *Danio rerio*), ale až při vyšších koncentracích – první jmenovanou lze tedy považovat za prakticky netoxickou (96-h LC_{50} > 100 mg/L) a druhou za mírně toxickou (96-h LC_{50} odpovídá 81,2 mg/L). Pro srovnání Gao et al. (2017) používali koncentrace alelochemikálií 2,5 mg/L, Techer et al. (2016) nejvýše 4 mg/L a Li et al. (2023a, 2023b)

15 mg/L, tedy několikanásobně nižší koncentrace než LC_{50} pro kyselinu gallovou a pelargonovou zjištěné Techer et al. (2015). Techer et al. (2016) při použití těchto dvou látek nezaznamenali žádné negativní účinky na zástupce ryb (*Scardinius erythrophthalmus*), korýšů (*Gammarus roeseli*) a ani na zástupce plžů (*Physa marmorata* a *Lymnaea stagnalis*). Díky specifitě alelopatických látek tak dle autorů nedochází ke změnám primární produktivity systému.

4.3.3. Uvolňování cyanotoxinů do prostředí

Řada studií ukazuje, že využití alelopaticky aktivních látek při kontrole vodního květu může vést ke zvýšení koncentrací cyanotoxinů (zejména mikrocystinů) ve vodě. Nelze však obecně říct, zda alelochemikálie přímo stimulují produkci těchto nebezpečných toxinů nebo jen indukují jejich uvolnění do prostředí.

Dle Hu et al. (2014) vystavení *M. aeruginosa* limonenu vedlo k vyloučení cyanotoxinů do media, tedy k navýšení extracelulárního mikrocystinu, které bylo dle autorů přímo úměrné počtu mrtvých sinicových buněk. Sám limonen však produkci tohoto toxinu nestimuloval. Naproti tomu *N*-fenyl-2-naftylamin zvýšil po 96 hodinové expozici transkripci *mcy*A, genu spojeného se syntézou mikrocystinu (po pouhých 48 hodinách však ke změně přepisu genu nedošlo; Qian et al., 2010). Obdobný efekt na gen *mcy*B zjistili i Shao et al. (2009) při působení pyrogallolu na *M. aeruginosa*. Dle výsledků Ni et al. (2015) stres způsobený kyselinou linolovou vedl ke zvýšení koncentrací intracelulárního mikrocystinu, přičemž při použití mikrosfér došlo k významnějšímu nárůstu než v případě čisté kyseliny linolové. Na druhou stranu mikrosféry vyvolaly menší uvolnění cyanotoxinu do media než čistá chemikálie a než kontrola bez alelochemikálie. Vliv způsobu aplikace zaznamenali i Li et al. (2021). Podle autorů mikrosféry obsahující luteolin způsobily nižší expresi syntetáz mikrocystinu (*mcy*A, *mcy*B, *mcy*C, *mcy*I, *mcy*J), a tedy redukovaly uvolňování toxinů z *M. aeruginosa*, zatímco čistý luteolin vylučování mikrocystinu naopak zvýšil. Barbosa et al. (2022) si všimli, že extrakty z *Egeria densa* vedly k významnější produkci saxitoxinů v *Raphidiopsis raciborskii*, zatímco fyzická přítomnost této rostliny jejich produkci snížila. Zároveň poukázali na to, že množství toxinů může zvýšit i přítomnost dalších konkurentů (konkrétně *Chlorella vulgaris*).

Zvýšené koncentrace mikrocystinů mohou negativně ovlivnit některá makrofyta, např. *Lemna japonica* (Jang et al., 2007), *Ceratophyllum demersum* a *Myriophyllum spicatum* (Pflugmacher, 2002). Na druhou stranu experimenty Pflugmacher et al. (2001) a Romero-Oliva et al. (2014) ukázaly, že *Phragmites australis*, *Eichhornia crassipes*, *Typha* sp. a *Hydrilla verticillata* dokážou mikrocystiny přijmout a snížit tak jejich množství ve vodě skrze biotransformaci a akumulaci těchto toxinů ve tkáních. Dle Mohamed (2017) by tak některé vodní rostliny mohly být vysazovány i pro odstraňování cyanotoxinů z prostředí. Co se týče využití samotných metabolitů Techer et al. (2016) doporučují aplikaci alelochemikálií ještě v rané fázi vodního květu před jeho přemnožením, což umožní vyšší bezpečnost jejich aplikace a předcházení masivnímu uvolňování sinicových toxinů.

4.3.4. Vývoj rezistence fytoplanktonu vůči alelopatii

Kromě rizika zvýšeného množství cyanotoxinů je potřeba zvážit i možnost adaptace druhů vodního květu na alelochemikálie. Dle Vanderstukken et al. (2014) je teoreticky možné, aby si fytoplankton vyvinul rezistenci vůči alelopatickým látkám makrofyt, ať už skrze změny druhového složení společenstva, nebo na úrovni jedince skrze selekci genotypu. Řada experimentů studující alelopatii trvá pouze krátkou dobu, což neumožňuje ověřit hypotézu adaptace těchto mikroorganismů. Vanderstukken et al. (2014) proto testovali po dobu několika týdnů inhibiční účinky *Elodea nuttallii* na fytoplankton, jenž byl již dříve vystaven jejím alelochemikáliím. Dle jejich výsledků vykázala tato skupina planktonu stejnou náchylnost jako skupina této rostlině předem nevystavená, což naznačuje, že k vytvoření rezistence nedošlo.

Naopak studie Poulson-Ellestad et al. (2014) zabývající se alelopatickým působením obrněnky *Karenia brevis* na rozsivky *Asterionellopsis glacialis* a *Thalassiosira pseudonana* ukázala, že pokud se spolu donor a akceptor běžně vyskytují, cílový organismus si může vyvinout alespoň částečnou toleranci. Podobně je tomu i v případě epifytických sinic, u kterých Mohamed a Al Shehri (2010) zaznamenali při působení extraktů ze *Stratiotes aloides* absenci negativních efektů či přímo stimulaci růstu. Vznik rezistence naznačují i výsledky Yang et al. (2013), kdy hodnota EC_{50} hydrochinonu rostla s dobou expozice *Phaeodactylum tricornutum* a zároveň došlo k postupné obnově růstu této rozsivky. Jejich experiment však trval pouhých 7 dní a alelochemikálii autoři přidali jednorázově na začátku testu. Je tedy otázkou, zda šlo opravdu o vytvoření rezistence, nebo o snížení účinků v důsledku postupné degradace hydrochinonu.

5. Experimenty umožňující studium alelopatie

Studium alelopatie je komplikované. Řada experimentů prokazujících alelopatické účinky byla prováděna v laboratořích s extrakty, výluhy či usušenou biomasou testovaných rostlin (Macías et al., 2008). Mnohdy ale chybí data ze skutečného prostředí za reálných podmínek. V přírodě jsou vzájemné interakce organismů ovlivňovány biotickými a abiotickými podmínkami prostředí a alelopatie tak ve skutečnosti vůbec nemusí probíhat (Poulson et al., 2010). Problém nastává i v případě experimentů, v nichž je přítomen pouze jeden druh donora a jeden druh akceptora metabolitů, protože na výsledný alelopatický účinek mají vliv vztahy v celém společenstvu (Chang et al., 2012; Pei et al., 2018).

Existuje více metod využívaných ke studiu alelopatie. V zásadě je lze rozdělit do tří hlavních skupin: experimenty prováděné v laboratoři, v mezokosmu a *in situ*. Dle Gross et al. (2007) však ani jeden z experimentálních přístupů nedovoluje dokázat alelopatii v přirozeném ekosystému, protože nesplňuje všechna Willisem (1985) uvedená pravidla (viz kapitola *2. Definice alelopatie*). Autoři proto doporučují při studiu alelopatie využít kombinaci více metod, což umožní pochopení významu a mechanismu alelopatických interakcí.

