

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta



Biologie poloparazitického druhu *Melampyrum nemorosum*



Magisterská diplomová práce

Bc. Vojtěch Adamec

školitel: RNDr. Jakub Těšitel, Ph.D.

České Budějovice 2012

Adamec, V., 2012: Biologie poloparazitického druhu *Melampyrum nemorosum*. [Biology of hemiparasitic *Melampyrum nemorosum*. Mgr. Thesis in Czech.] – 42 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace: The thesis reports distribution and important aspects of biology (host spectrum, effect of the species on plant community and basic ecophysiological characteristics) of the endangered early ecotype of hemiparasitic plant *Melampyrum nemorosum* (Orobanchaceae) in the Czech Republic. Comparisons to the frequently occurring late ecotype are also emphasised where relevant.

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

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

V Českých Budějovicích dne 14. prosince 2012

.....

Poděkování: Tato diplomová práce by nemohla přijít na svět nebýt pomoci a cenných rad mnoha dobrých lidí. Musím poděkovat Milanovi Štechovi, že popsal *Melampyrum nemorosum* var. *praecox*, Ivaně Jongepierové a CHKO Bílé Karpaty, že mi umožnili volně pracovat v rezervacích, Šuspovi za velmi cennou pomoc při vyhodnocování pokusu. Tamaře Těšitelové, Karlovi Fajmonovi a Hobitovi za příjemnou společnost a za pomoc v terénu, za společné návštěvy u Drlíků a u Kadubců. Také musím poděkovat svému spolubydlícímu za Kryštofovi Chmelovi za motivační atmosféru na pokoji při psaní této práce. Neskonalý dík patří Jitce Kockové za velikou spolupráci, kterou mi poskytla při určování hostitelů. A samozřejmě největší dík patří mému školiteli Kubovi Těšitelovi, že mě celou tu dobu trpělivě vedl. Doufám, že vám vaší pomoc budu moci jednou vrátit.

Obsah

1. Úvod.....	1
1.1 <i>Melampyrum nemorosum</i> var. <i>praecox</i>	2
1.2 Vazba na hostitele (<i>Orobanchaceae</i>).....	3
1.3 Vliv na rostlinné společenstvo.....	4
1.4 Důvody limitace výskytu.....	5
2. Cíle práce.....	6
3. Metodika.....	7
3.1 Výskyt <i>Melampyrum nemorosum</i>	7
3.2 Vysévací pokus v NPR Čertoryje.....	8
3.2.1 Struktura pokusu.....	8
3.2.2 Statistické vyhodnocení.....	9
3.3 Fyziologické měření fotosyntézy.....	9
3.4 Identifikace hostitelského spektra.....	10
3.4.1 Anatomie haustorií.....	10
3.4.2 Identifikace hostitelů metodou DNA-barcoding.....	10
4. Výsledky.....	11
4.1 Rozšíření <i>Melampyrum nemorosum</i>	11
4.2 Pokus v NPR Čertoryje.....	19
4.3 Měření fotosyntetické aktivity.....	22
4.4 Identifikace hostitelského spektra.....	23
5. Diskuze.....	31
6. Použitá literatura.....	36

1. Úvod

Parazitické rostliny jsou přítomny v naprosté většině suchozemských biomech na Zemi. Jsou rozšířeny od polární tundry až po tropický prales na rovníku. Tento způsob života rostlin se vyvinul ve všech možných životních formách přes byliny, keře, liány a dokonce i stromy. Rostlinný parazitismus vzniknul vícekrát, dnes je udáván ve 20 čeledích a zhruba 90% ze všech parazitických rostlin patří mezi poloparazity (Heide-Jørgensen 2008). Podle stupně parazitismu se totiž rozlišují úplně parazitické a poloparazitické rostliny. Parazité úplně zcela postrádají chlorofyl a jsou odkázáni pouze na zdroje, které získají od svých hostitelů. Poloparazité jsou schopni kombinovat heterotrofní i autotrofní způsob života, obsahují tedy chlorofyl a stále si udržují jistou míru fotosyntetické aktivity (Press 1989).

Parazitismus u rostlin se uskutečňuje přes speciálně uzpůsobený orgán zvaný haustorium, kterým parazitická rostlina napadá cílové tkáně svých hostitelů. Podle místa napadání se dále parazité dělí na stonkové a kořenové, podle toho zda hostitelské rostliny napadají v nadzemí nebo v podzemí. Haustorium má tedy za úkol najít vhodnou tkáň hostitele, narušit jí tak, aby došlo k napojení na cévní svazky hostitele. Skrz toto napojení parazit hostitele připravuje o vodu, minerální látky, organický uhlík (Těšitel a kol. 2010a) a také sekundární metabolity (Marko a Stermitz 1997, Lehtonen a kol. 2005).

Jak už bylo zmíněno, poloparazité jsou zajímaví tím, že nespolehají plně na hostitele, ale stále si udržují jistou schopnost asimilovat vzdušný uhlík skrz vlastní fotosyntézu. Fotosyntéza poloparazitů však nedosahuje takové účinnosti jako u běžných rostlin, soudě podle nižšího obsahu enzymu RUBISCO (Press 1986), ale také podle samotných měření fotosyntézy (Seel a Press 1994). I přes fakt, že poloparazité získávají určité množství uhlíku od cizích rostlin, přístup ke světlu je pro ně zásadní, cizopasením totiž nejsou schopni pokrýt všechny své potřeby. Poloparazité se mezi sebou liší i co do míry závislosti na hostitelích (Matthies 1995). Rostliny schopné dokončit svůj životní cyklus bez napojení na hostitele, bývají označovány jako fakultativní poloparazité, na každý pád fakultativní poloparazit napojený na hostitele prospívá lépe (Seel a kol. 1993). V přírodě navíc fakultativní poloparazité bez napojení na hostitele pozorováni jen velmi zřídka. Obligátními poloparazity jsou nazývány ty, jež k dokončení svého životního cyklu funkční napojení na hostitele vyžadují (Irving a Cameron 2009).

1.1 *Melampyrum nemorosum* var. *praecox* (Orobanchaceae)

Pro oblast Evropy, ale také s ní sousedící části Asie a Afriky je velice významná čeleď *Orobanchaceae*, která spojuje mnoho poloparazitických i zcela parazitických rostlin (Wolfe a kol. 2005). Do této čeledi patří i poloparazitický rod *Melampyrum*, který se vyskytuje do nadmořské výšky 2000 metrů a je vázán na společenstva *Trifolio-Geranietea*, *Vaccinio-Picetea* a *Quercu-Fagetea* (Ter Borg 1985) v lesích, hájích, jejich lemech, podél cest a také na lukách. Právě poloparazitické rostliny vázané na luční společenstva jsou dnes výrazně ohroženy kvůli opouštění tradičních způsobů obhospodařování, nadměrnému hnojení, nevhodné seči a fragmentaci krajiny (Bekker a Kwak 2005). *M. nemorosum* var. *praecox* je právě příkladem takovéto rostliny.

Melampyrum nemorosum var. *praecox* je fenologicky časnější ekotyp rostliny *Melampyrum nemorosum* (*Orobanchaceae*). Kveté zpravidla od května do června, zatímco pozdnější *M. nemorosum* var. *nemorosum* začíná s kvetením, až když časnější var. *praecox* již odkvétá. Tyto dva ekotypy se liší nejen fenologií, ale také morfologicky. *M. nemorosum* var. *praecox* nese méně lodyžních článků, těch bývají 2-4, s pokročilejší sezónou jich bývá až 5. Listy bývají kratší, nebo stejně dlouhé jako příslušné lodyžní články. Větve bývají krátké, nekvetou a pokud ano, tak pouze 1-2 nejvyšší páry (Štech 1998).

Na rozdíly ve fenologii a morfologii navazuje také jistá ekologické odlišnost. Pozdnější ekotyp var. *nemorosum* vyhledává spíše okraje a lemy listnatých lesů, výslunné, zarostlé stráně a křoviny. Časnější ekotyp var. *praecox* roste výhradně na kosených, bazických, druhově bohatých mezofilních lukách svazu *Bromion* (asociace *Brachypodio pinnati-Molinietum arundinaceae*, Chytrý a Novák in Chytrý 2010) v Bílých Karpatech (Štech 2000a). Zatímco pozdnější ekotyp var. *nemorosum* můžeme nalézt téměř po celém území ČR, časnější ekotyp var. *praecox* v poslední době zaznamenal výrazný ústup a dnes je rozšířen pouze na pár lučních lokalitách v Bílých Karpatech, kde však dokáže tvořit rozsáhlé porosty.

Podle Škodové a kol. (2008) je jedním z charakteristických znaků společenstva suchých luk s přítomností *Carex montana*. Toto společenstvo se vyskytuje na podkladech z flyšových pískovců, z nichž se vyvinuly neutrální až alkalické půdy s přítomností dostatečného množství minerálních živin, tedy kambizemě, pelozemě, hnědozemě a v menší míře i černozemě. Luční společenstvo s *Carex montana* se optimálně vyskytuje v nadmořských výškách 300-500 metrů n. m. a to převážně na západních, jihozápadních a jihovýchodních svazích se sklonem do 20°. V minulosti byly tyto louky koseny jednou ročně

a to většinou koncem července, avšak pevný termín seče byl stanoven spíše počasím. Při tomto způsobu obhospodařování luk byly na místě ponechávány solitérní dřeviny, převážně duby, které vytvořily vhodné podmínky pro mnohé hájové druhy (Kubíková, Kučera 1999), mezi něž pozdní ekotyp *M. nemorosum* patří.

Otázkou je, zda si také časný ekotyp *M. nemorosum* stále udržuje nějakou vazbu na stromovou a keřovou vegetaci jako jeho pozdnější příbuzný var. *nemorosum*, který je obecně chápán jako rostlina a lemů hájů a křovin. *Melampyrum nemorosum* je poloparazitická rostlina o jejímž hostitelském spektru je dosud pramálo známo. Její asociace ke stromům či keřům se dá vysvětlit tak, že by mohla cizopasit na jejich kořenových systémech. Alternativní možností je, že má kolem této vegetace vhodné podmínky k růstu, či klíčení semen nebo uchycování semenáček způsobené vyšší vlhkostí, či zástínem. Dalším vysvětlením jeho výskytu kolem stromové a keřové vegetace může být také jeho specifická schopnost šíření. Jedná se totiž o myrmekochorní rostlinu, jejíž semena šíří mravenci. Ti jsou lákáni tzv. elaiasomy, tedy nutričně bohatými tělísky přirostlými k semenům (Riefenrath a kol. 2012).

Solitérní duby (*Quercus robur* a *Q. pubescens*) však kvůli výkyvům klimatu v posledních třech dekadách na bělokarpatských lukách utrpěly stresem hlavně z důvodu nedostatku srážek v květnu a v červnu. Suchem oslabované stromy jsou navíc snáze napadány poloparazitickým jmelím *Loranthus europeus* a jsou také náchylnější k houbovým nákazám. Kombinace tří uvedených faktorů vede k jejich zvýšené mortalitě (Doležal a kol. 2010). Pokud by *M. nemorosum* var. *praecox* skutečně vykazovalo pozitivní prostorovou vazbu na solitérní duby, zvýšená mortalita dubů by mohla ovlivnit i jeho populace.

1.2 Vazba na hostitele

Je jisté, že šíření a výskyt parazitických rostlin v přírodě je omezen výskytem vhodných stanovišť se správnými hostiteli, kteří podmiňují úspěšné dokončení jejich životního cyklu, Albrecht (1973) takto například vysvětluje výskyt *Melampyrum sylvaticum* napříč Evropou v různých nadmořských výškách jako přímou závislost na hostiteli *Picea abies*. Zároveň se parazité mezi sebou liší i co do šíře hostitelského spektra, najdeme mezi nimi jak rostliny specializované na napadání jednoho specifického hostitele, tak rostliny schopné napadat celou řadu druhů.

Rozšíření poloparazitických rostlin nemusí být omezeno jen výskytem hostitelů, Dostálek & Münzbergová (2010) demonstrovali, že například *Thesium linophyllum* (*Santalalceae*) vytvářelo haustoriální napojení s 94% rostlin se kterými společně rostou a

pozorovali spíše situaci, kdy heterogenita prostředí se odrážela v rozšíření *T. linophyllon* na lokalitě a to tedy vyhledávalo příznivější mikrostanoviště.

Zkoumání hostitelského spektra kořenových poloparazitů kam *M. nemorosum* patří, na rozdíl od stonkových parazitů, není jednoduchou záležitostí. Nejméně náročná nepřímá identifikace možných hostitelů na základě porovnávání společných nadzemních výskytů poloparazita a potenciálních hostitelů se ukázala být dosti slabým nástrojem pro studium této otázky. Gibson & Watkinson (1989) byli schopni pomocí pozitivní asociace mezi poloparazitem *Rhinanthus minor* a ostatními rostlinami v okolí zjistil pouze 2 potenciální hostitele. Pomocí přímého stopování haustorii napadených kořenů k hostitelským rostlinám však byli schopni s jistotou identifikovat 34 druhů napadených rostlin. Napadané druhy spadaly hlavně do skupin trav a rostlin čeledi *Fabaceae*, přičemž populace *R. minor* se mezi sebou lišily co do selektivity hostitelů také v rámci odlehlých částí jedné populace.

Jak ale ukázal další výzkum (Cameron a kol. 2006, Cameron a Seel 2007 a Rümer a kol. 2007), připojení haustoria na kořen ještě nemusí znamenat jeho úspěšné napadení. Rostliny se mohou všelijak bránit, například byly zaznamenány případy, kdy se rostlina na rozhraní vlastního kořene a haustoria bránila lignifikací buněk, jindy byly pozorovány případy, kdy lignifikovalo celé stéle vyjma několika floémových buněk. Některé rostliny dokonce nařídí smrt svým napadeným tkáním, což může být menší cena než odevzdávat nabyté zdroje poloparazitovi (Cameron a kol. 2006). Rostliny z čeledi *Fabaceae* a traviny vykazovaly nejnižší obrannou odezvu na napadení rostlinou *R. minor*, ostatní zkoumané dvouděložné rostliny se ukázali jako velmi špatní hostitelé a *R. minor* nebyl schopen jejich obranu účinně překonat. Co ovšem platí pro jeden poloparazitický druh, nemusí platit pro jiný, například *Plantago lanceolata* je pro *Rhinanthus minor* naprosto nevhodným hostitelem, ale pro poloparazitickým rostlinám rodu *Euphrasia* se něm daří dobře (Hodgson 1973), přitom oba parazité pocházejí ze stejné čeledi (*Orobanchaceae*).

1.3 Vliv na rostlinné společenstvo

Parazitismus ze své samé podstaty napadaným rostlinám škodí, jiné rostliny z toho ale také mohou mít užitek. Autoři mnoha prací se shodují v tom, že poloparazitické rostliny snižují celkovou biomasu společenstva (např. Davies a kol. 1997, Ameloot a kol. 2005). Zavlečení rostlinného poloparazita může rozhybat zavedené způsoby společenstva, změnit kompetiční prostředí a vyústit k několika koncům závislých hlavně na tom, jací hostitelé se ve společenstvu vyskytují. Byly pozorovány případy, kdy poloparazitická rostlina snížila

diverzitu společenstva (Gibson a Watkinson 1992) nejspíše kvůli napojení na méně zastoupené druhy. Poloparazit s preferencí druhu, který ve společenstvu tvoří dominantu, však může potlačením tohoto druhu a nástupem kompetičně slabších rostlin diverzitu naopak udržovat (Pywell a kol. 2004). Například nejvíce negativní korelace s výskytem *Rhinanthus* spp. byla pozorována u trav, dvouděložné rostliny (vyjma *Fabaceae*) z přítomnosti tohoto poloparazita zpravidla těžší (Davies a kol. 1997, Ameloot a kol. 2006). V dlouhodobém hledisku se ve společenstvu s *Rhinanthus angustifolius* střídají fáze, kdy traviny vlivem parazitace ustupují, *R. angustifolius* se začíná víc a víc uplatňovat spolu s dvouděložnými rostlinami, pak ale poloparazitům dojdou vhodné hostitele a traviny postupem let opět začínají dominovat (Ameloot a kol. 2006), tyto cykly samozřejmě mohou probíhat, dokud nedojde k vyloučení poloparazita nebo hostitele ze společenstva. Zanesení poloparazitického *Rhinanthus minor* do společenstva má také nejspíš za následek prostorové rozpořádání jednotlivých komponent společenstva (Cameron a kol. 2009), kdy poloparazit, traviny nebo dvouděložné rostliny jsou vždy ve výhodě proti jedné, ale v nevýhodě proti druhé zbývající komponentě. To má za následek neustálé přesouvání tří jmenovaných funkčních skupin napříč společenstvem.

1.4 Důvody limitace výskytu

Odpovědět na otázku, zda je rostlinný druh omezen ve svém výskytu co do počtu semen, která tvoří, spolu s jejich šířitelností nebo co do počtu vhodných mikrostanovišť, na kterých je schopen růstu, je možno pomocí dvou typů vysévacích experimentů (Turnbull a kol. 2000). Buďto se semena zájmové rostliny vysévají na místa, kde se dříve nevyskytovala a monitoruje se, zda dojde k úspěšné kolonizaci stanoviště, přičemž k tomu stačí i jediná rostlina, která dokončí životní cyklus. Za předpokladu, že na dosévaném stanovišti nejsou přítomny žádné propagule vysévané rostliny, úspěšná kolonizace značí nedostatek vytvářených semen nebo jejich nedostatečné šíření v prostoru. Pokud nevzejde ani jediná rostlina zájmového druhu, poukazuje to na fakt, že místo nebylo vhodné a že zkoumaná rostlina omezena dostupností vhodných mikrostanovišť. Doséváním na místa, kde rostlina již roste, či v minulosti rostla, se dá odhadnout, do jaké míry je populace rostliny omezena produkcí semen.

Rey, Ramirez, Sánchez-Lafuente (2006) pomocí obou výše popsaných variant vysévacích pokusů zjišťovali, do jaké míry může být myrmekochorní *Helleborus foetidus* limitována dostupností mikrostanovišť, či produkcí a disperzí semen. Pozorovali, že výskyt *H. foetidus* je nejspíše aditivně omezen jak produkcí semen, tak jejich nedostatečným šířením, což se projevilo ve zvýšení abundance ve většině případů.