5.1. Laboratorní experimenty

Laboratorní experimenty umožňují zkoumat alelopatii za přesně daných podmínek, jakými jsou např. teplota, ozářenost, pH, množství živin a přítomnost bakterií a jiných necílových organismů. Pracuje se v nich buď se samotnými alelochemikáliemi (v podobě extraktů či exudátů), nebo přímo s alelopatickými rostlinami (ve společné kultuře s cílovými organismy).

Problém testů s alelopatickými látkami vidí Willis (1985) v ředění a koncentrování získaných extraktů a výluhů do libovolných koncentrací, jejichž působení se pak zkouší i proti druhům, které se přirozeně s domnělou alelopatickou rostlinou nevyskytují. Na druhou stranu dle Gross et al. (2007), i když extrakty neposkytují ekologicky relevantní důkaz alelopatie, umožňují identifikaci jednotlivých alelopatických látek a charakterizaci mechanismu působení na cílové organismy. Navíc mohou sloužit jako standardizovaná metoda k porovnání alelopatických potenciálů makrofyt. Toho využili ve svých experimentech Maredová et al. (2021), kteří srovnávali účinky několika různě koncentrovaných extraktů z 19 druhů makrofyt na *M. aeruginosa* a *Aphanizomenon gracile*. Dle jejich výsledků jen v 15 případech z 532 experimentálních variant došlo k inhibici, a to při použití *Chara globularis*, *Ceratophyllum submersum*, *Elodea nuttallii*, *Hydrilla verticillata*, *Myriophyllum heterophyllum*, *M. spicatum*, a *Vallisneria americana*.

Při extrakci záleží na polaritě alelochemikálií. Jako rozpouštědlo se používá např. voda, methanol a aceton a využitím jejich směsi lze extrahovat zároveň hydrofilní i lipofilní látky (Gross et al., 2007). Vzájemný poměr jednotlivých činidel však ovlivní míru efektu extraktů na fytoplankton (Gross et al., 2003; Mulderij et al., 2007a). Zároveň se při extrakci mohou z makrofyt vyluhovat i látky, které by daná rostlina sama přirozeně do prostředí nevylučovala. Z tohoto pohledu je použití exudátů vhodnější (Mulderij et al., 2006).

Efekt extraktů a exudátů lze zhodnotit pomocí difuzního testu na agaru či jejich přídavkem do media obsahujícího cílový organismus (Hu a Hong, 2008). První způsob spočívá v aplikaci alelochemikálií na agar s buňkami akceptora, přičemž inhibice se poté měří jako průměr čisté zóny okolo kapky obsahující alelopatické látky. Při druhém způsobu, tedy kultivaci cílových organismů v mediu obsahujícím alelochemikálie, se hodnotí biochemické a fyziologické parametry jako např. chlorofyl *a*, fotosyntetická a enzymatická aktivita a biomasa cílového organismu.

Dalším typem laboratorního experimentu je společná kultura makrofyt s fytoplanktonem. V tomto systému lze za kontrolovaných laboratorních podmínek zkoumat přímé interakce mezi donorem a akceptorem a současně testovat další vlivy, např. stínění a přítomnost jiných organismů (Gross et al., 2007). Tato metoda navíc umožňuje kontinuální vylučování alelopaticky aktivních látek do media, efekt se tedy bude lišit od testů s exudáty a extrakty. Kulturu fytoplanktonu můžeme od zbytku systému částečně oddělit polopropustnými membránami, kterými projdou sloučeniny s nízkou molekulovou hmotností (tedy alelopatické látky a živiny), ale zabrání kontaminaci kultury jinými organismy (Körner a Nicklisch, 2002). Tyto membrány jsou však vhodné jen pro krátkodobé experimenty, protože časem hrozí jejich zanesení, a tedy změna propustnosti (Hilt et al., 2012).

Laboratorní experimenty lze provádět s axenickými (tedy obsahujícími jeden izolovaný druh) či smíšenými kulturami organismů. Axenické kultury představují nepřirozený systém, v němž nedochází k mezidruhovým interakcím, který ale zároveň dovoluje zkoumat efekt alelopatických látek bez vlivu degradace bakteriemi. Proto mohou být tyto kultury využívány jako kontroly k těm smíšeným (Gross et al., 2007). Mulderij et al. (2006) a Zhang et al. (2011b) použili ve smíšených kulturách přirozené společenstvo fytoplanktonu odebrané přímo z nádrže. Experimenty s takovými kulturami umožňují udělat si lepší představu o významu mezidruhových vztahů fytoplanktonu v přirozených podmínkách, protože ty mají pak vliv na výsledný alelopatický efekt (Chang et al., 2012; Pei et al., 2018).

5.2. Experimenty v mezokosmu

Mezokosmy představují kompromis mezi testy v laboratoři a v terénu, protože spočívají v kultivaci makrofyt a fytoplanktonu ve venkovních přirozených podmínkách, do kterých však lze v případě potřeby zasahovat (Švanys et al., 2014). Manipulačními experimenty tak můžeme vyloučit řadu jevů ovlivňujících výsledek alelopatie, např. kompetici o živiny, spásání zooplanktonem a stínění.

Vanderstukken et al. (2011) studovali alelopatické účinky *Egeria densa* a *Potamogeton illinoensis* v umělohmotných nádržích inkubovaných v přírodních podmínkách (mezokosmech). Použili při tom umělé rostliny, které napodobovaly strukturální funkci makrofyt ve vodním ekosystému. Dle jejich výsledků přítomnost živých rostlin dokázala snížit koncentrace chlorofylu *a*, tedy biomasu fytoplanktonu. V kontrolních mezokosmech bez makrofyt a v mezokosmech s umělými rostlinami se naopak biomasa planktonu nesnížila, což naznačuje, že samotná fyzická přítomnost hydrofyt neměla na fytoplankton vliv a že k jeho potlačení došlo biologickými mechanismy (tedy kompeticí o živiny či alelopatií). Přídavkem živin do kultivačního media autoři vyloučili kompetici a odstraněním zooplanktonu eliminovali vliv spásání fytoplanktonu. Autoři tak dokázali, že alelopatie přispívá k inhibici fytoplanktonu. Zároveň však upozorňují, že mezokosmy jsou jen zjednodušené systémy a že v reálných vodních nádržích by schopnost potlačit fytoplankton závisela také na množství a prostorové distribuci makrofyt.

Obdobný experiment uskutečnili Vanderstukken et al. (2014) s *Elodea nuttallii*. Navíc využili váčky z polopropustných membrán (tzv. dialyzační váčky) k ověření schopnosti řas a sinic se adaptovat na působení alelopatických látek z této rostliny. K tomu účelu odebrali vzorky fytoplanktonu z mezokosmu s *E. nuttallii* a z mezokosmu bez ní a vložili je v oddělených dialyzačních váčcích do nádrží s touto rostlinou. Výsledky ukázaly, že oba vzorky fytoplanktonu byly stejně náchylné vůči exudátům z *E. nuttallii*, a že tedy nedošlo k vývoji rezistence.

Mezokosmové experimenty provedli i Švanys et al. (2014). Působením *M. spicatum* v nich klesly koncentrace chlorofylu *a* fytoplanktonu ve vodě odebrané během sinicového květu a současně došlo ke změně složení planktonního společenstva, kdy zelené řasy nahradily původně dominantní sinice. V přítomnosti *M. spicatum* také významně poklesly koncentrace dusíku a fosforu, tudíž nelze

vyloučit kompetici o živiny, avšak dle autorů se jejich množství v průběhu experimentu nedostalo pod limitující hodnoty. Efekt spásání fytoplanktonu zooplanktonem byl vyloučen.