Výskyt poloparazitických rostlin je dán i jejich nízkou kompetiční schopností (Hejzman a kol. 2011), bývají obecně vázáni na živinami chudší stanoviště, kde jejich negativní vliv na hostitele bývá silnější (Matthies a Egli 1999), ale například Lepš a Mudrák (2010) že tomu tak nemusí být vždy. Výskyt poloparazitů je dále ovlivněn výskytem jejich hostitelů (Marvier a Smith 1997). Aby parazitická rostlina mohla svého hostitele napadat, musí být schopna ho nejprve najít a to jak v prostoru, tak v čase (Marquardt a Pennings 2010). Se schopností vyhledat vhodného hostitele souvisí také do velké míry schopnost šíření parazita. Parazitické rostliny s úzkou hostitelskou specifitou vytvářejí velké množství malých, snadno šířitelných semen, čímž se snaží maximalizovat pravděpodobnost, že naleznou toho správného hostitele. Typickými příklady takové strategie je poloparazitický rod *Striga* a holoparazitičtí zástupci rodu *Orobanche*, kteří jsou většinou úzce hostitelsky specifictí a vykazují těsnou závislost na hostiteli. Za vysokou mobilitu a velké množství semen však platí nedostatkem zásobních látek nutných pro růst samotného semenáčku. Proto ihned po vyklíčení semen musí napadat specifické tkáně vhodného hostitele, přítomností jehož kořenů je klíčení indukováno. Naopak parazitické rostliny se širokou škálou vhodných hostitelů vytvářejí menší množství semen s dostatkem zásob pro růst semenáčků, takto obtížená semena však na druhou stranu mívají sníženou schopnost šíření (Heinken 2004, Těšitel a kol. 2010b) což ovšem ve vhodném prostředí se stálým dostatkem hostitelů poloparazitickým rostlinám vůbec nemusí vadit (Satterthwaite 2007).

2 Cíle práce

Tato práce si klade za cíl komplexně zhodnotit biologické vlastnosti poloparazitické rostliny *Melampyrum nemorosum* var. *praecox* do větší šíře. Jelikož jde v ČR o kriticky ohroženou rostlinu (Grulich 2012), byla prvořadým inventarizace a zmapování lokalit jejího aktuálního výskytu. Ke zjištění míry schopnosti jejího šíření sloužil několikaletý luční pokus v NPR Čertoryje. Tento experiment měl také odpovědět na otázku, do jaké míry vysetí *M. nemorosum* ovlivňuje rostlinné společenstvo. Dalším cílem bylo podchytit spektrum hostitelů *M. nemorosum* var. *praecox*, protože ti jsou pro parazitické rostliny životně důležití pro dlouhodobé přežívání v krajině. Mimoto byla měřena i fotosyntetická aktivita rostlin, jakožto základní ekofyziologický parametr. V případě, že to bylo možné, bylo provedeno základní srovnání zjištěných údajů s pozdním ekotypem *Melampyrum nemorosum* var. *nemorosum*.

3 Metodika

3.1 Výskyt *Melampyrum nemorosum*

Pro zachycení výskytu a velikostí populací rostliny *Melampyrum nemorosum* v Bílých Karpatech jsem v roce 2010 provedl terénní mapování v NPR Čertoryje, v roce 2011 v NPR Machová a roce 2012 v NPR Jazevčí a toho samého roku také na Předních lukách. Pokryvnost rostliny jsem zaznamenával do dvou tříd, plochy s pokryvností do 20% a s pokryvností vyšší jak 20%. Ze pozorování zachycených pozorování jsem poté vytvořil mapu rozšíření populací cílové rostliny v programu Quantum GIS 1.8.0 Lisboa (2012) a GRASS (2012). Jako podkladovou mapu jsem použil aktuální ortofotomapu z internetového portálu CENIA.

K nalezení odpovědi na otázku, zda se *Melampyrum nemorosum* agreguje častěji kolem keřové a stromové vegetace bylo nutno vytvořit mapovou vrstvu, která bude tuto vegetaci představovat. Toho jsem docílil klasifikací leteckých snímků zájmových území s rozlišením 0,5 metru v programu Multispec (Purdue Research Foundation 2010). Do vyklasifikované vrstvy zohledňující stromovou a keřovou vegetaci jsem doplnil výskyt rostliny *M. nemorosum* a tzv. masku, tedy plochu, kterou jsem chtěl z výpočtů vynechat (místa, kde bylo jisté, že na nich *M. nemorosum* neporoste). Získal jsem tak rastrovou mapu, která sloužila jako vstup pro prostorovou analýzu, kterou jsem provedl ve specializovaném programu Programita (Weigand 2004) dostupném zdarma na požádání tvůrců. Užití rastrové mapy místo aproximace výskytů body se v tomto případě více blíží reálné situaci v terénu. Rastrová mapa je navíc vhodnější v případech, kdy se velikost zkoumaných jevů výrazně liší, velikost pozorovaných jevů je řádově stejně velká jako studovaný region, nebo chceme-li v analýze simulovat kompetici (Wiegand a kol. 2006).

K popisu prostorové struktury populací jsem zvolil tzv. O-funkce (Wiegand a Moloney 1999), které jsou poměrně silným nástrojem pro zkoumání, zdali je rozmístění bodů/pixelů náhodné, shlukovité nebo zda dochází k odpuzování mezi studovanými jevy. Tyto funkce popisují hustotu bodů, či pixelů na obvodech soustředných kruhů se zvoleným pixelem jako středem a poloměrem jako vzdáleností, na které hledáme vztahy mezi studovanými jevy. Pro výpočty jsem jako nulový model zvolil heterogenní Poissonův proces, který zohledňuje heterogenitu prostředí a vkládá do zájmového území intenzitní funkci. Tato funkce při randomizaci studovaných jevů umožňuje na některých místech pravděpodobnější uchycení znáhodňovaných bodů/pixelů, které jsou dále hodnoceny ve výpočtu. Intenzitní funkce byla počítána na základě výskytu *M. nemorosum*. Pozice stromové a keřové vegetace

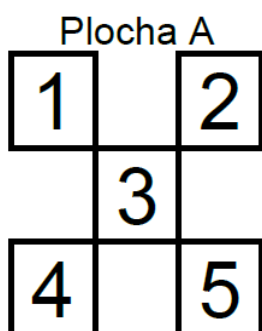
byla při výpočtech fixována, znáhodňoval jsem pouze výskyt *M. nemorosum*, přičemž buňky obsazené stromy či keři už nemohly být obsazeny touto rostlinou. K vytvoření 95% konfidenčních intervalů jsem pokaždé provedl 19 permutačních testů. Pro každé ze čtyř vymapovaných území jsem spočetl jak univariální O-funkci pouze pro *Melampyrum nemorosum*, tak bivariální O-funkci pro *M. nemorosum* a keřo-stromovou vegetaci.

Další potenciální výskyt cílové rostliny byl modelován na základě výškového modelu Bílých Karpat získaného ze satelitních snímků (ASTER GDEM), z něhož jsem pro místa s výskytem *M. nemorosum* dále s využitím mapové algebry spočetl svažitost terénu a orientaci ke světovým stranám. Ze získaných údajů o nadmořské výšce, aspektu a svažitosti terénu jsem izoloval pouze hodnoty mezi prvním a třetím kvartilem a tento rozsah pak použil jako vrstvy popisující optimální výskyt *M. nemorosum*, přičemž vyklasifikovaná vrstva lesa omezovala jeho výskyt.

3.2 Vysévací pokus v NPR Čertoryje

3.2.1 Struktura pokusu

V roce 2008 byl založen trvalý vysévací experiment v NPR Čertoryje, kde se časný ekotyp *M. nemorosum* běžně vyskytuje. Vytyčeno bylo 5 (označeny A, B, C, D, E) hlavních ploch o výměře 6x6 metrů, každá z nich obsahovala 5 podploh (označeny 1-5) a to tak aby plochy nezasahovaly do přirozeně rostoucích porostů *M. nemorosum*. V rámci hlavní plochy byl každé podploše přidělena četnost výsevů. Buďto se podplocha vysévala pouze v roce 2008 nebo jen roku 2009, v roce 2008 i 2009, každý rok a jedna podplocha zůstala nedosévána a sloužila jako kontrolní. Uspořádání plochy je znázorněno na obr.č.1. Do podplochy bylo vyséváno vždy 300 semen získaných na lokalitě ve vegetační sezóně téhož roku. Každý rok od založení pokusu proběhlo fytoecologické snímkování na všech vytyčených plochách. Získané údaje byly převedeny do programů Turboveg for Windows 2.84 (Hennekens a Schaminé 2001) a Juice 7.0 (Tichý 2002), kde se s nimi dále pracovalo.



Obr. č.1: Schématické vyobrazení pokusné plochy vysévacího experimentu v NPR Čertoryje. Podplocha 1. vysévána každý rok, 2. vysévána v letech 2008 a 2009, 3. vyseta v roce 2009, 4. vyseta v roce 2008, 5. neoseta.

3.2.2 Statistické vyhodnocení

Na otestování vlivu četnosti výsevu na výslednou pokryvnost rostliny *M. nemorosum* jsem v programu R 2.12.0 (Ripley 1994) s připojeným programovým balíkem nlme (Lindstrom a Bates 1990) spočetl lineární model se smíšenými efekty. Pokryvnost *M. nemorosum* byla logaritmicky transformována a příslušnost k plochám jsem použil jako náhodný faktor s náhodným efektem, v němž byla hierarchicky vložena příslušnost k podplochám jako další faktor s náhodným efektem. Tento lineární model jsem použil také pro testování vlivu četnosti výsevů *M. nemorosum* na výskyt identifikovaných hostitelů.

Ze sebraného datového balíku jsem vyloučil juvenilní stromy a keře. Detrendovaná korespondenční analýza ukázala nejdelší gradient s volbou odstranění trendu po segmentech, logaritmickou transformací a přiřazením menší váhy vzácnějším druhům kratší než 4, proto jsem pro další postup volil lineární mnohorozměrné metody (Lepš a Šmilauer 2003).

Pro celkovou představu o variabilitě druhového složení snímkaných ploch jsem spočetl analýzu hlavních komponent PCA (Lepš a Šmilauer 2003). Pokryvnosti druhů jsem však předtím logaritmicky transformoval a analýzu jsem centroval na druhy. Z analýzy bylo také vyloučeno *M. nemorosum*, aby se zamezilo důkazu kruhem.

Jak reagovala vegetace snímkaných pokusných ploch na četnost výsevů jsem testoval mnohorozměrnou metodou RDA (Lepš a Šmilauer 2003). Z druhových dat byly před analýzou vyloučeny vzácné druhy s méně než 5 výskyty. Druhová data byla dále logaritmována, analýza byla centrována na druhy, pokryvnost *M. nemorosum* byla z výpočtu vyloučena, jako vysvětlovaná proměnná byl použit čas, který uplynul od vysetí, jako kovariáty jsem použil jednotlivé roky, ve kterých proběhlo snímkování, příslušnost k hlavním plochám a jednotlivým podplochám. Provedl jsem 1999 permutací v redukovaném modelu v rámci hlavních ploch jako split-ploty. Permutace byly zvoleny jako volně zaměnitelné a závislé přes hlavní plochy.

3.3 Fyziologické měření fotosyntetické aktivity

V roce 2011 proběhlo terénní měření fotosyntézy *Melampyrum nemorosum* s využitím přístroje na měření fotosyntézy Li-Cor 6400 (Li-Cor Biosciences, Lincoln, NE, USA) na bělokarpatských lokalitách Čertoryje, Přední louky (*M. nemorosum* var. *praecox*), Suchovské Mlýny (*M. nemorosum* var. *nemorosum*) a Trhová Kamenice v Železných horách (*M.*

nemorosum var. *nemorosum*). Každý list byl osvětlován při intenzitě 1500 μmol fotonů na m^2 za s^{-1} , dokud nedosáhl stálých hodnot asimilace. Poté byla intenzita osvětlení postupně snižována na 1000, 800, 500, 250, 100 a 50 μmol fotonů na m^2 za s^{-1} a pro každou intenzitu osvětlení byly zaznamenávány hodnoty asimilace uhlíku. Pro sestavení fotosyntetických křivek byla použita rovnice z Lambers a kol. (2008):

$$A_n = \{ \Phi I + A_{\max} - [(\Phi I + A_{\max})^2 - 4\theta \Phi I A_{\max}]^{0.5} \} / 2\theta - R_d$$

A_n je míra asimilace uhlíku, A_{\max} je míra asimilace při světle saturované fotosyntéze, Φ je kvantový výtěžek fotosyntézy, je faktor zakřivení a R_d je temnostní respirace během fotosyntézy.

3.4 Identifikace hostitelské spektra

Tato kapitola vznikla ve spolupráci s Mgr. Jitkou Kockovou.

3.4.1 Anatomie haustorií

V roce 2010 byly na lokalitě Čertoryje vytyčeny 3 fytoecnologické snímky, kde přirozeně rostlo *M. nemorosum* var. *praecox* a pro srovnání byl v lese u Suchovských mlýnů vytyčen 1 fytoecnologický snímek s výskytem pozdního ekotypu *M. nemorosum*. Z těchto ploch byly odebrány půdní sondou (průměr 5 cm) kořeny z okolí rostliny této rostliny. Ty byly posléze preparovány pod binolopou, kořeny napadené haustorií byly ihned po preparaci fixovány v 2,5% roztoku glutaraldehydu v 0,1 M fosfátovém pufru (pH=7,2) a skladovány při teplotě 4°C. Posléze byly kořeny s haustorií post-fixovány 1 % oxidem osmičelým, postupně odvodněny acetonovou řadou a dále zality do pryskyřice Spurr. Z bločků byly poté připraveny poloténkové řezy o tloušťce 400 nm. Řezy byly obarveny toluidinovou modří a pozorovány pod optickým mikroskopem.

3.4.2 Identifikace hostitelů metodou DNA-barcoding

Fragmenty kořenů hostitelů byly uloženy po preparaci do silikagelu a skladovány při -20°C. Na extrakci a amplifikaci DNA byl použit REExtract-N-Amp Plant PCR kit (Sigma-Aldrich) s postupem doporučeným výrobcem. Pro odlišení jednotlivých druhů hostitelů byl použit trnL intron (Taberlet et al. 2007), který se nejlépe amplifikoval (v porovnání s úseky rbcL, ITS a P6 loop). Vybraný úsek byl amplifikován dle následujícího protokolu touch-down PCR (teplota nasedání primerů snižována po 0,5°C od 61°C až na 56°C) s použitím primerů specifických pro rostliny (primer c a primer d; Taberlet et al. 1991):

(40 cyklů)	Teplota (°C)	Čas (min)
Počáteční denaturace	95	10
Cykly denaturace	95	0:30
Nasedání primerů	61	0:30
Elongace	72	2
Denaturace	95	0:30
Nasedání primerů	56	0:30
Elongace	72	2
Konečná elongace	72	10

Vzorky, které se nepodařilo amplifikovat touch-down PCR, byly následně amplifikovány pomocí semi-nested PCR, a to amplifikací delšího úseku chloroplastové DNA s použitím primerů c a f (Taberlet et al. 1991). Ve druhé části semi-nested PCR byl amplifikován též úsek jako v touch-down PCR (primer c a primer d). Následující program byl použit pro obě dvě části semi-nested PCR:

(40 cyklů)	Teplota (°C)	Čas (min)
Počáteční denaturace	70	4
Cykly denaturace	94	1
Nasedání primerů	53	1
Elongace	72	2
Konečná elongace	72	10

Výsledek amplifikace byl otestován elektroforézou na 1,5 % agarózovém gelu v TBE pufru. PCR produkt byl následně purifikován (5 µl PCR produktu na 2 µl ExoSap). Sekvenační směs se skládala z 1 µl primeru c, 5 µl vody a 1,5 µl purifikovaného PCR produktu.

Druhy hostitelů byly dle výsledných sekvencí identifikovány nejprve pomocí internetové databáze GeneBank a nástroje Blast. Poté byla identifikace hostitelů zpřesněna porovnáním jejich sekvencí s databází hostitelů vytvořenou ze sekvencí druhů rostlin, které se vyskytovaly společně s druhem *Melampyrum nemorosum*.

4 Výsledky

4.1 Rozšíření *Melampyrum nemorosum*

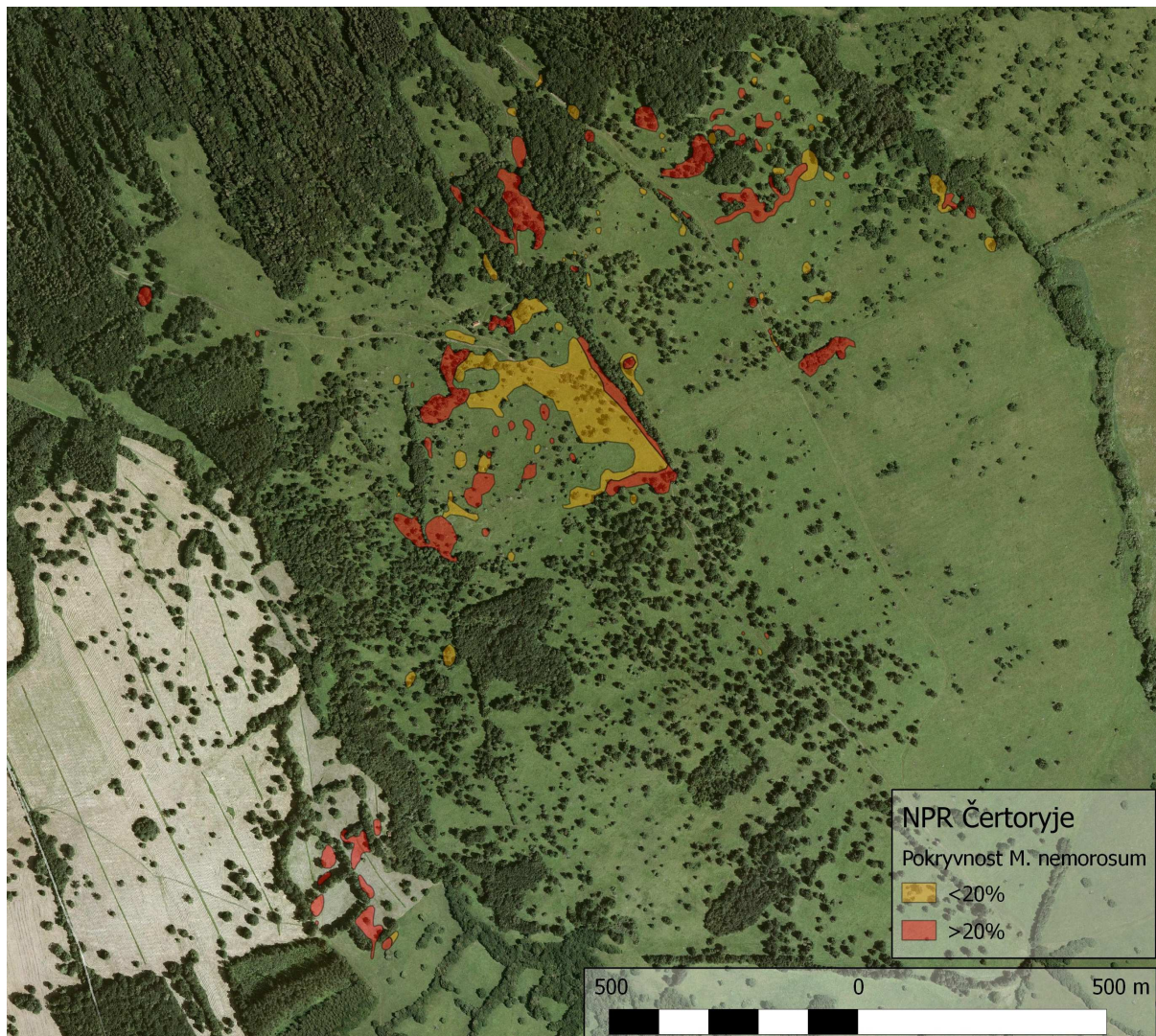
Rozšíření populace *Melampyrum nemorosum* z NPR Čertoryje je patrné z obr. č.2., O-funkce popisující prostorové rozmístění tamější populace jsou vyneseny na obr. č.3. Populace z PR Machová je zobrazena na obr. č.4, odpovídající O-funkce jsou vyneseny na obr. č.5. Populace *M. nemorosum* z NPR Jazevčí je zachycena na obr. č.6 spolu s odpovídajícími křivkami

O-funkcí na obr. č.7, a rozšíření populace z Předních luk je zřetelně patrné na obr. č.8, na obr. č.9 jsou vyneseny křivky O-funkcí populace *M. nemorosum* z Předních luk.