5.3. Experimenty *in situ*

Vodní ekosystémy jsou velice komplexní a těžko předvídatelné systémy s řadou proměnných. To způsobuje obtížnou proveditelnost experimentů *in situ*, což také vede k velmi malému množství informací o alelopatii v přírodních podmínkách.

Mulderij et al. (2006) zjišťovali inhibiční účinky *Stratiotes aloides* na přirozené společenstvo fytoplanktonu kombinací terénního průzkumu, testy s exudáty a laboratorními experimenty. V blízkosti porostů této rostliny pozorovali nižší hustotu buněk fytoplanktonu než mimo ně. Dále autoři provedli inkubaci vzorků fytoplanktonního společenstva v přírodních podmínkách delty Dunaje. Jednu sadu vzorků tvořila voda odebraná z porostů *S. aloides* (tedy obsahující exudáty z této rostliny) a druhou voda odebraná mimo její porosty. Vzorky s exudáty ze *S. aloides* vykázaly nižší koncentrace chlorofylu. Také exudáty získané v laboratoři snížily turbiditu vody a biomasu fytoplanktonu. Mulderij et al. (2009) dále zajímal význam alelopatie této rostliny v porovnání s kompeticí o živiny a její vliv na kolonizaci okolí makrofyt fytoplanktonem. Zavedli tedy do porostů *S. aloides* umělé rostliny a dle jejich pozorování rychle došlo k osídlení umělé vegetace vláknitými řasami. Zároveň naměřené koncentrace živin byly u obou typů rostlin obdobné a pohybovaly se nad hodnotami limitujícími růst řas a sinic. Podle autorů tedy nižší množství fytoplanktonu v blízkosti živých *S. aloides* nelze vysvětlit jen na základě kompetice o živiny, ale naopak je výsledkem alelopatie.

Hilt et al. (2006) využili ke studiu alelopatie *M. verticillatum* kombinaci laboratorních a *in situ* experimentů. Pro inkubaci fytoplanktonu v přirozených podmínkách vložili do porostů této rostliny dialyzační váčky s axenickými kulturami sinice *Limnothrix redekei*, rozsivky *Stephanodiscus minutulus* a zelené řasy *Scenedesmus armatus*. Pro vytvoření kontroly tyto kultury umístili i mimo porosty *M. verticillatum*. Výsledky ukázaly druhovou specifitu a sezónní variabilitu účinků této rostliny na cílové organismy, kdy k největší inhibici sinic a rozsivek došlo v srpnu, zatímco zelené řasy byly naopak stimulovány. Sezónní dynamiku obsahu alelochemikálií v *M. verticillatum* potvrdily i laboratorní experimenty s extrakty a analýza obsahu celkových fenolických látek v tkáních rostliny a ve vodě odebrané u *M. verticillatum*.

5.4. Problematika experimentů

Při studiu alelopatie představuje velký problém absence standardního postupu pro testování účinků makrofyt na fytoplankton. Autoři používají různé metody za odlišných experimentálních podmínek, což poté může vést k rozdílným závěrům.

Hilt et al. (2012) se zabývali porovnatelností výsledků různých typů experimentů ve snaze zjistit, zda lze z laboratorních testů vyvozovat stejné důsledky alelopatie i pro přirozená společenstva v reálných ekosystémech a zda se druhově specifická odpověď na alelopatické látky projeví v závislosti

na použité metodě. Proto provedli tři experimenty (inkubace fytoplanktonu v laboratoři s přídavkem kyseliny tříslové, v dialyzačních váčcích v akváriu s makrofyty a *in situ*) s *M. verticillatum*, planktonní řasou *Desmodesmus subspicatus* a epifytickou řasou *Stigeoclonium helveticum*. Pro srovnání měřili u každé metody parametry založené na fluorescenci (aktivita PSII a chlorofyl *a*) a na částicích (počet buněk a objem fytoplanktonu). U řas inkubovaných v akváriích došlo k poklesu hodnot všech parametrů, zatímco experiment *in situ* vedl k významnému snížení pouze u objemu *D. subspicatus*. Naproti tomu přídavky kyseliny tříslové způsobily pokles parametrů založených na fluorescenci, přičemž počet buněk se naopak zvýšil. Tento experiment také ukázal rozdílnou odolnost řas, kdy se u *S. helveticum* projevila větší citlivost při měření aktivity PSII než u *D. subspicatus*, ale menší náchylnost s ohledem na objem. Výsledky všech experimentů se tedy lišily kvalitativně i kvantitativně, kdy parametry založené na fluorescenci vykázaly větší podobnost mezi akváriem a přídavkem alelochemikálie, zatímco ty založené na částicích si byly podobnější u metody *in situ* a akvária.

Další problém při studiu alelopatie představuje její oddělení od kompetice. To se zdá v přírodních podmínkách těžko proveditelné, což vede dle Hilt a Gross (2008) v experimentech k častému využívání extraktů a čistých alelochemikálií, ačkoliv tyto látky nejméně reflektují průběh alelopatie v přirozených ekosystémech. Dalším způsobem, jak vyloučit kompetici v laboratorních podmínkách, je dle Hilt et al. (2006) a Hilt et al. (2012) kultivace řas a sinic v mediu bohatém na živiny před zahájením samotného testu, což jim umožní si vytvořit zásoby a udržet tak svůj růst během experimentu nezávisle na dostupném množství živin.

Někteří autoři se ale snaží najít způsob vyloučení konkurence i v mezokosmech a *in situ*. Vanderstukken et al. (2011) a Vanderstukken et al. (2014) ke zhodnocení vlivu kompetice porovnávali chlorofyl *a* fytoplanktonu inkubovaného v mezokosmech s makrofyty a s přídavky živin a fytoplanktonu inkubovaného s makrofyty bez přídavků živin. Mulderij et al. (2009) zkoumali *in situ* rozdíly v množství živin u živých a umělých porostů *S. aloides*. Dle výsledků se jejich koncentrace výrazně nelišily, a navíc se pohybovaly nad úrovní limitující růst fytoplanktonu.

Vyloučení kompetice je tedy možné i v přírodních podmínkách, mezokosmové a *in situ* experimenty však obecně vyžadují náročnější přípravu. Zároveň interpretaci jejich výsledků komplikuje komplexnost vodních ekosystémů a provázanost všech jevů probíhajících v nich. To vede k tomu, že většina studií využívá pro jejich jednoduchost a jasnost experimenty v laboratoři, ačkoliv ty jsou nejvíce vzdálené fungování alelopatie v přirozených ekosystémech.

6. Závěr

Tato práce shrnuje poznatky o alelopatii vodních rostlin a jejím potenciálním využití ke kontrole vodního květu. Z dostupné literatury vyplývá, že alelopatie je ve sladkovodním a mořském prostředí rozšířená napříč celou škálou skupin organismů, od planktonních forem (řas, sinic a dalších) přes makrořasy až po různé životní formy vyšších rostlin. Tyto skupiny si vyvinuly řadu alelopatických látek, jež jim umožňují ovlivňovat ostatní organismy, a tedy uspět v kompetitivním prostředí. Mezi nejlépe prozkoumané druhy alelopatických makrofyt patří *Myriophyllum*, *Ceratophyllum* a *Stratiotes*, jež se zároveň řadí mezi alelopaticky nejaktivnější.

Vylučované alelochemikálie mají různé chemické složení, což ovlivňuje jejich schopnost se šířit ve vodě, a lze je podle jejich chemické struktury rozdělit do několika hlavních kategorií. Svým mechanismem působení zasahují do biochemických a fyziologických procesů cílových organismů a také do jejich buněčných struktur. Způsobují např. poškození membrán, oxidativní stres a změny ve fotosyntéze a enzymatické aktivitě. Mezi nejprostudovanější patří fenolické látky, zatímco o ostatních skupinách alelopaticky aktivních sloučenin máme výrazně méně informací.

Velkou roli při alelopatii hrají biotické a abiotické faktory prostředí, jež dokážou ovlivnit produkci alelochemikálií, jejich šíření v prostředí i senzitivitu cílových organismů, a tedy i výsledný alelopatický efekt. Z abiotických faktorů jsou významné pH, teplota a množství záření a živin, z biotických především bakterie a přítomnost dalších organismů.

Tyto faktory mají dopady i pro potenciál alelopatie vodních rostlin kontrolovat rozvoj vodního květu. Jeden ze způsobů jejího využití představuje vysazování makrofyt, které umožňuje kontinuální uvolňování alelochemikálií. V eutrofizovaných nádržích postižených přemnožením fytoplanktonu však panují specifické podmínky, které nemusí všem hydrofytům vyhovovat. Navíc řada alelopatických rostlin patří v evropských zemích k nepůvodním. Druhým způsobem je použití samotných alelopatických metabolitů. Při jejich aplikaci má význam forma dávkování (jednorázový přídavek chemikálií, opakovaná dávka nebo použití tzv. mikrosfér), a to nejen pro potlačení vodního květu, ale i pro negativní vedlejší účinky alelochemikálií. K těm patří uvolňování cyanotoxinů do vodního prostředí a potenciální rizika pro necílové organismy, jejichž výzkum však zatím zůstává pouze ve fázi laboratorních testů.

Alelopatii lze studovat pomocí různých metod, z nichž laboratorní experimenty patří pro svou jednoduchost mezi nejčastěji využívané. Současně jsou ale i nejvíce vzdálené reálným podmínkám vodních ekosystémů a jejich výsledky tak nemusí být zcela relevantní. Naopak realitě nejlépe odpovídající experimenty *in situ* se téměř neprovádí, a to z důvodu jejich náročnosti a obtížné interpretace způsobené interferencí dalších jevů jako např. stínění, snížení resuspenze sedimentů, vliv bakterií a kompetice o živiny. Ideální přístup tedy představuje využití kombinace experimentů v laboratoři, mezokosmu a *in situ*, která umožňuje odstranit nedostatky jednotlivých metod. Většina

studií je však založena pouze na jednom typu experimentu a jejich výsledky se obtížně porovnávají kvůli absenci standardního postupu pro studium alelopatie.

S ohledem na poznatky získané rešerší literatury na téma alelopatie vodních rostlin bych ráda navrhla experiment pro svou budoucí diplomovou práci. Vzhledem k významu avšak nízkému počtu experimentů provedených v mezokosmech a *in situ* chci využít právě tyto dva přístupy k získání více informací o působení *Myriophyllum spicatum* na *Microcystis aeruginosa*. Tyto dva druhy jsou poměrně dobře prozkoumané, přičemž *M. spicatum* patří mezi alelopaticky nejaktivnější makrofyta a *M. aeruginosa* mezi časté a problematické zástupce vodního květu. Inkubace této sinice v přítomnosti uvedené rostliny *in situ* a v mezokosmech by odhalila význam alelopatie v přírodních podmínkách pro růst a produkci mikrocystinů *M. aeruginosa*. Zároveň bych ráda společnou kultivací s *Chlorella vulgaris* ověřila vliv přítomnosti konkurentů na průběh alelopatických interakcí. Takovýto experiment by vnesl o něco více světla do problematiky alelopatie vodních rostlin a jejího využití ke kontrole vodního květu.

7. Seznam literatury

Aliotta G., DellaGreca M., Monaco P., Pinto G., Pollio A., Previtera L., 1990. *In vitro* algal growth inhibition by phytotoxins of *Typha latifolia* L. Journal of Chemical Ecology 16, 2637-2646

Bährs H., Putschew A., Steinberg C. E. W., 2013. Toxicity of hydroquinone to different freshwater phototrophs is influenced by time of exposure and pH. Environmental Science and Pollution Research 20, 146-154

Barbosa V. V., dos Santos Silva R. D., dos Santos Severiano J., Chia M. A., de Lucena Barbosa J. E., 2022. Can the presence of green microalgae reverse the allelopathic efects of the submerged macrophyte *Egeria densa* on the toxin-producing cyanobacterium *Raphidiopsis raciborskii*? Hydrobiologia 849, 4391-4406

Barreiro A., Hairston N. G. Jr, 2013. The influence of resource limitation on the allelopathic effect of *Chlamydomonas reinhardtii* on other unicellular freshwater planktonic organism. Journal of Plankton Research 35, 1339-1344

Bar-Yosef Y., Sukenik A., Hadas O., Viner-Mozzini Y., Kaplan A., 2010. Enslavement in the Water Body by Toxic *Aphanizomenon ovalisporum*, Inducing Alkaline Phosphatase in Phytoplanktons. Current Biology 20, 1557-1561

Bauer N., 2011. Dynamic of allelopathically active polyphenolic substances of *Myriophyllum verticillatum* L. and factors influencing allelopathic effects on phytoplankton. Humboldt Universität zu Berlin, Berlín, 128pp

Blindow I., Hargeby A., Hilt S., 2014. Facilitation of clear-water conditions in shallow lakes by macrophytes: differences between charophyte and angiosperm dominance. Hydrobiologia 737, 99-110

Brothers S. M., Hilt S., Attermeyer K., Grossart H. P., Kosten S., Lischke B., Mehner T., Meyer N., Scharnweber K., Kohler J., 2013. A regime shift from macrophyte to phytoplankton dominance enhances carbon burial in a shallow, eutrophic lake. Ecosphere 4, 137

Carey C. C., Rengefors K., 2010. The cyanobacterium *Gloeotrichia echinulata* stimulates the growth of other phytoplankton. Journal of Plankton Research 32, 1349-1354

Chang X., Eigemann F., Hilt S., 2012. Do macrophytes support harmful cyanobacteria? Interactions with a green alga reverse the inhibiting effects of macrophyte allelochemicals on *Microcystis aeruginosa*. Harmful Algae 19, 76-84

Chauhan V. S., Marwah J. B., Bagchi S. N., 1992. Effect of an antibiotic from *Oscillatoria* sp. on phytoplankters, higher plants and mice. New Phytologist 120, 251-257

Cheng F., Cheng Z., 2015. Research Progress on the use of Plant Allelopathy in Agriculture and the Physiological and Ecological Mechanisms of Allelopathy. Frontiers in Plant Science 6, 1020

Chiang I. Z., Huang W. Y., Wu J. T., 2004. Allelochemicals of *Botryococcus braunii* (Chlorophyceae). Journal of Phycology 40, 474-480

Cronin G., Lodge D. M., 2003. Effects of light and nutrient availability on the growth, allocation, carbon/nitrogen balance, phenolic chemistry, and resistance to herbivory of two freshwater macrophytes. Oecologia 137, 32-41

DellaGreca M., Fiorentino A., Isidori M., Monaco P., Temussia F., Zarrelli A., 2001. Antialgal furano-diterpenes from *Potamogeton natans* L., Phytochemistry 58, 299-304

DellaGreca M., Fiorentino A., Isidori M., Monaco P., Zarrelli A., 2000. Antialgal *ent*-labdane diterpenes from *Ruppia maritima*. Phytochemistry 55, 909-913

Dong J., Chang M., Li C., Dai D., Gao Y., 2019. Allelopathic effects and potential active substances of *Ceratophyllum demersum* L. on *Chlorella vulgaris* Beij. Aquatic Ecology 53, 651-663

Drábková M., 2007. Methods for control of the cyanobacterial blooms development in lakes. Masaryk University, Brno, 91pp

Dziga D., Goral T., Bialczyk J., 2009. Extracellular enzymes of the *Microcystis aeruginosa* PCC 7813 strain are inhibited in the presence of hydroquinone and pyrogallol, allelochemicals produced by aquatic plants. Journal of Phycology 45, 1299-1303