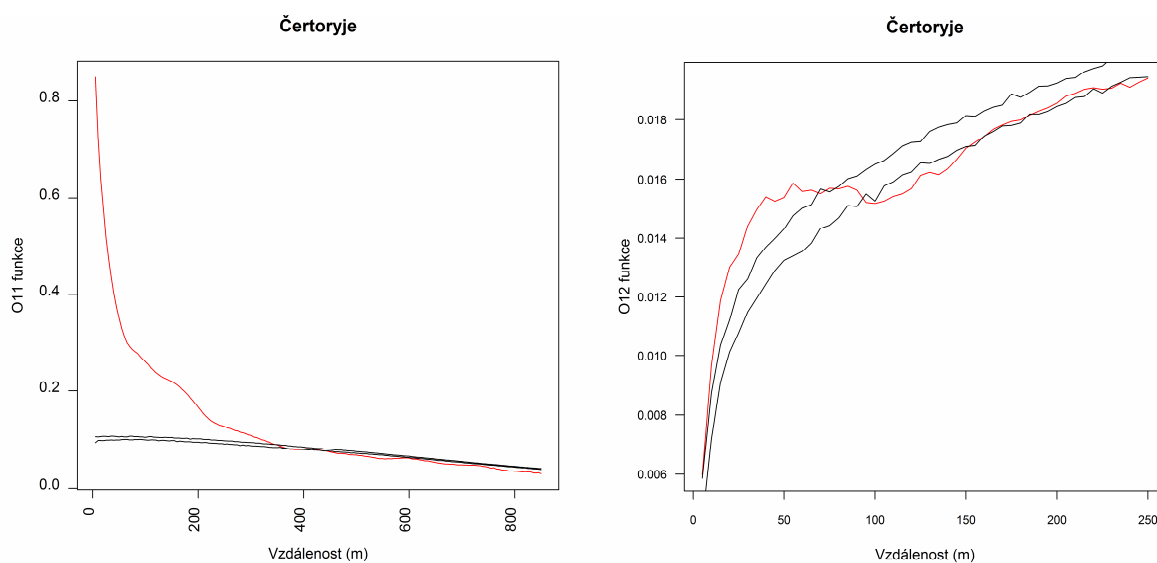
Z vnesených křivek univerziálních funkcí je patrné, že *M. nemorosum* se na Čertoryjích, Jazevčí a Machové shlukuje do průměrné vzdálenosti 323 m, situace na Předních loukách je poněkud odlišná, tam O-funkce ani v 600 metrech nebyla schopna odhalit konec agregace. To je však dáno tím, že populace *M. nemorosum* na Předních loukách je velice silná a prakticky tvoří jeden souvislý porost. Velikost populací na jednotlivých lokalitách vyjádřená logaritmem vymapované plochy porostů *M. nemorosum* je zobrazena na obr.č.10.

Bivarietní křivky O-funkcí, kromě populace *M. nemorosum* na Čertoryjích, neprokázaly žádnou agregaci *M. nemorosum* kolem stromové a keřové vegetace ve vzdálenostech, ve kterých by mohlo docházet k facilitaci růstu či parazitismu *M. nemorosum*, naopak na krátkých vzdálenostech dochází na těchto třech lokalitách spíše k odpuzování mezi *M. nemorosum* a stromovou a keřovou vegetací. *M. nemorosum* se ve vztahu ke stromové a keřové vegetaci v NPR Čertoryje chová opačně, než na ostatních třech mapovaných lokalitách, ve vzdálenostech do 65 metrů od této vegetace se vyskytuje častěji, než přísluší náhodě a dochází tedy ke shlukování kolem stromové a keřové vegetace.

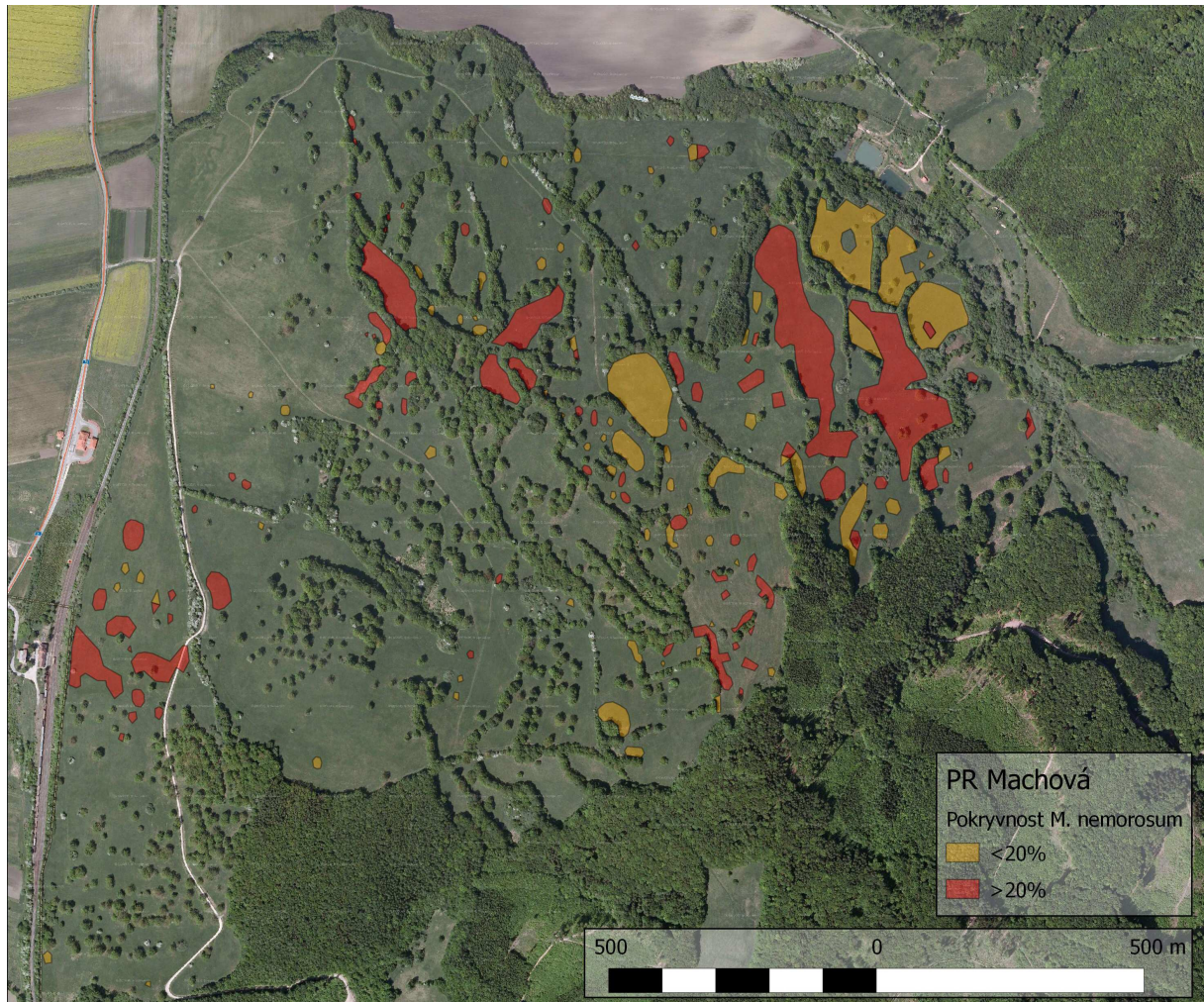
Nadmořská výška, sklon a orientace ke světovým stranám, na kterých *M. nemorosum* rostlo je znázorněno na obr. č. 11. Tyto hodnoty mohou predikovat růst rostliny *Melampyrum nemorosum* i na dalších, neobjevených lokalitách, viz. obr. č. 12.



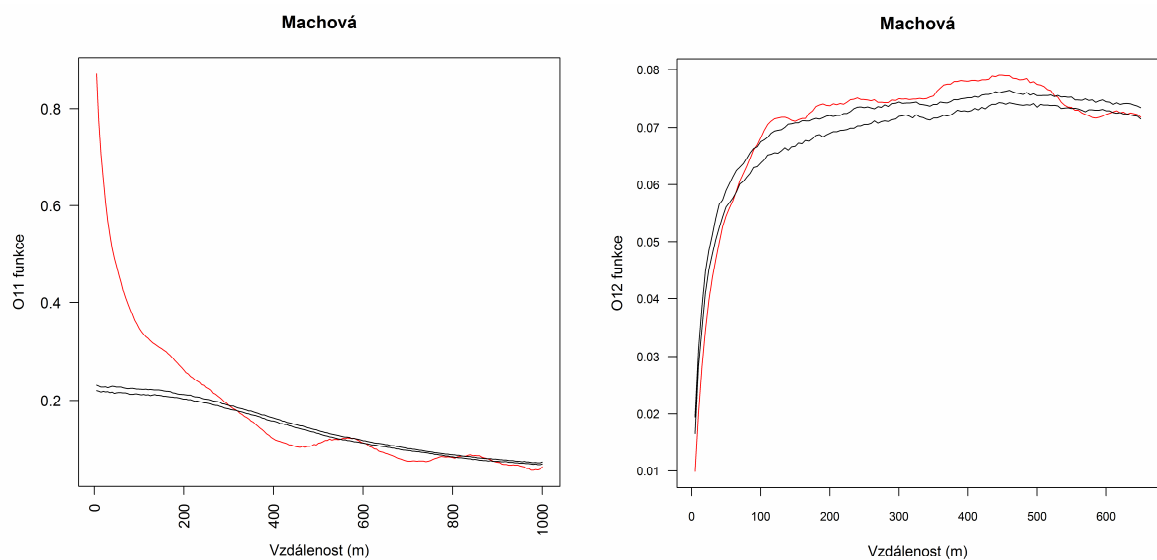
Obr. č. 2: Rozšíření rostliny *M. nemorosum* v NPR Čertoryje



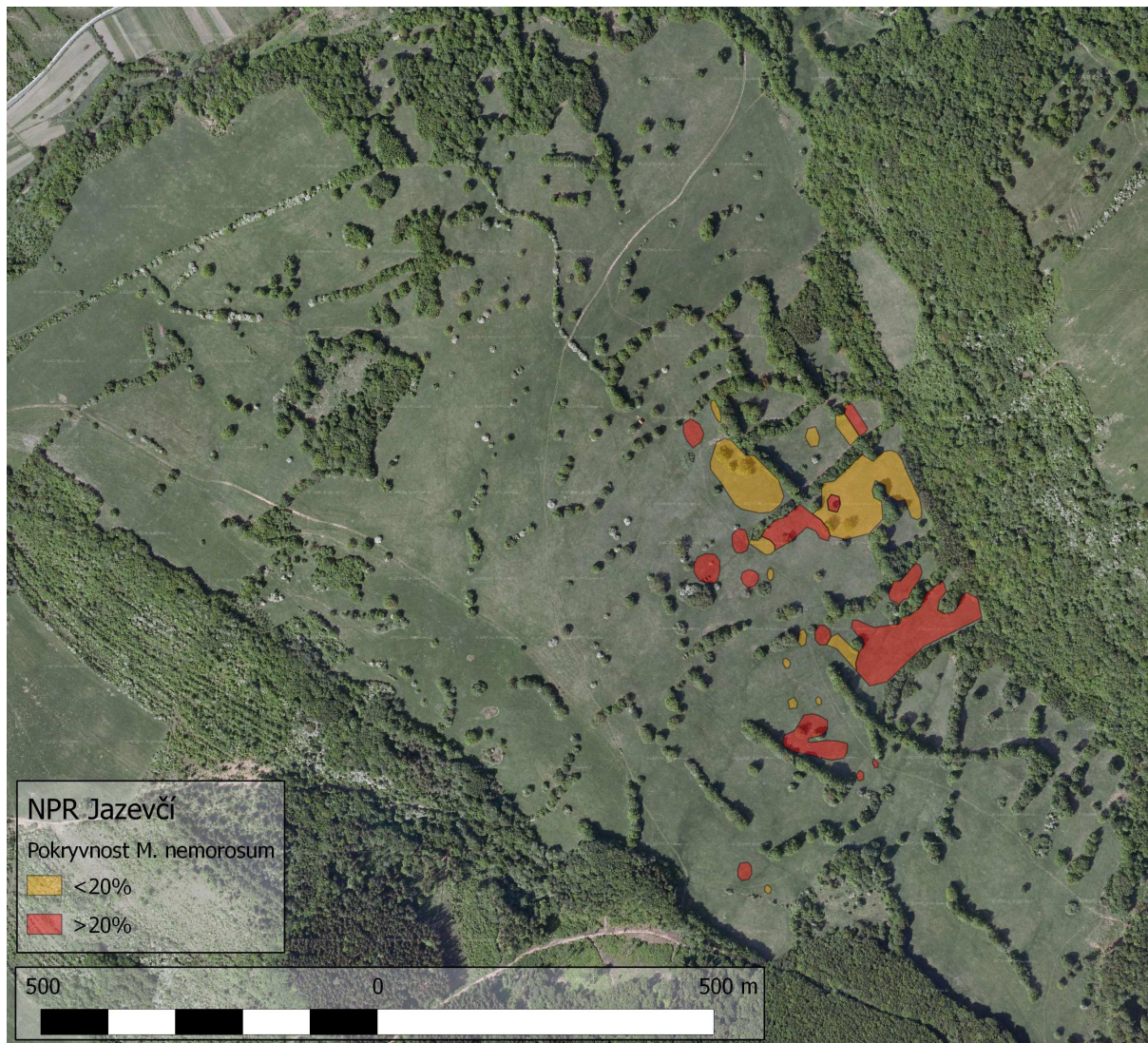
Obr. č. 3: Univariátní (vlevo) a bivariátní (vpravo) křivky *O*-funkcí pro populaci *M. nemorosum* v NPR Čertoryje. Červeně zobrazena *O*-funkce, černě 95% konfidenční interval.



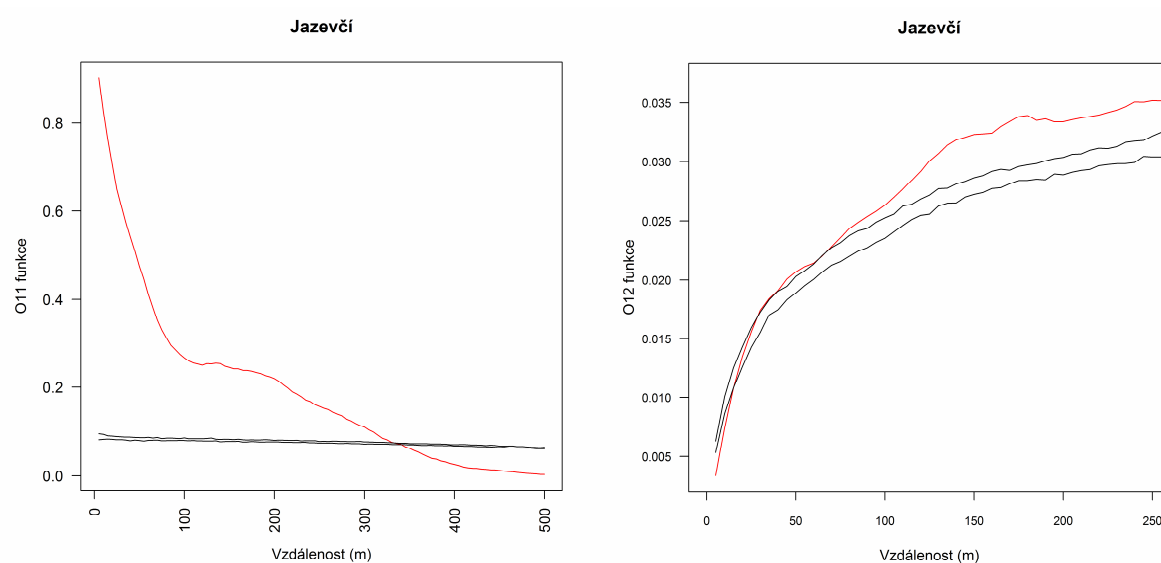
Obr. č. 4: Rozšíření rostliny *M. nemorosum* v PR Machová



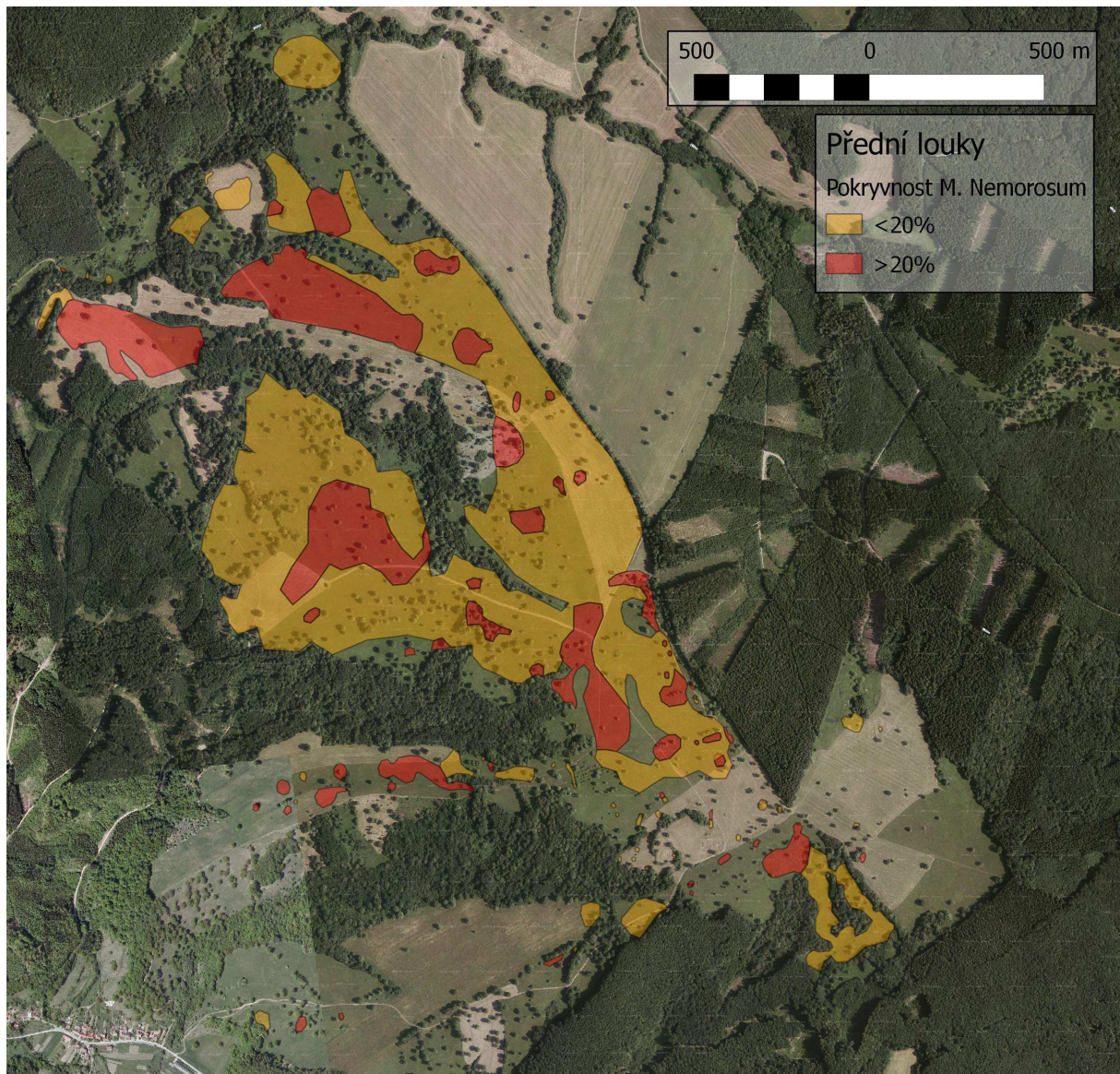
Obr. č. 5: Univariátní (vlevo) a bivariátní (vpravo) křivky O-funkcí pro populaci *M. nemorosum* v PR Machová. Červeně zobrazena O-funkce, černě 95% konfidenční interval.