Elakovich S. D., Yang J., 1996. Structures and allelopathic effects of *Nuphar* alkaloids: nupharolutine and 6,6'-dihydroxythiobinupharidine. Journal of Chemical Ecology volume 22, 2209-2219

El-Sheekh M. M., Khairy H. M., El-Shenody R. A., 2010. Allelopathic effects of cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* Kützing on the growth and photosynthetic pigments of some algal species. Allelopathy Journal 26, 275-290

Erhard D., Gross E. M., 2005. Do environmental factors influence composition of potential allelochemicals in the submersed freshwater macrophyte *Elodea nuttallii* (Hydrocharitaceae)? Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie 29, 287-291

Farjalla V. F., Anesio A. M., Bertilsson S., Granéli W., 2001. Photochemical reactivity of aquatic macrophyte leachates: abiotic transformations and bacterial response. Aquatic Microbial Ecology 24, 187-195

Fergola P., Cerasuolo M., Pollio A., Pinto G., DellaGreca M., 2007. Allelopathy and competition between *Chlorella vulgaris* and *Pseudokirchneriella subcapitata*: Experiments and mathematical model. Ecological modelling 208, 205-214

Fistarol G. O., Legrand C., Granéli E., 2003. Allelopathic effect of *Prymnesium parvum* on a natural plankton community. Marine Ecology Progress Series 255, 115-125

Fistarol G. O., Legrand C., Selander E., Hummert C., Stolte W., Granéli E., 2004. Allelopathy in *Alexandrium* spp.: effect on a natural plankton community and on algal monocultures. Aquatic Microbial Ecology 35, 45-56

Fong J., Lim Z. W., Bauman A. G., Valiyaveettil S., Liao L. M., Yip Z. T., Todd P. A., 2019. Allelopathic effects of macroalgae on *Pocillopora acuta* coral larvae. Marine Environmental Research 151, 104745

Gantar M., Berry J. P., Thomas S., Wang M., Perez R., Rein K. S., 2008. Allelopathic aktivity among Cyanobacteria and microalgae isolated from Florida freshwater habitats. FEMS Microbiology Ecology 64, 55-64

Gao Y., Fu Q., Lu J., Yang H., Orr P. T., Zhang F., Dong J., Zhang M., Gu Q., Zhou C., Burford M. A., 2020. Enhanced pyrogallol toxicity to cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* with increasing alkalinity. Journal of Applied Phycology 32, 1827-1835

Gao Y.N., Ge F.J., Zhang L.P., He Y., Lu Z.Y., Zhang Y.Y., Liu B.Y., Zhou Q.H., Wu Z.B., 2017. Enhanced toxicity to the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* by low-dosage repeated exposure to the allelochemical *N*-phenyl-1- naphthylamine. Chemosphere 174, 732-738

Gao Y. N., Liu B. Y., Xu D., Zhou Q. H., Hu C. Y., Ge F. J., Zhang L. P., Wu Z. B., 2011. Phenolic Compounds Exuded from Two Submerged Freshwater Macrophytes and Their Allelopathic Effects on *Microcystis aeruginosa*. Polish Journal of Environmental Studies 20, 1153-1159

George B., Pancha I., Desai C., Chokshi K., Paliwal C., Ghosh T., Mishra S., 2014. Effects of different media composition, light intensity and photoperiod on morphology and physiology of freshwater microalgae *Ankistrodesmus falcatus* – A potential strain for bio-fuel production. Bioresource Technology 171, 367-374

Gniazdowska A., Bogatek R., 2005. Allelopathic interactions between plants. Multi site action of allelochemicals. Acta Physiologiae Plantarum 27, 395-407

Gross E. M., 2000. Seasonal and spatial dynamics of allelochemicals in the submersed macrophyte *Myriophyllum spicatum* L. Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Verhandlungen 27, 2116-2119

Gross E. M., 2003a. Allelopathy of Aquatic Autotrophs. Critical Reviews in Plant Sciences 22, 313-339

Gross E. M., 2003b. Differential response of tellimagrandin II and total bioactive hydrolysable tannins in an aquatic angiosperm to changes in light and nitrogen. Oikos 103, 497-504

Gross E. M., Erhard D., Iványi E., 2003. Allelopathic activity of *Ceratophyllum demersum* L. and *Najas marina* ssp. intermedia (Wolfgang) Casper. Hydrobiologia 506, 583-589

Gross E. M., Hilt S., Lombardo P., Mulderij G., 2007. Searching for allelopathic effects of submerged macrophytes on phytoplankton—state of the art and open questions. Hydrobiologia 584, 77-88

Gross E. M., Meyer H., Schilling G., 1996. Release and ecological impact of algicidal hydrolysable polyphenols in *Myriophyllum spicatum*. Phytochemistry 41, 133-138

Gross E. M., Wolk C. P., Jüttner F., 1991. Fischerellin, a new allelochemical from the freshwater cyanobacterium *Fischerella muscicola*. Journal of Phycology 27, 686-692

Hao B., Wu H., Shi Q., Liua G., Xing W., 2013. Facilitation and competition among foundation species of submerged macrophytes threatened by severe eutrophication and implications for restoration. Ecological Engineering 60, 76-80

He Y., Zhou Q. H., Liu B. Y., Cheng L., Tian Y., Zhang Y. Y., Wu Z. B., 2016. Programmed cell death in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* induced by allelopathic effect of submerged

macrophyte *Myriophyllum spicatum* in co-culture system. Journal of Applied Phycology 28, 2805-2814

Herath G., 1997. Freshwater Algal Blooms and Their Control: Comparison of the European and Australian Experience. Journal of Environmental Management, 51, 217-227

Hilt S., Beutler E., Bauer N., 2012. Comparison of methods to detect allelopathic effects of submerged macrophytes on green algae. Journal of Phycology 48, 40-44

Hilt S., Ghobrial M. G. N., Gross E. M., 2006. *In situ* allelopathic potential of *Myriophyllum verticillatum* (Haloragaceae) against selected phytoplankton species. Journal of Phycology 42, 1189-1198

Hilt S., Gross E. M., 2008. Can allelopathically active submerged macrophytes stabilise clear-water states in shallow lakes? Basic and Applied Ecology 9, 422-432

Hirata K., Yoshitomi S., Dwi S., Iwabe O., Mahakhant A., Polchai J., Miyamoto K., 2003. Bioactivities of Nostocine A Produced by a Freshwater Cyanobacterium *Nostoc spongiaeforme* TISTR 8 169. Journal of Bioscience And Bioengineering 95, 512-517

Horppila J., Nurminen L., 2005. Effects of different macrophyte growth forms on sediment and P resuspension in a shallow lake. Hydrobiologia 545, 167-175

Hu H., Hong Y., 2008. Algal-bloom control by allelopathy of aquatic macrophytes —A review. Frontiers of Environmental Science & Engineering in China 2, 421-438

Hu X., Liu Y., Zeng G., Hu X., Wang Y., Zeng X., 2014. Effects of limonene stress on the growth of and microcystin release by the freshwater cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* FACHB-905. Ecotoxicology and Environmental Safety 105, 121–127

Huang H., Xiao X., Lin F., Grossart H. P., Nie Z., Sun L., Xu C., Shi J., 2016. Continuous-release beads of natural allelochemicals for the long-term control of cyanobacterial growth: Preparation, release dynamics and inhibitory effects. Water Research 95, 113-123

Hussner A., 2012. Alien aquatic plant species in European countries. Weed Research 52, 297–306

Ikawa M., Sasner J. J., Haney J. F., 2001. Activity of cyanobacterial and algal odor compounds found in lake waters on green alga *Chlorella pyrenoidosa* growth. Hydrobiologia 443, 19-22