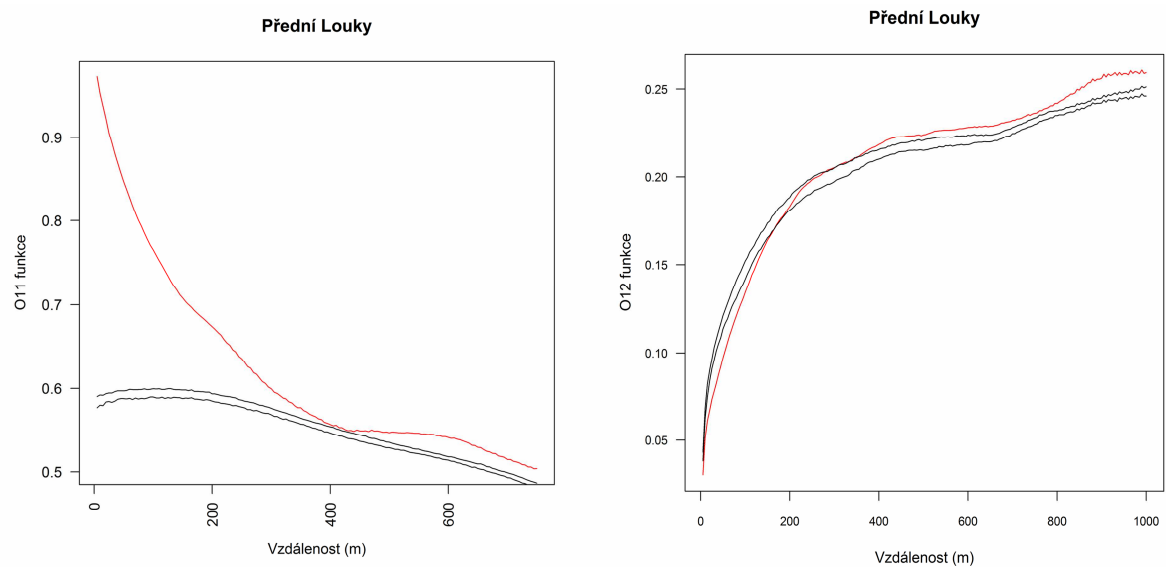
Obr. č. 6: Rozšíření rostliny *M. nemorosum* v NPR Jazevčí



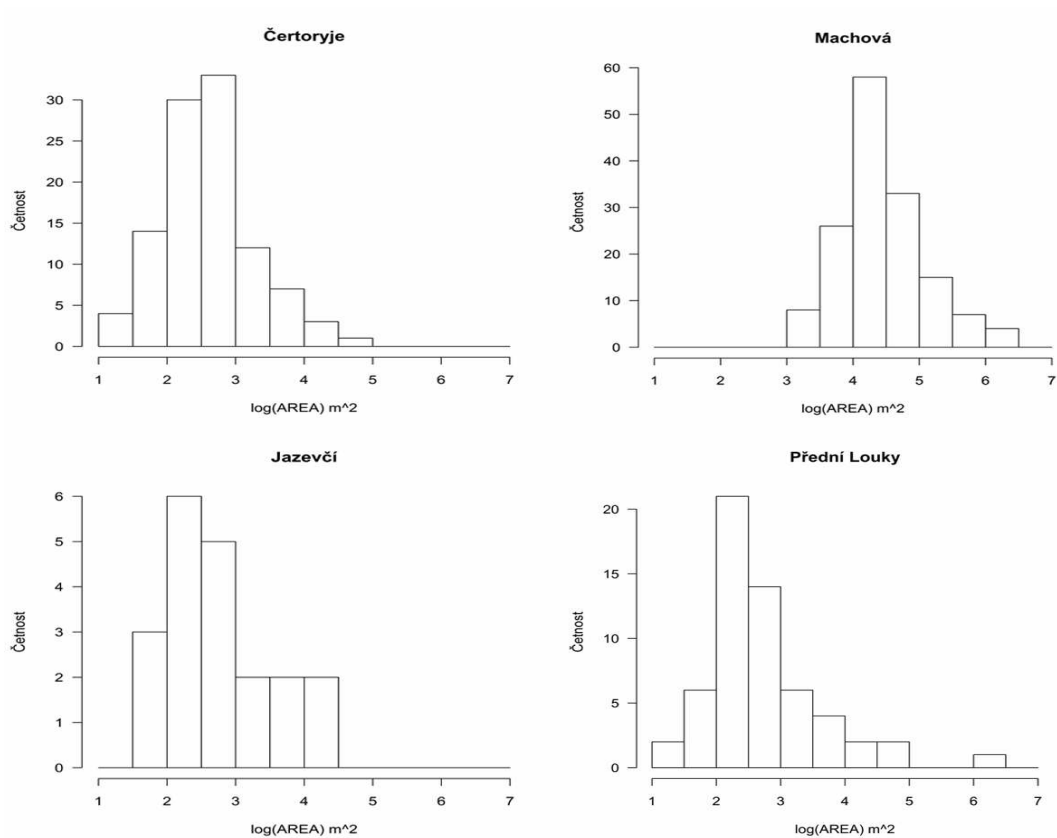
Obr. č. 7: univariátní (vlevo) a bivariátní (vpravo) křivky *O*-funkcí pro populaci *M. nemorosum* v NPR Jazevčí. Červeně zobrazena *O*-funkce, černě 95% konfidenční interval.



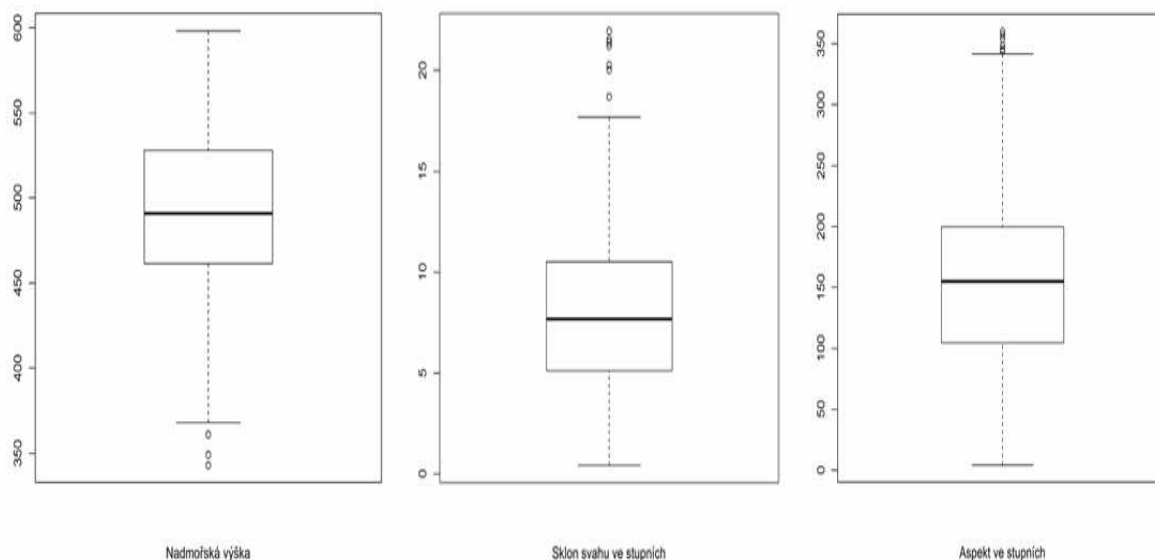
Obr. č. 8: Rozšíření rostliny *M. nemorosum* na Předních loukách



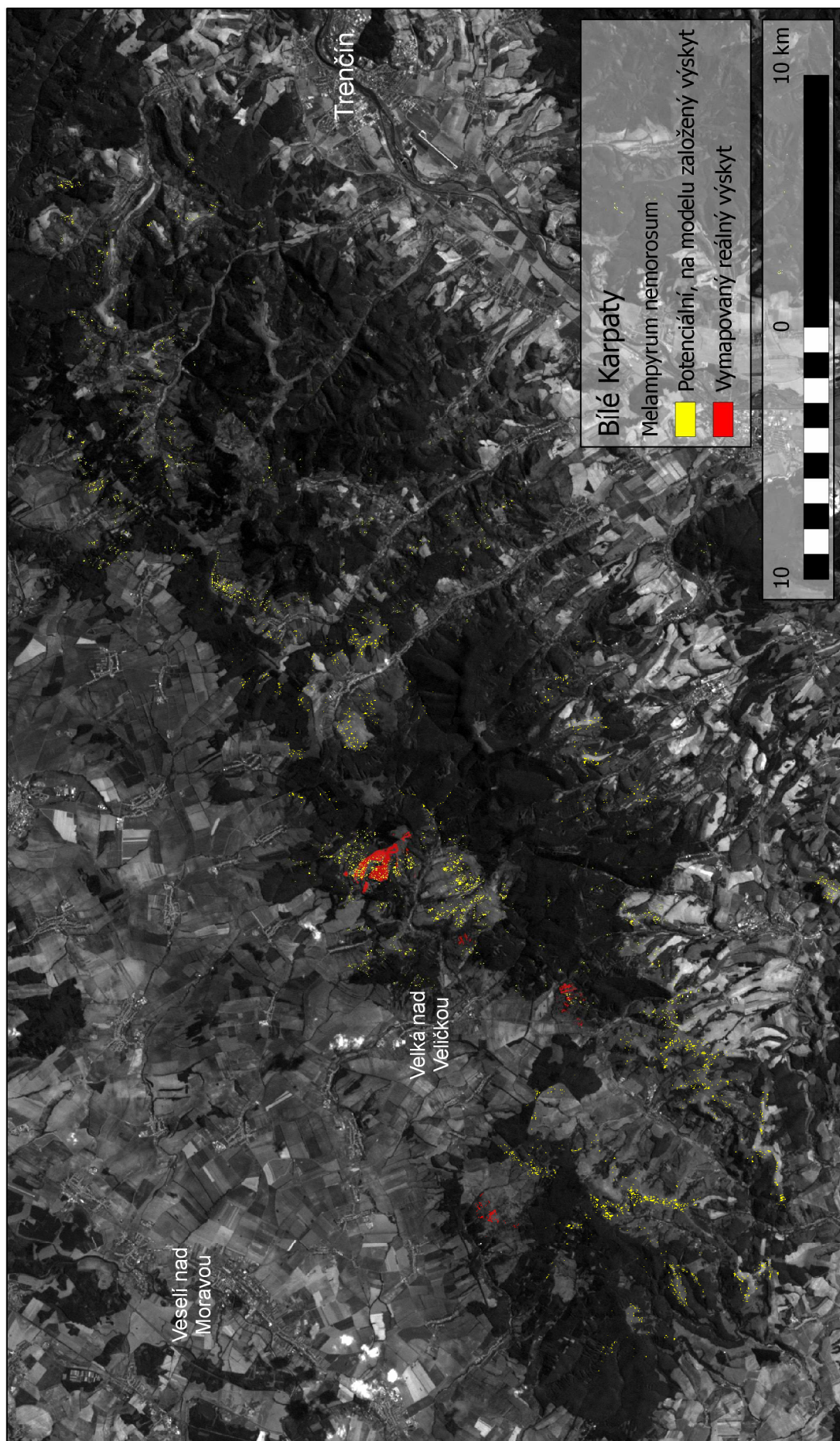
Obr. č. 9: univariátní (vlevo) a bivariátní (vpravo) křivky *O*-funkcí pro populaci *M. nemorosum* na Předních loukách. Červeně zobrazena *O*-funkce, černě 95% konfidenční interval.



Obr. č. 10: Logaritmus velikostplochy porostů *M. nemorosum* na jednotlivých lokalitách



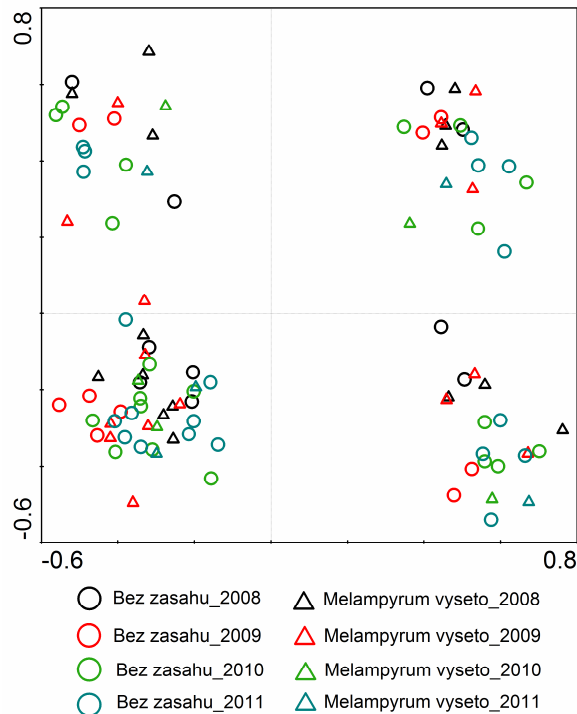
Obr. č. 11: Diagramy zobrazující zaznamenané rozšíření *M. nemorosum* v nadmořských výškách, na jakých sklonech svahů rostlo a jakou orientaci ke světovým stranám preferovalo. Tlustou čarou je vynesem medián, obdélníkem je znázorněn rozsah mezi 1. 3. kvartilem, čárkovaně a prázdnými kolečky zbylé hodnoty.



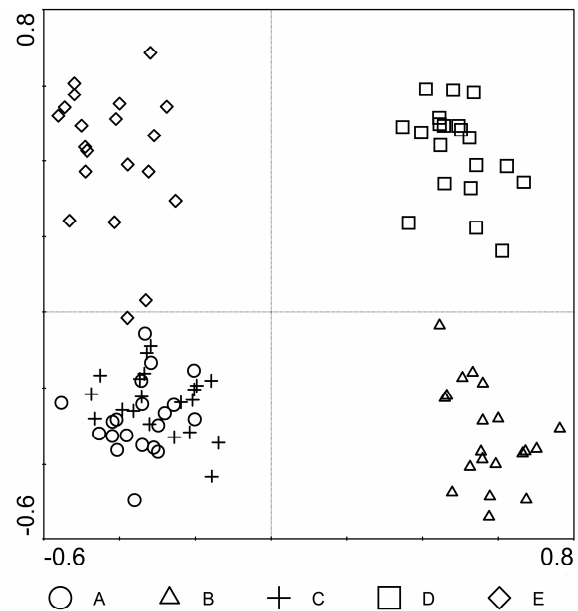
Obr. č.12: Vymapovaný výskyt a potenciální rozšíření rostliny *M. nemorosum* var. *praecox* v Bílých Karpatech. Potenciální rozšíření je založené na rozsazích hodnot mezi 1. a 3. kvartilem nadmořské výšky, sklonu svahu a orientace ke světovým stranám mapovaných populací.

4.2 Pokus v NPR Čertoryje

Celková variabilita zachycená při snímkování na pokusných plochách mezi roky 2008 až 2011 je zachycená v diagramu analýzy hlavních komponent PCA na obr. č.13. Příslušnost k hlavním plochám je zobrazena na obr. č.14.

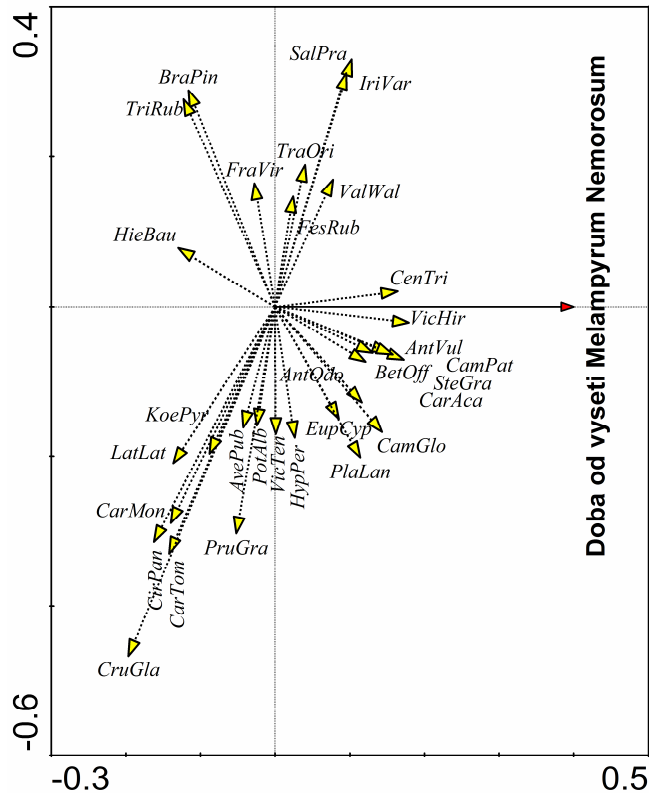


Obr. č. 13: PCA diagram zachycující variabilitu na pokusných plochách mezi roky 2008-2010. První dvě zobrazené osy vysvětlují 31, 6% variability.



Obr. č. 14: PCA zobrazující příslušnost k hlavním plochám.

Jaký vliv mělo vysetí *M. nemorosum* do rostlinného společenstva na pokusných plochách po čtyřech letech je patrné z diagramu redundanční analýzy RDA na obr. č. 15. Po čtyřech letech následkem vysetí *M. nemorosum* ustoupila roslitna *Hieracium bauhinii*, naopak vysetí prospělo rostlinám jako *Centaurea triumfetii*, *Vicia hirsuta*, *Carlina acaulis*, *Stelaria graminea*, *Betonica officinalis*, *Anthylis vulneraria* a *Campanula patula*, *Campanula glomerata*, *Anthoxantum odoratum*.

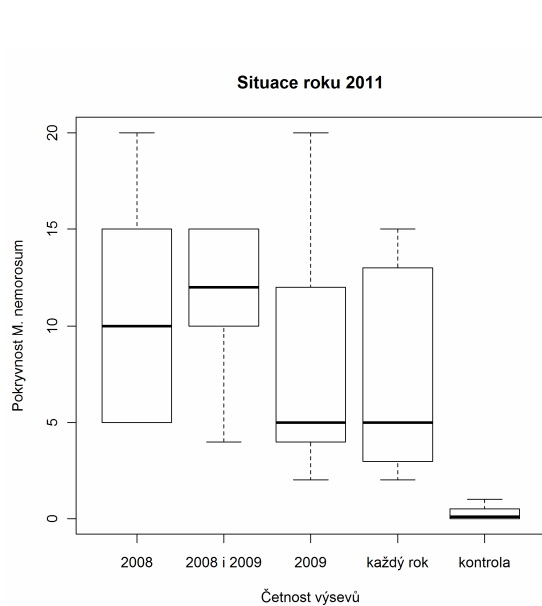


Obr. č. 15: RDA diagram znázorňující vývoj rostlinného společenstva v čase jako reakci na vysetí poloparazitické rostliny *Melampyrum nemorosum*. První dvě zobrazené osy vysvětlují 10,0% celkové variability v datech ($F=1,349$, $p=0,0175$).

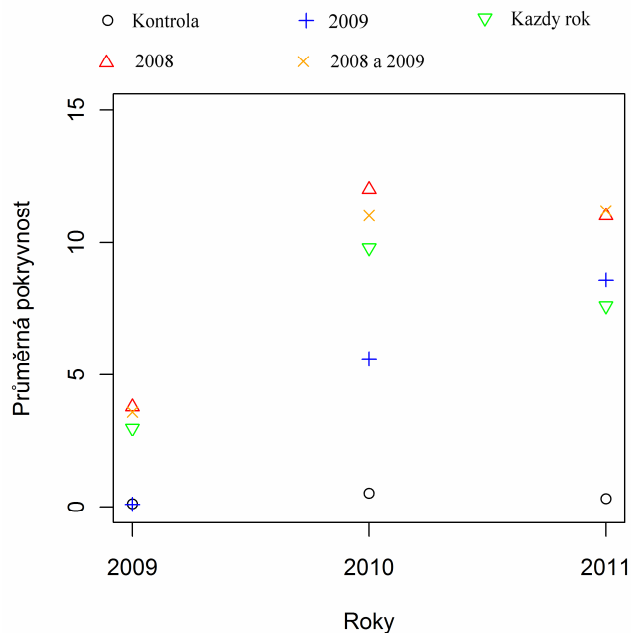
Podle výsledků modelu se smíšenými efekty (tab. II) vysetí rostliny v roce 2008 mělo průkazný pozitivní vliv na pokryvnost *M. nemorosum* ve všech třech následujících letech ($F_{3,60}=3,8047$, $p=0,0145$). Vliv vysetí v roce 2009 na pokryvnost v následujících letech však nebyl průkazný stejně jako opakované dosévání do stejných ploch. Opakované vysévání rostliny do stejných ploch žádný průkazný vliv na pokryvnost rostliny nemělo. Pokryvnost *M. nemorosum* na pokusných plochách v roce 2011 je vynesena na obr. č. 16, *Melampyrum nemorosum* se uchytlo beze zbytku na všech vysévaných plochách. Průměrná pokryvnost cílové rostliny *M. nemorosum* pro jednotlivé četnosti výsevů v jednotlivých letech sledování pokusu je zobrazena na obr. č. 17.

	numDF	denDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	60	292.84	<.0001
vys08	1	16	42.16	<.0001
vys09	1	16	1.36	0.26
vys10	1	16	6.84	0.02
year.2	3	60	65.49	<.0001
vys08:vys09	1	16	4.91	0.04
vys08:year.2	3	60	8.56	<.0001
vys09:year.2	3	60	1.24	0.3
vys10:year.2	3	60	3.05	0.04
vys08:vys09:year.2	3	60	2.17	0.1

Tab. II: Výsledek testování vlivu výsevů *Melampyrum nemorosum* na rostlinné společenstvo na pokusných plochách. Interakce prediktorů je znázorněna dvojtečkou. numDF je počet stupňů volnosti modelu, denDF je reziduální počet stupňů volnosti.

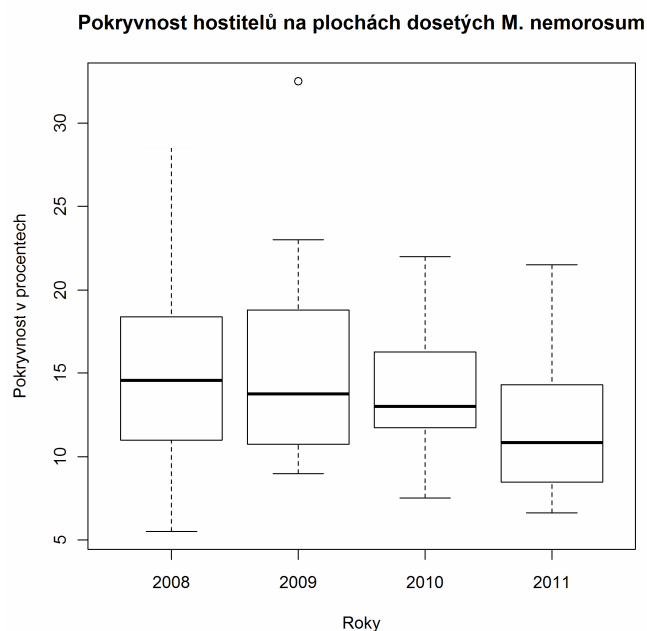


Obr. č. 16: Pokryvnost *M. nemorosum* na pokusných plochách v roce 2011. Rostlina se uchytila na všech vysévaných plochách.



Obr. č. 17: Průměrná pokryvnost *M. nemorosum* na pokusných plochách od založení do skončení pokusu.

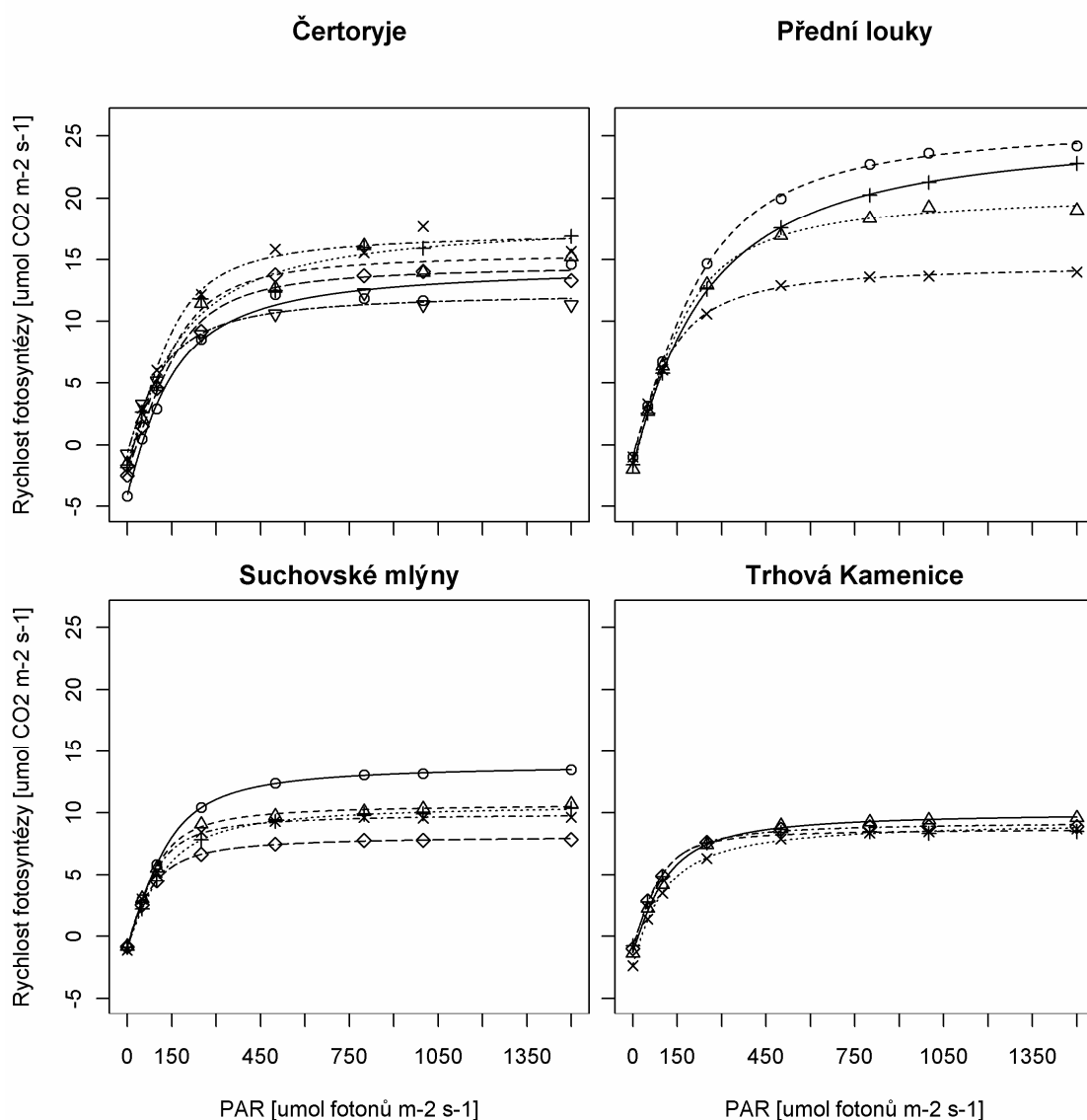
Tento model byl aplikován také na identifikované hostitelské rostliny *M. nemorosum* rostoucí na pokusných plochách, avšak vliv *M. nemorosum* na pokryvnost hostitelů nebyl průkazný. Nicméně, jak je patrné z obrázku č. 18, celková pokryvnost hostitelů se na plochách s vysetým poloparazitem během čtyř let sledování pokusu snížila.



Obr. č. 18: Vývoj celkové pokryvnosti identifikovaných hostitelů mezi lety 2008 a 2011. *Melampyrum nemorosum* bylo vyseto roku 2008.

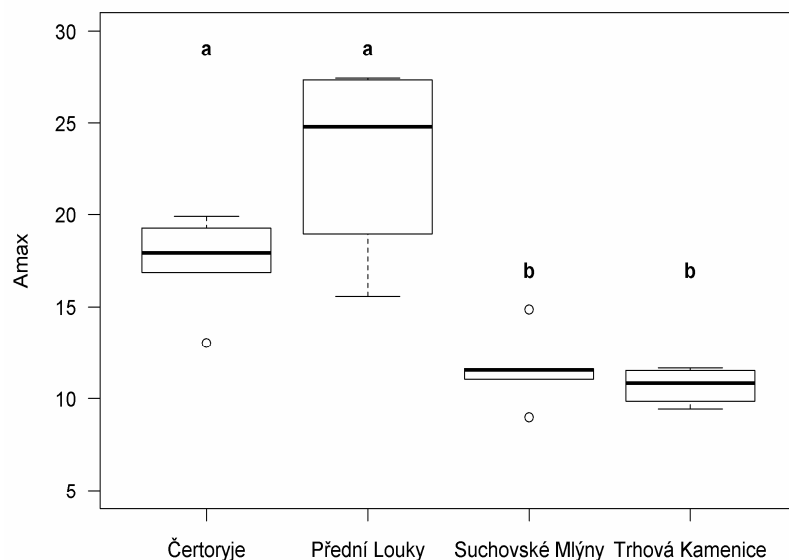
4.3 Měření fotosyntetické aktivity

Naměřená fotosyntetická aktivita pro populace časného ekotypu rostliny *M. nemorosum* var. *praecox* z lokalit Čertoryje a Přední louky je vynesena na obr. č. 19, fotosyntetická aktivita pozdního ekotypu *M. nemorosum* var. *nemorosum* z lokalit Suchovské Mlýny a Trhová Kamenice je pro srovnání vynesena tamtéž. Ze zobrazených fotosyntetických křivek je zřejmé, že časné populace *M. nemorosum* dosahují vyšších maximálních hodnot fotosyntézy než pozdní populace, které však dosahují svých limitních hodnot dříve. Tento výsledek poukazuje na to, že pozdní ekotyp této rostliny je uzpůsoben pro nižší intenzitu osvětlení než jeho časnější příbuzný.



Obr. č. 19: Fotosyntetická aktivita rostlin 4 populací *M. nemorosum*. Populace z Čertoryjí a z Předních luk jsou tvořeny časným ekotypem, Suchovské Mlýny a Trhové Kamenice pozdním ekotypem rostliny *M. nemorosum*.

Hodnoty pro rychlosti fotosyntézy při saturaci světlem (A_{\max}) jsou vyneseny na obr. č. 20. Z něj je patrné, že populace časného ekotypu *M. nemorosum* z Čertoryjí a Předních luk dosahují průkazně vyšších hodnot A_{\max} , nežli populace pozdního ekotypu ($F_{3,15}=14,68$; $p<0,0001$).



Obr.č. 20: Hodnoty světlem nasycené fotosyntézy A_{\max} v $\mu\text{mol fotonů na m}^2 \text{ za s}^{-1}$ pro jednotlivé populace *M. nemorosum*. Různá písmena odpovídají statisticky významnému rozdílu při testování pomocí Tukey HSD mnohonásobných porovnání χ

4.4 Identifikace hostitelského spektra

Fytocenologické snímky z nichž byly odebrány kořeny spolu s vyjádřeným napadením haustorii rostliny *M. nemorosum* jsou zobrazeny v tab. III. Z této tabulky je patrné, že *M. nemorosum* napadá hojně rostliny jako *Asperula tinctoria*, *Helianthemum grandiflorum*, *Filipendula vulgaris*, *Centaurea jacea*, *Fragaria viridis*, *Inula salicina*, *Trifolium pratense* a co je pozoruhodné také ve velké míře samo sebe. Další, v menší míře napadané rostliny byly *Arrhenaterum elatius*, *Cruciata glabra*, *Lathyrus pratensis*, *Medicago falcata*, *Plantago media*, *Valeriana officinalis* a *Vicia tenuifolia*. Fytocenologický snímek z lesa u Suchovských Mlýnů, ze kterého byly odebrány kořeny na analýzu hostitelského spektra je zobrazen v tab. IV. Hostitelské preference pro časný ekotyp jsou zobrazeny v tab. V. Časný ekotyp se v preferencích hostitelů průkazně lišil

Relevé	Počet haustorii <i>M. nemorosum</i>			Relevé	Počet haustorii <i>M. nemorosum</i>		
	1	2	3		1	2	3
<i>Achillea collina</i>	+	3	3	<i>Lathyrus latifolius</i>	r	.	.
<i>Anthoxanthum odoratum</i>	.	.	r	<i>Lathyrus niger</i>	.	.	1
<i>Arrhenatherum elatius</i>	.	r	r	<i>Lathyrus pratensis</i>	.	r	.
<i>Asperula tinctoria</i>	.	+	.	<i>Leontodon hispidus</i>	.	.	r
<i>Astragalus danicus</i>	.	.	r	<i>Lotus corniculatus</i>	.	r	r
<i>Avenula pubescens</i>	r	.	r	<i>Luzula campestris</i>	.	.	r
<i>Betonica officinalis</i>	2	+	2	<i>Medicago falcata</i>	3	.	.
<i>Brachypodium pinnatum</i>	.	.	r	<i>Medicago lupulina</i>	.	.	r
<i>Briza media</i>	r	.	.	<i>Molinia arundinacea</i>	2	.	.
<i>Bromus erectus</i>	2	2	2	<i>Molinia caerulea</i>	.	+	.
<i>Campanula patula</i>	r	.	.	<i>Myosotis arvensis</i>	r	.	.
<i>Carex montana</i>	r	+	.	<i>Peucedanum cervaria</i>	r	.	+
<i>Centaurea jacea</i>	.	r	.	<i>Plantago lanceolata</i>	r	.	r
<i>Cerastium holosteoides</i>	.	.	r	<i>Plantago media</i>	.	r	.
<i>Chamaecytisus virescens</i>	.	.	r	<i>Poa pratensis</i>	1	r	.
<i>Cirsium pannonicum</i>	r	+	r	<i>Potentilla alba</i>	2	2	2
<i>Colchicum autumnale</i>	2	+	.	<i>Primula veris</i>	+	2	+
<i>Coronilla varia</i>	.	r	.	<i>Pulmonaria angustifolia</i>	.	.	r
<i>Crataegus species</i>	.	r	r	<i>Ranunculus auricomus</i>	r	.	.
<i>Cruciata glabra</i>	r	r	r	<i>Ranunculus polyanthemos</i>	r	r	r
<i>Dactylis glomerata</i>	2	r	r	<i>Rhinanthus minor</i>	.	r	r
<i>Dianthus carthusianorum</i>	.	r	.	<i>Rhinanthus serotinus</i>	2	+	2
<i>Euphorbia cyparissias</i>	.	.	r	<i>Rumex acetosa</i>	r	r	r
<i>Euphorbia virgata</i>	.	r	.	<i>Salvia pratensis</i>	2	+	1
<i>Festuca pratensis s.str.</i>	r	.	.	<i>Sanguisorba officinalis</i>	+	r	r
<i>Festuca rubra</i>	1	r	r	<i>Serratula tinctoria</i>	.	.	2
<i>Festuca rupicola</i>	r	+	.	<i>Silene vulgaris</i>	r	.	.
<i>Filipendula vulgaris</i>	r	+	2	<i>Symphytum tuberosum</i>	r	.	r
<i>Fragaria viridis</i>	1	r	r	<i>Tanacetum corymbosum</i>	.	.	r
<i>Galium pumilum</i>	.	r	r	<i>Trifolium alpestre</i>	.	.	r
<i>Galium verum</i>	2	r	r	<i>Trifolium montanum</i>	r	.	r
<i>Genista tinctoria</i>	.	r	.	<i>Trifolium pratense</i>	.	.	r
<i>Geranium sanguineum</i>	2	3	1	<i>Trisetum flavescens</i>	2	1	.
<i>Helianthemum grandiflorum</i>	r	r	r	<i>Valeriana officinalis</i>	+	.	.
<i>Hieracium umbellatum</i>	.	.	+	<i>Veronica chamaedrys</i>	r	r	r
<i>Holcus lanatus</i>	.	.	r	<i>Veronica officinalis</i>	.	.	r
<i>Inula hirta</i>	.	.	r	<i>Vicia tenuifolia</i>	1	2	r
<i>Inula salicina</i>	2	1	.	<i>Viola hirta</i>	r	+	+
<i>Knautia arvensis</i>	.	r	.	<i>Melampyrum nemorosum</i>	1	2	3

Tab. III: Fytocenologické snímky pro populaci časného ekotypu *M. nemorosum* v NPR Čertoryje, ze kterých byly odebrány vzorky pro analýzu hostitelského spektra, spolu s frekvencí napadení druhů haustorii rostliny *M. nemorosum*. Pokryvnosti uvedeny v Braun-Blanquetově stupnici.