Inderjit, Duke S. O., 2003. Ecophysiological aspects of allelopathy. Planta 217, 529-539

Jančula D., Maršálek B., 2011. Critical review of actually available chemical compounds for prevention and management of cyanobacterial blooms. Chemosphere 85, 1415-1422

Jang M. H., Ha K., Takamura N., 2007. Reciprocal allelopathic responses between toxic cyanobacteria (*Microcystis aeruginosa*) and duckweed (*Lemna japonica*). Toxicon 49, 727–733

Jin Z. H., Zhuang Y. Y., Dai S. G., Li T. L., 2003. Isolation and identification of extracts of *Eichhornia crassipes* and their allelopathic effects on algae. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology volume 71, 1048–1052

Jüttner F., Todorova A. K., Walch N., Von Philipsborn W., 2001. Nostocyclamide M: a cyanobacterial cyclic peptide with allelopathic activity from *Nostoc* 31. Phytochemistry 57, 613-619

Keating K. I., 1977. Allelopathic Influence on Blue-Green Bloom Sequence in a Eutrophic Lake. Science 196, 885-887

Körner S., Nicklisch A., 2002. Allelopathic growth inhibition of selected phytoplankton species by submerged macrophytes. Journal of Phycology 38, 862-871

Laabir M., Grignon-Dubois M., Masseret E., Rezzonico B., Soteras G., Rouquette M., Rieuvilleneuve F., Cecchi P., 2013. Algicidal effects of *Zostera marina* L. and *Zostera noltii* Hornem. extracts on the neuro-toxic bloom-forming dinoflagellate *Alexandrium catenella*. Aquatic Botany 111, 16-25

Laue P., Bährs H., Chakrabarti S., Steinberg C. E. W., 2014. Natural xenobiotics to prevent cyanobacterial and algal growth in freshwater: Contrasting efficacy of tannic acid, gallic acid, and gramine. Chemosphere 104, 212-220

Leão P. N., Pereira A. R., Liu W. T., Ng J., Pevzner P. A., Dorrestein P. C., König G. M., Vasconcelos V. M., Gerwick W. H., 2010. Synergistic allelochemicals from a freshwater cyanobacterium. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 107, 11183-11188

Lemoine D. G., Barrat-Segretain M. H., Roy A., 2009. Morphological and Chemical Changes Induced by Herbivory in Three Common Aquatic Macrophytes. International Review of Hydrobiology 94, 282-289

Les D. H., Cleland M. A., Waycott M., 1997. Phylogenetic studies in Alismatidae, II: Evolution of marine angiosperms (seagrasses) and hydrophily. Systematic Botany 22, 443-463

Leu E., Krieger-Liszkay A., Goussias C., Gross E. M., 2002. Polyphenolic Allelochemicals from the Aquatic Angiosperm *Myriophyllum spicatum* Inhibit Photosystem II. Plant Physiology 130, 2011-2018

Lewis W. M., 1986. Evolutionary interpretations of allelochemical interactions in phytoplankton algae. The American Naturalist 127, 184-194

Li F. M., Hu H. Y., 2005. Isolation and Characterization of a Novel Antialgal Allelochemical from *Phragmites communis*. Applied And Environmental Microbiology 71, 6545-6553

Li B., Li J., An G., Zhao C., Wang C., 2021. Long-term and strong suppression against *Microcystis* growth and microcystin-release by luteolin continuous-release microsphere: Optimal construction, characterization, effects and proteomic mechanisms. Water Research 202, 117448

Li J., Liu Y., Zhang P., Zeng G., Cai X., Liu S., Yin Y., Hu X., Hu X., Tan X., 2016. Growth inhibition and oxidative damage of *Microcystis aeruginosa* induced by crude extract of *Sagittaria trifolia* tubers. Journal Of Environmental Sciences 43, 40-47

Li B., Xu D., Feng L., Liu Y., Zhang L., 2023a. Ecotoxic side-effects of allelochemicals on submerged plant and its associated microfloras effectively relieved by sustained-release microspheres. Science of the Total Environment 871, 161888

Li B., Yin Y., Zhou X., Feng L., Liu Y., Du Z., Tian Y., Zhang L., 2023b. Effect of allelochemicals sustained-release microspheres on the ingestion, incorporation, and digestion abilities of *Daphnia magna* Straus. Journal of Environmental Sciences 124, 205–214

Ma H., Wu Y., Gan N., Zheng L., Li T., Song L., 2015. Growth inhibitory effect of *Microcystis* on *Aphanizomenon flos-aquae* isolated from cyanobacteria bloom in Lake Dianchi, China. Harmful Algae 42, 43-51

Macías F. A., Galindo J. L. G., García-Díaz M. D., Galindo J. C. G., 2008. Allelopathic agents from aquatic ecosystems: potential biopesticides models. Phytochemistry Reviews 7, 155-178

Mähnert B., Schagerl M., Krenn L., 2017. Allelopathic potential of stoneworts. Fottea 17, 137-149

Maredová N., Altman J., Kaštovský J., 2021. The effects of macrophytes on the growth of bloom-forming cyanobacteria: Systematic review and experiment. Science of the Total Environment 792, 148413

Mason C. P., Edwards K. R., Carlson R. E., Pignatello J., Gleason F. K., Wood J. M., 1982. Isolation of Chlorine-Containing Antibiotic From the Freshwater Cyanobacterium *Scytonema hofmanni*. Science, New Series 215, 400-402

Mohamed Z. A., 2017. Macrophytes-cyanobacteria allelopathic interactions and their implications for water resources management—A review. Limnologica 63, 122-132

Mohamed Z. A., Al Shehri A. M., 2010. Differential Responses of Epiphytic and Planktonic Toxic Cyanobacteria to Allelopathic Substances of the Submerged Macrophyte *Stratiotes aloides*. International Review of Hydrobiology 95, 224-234

Moss B., Stephen D., Alvarez C., Becares E., Van De Bund W., Collings S.E., Van Donk E., De Eyto E., Feldmann T., Fernandez-Aláez C., Fernandez-Aláez M., Franken R. J. M., García-Criado F., Gross E. M., Gyllström M., Hansson L. A., Irvine K., Järvalt A., Jensen J. P., Jeppesen E., Kairesalo T., Kornijów R., Krause T., Kunnap H., Laas A., Lill E., Lorens B., Luup H., Miracle M. R., Noges P., Noges T., Nykanen M., Ott I., Peczula W., Peeters E. T. H. M., Phillips G., Romo S., Russell V., Salujoe J., Scheffer M., Siewertsen K., Smal H., Tesch C., Timm H. , Tuvikene L., Tonno I., Virro T., Vicente E., Wilson D., 2003. The determination of ecological status in shallow lakes – a tested system (ECOFRAME) for implementation of the European Water Framework Directive. Aquatic Conservation: Marine And Freshwater Ecosystems 13, 507-549

Mulderij G., Mau B., de Senerpont Domis L. N., Smolders A. J. P., Van Donk E., 2009. Interaction between the macrophyte *Stratiotes aloides* and filamentous algae: does it indicate allelopathy? Aquatic Ecology 43, 305-312

Mulderij G., Mau B., Van Donk E., Gross E. M., 2007a. Allelopathic activity of *Stratiotes aloides* on phytoplankton—towards identification of allelopathic substances. Hydrobiologia (2007) 584, 89-100

Mulderij G., Mooij W. M., Van Donk E., 2005. Allelopathic growth inhibition and colony formation of the green alga *Scenedesmus obliquus* by the aquatic macrophyte *Stratiotes aloides*. Aquatic Ecology 39, 11-21

Mulderij G., Smolders A. J. P., Van Donk E., 2006. Allelopathic effect of the aquatic macrophyte, *Stratiotes aloides*, on natural phytoplankton. Freshwater Biology 51, 554-561

Mulderij G., Van Nes E. H., Van Donk E., 2007b. Macrophyte–phytoplankton interactions: The relative importance of allelopathy versus other factors. Ecological Modelling 204, 85-92

Müller N., Hempel M., Philipp B., Gross E. M., 2007. Degradation of gallic acid and hydrolysable polyphenols is constitutively activated in the freshwater plant-associated bacterium *Matsuebacter* sp. FB25. Aquatic Microbial Ecology 47, 83-90

Munusamy T., Hu Y. L., Lee J. F., 2012. Adsorption and photodegradation of microcystin-LR onto sediments collected from reservoirs and rivers in Taiwan: a laboratory study to investigate the fate, transfer, and degradation of microcystin-LR. Environmental Science and Pollution Research 19, 2390-2399

Muthukrishnan R., Larkin D. J., 2019. Invasive species and biotic homogenization in temperate aquatic plant communities. Global Ecology and Biogeography 29, 656-667

Nakai S., Asaoka S., Okuda T., Nishijima W., 2014. Growth Inhibition of *Microcystis aeruginosa* by Allelopathic Compounds Originally Isolated from *Myriophyllum spicatum*: Temperature and Light Effects and Evidence of Possible Major Mechanisms. Journal of Chemical Engineering of Japan 47, 488-493

Nakai S., Inoue Y., Hosomi M, 2001. Algal growth inhibition effects and inducement modes by plant-producing phenols. Water Research 35, 1855-1859

Ni L., Jie X., Wang P., Li S., Wang G., Li Y., Li Y., Acharya K., 2015. Effect of linoleic acid sustained-release microspheres on *Microcystis aeruginosa* antioxidant enzymes activity and microcystins production and release. Chemosphere 121, 110–116

Pei Y., Liu L., Hilt S., Xu R., Wang B., Li C., Chang X., 2018. Root exudated algicide of *Eichhornia crassipes* enhances allelopathic effects of cyanobacteria *Microcystis aeruginosa* on green algae. Hydrobiologia 823, 67–77

Pełechata A., Pełechaty M., 2010. The *in situ* influence of *Ceratophyllum demersum* on a phytoplankton assemblage. Oceanological and Hydrobiological Studies 39, 95-101

Pergl J., Sádlo J., Petrusek A., Laštůvka Z., Musil J., Perglová I., Šanda R., Šefrová H., Šíma J., Vohralík V., Pyšek P., 2016. Black, Grey and Watch Lists of alien species in the Czech Republic based on environmental impacts and management strategy. NeoBiota 28, 1-37

Pflugmacher S., 2002. Possible Allelopathic Effects of Cyanotoxins, with Reference to Microcystin-LR, in Aquatic Ecosystems. Environmental Toxicology 17, 407-13

Pflugmacher S., Wiegand C., Beattie K. A., Krause E., Steinberg C. E. W., Codd G. A., 2001. Uptake, effects, and metabolism of cyanobacterial toxins in the emergent reed plant *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud. Environmental Toxicology and Chemistry 20, 846-852

Poulin R. X., Hogan S., Poulson-Ellestad K. L., Brown E., Fernández F. M., Kubanek J., 2018. *Karenia brevis* allelopathy compromises the lipidome, membrane integrity, and photosynthesis of competitors. Scientific Reports 8, 9572

Poulson K. L., Sieg R. D., Prince E. K., Kubanek J., 2010. Allelopathic compounds of a red tide dinoflagellate have species-specific and context-dependent impacts on phytoplankton. Marine Ecology Progress Series 416, 69-78

Poulson-Ellestad K. L., Jones C. M., Roy J., Viantd M. R., Fernández F. M., Kubanek J., Nunn B. L., 2014. Metabolomics and proteomics reveal impacts of chemically mediated competition on marine plankton. Proceedings of the National Academy of Sciences 111, 9009-9014

Qian H., Yu S., Sun Z., Xie X., Liu W., Fu Z., 2010. Effects of copper sulfate, hydrogen peroxide and *N*-phenyl-2-naphthylamine on oxidative stress and the expression of genes involved photosynthesis and microcystin disposition in *Microcystis aeruginosa*. Aquatic Toxicology 99, 405-412

Reigosa M. J., Sánchez-Moreiras A., González L., 1999. Ecophysiological Approach in Allelopathy. Critical Reviews in Plant Sciences 18, 577–608

Rengefors K., Legrand C., 2007. Broad allelopathic activity in *Peridinium aciculiferum* (Dinophyceae). European Journal of Phycology 42, 341-349

Rice E. L., 1984. Allelopathy. Academic Press, Londýn, 422pp

Rojo C., Segura M., Cortés F., Rodrigo M. A., 2013a. Allelopathic effects of microcystin-LR on the germination, growth and metabolism of five charophyte species and a submerged angiosperm. Aquatic Toxicology 144-145, 1-10

Rojo C., Segura M., Rodrigo M. A., 2013b. The allelopathic capacity of submerged macrophytes shapes the microalgal assemblages from a recently restored coastal wetland. Ecological Engineering 58, 149-155

Romero-Oliva C. S., Contardo-Jara V., Block T., Pflugmacher S., 2014. Accumulation of microcystin congeners in different aquatic plants and crops – A case study from lake Amatitlán, Guatemala. Ecotoxicology and Environmental Safety 102, 121-128

Rzymski P., Poniedziałek B., Kokociński M., Jurczak T., Lipski D., Wiktorowicz K., 2014. Interspecific allelopathy in cyanobacteria: Cylindrospermopsin and *Cylindrospermopsis raciborskii* effect on the growth and metabolism of *Microcystis aeruginosa*. Harmful Algae 35, 1-8

Schmidt L. E., Hansen P. J., 2001. Allelopathy in the prymnesiophyte *Chrysochromulina polylepis*: effect of cell concentration, growth phase and pH. Marine Ecology Progress Series 216, 67-81

Sellner K. G., Doucette G. J., Kirkpatrick G. J., 2003. Harmful algal blooms: causes, impacts and detection. Journal of industrial microbiology & biotechnology 30, 383-406

Senavirathna M. D. H. J., Muhetaer G., Atapaththu K. S. S., Fujino T., 2021. *Egeria densa* Allelopathy on *Microcystis aeruginosa* Under Different Light Intensities and Preliminary Insight into Inter-Parameter Relationships. Water Air And Soil Pollution 232, 135

Shao J., Wu Z., Yu G., Peng X., Li R., 2009. Allelopathic mechanism of pyrogallol to *Microcystis aeruginosa* PCC7806 (Cyanobacteria): From views of gene expression and antioxidant system. Chemosphere 75, 924-928

Slattery M., Lesser M. P., 2014. Allelopathy in the tropical alga *Lobophora variegata* (Phaeophyceae): mechanistic basis for a phase shift on mesophotic coral reefs? Journal of Phycology 50, 493-505

Smolders A. J. P, Vergeer L. H. T., Van der Velde G., Roelofs J. G. M., 2000. Phenolic contents of submerged, emergent and floating leaves of aquatic and semi-aquatic macrophyte species: why do they differ? Oikos 91, 307-310

Suikkanen S., Fistarol G. O., Granéli E., 2005. Effects of cyanobacterial allelochemicals on a natural plankton community. Marine Ecology Progress Series 287, 1-9

Švanys A., Paškauskas R., Hilt S., 2014. Effects of the allelopathically active macrophyte *Myriophyllum spicatum* on a natural phytoplankton community: a mesocosm study. Hydrobiologia 737, 57-66

Tang Y. Z., Gobler C. J., 2011. The green macroalga, *Ulva lactuca*, inhibits the growth of seven common harmful algal bloom species via allelopathy. Harmful Algae 10, 480-488