Druhy rostlin a jejich pokryvnosti v Braun-Blanquetově stupnici		Počet haustorií <i>M. nemorosum</i>	Druhy rostlin a jejich pokryvnosti v Braun-Blanquetově stupnici		Počet haustorií <i>M. nemorosum</i>
<i>Abies alba</i>	r	.	<i>Hypericum perforatum</i>	r	.
* <i>Acer platanoides</i>	.	1	<i>Luzula campestris</i>	r	.
<i>Ajuga reptans</i>	r	.	<i>Maianthemum bifolium</i>	r	.
<i>Arrhenatherum elatius</i>	r	.	<i>Melampyrum nemorosum</i>	2	9
<i>Asarum europaeum</i>	r	.	<i>Melica nutans</i>	r	.
<i>Betula pendula</i>	r	.	<i>Poa nemoralis</i>	+	.
<i>Campanula persicifolia</i>	r	.	<i>Prunella vulgaris</i>	r	.
<i>Carex pilosa</i>	2	.	<i>Prunus avium</i>	r	.
<i>Carpinus betulus</i>	5	2	<i>Quercus petraea</i>	2	.
<i>Dactylis polygama</i>	r	.	<i>Symphytum tuberosum</i>	r	.
<i>Fragaria vesca</i>	r	.	<i>Veronica chamaedrys</i>	r	.
<i>Fraxinus excelsior</i>	r	.	<i>Veronica officinalis</i>	r	.
<i>Galium sylvaticum</i>	r	1	<i>Viola reichenbachiana</i>	r	.
<i>Hieracium species</i>	r	.	-	-	-

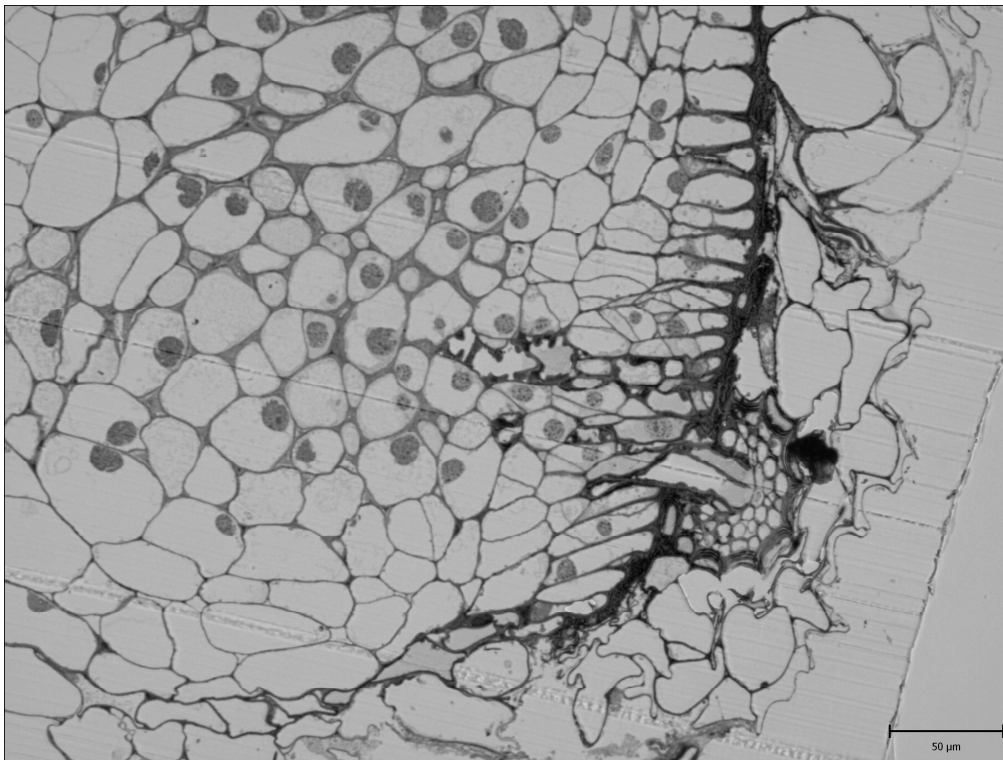
* druh *Acer platanoides* rostl v sousedství s tímto fytoecnologickým snímkem

Tab. IV: Fytoecnologický snímek s výskytem pozdního ekotypu *M. nemorosum*, ze kterého byly odebrány vzorky pro analýzu hostitelského spektra spolu s frekvencí napadení druhů haustorií rostliny *M. nemorosum*. Pokryvnosti jsou uvedeny v Braun-Blanquetově stupnici.

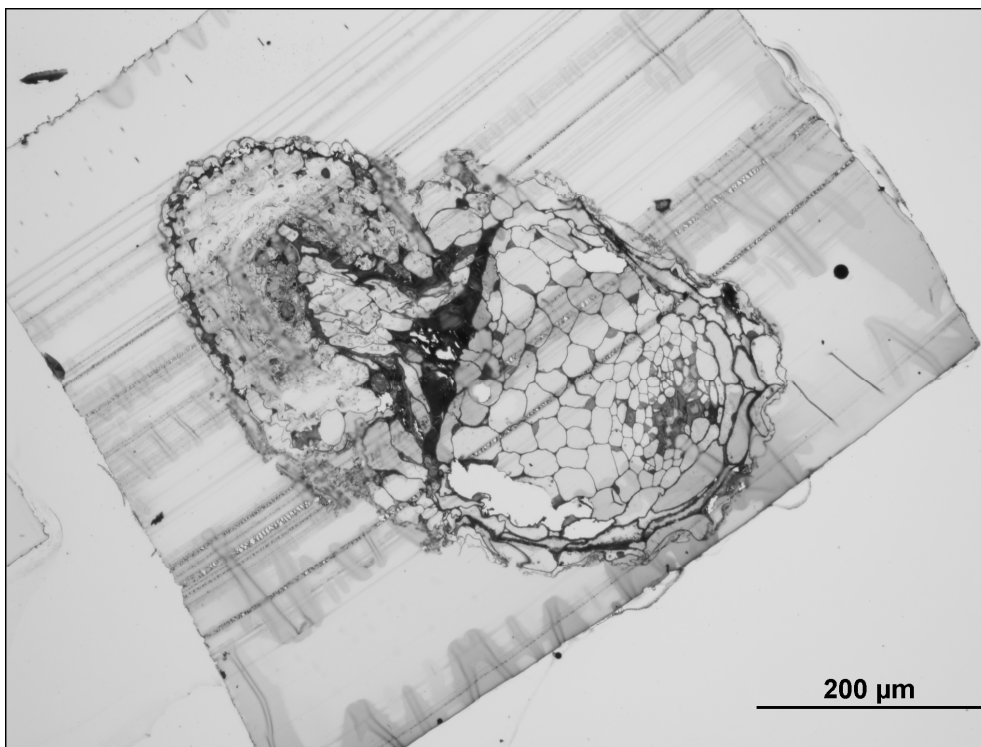
	Napadení haustorií		Rozdíl mezi poz. a oček.
	pozorovaná	očekávaná	
<i>Arrhenatherum elatius</i>	1	0.3	0.73
<i>Asperula tinctoria</i>	3	0.5	2.46
<i>Centaurea jacea</i>	5	0.3	4.73
<i>Cruciata glabra</i>	2	0.5	1.46
<i>Filipendula vulgaris</i>	4	1.9	2.11
<i>Fragaria viridis</i>	8	1.2	6.79
<i>Helianthemum grandiflorum</i>	1	0.5	0.46
<i>Inula salicina</i>	6	2.2	3.84
<i>Lathyrus pratensis</i>	1	0.1	0.87
<i>Medicago falcata</i>	2	12.1	-10.14
<i>Plantago media</i>	4	0.1	3.87
<i>Trifolium pratense</i>	1	0.3	0.73
<i>Valeriana officinalis</i>	1	0.5	0.46
<i>Vicia tenuifolia</i>	2	2.3	-0.29
<i>Melampyrum nemorosum</i>	15	18.1	-3.07

Tab. V.: Pozorovaná a očekávaná, četnost izolovaných haustorií na jednotlivých hostitelích a jejich rozdíl pro jednotlivá pozorování. Očekávaná četnost byla vypočítána na základě pokryvností druhů ve společenstvu. $\chi^2 > 10^6$ - reportováno statistickým programem jako nekonečno $df=14$, $p < 0,0001$.

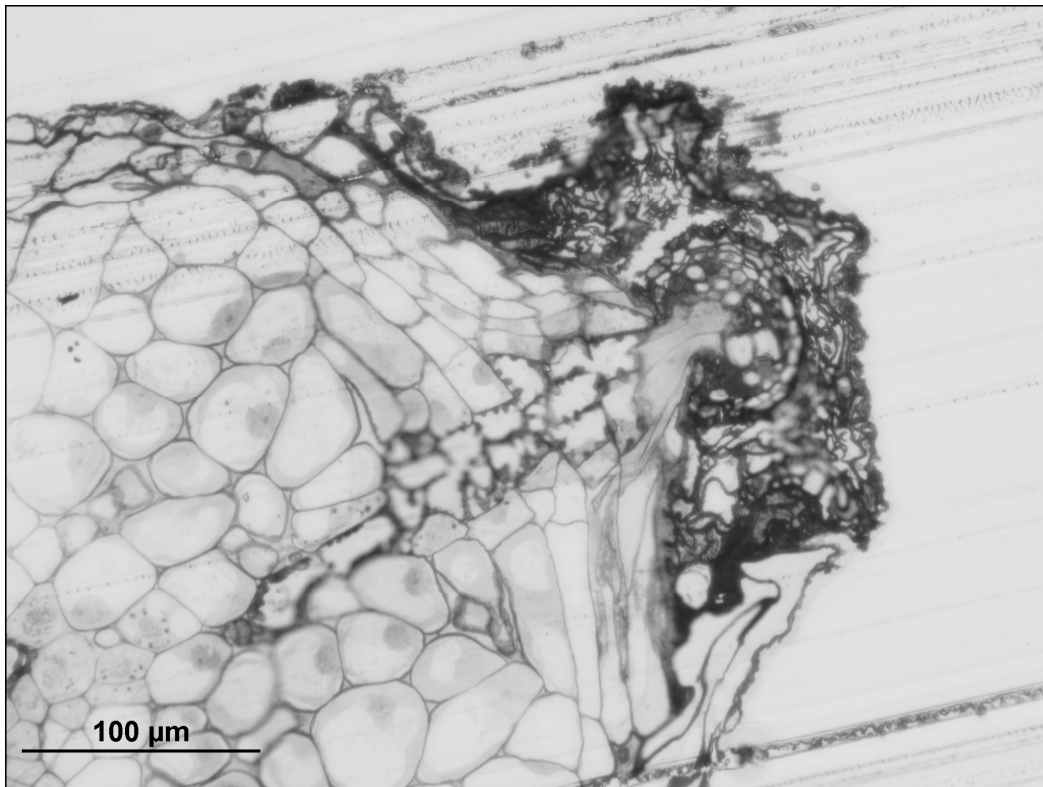
Podle anatomických řezů haustorií a jimi napadenými kořeny lze poznat, zda poloparazitická rostlina *M. nemorosum* dokáže na napadených rostlinách vytvořit funkční připojení (obr č. 21-30). Ne všechny napadené rostliny totiž musí sloužit jako hostitelé, leckteré se umějí se bránit napadení různými způsoby a *M. nemorosum* z nich tak nemůže mít žádný zisk.



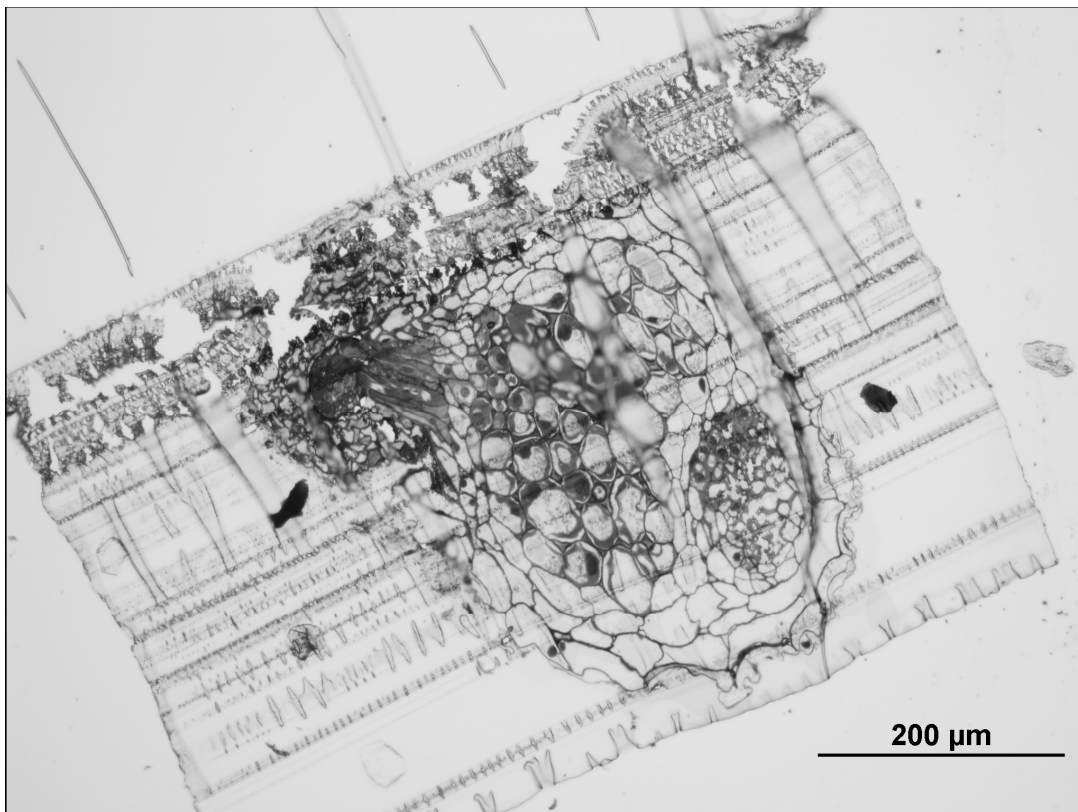
Obr. č. 21: *Arrhenaterum elatius* napadené poloparazitickou rostlinou *M. nemorosum*. Je patrné napojení na cévní svazky hostitele, hostitel nevytváří žádné lignifikované vrstvy buněk, ani nejsou patrné, žádné odumřelé tkáně.



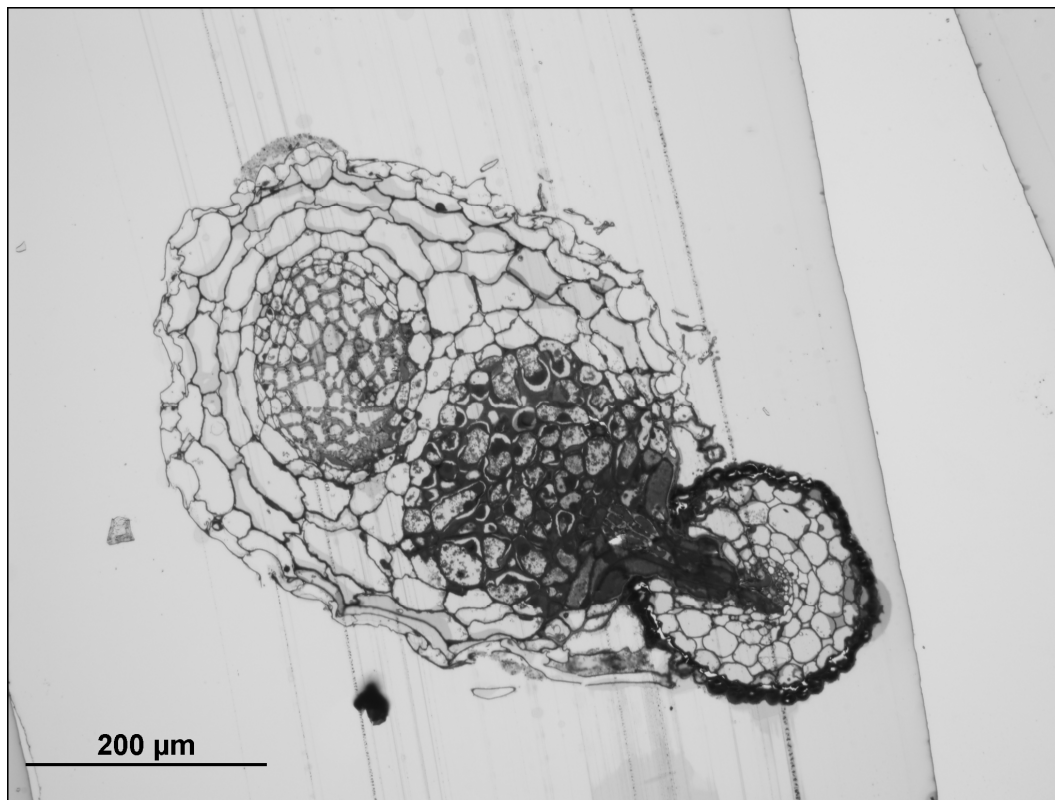
Obr. č. 22: *Centaurea jacea* napadená poloparazitickou rostlinou *M. nemorosum*. Připojení poloparazita není funkční, na rozhraní haustoria a hostitelského kořene je bariéra, xylémový můstek haustoria chybí.



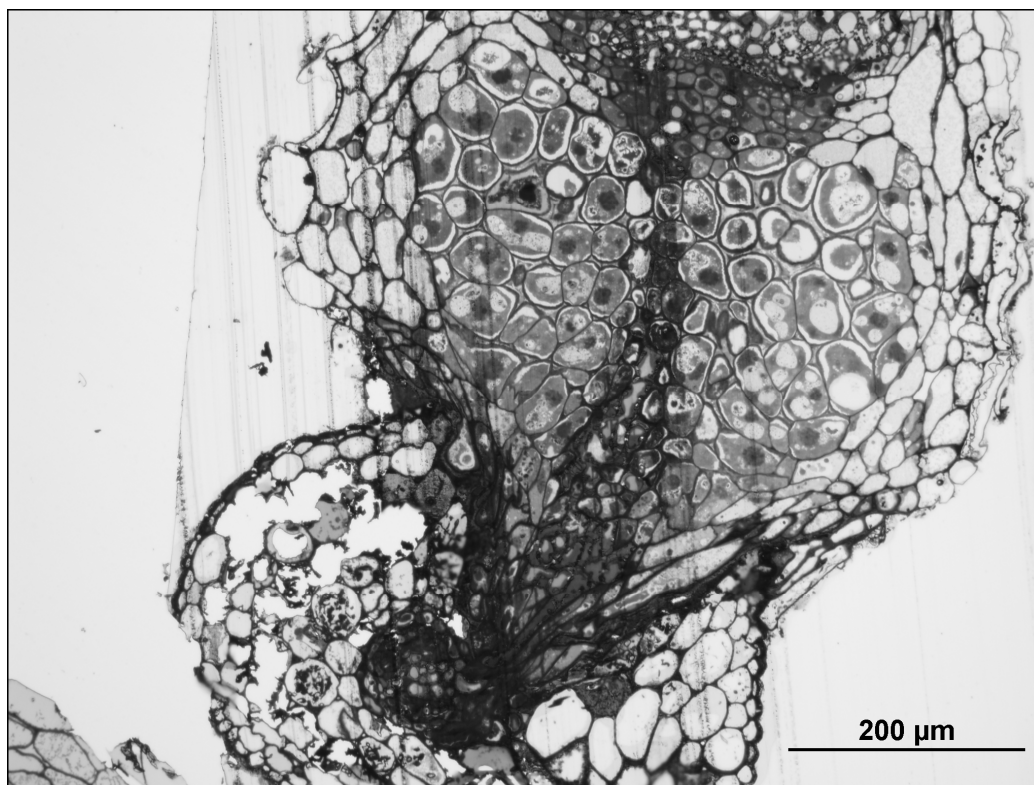
Obr. č. 23: Kořen rostliny *Filipendula vulgaris* napadený haustoriem poloparazitické rostliny *M. nemorosum*. Je patrné napojení na cévní svazky hostitele.