Techer D., Fontaine P., Personne A., Viot S., Thomas M., 2016. Allelopathic potential and ecotoxicity evaluation of gallic and nonanoic acids to prevent cyanobacterial growth in lentic systems: A preliminary mesocosm study. Science of the Total Environment 547, 157-165

Techer D., Milla S., Fontaine P., Viot S., Thomas M., 2015. Acute toxicity and sublethal effects of gallic and pelargonic acids on the zebrafish *Danio rerio*. Environmental Science and Pollution Research 22, 5020-5029

Todorova A. K., Jüttner F., 1995. Nostocyclamide: A New Macrocyclic, Thiazole-Containing Allelochemical from *Nostoc* sp. 31 (Cyanobacteria). The Journal of Organic Chemistry 60, 7891-7895

Tran T. L. N., Miranda A. F., Abeynayake S. W., Mouradov A., 2020. Differential Production of Phenolics, Lipids, Carbohydrates and Proteins in Stressed and Unstressed Aquatic Plants, *Azolla filiculoides* and *Azolla pinnata*. Biology 9, 342

Trochine C., Guerrieri M., Liboriussen L., Meerhoff M., Lauridsen T. L., Søndergaard M., Jeppesen E., 2011. Filamentous green algae inhibit phytoplankton with enhanced effects when lakes get warmer. Freshwater Biology 56, 541-553

Vanderstukken M., Declerck S. A. J., Decaestecker E., Muylaert K., 2014. Long-term allelopathic control of phytoplankton by the submerged macrophyte *Elodea nuttallii*. Freshwater Biology 59, 930-941

Vanderstukken M., Mazzeo N., Van Colen W., Declerck S. A. J., Muylaert K., 2011. Biological control of phytoplankton by the subtropical submerged macrophytes *Egeria densa* and *Potamogeton illinoensis*: a mesocosm study. Freshwater Biology 56, 1837-1849

Vestergaard O., Sand-Jensen k, 2000. Alkalinity and trophic state regulate aquatic plant distribution in Danish lakes. Aquatic Botany 67, 85–107

Waridel P., Wolfender J. L., Lachavanne J. B., Hostettmann K., 2003. *ent*-Labdane diterpenes from the aquatic plant *Potamogeton pectinatus*. Phytochemistry 64, 1309-1317

Waridel P., Wolfender J. L., Lachavanne J. B., Hostettmann K., 2004. *ent*-Labdane glycosides from the aquatic plant *Potamogeton lucens* and analytical evaluation of the lipophilic extract constituents of various *Potamogeton* species. Phytochemistry 65, 945-954

Weisner S. E. B., Eriksson P. G., Graneli W., Leonardson L., 1994. Influence of Macrophytes on Nitrate Removal in Wetlands. AMBIO A Journal of the Human Environment 23, 363-366

Willis R. J., 1985. The Historical Bases of the Concept of Allelopathy. Journal of the History of Biology 18, 71-102

Wium-Andersen S., Anthoni U., Houen G., 1983. Elemental sulphur, a possible allelopathic compound from *Ceratophyllum demersum*. Phytochemistry 22, 2613

Wu J. T., Chiang Y. R., Huang W. Y., Jane W. N., 2006. Cytotoxic effects of free fatty acids on phytoplankton algae and cyanobacteria. Aquatic Toxicology 80, 338-345

Wu Z., Deng P., Wu X., Luo S., Gao Y., 2007. Allelopathic effects of the submerged macrophyte *Potamogeton malaianus* on *Scenedesmus obliquus*. Hydrobiologia 592, 465-474

Wu Y., Liu J., Yang L., Chen H., Zhang S., Zhao H., Zhang N., 2011. Allelopathic control of cyanobacterial blooms by periphyton biofilms. Environmental Microbiology 13, 604-615

Wu X., Wu H., Ye J., Zhong B., 2015. Study on the release routes of allelochemicals from *Pistia stratiotes* Linn., and its anti-cyanobacteria mechanisms on *Microcystis aeruginosa*. Environmental Science and Pollution Research 22, 18994-19001

Xian Q., Chen H., Liu H., Zou H., Yin D., 2006. Isolation and Identification of Antialgal Compounds from the Leaves of *Vallisneria spiralis* L. by Activity-Guided Fractionation. Environmental Science and Pollution Research 13, 233-237

Xu N., Tang Y. Z., Qin J., Duan S., Gobler C. J., 2015. Ability of the marine diatoms *Pseudo-nitzschia multiseries* and *P. pungens* to inhibit the growth of co-occurring phytoplankton via allelopathy. Aquatic Microbial Ecology 74, 29-41

Yang C., Zhou J., Liu S., Fan P., Wang W., Xia C., 2013. Allelochemical induces growth and photosynthesis inhibition, oxidative damage in marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 444, 16-23

Zeng Q., Wei Z., Yi C., He Y., Luo M., 2022. The effect of different coverage of aquatic plants on the phytoplankton and zooplankton community structures: a study based on a shallow macrophytic lake. Aquatic Ecology 56, 1347-1358

Zhang P., Grutters B. M. C., Van Leeuwen C. H. A., Xu J., Petruzzella A., Van Den Berg R. F., Bakker E. S., 2019. Effects of Rising Temperature on the Growth, Stoichiometry, and Palatability of Aquatic Plants. Frontiers in Plant Science 9, 1947

Zhang W., Jeppesen E., Wang M., Xu X., Wang L., 2017. Allelopathic effect boosts *Chrysosporum ovalisporum* dominance in summer at the expense of *Microcystis panniformis* in a shallow coastal water body. Environmental Science and Pollution Research 24, 4666-4675

Zhang C., Pei H., Lu C., Liu P., Liu C., Lei G., 2022. Eutrophication drives regime shift via changes in stoichiometric homeostasis-based submerged macrophyte assemblages. npj Clean Water 5, 17

Zhang S., Sun P., Ge F., Wu Z., 2011a. Different Sensitivities of *Selenastrum capricornutum* and Toxic Strain *Microcystis aeruginosa* to Exudates from Two *Potamogeton* Species. Polish Journal of Environmental Studies 20, 1359-1366

Zhang T., Wang L., He Z., Zhang D., 2011b. Growth inhibition and biochemical changes of cyanobacteria induced by emergent macrophyte *Thalia dealbata* roots. Biochemical Systematics and Ecology 39, 88-94

Zhao J., He X., Sun P., Zhang S., 2013. Different Sensitivities of Unicellular and Colonial *Microcystis* Strains (Cyanophyceae) to Six Emergent Macrophytes. Polish Journal of Environmental Studies 22, 1539-1546

Zhao J., Yang L., Zhou L., Bai Y., Wang B., Hou P., Xu Q., Yang W., Zuo Z., 2016. Inhibitory effects of eucalyptol and limonene on the photosynthetic abilities in *Chlorella vulgaris* (Chlorophyceae). Phycologia 55, 696-702

Zhu X., Dao G., Tao Y., Zhan X., Hu H., 2021. A review on control of harmful algal blooms by plant-derived allelochemicals. Journal of Hazardous Materials 401, 123403

Zhu J., Liu B., Wang J., Gao Y., Wu Z., 2010. Study on the mechanism of allelopathic influence on cyanobacteria and chlorophytes by submerged macrophyte (*Myriophyllum spicatum*) and its secretion. Aquatic Toxicology 98, 196-203

Zuo S., Fang Z., Zhou S., Ye L., 2016. Benthic Fauna Promote Algicidal Effect of Allelopathic Macrophytes on *Microcystis aeruginosa*. Journal of Plant Growth Regulation 35, 646-654

Zuo S., Wan K., Ma S., 2015. Combined effect of predatory zooplankton and allelopathic aquatic macrophytes on algal suppression. Environmental Technology 36, 54-59