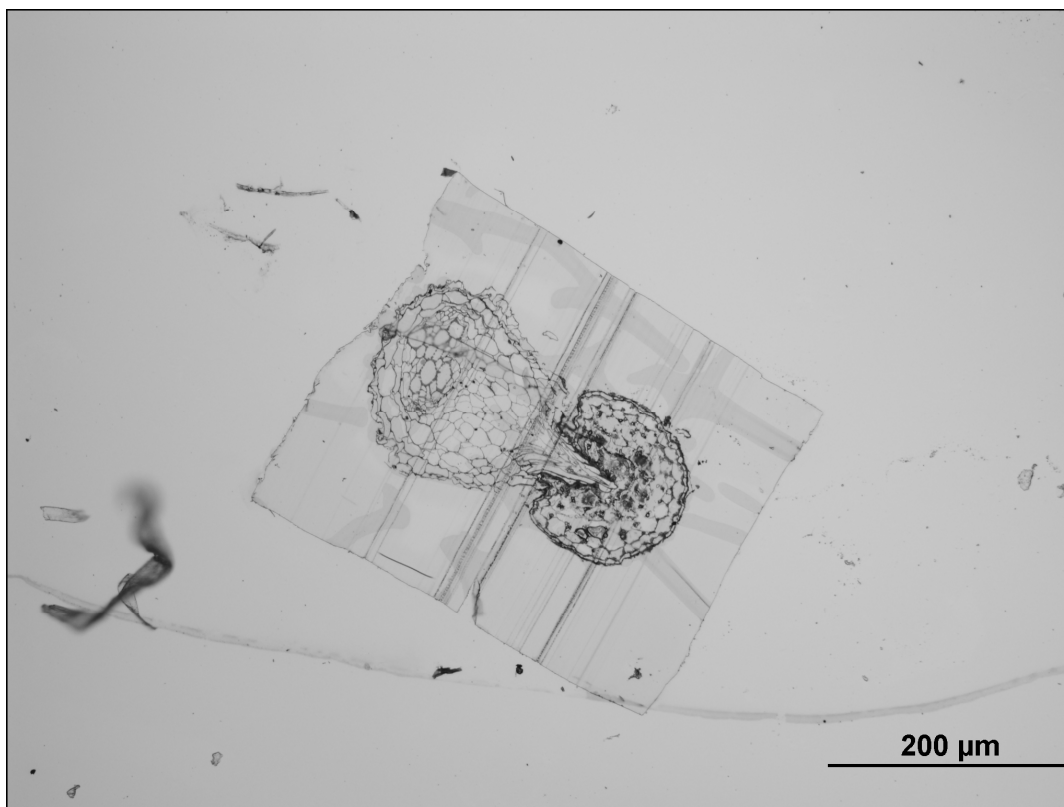
Obr. č. 24: Kořen *Fragaria viridis* napadený haustoriem poloparazitické rostliny *M. nemorosum*. Patrné je napojení haustoria na cévní svazky hostitele.



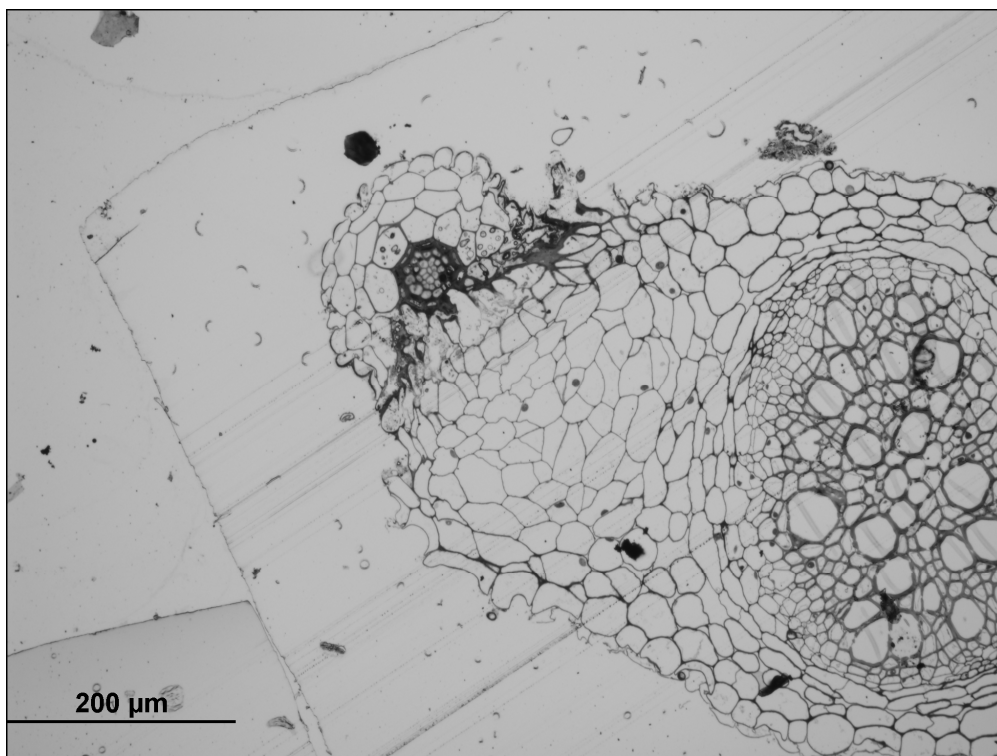
Obr. č. 25: Kořen *Inula salicina* napadený haustoriem poloparazitické rostliny *M. nemorosum*. Haustorium sahá až do centrálního válce a je napojené na cévní svazky



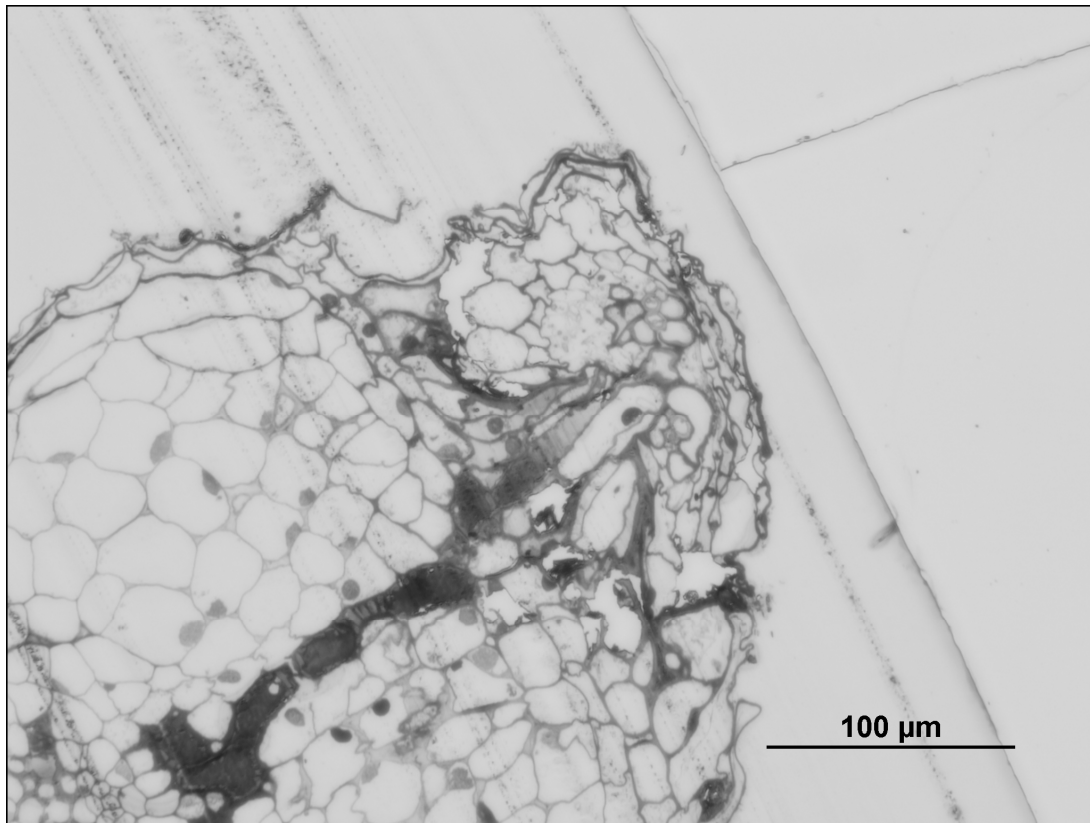
Obr. č. 26: Kořen *Vicia tenuifolia* napadený haustoriem poloparazitické rostliny *M. nemorosum*. Haustorium sahá do středního válce a je napojené na cévní svazky hostitele.



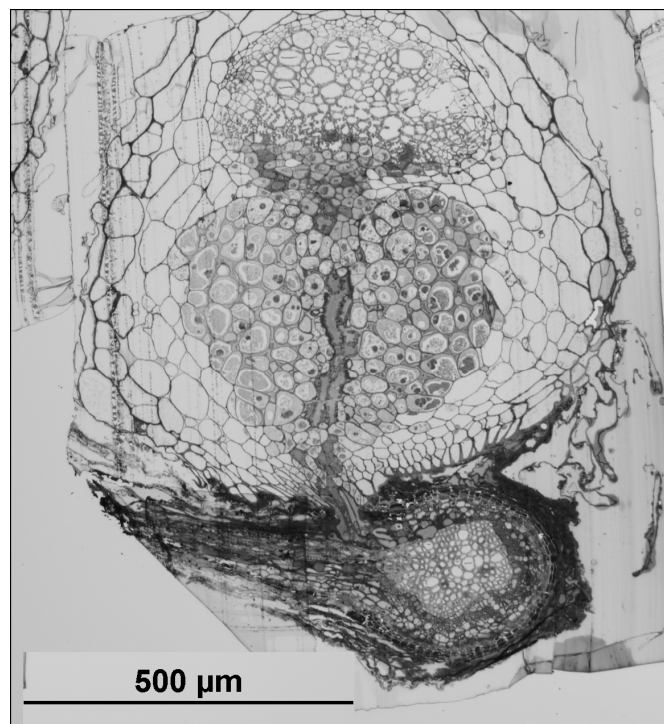
Obr. č. 27: Kořen *Lathyrus pratensis* napadený haustoriem poloparazitické rostliny *M. nemorosum*. Haustorium dosahuje středního válce, je napojeno na cévní svazky hostitele.



Obr. č. 28: Kořen *Melampyrum nemorosum* napadený haustoriem poloparazitické rostliny *M. nemorosum*. Není patrný xylémový můstek haustoria a ani penetrující buňky nedosahují cévních svazků kořene hostitelského *M. nemorosum*.



Obr. č. 29: Kořen *Galium sylvaticum* napadený haustoriem poloparazitické rostliny *M. nemorosum* (pozdní ekotyp). Patrný je xylémový můstek haustoria a napojení na cévní svazek hostitele.



Obr. č. 30: Kořen *Carpinus betulus* napadený haustoriem poloparazitické rostliny *M. nemorosum* (pozdní ekotyp). Patrné je napojení na cévní svazky hostitele.

5 Diskuze

Z vymapovaných výskytů *Melampyrum nemorosum* var. *praecox* na Bělokarpatských loukách vyplynulo, že časný ekotyp této rostliny se shlučuje s větší pravděpodobností na otevřených prostranstvích luk, spíše dále od stromové a keřové vegetace, které se na kratších škálách spíše vyhýbá. Výjimkou byla pouze populace z NPR Čertoryje, kde se tato rostlina vyskytovala spíše na lemech, kolem stromové a keřové vegetace. Tento poznatek je v ostrém kontrastu s tím, co již víme o preferenci stanovišť jeho fenologicky pozdnějšího příbuzného *M. nemorosum* var. *nemorosum*. Pozdní ekotyp roste hlavně v pláštích lesů a hájů (Moravec a kol. 1995, Štech 2000a) a můžeme tak říci, že vykazuje tedy vazbu na dřeviny. To také podpořila analýza hostitelského spektra, ve které byly pozorovány funkční haustoria na kořenech dřevin *Acer platanoides* a *Carpinus betulus*. Také u *M. sylvaticum* (Albrecht 1973) bylo v minulosti prokázáno napojování na dřeviny a *M. pratense* (Barsukova a Pyatkovskaja 1977) také nepřímo vykazovalo parazitaci dřevin. Naopak *M. nemorosum* var. *praecox* napadalo 15 druhů bylin, na 12 z nichž byly identifikována funkční haustoria. Zajímavým zjištěním bylo, že časný ekotyp hojně napadá kořeny rostlin, jejichž obranu nedokáže prolomit (*Centaurea jacea* a samo sebe) a není tak schopen je aktivně parazitovat. To je v souladu s předchozími pozorováními hostitelské preference u poloparazitického rodu *Rhinanthus*, který také hojně napadá rod *Plantago* (Gibson a Watkinson 1989) avšak není schopen jej účinně parazitovat (Cameron a kol. 2006).

Měření fotosyntetické aktivity ukázalo fyziologické rozdíly mezi oběma ekotypy *M. nemorosum*. Ukázalo se, že časná populace *M. nemorosum* vykazuje vyšší fotosyntézu než pozdní populace, což souvisí s adaptací na intenzitu slunečního osvětlení (Lambers a kol. 2008), která je na loukách vyšší než v okolí stromů a keřů. Tento znak je však mnohdy plastický, což však může umožnit druhům osidlovat nové biotopy (Finch a Alexander 2011). Naměřené hodnoty fotosyntézy jsou však pro oba ekotypy *M. nemorosum* vyšší, než jaké u poloparazitických rostlin pozoroval Press a kol. (1988). Jsou spíše v souladu s tím, co naměřili Těšitel a kol. (2011) u *Rhinanthus alectorolophus* a Seel a Press (1994) u *Melampyrum sylvaticum* a *Rhinanthus minor*. Ti pozorovali u *M. sylvaticum*, které roste hlavně na zastíněných stanovištích podobné hodnoty jako já u pozdního ekotypu *M. nemorosum*. *Rhinanthus minor*, rostoucí obecně na otevřených stanovištích, v jejich studii vykazoval srovnatelné hodnoty fotosyntézy jako časný ekotyp *M. nemorosum*.

Zopfí (1995, 1998) diskutoval důvody, proč se některé populace poloparazitických rostlin *Euphrasia rostkoviana* a *Rhinanthus glacialis* rozcházejí v načasování kvetení a jaké to má důsledky pro architekturu rostlin. Rozdílný způsob hospodaření na lokalitách podle něj může v časovém horizontu desítek let vyústit ve změny v architektuře a v posunu doby kvetení. Štech (1998, 2000b) pozoroval u *Melampyrum nemorosum* podobné trendy mezi dobou kvetení a architekturou rostlin jako Zopfí, a popsal novou varietu *Melampyrum nemorosum* var. *praecox*. Oberrath a Böhning-Gaese (2002) navíc vysledovali vztah mezi myrmekochorií a fenologií rostlin, myrmekochorní rostliny na studovaných lokalitách dříve kvetly a dříve plodily, také Guitián a Garrido (2006) pozorovali u mravenci šířených rostlin časnější kvetení nežli u ostatních rostlin na lokalitě, v obou případech bylo období zrání semen ve vztahu k aktivitě mravenců. Finch a Alexander (2011) na příkladě *Carex blanda* ukazují, že primárně lesní a lemový druh může mít morfologicky mírně odlišný ekvivalent obývající v menší míře i luční stanoviště. Zdá se, že posun v načasování vegetační sezony u některých populací *M. nemorosum* způsobený vlivem dlouhodobého tradičního hospodaření možná i v kombinaci s aktivitou mravenců byl klíčový pro přesun původně hajní a lemové rostliny hlouběji do lučních společenstev. Že se tak opravdu stalo, ukazují prostorové statistiky pro tři ze čtyř vymapovaných populací *M. nemorosum*.

V minulosti se prostorovými vazbami mezi poloparazitickou rostlinou *Santalum lanceolatum* a jejím hostitelem *Acacia tetragonophylla* jako první zabývali Watson a kol. (2007). Zaznamenali častější shlukování poloparazita kolem hostitele na vzdálenostech do cca 3 metrů. Dále pozorovali shlukování poloparazitů na několika škálách. Shlukování na škále do 8,8 metrů vysvětlují buďto absencí roznosu semen, které zůstávaly v těsné blízkosti mateřských rostlin nebo vegetativním rozmnožováním, které již u tohoto druhu bylo pozorováno. Shlukování na škále 14 metrů, může být způsobeno vegetativním rozmnožováním v předchozích generacích a agregací *S. lanceolatum* ve 20 metrech si autoři vysvětlují ostrou heterogenitou prostředí, přičemž *S. lanceolatum* je vázáno na nejvhodnější hostitele *A. tetragonophylla* rostoucí přímo, nebo v blízkosti periodicky zaplavovaných říčních koryt. Také Ramsay & Fotherby (2007) zkoumali prostorový vztah mezi poloparazitickou *Euphrasia vigursii* a keříkem *Ulex galii*, u kterého ovšem není jasné, zdali opravdu slouží jako hostitel nebo jen usnadňuje uchycování či růst zkoumaného poloparazita a také jim se podařilo prokázat častější shlukování *E. vigursii* kolem *U. galii*.

Prostorová analýza populací *M. nemorosum* na loukách v Bílých Karpatech dále ukázala silnou shlukovitost ve vzdálenostech do cca 300 metrů (na Předních loukách i

mnohem více). Tato shlukovitost bude nejspíše způsobena nedostatečným šířením semen od mateřských rostlin, což vyústí v to, že zpravidla tvoří semknuté porosty. To je také silně podpořeno výsledkem vysévacího pokusu v NPR Čertoryje, *M. nemorosum* se v něm uchytlo ve všech případech ihned následující rok po vysetí. Případné neuchycení rostliny by svědčilo o nepříhodnosti stanoviště, to se však neprokázalo ani na jedné pokusné ploše. Opětovné dosévání do již kolonizovaných míst už pokryvnost *M. nemorosum* v dalším roce nezvyšovalo, z čehož se dá vyvodit to, že jakmile rostliny obsadí stanoviště, vytváří dostatek semen pro udržení se na místě a nadbytečné semenáčky pravděpodobně padnou za oběť ve vnitrodruhové kompetici. Také Winkler a Heinken (2007) si všimli, že myrmekochorní poloparazitická rostlina *Melampyrum pratense* se šířila na vzdálenosti přibližně 1-2 metry za rok, tedy že její výskyt je limitován nedostatečnou schopností šíření semen. Tyto výsledky jsou v souladu s Goméz a Espadaler (1998), ti ukázali, že šíření semen mravenci se u myrmekochorních rostlin po celém světě obecně neděje na nijak dlouhé vzdálenosti, průměrná vzdálenost činila pouze 0,96 metru, s vysoce asymetrickým rozdělením – nejvíce pozorování bylo na krátkých vzdálenostech od mateřských rostlin a schopnost šíření na delších vzdálenostech posléze rapidně klesá.

Čtyřletý monitoring osudu společenstva po vysetí poloparazitického *Melampyrum nemorosum* var. *praecox* spolu s identifikací hostitelského spektra odhalily jeho možný dopad na fungování takovéto komunity. Zajímavým poznatkem zajisté je, že časný ekotyp *M. nemorosum* napadá převážně dvouděložné byliny, z travin byl zaznamenáno pouze *Arrhenaterum elatius*. Dvouděložné rostliny vyjma bobovitých jsou například pro hojně studovaný rod *Rhinanthus* nevhodní hostitelé, ale naopak traviny napadá a parazituje úspěšně (Cameron a kol. 2006, Cameron a Seel 2007, Rümer a kol. 2007), je tedy možné, že mezi těmito dvěma parazity došlo k rozdělení nik podle vhodných hostitelů, oba poloparazitické rody se na Bělokarpatkých lukách vyskytují. Co také stojí za povšimnutí je fakt, že za dobu sledování společenstva s introdukovaným časným ekotypem *M. nemorosum* se začalo dařit rostlinám jako *Vicia hirta*, či *Centaurea triumfettii*, čili rostliny blízce příbuzné jeho identifikovaným hostitelům *Vicia tenuifolia* a *Centaurea jacea*. Překvapivé však je, že vlivem tříleté přítomnosti *M. nemorosum* nebyli hostitelé nijak výrazně potlačeni. To ale může být způsobeno jejich nerovnoměrným výskytem napříč pokusnými plochami, což může vyústit v nedostatečně silný test.

Podle těchto výsledků to vypadá, že doba působení na společenstvo byla buď příliš krátká a nějaký výraznější dopad na jednotlivé hostitele by se projevil až po delší době, anebo

M. nemorosum var. *praecox* není tak virulentní jako jeho příbuzní. Je možné, že vysoká virulentnost časného *M. nemorosum* v kombinaci s velmi nízkou schopností šíření semen by mohla vyústit v situaci, ve které by další generace této rostliny neměly na kom parazitovat. Lepš a Mudrák (2010) například pozorovali, že *Rhinanthus minor* potlačil parazitované traviny již po dvou letech, je tedy pro své hostitele mnohem agresivnější než *M. nemorosum*. Kombinace vysoké virulence a snadnějšího šíření semen *R. minor* (Bullock a kol. 2003) této rostlině umožňuje tvořit pohyblivé shluky, které jsou schopny lokálně potlačit hostitele a přesunout se o kus dál. Představa, že rostlinné společenstvo díky přítomnosti poloparazita vytváří pohyblivou mozaiku hostitelů, neparazitovaných rostlin a poloparazita je dnes mezi ekology zabývající se parazitismem rostlin zažitá (např. pro rod *Rhinanthus*, Ameloot a kol. 2006, Cameron 2009) a je také podpořena studií zabývající se vlivem holoparazitického druhu *Cuscuta salina* na složení a dynamiku slaných mokřadů, na kterých se vyskytuje (Pennings a Callaway 1996). Mé výsledky však naznačují, že existují i jiné strategie, kterými poloparazitická rostlina nakládá se společenstvem, a plyne z nich, že *M. nemorosum* var. *praecox* kvůli neschopnosti se efektivně šířit se musí ke svým hostitelům chovat konzervativněji. Mimoto existuje další podstatný rozdíl mezi diskutovanými druhy rodu *Rhinanthus* a druhy rodu *Melampyrum* ve velikosti a průběhu klíčení semen. Druhy rodu *Rhinanthus* klíčí časně z jara a jejich semena sice obsahují poměrně značné množství zásobních látek, které je ovšem stále několikanásobně menší než v případě druhů rodu *Melampyrum* (Těšitel a kol. 2010b). Z tohoto důvodu rostou semenáčky *Rhinanthus* spp. relativně pomalu a jsou velmi citlivé ke kompetici o světlo (zastínění) způsobené okolní vegetací včetně hostitelů (Hejcman a kol. 2011, Těšitel a kol. 2011, 2013 *in press*). Vysoká virulence tak může redukovat kompetiční tlak hostitelů a umožnit populaci přežít. Naopak, semena *Melampyrum* spp. jsou velmi hmotná a klíčí již na podzim. Zimu přečkávají v naklíčeném stavu tzv. "epicotyl dormancy" (např. Masselink 1980), velmi časně zjara se objevují děložní listy a velmi brzy dochází i k napojení na hostitele. Díky tomu, je růst semenáčků *Melampyrum* spp. poměrně rychlý a lze odhadnout, že limitace kompeticí o světlo pravděpodobně není tak významná (viz srovnání semenáčků *Rhinanthus minor* a *Melampyrum nemorosum* na obr. č. 31). Z tohoto důvodu lze spekulovat, že evoluční tendence pro vysokou virulenci není podpořena selekčním tlakem srovnatelným s rodem *Rhinanthus*.



Obr. č. 31: Srovnání semenáčků *Rhinanthus minor* (vlevo) a *Melampyrum nemorosum* var. *praecox* (vpravo) na lokalitě Čertoryje. Fotografie byly pořízeny 24. dubna 2010.

6 Použitá literatura

- Albrecht B. (1973): Untersuchungen über Lebensweise und Verbreitung von *Melampyrum sylvaticum* L. (*Scrophulariaceae*). – Diplomaarbeit, Fachbereich Biologie der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz.
- Ameloot E., Verheyen K., Hermy M. (2005): Meta-analysis of standing crop reduction by *Rhinanthus* spp. and its effect on vegetation structure. – *Folia geobotanica* 40: 289-310.
- Ameloot E., Verheyen K., Bakker J. P., De Vries Y., Hermy M. (2006): Long-term dynamics of the hemiparasite *Rhinanthus angustifolius* and its relationship with vegetation structure. – *Journal of Vegetation Science* 17: 637-646.
- ASTER GDEM: ASTGTM2_N48E017. - <http://glovis.usgs.gov>; ASTER GDEM is a product of METI and NASA.
- Barsukova A. V., Pyatkovskaja V. P. (1977): Influence of spruce root system on dynamics and abundance and vitality of some plants of herb undershrub layer in *Picetum hylacomiosum*. – *Vest. Mosk. Univ. XVI Biol.* 4: 56-64.
- Bekker R. M., Kwak M. M. (2005): Life history traits as predictors of plant rarity, with particular reference to hemiparasitic *Orobanchaceae*. – *Folia geobotanica* 40: 231-242.
- Bullock J. M., Moy I. L., Coulson S. J., Clarke R. T. (2003): Habitat specific dispersal: environmental effects on the mechanisms and patterns of seed movement in a grassland herb *Rhinanthus minor*. – *Ecography* 26: 692-704.
- CENIA: http://geoportal.gov.cz/ArcGIS/services/CENIA/cenia_rt_ortofotomapa_aktualni/mapserver/WMSserver
- Cameron D. D., Coats A. M., Seel W. E. (2006): Differential resistance among host and non-host species underlies the variable success of the hemi-parasitic plant *Rhinanthus minor*. - *Annals of Botany* 98: 1289–1299.
- Cameron D. D., Seel W. E. (2007): Functional anatomy of haustoria formed by *Rhinanthus minor*: linking evidence from histology and isotope tracing. – *New Phytologist* 174: 412-419.
- Cameron D. D., White A., Antonovics J. (2009): Parasite-grass-forb interactions and rock-paper-scissor dynamics: predicting the effect of the parasitic plant *Rhinanthus minor* on host plant communities. – *Journal of ecology* 97:1311-1319.

- Davies D. M., Graves J. D., Elias C. O, Williams P. J. (1997): Impact of *Rhinanthus* spp. on sward productivity and composition: implication for restoration of species rich grassland. – *Biological conservation* 82: 87-92.
- Doležal J., Mazůrek P., Klimešová J. (2010): Oak decline in southern Moravia: the association between climate change and early and late wood formation in oaks. – *Preslia* 82, 3: 289-306.
- Dostálek T, Münzbergová Z. (2010): Habitat requirements and selectivity of *Thesium* species (*Santalaceae*). – *Botanical Journal of the Linnean Society*, 164: 394-408.
- Finch D. D., Alexander H. M. (2011): Variations in plant distributions, plant traits and disease levels across a woodland/grassland ecotone. – *The American Midland Naturalist* 166: 309-324.
- Gibson C. C., Watkinson A. R. (1989): Host range and selectivity of parasitic plant: *Rhinanthus minor*. – *Oecologia* 78: 401-406.
- Gómez, Espadaler (1998): Myrmecochorous dispersal distances: a world survey. – *Journal of Biogeography* 25: 573-580.
- Gutián J., Garrido J. L. (2006): Is early flowering in myrmecochorous plants an adaptation for ant dispersal? – *Plant Species Biology* 21: 165-171.
- GRASS Development Team (2012): Geographic Resources Analysis Support System (GRASS) Software, Version 6.4.2. Open Source Geospatial Foundation. - <http://grass.osgeo.org>
- Grulich V. (2012): Red list of vascular plants of the Czech Republic: 3rd edition. – *Preslia* 84: 631-645.
- Heide-Jørgensen H.S. (2008): Parasitic flowering plants. - Koninklijke Brill NV, Leiden.
- Heinken T. (2004): Migration of an annual myrmecochore: a four year experiment with *Melampyrum pratense* L. – *Plant ecology* 170: 55-72.
- Hejčman M., Schellberg J., Pavlů V. (2011): Competitive ability of *Rhinanthus minor* L. in relation to productivity in the Rengen grassland experiment. – *Plant soil environment* 57: 45-51.
- Hennekens S., Schaminé J. H. J. (2001): TURBOVEG, a comprehensive database management system for vegetation data. *Journal of Vegetation Science* 12: 589-591.

- Hodgson J. F. (1973): Aspect of carbon nutrition of angiospermous parasites. – disert. práce, University of Sheffield, UK.
- Chytrý M., Novák J., in Chytrý M. (ed.) (2010): Vegetace České republiky 1, Travinná a keříčková vegetace. – Academia, Praha.
- Irving L. J., Cameron D. D. (2009): You are what you eat: interactions between root parasitic plants and their hosts. – *Advances in botanical research* 50: 88-129.
- Kubíková J., Kučera T. (1999): Diverzita vegetace Bílých Karpat na příkladu Přídních luk a okolí. – *Sborník Přírodovědeckého klubu v Uherském Hradišti* 4: 19-58.
- LANDSAT 7 ETM (2012): <http://glovis.usgs.gov>
- Lambers H., Chapin F. S III., Pons T. J. (2008): *Plant physiological ecology*. – Springer, New York.
- Lehtonen P., Helander M., Wink M., Sporer M., Saikkonen K. (2005): Transfer of endophyte-origin alkaloids from a grass to a hemiparasitic plant. *Ecology Letters* 8: 1256-1263.
- Lepš J., Šmilauer P. (2003): *Multiavariete analysis of ecological data using CANOCO*. – Cambridge University Press.
- Lepš J., Mudrák O. (2010): Interactions of hemiparasitic species *Rhinanthus minor* with its host plant community at two nutrient levels. – *Folia geobotanica* DOI 10.1007/s12224-010-9078-1.
- Lindstrom M. J., Bates D. M. (1990): Nonlinear mixed effects models for repeated measures data. – *Biometrics* 46: 673-687.
- Marko M. D., Stermitz S. R. (1997): Transfer of alkaloids from *Delphinium* to *Castilleja* via root parasitism. Norditerpenoid alkaloid analysis by electrospray mass spectrometry. – *Biochemical systematics and ecology* 25: 279-285.
- Marquardt E. S., Pennings S. C. (2010): Constraints on host use by parasitic plant. – *Oecologia* 164: 177-184.
- Marvier M. A., Smith D. L. (1997): Conservation implications of host use for rare parasitic plants. – *Conservation Biology* 11: 839-848.
- Masselink A. K. (1980): Germination and seed population in dynamics in *Melampyrum pratense*. – *Acta Botanica Neerlandica* 29:451-468.

- Matthies D. (1995): Parasitic and competitive interactions between the hemiparasites *Rhinanthus serotinus* and *Odontites rubra* and their host *Medicago sativa*. – *Journal of Ecology* 83: 245-251.
- Matthies D., Eggli P. (1999): Response of root hemiparasite to elevated CO₂ depends on host type and soil nutrients. – *Oecologia* 120: 156-161.
- Moravec J., Balátová-Tuláčková E., Blažková D., Hadač E., Hejný S., Husák Š., Jeník J., Kolbek J., Krahulec F., Kropáč Z., Neuhäusl R., Rybníček K., Řehořek V., Vicherek J. (1995): Rostlinná společenstva České republiky a jejich ohrožení. – str. 206, Severočeskou přírodou, Litoměřice.
- Oberrath R., Böhnig-Gaese K. (2002): Phenological adaptation of ant-dispersed plants to seasonal variation in ant activity. – *Ecology* 83: 1412-1420.
- Pennings S. C., Callaway R. M. (1996): Impact of a parasitic plant on the structure and dynamics of salt marsh vegetation. – *Ecology* 77: 1410-1470.
- Press M. C., Graves J. D., Steward G. R. (1988): Transpiration and carbon acquisition in root hemiparasitic angiosperms. – *Journal of experimental botany* 39: 1009-1014-
- Press M. C. (1989): Autotrophy and heterotrophy in root hemiparasites. – *Tree* 4: 258-263.
- Press M. C. (1986): The parasite habit: trends in metabolic reductionism. – In: Ter Borg S. J. (ed.): *Biology and control of Orobanche*: 96-107.
- Purdue Research Foundation (2010): Multispec Application Version 3.1, <https://engineering.purdue.edu/~biehl/MultiSpec/>
- Pywell R. F., Bullock J. M., Walker K. J., Coulson S. J., Gregory S. J., Stevenson M. J. (2004): Facilitating grassland diversification using hemiparasitic plant *Rhinanthus minor*. – *Journal of Applied Ecology* 41: 880-887.
- Quantum GIS Development Team (2012): Quantum GIS version 1.8.0-“Lisboa”, www.qgis.org
- Ramsay P. M., Fotherby R. M. (2007): Implications of spatial pattern of Vigur's Eyebright (*Euphrasia vigursii*) for the heathland management. – *Basic and Applied Ecology* 8: 242-251.

- Rey P. J., Ramírez M. J., Sánchez-Lafuente A. M. (2006): Seed vs. microsite limited recruitment of myrmecochorous herb. – *Plant Ecology* 184: 213-222.
- Riefenrath K., Becker Ch., Poethke H. J. (2012): Diaspore trait preferences of dispersing ants. – *Journal of chemical ecology* 38: 1093-1104.
- Ripley B.D. (1994): *Introductory Guide to S-Plus*. - University of Oxford.
- Rümer S., Cameron D. D., Wacker R. Hartung W., Jiang F. (2007): An anatomical study of haustoria of *Rhinanthus minor* attached to roots of different hosts. – *Flora* 202: 194-200.
- Satterthwaite W. H. (2007): The importance of dispersal in determining seed versus safe site limitation of plant populations. – *Plant Ecology* 193: 113- 130.
- Seel W. E., Press M. C. (1994): Influence of host on three sub-arctic annual facultative root hemiparasites II. Gas exchange characteristic and resource use efficiency. – *New Phytologist* 127: 37-44.
- Seel W. E., Parsons A. E., Press M. C. (1993): Do inorganic solutes limit growth of the facultative hemiparasite *Rhinanthus minor* L. in the absence of host? / *New Phytologist* 124: 283-289.
- Svensson B. M., Carlsson B. A. (2005): How can we protect rare hemiparasitic plants? Early-flowering taxa of *Euphrasia* and *Rhinanthus* on the baltic island of Gotland. – *Folia Geobotanica* 40: 261-272.
- Škodová I., Hájek M., Chytrý M., Jongepierová I. & Knollová I.: Vegetace. – IN: Jongepierová I. (ed.) (2008): *Louky Bílých Karpat (Grasslands of White Carpathian Mountans)*: 128-177. – ZO ČSOP Bílé Karpaty, Veselí nad Moravou.
- Štech M. (1998): Variabilita vybraných znaků druhů skce Laxiflora (Wettstein) SOÓ 1927 a revize rodu *Melampyrum* L. v české republice. – *Disert. práce*, 222 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice.
- Štech M. (2000a): *Melampyrum* L. – Černýš. – In: B. (ed.): *Květena České republiky* 6: 414-417, Academia, Praha.
- Štech M. (2000b): Seasonal variation in *Melampyrum nemorosum*. – *Preslia* 72: 345-368.
- Taberlet P., Coissac E., Pompanon F., Gielly L., Miquel C., Valentini A., Vermet T., Corthier G., Brochmann C., Willerslev E. (2007): Power and limitations of the chloroplast trnL

- (UAA) intron for plant DNA barcoding. – Nucleic Acids Research 35: DOI 0.1093/nar/gkl938
- Taberlet P., P., Gielly L., Patou G., Bouvet J. (1991): Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. - Plant Molecular Biology 17:1105–1109.
- Ter Borg S. J. (1985): Population biology and habitat relations of some hemiparasitic scrophulariaceae. - pp. 463–487. In: White J. (Ed.), The population structure of vegetation, Dr W. Junk. Publishers, Dodrecht.
- Těšitel J., Plavcová L., Cameron D. D. (2010a): Heterotrophic carbon gain by the root hemiparasites, *Rhinanthus minor* and *Euphrasia rostkoviana* (Orobanchaceae). – Planta 231: 1137-1144.
- Těšitel J., Říha P., Svobodová Š., Malinová T., Štech M. (2010b): Phylogeny, life history evolution and biogeography of Rhinanthoid *Orobanchaceae*. – Folia Geobotanica 45: 347-367.
- Těšitel J., Lepš J., Vráblová M., Cameron D. D. (2011): The role of heterotrophic carbon acquisition by the hemiparasitic plant *Rhinanthus alectorolophus* in seedling establishment in natural communities: A physiological perspective. New Phytologist 192: 188-199.
- Těšitel J., Hejčman M., Lepš J., Cameron D. D. (2013): How does elevated grassland productivity influence populations of root hemiparasites? Commentary on Borowicz and Armstrong (Oecologia 2012). – Oecologia, *in press*.
- Tichý L. (2002): JUICE, software for vegetation classification. – Journal of Vegetation Science 13: 451-453.
- Turnbull A.L., Crawley M. J. Rees (2003): Are plant populations seed-limited? A review of seed sowing experiments. – Oikos 88: 225-238.
- Watson D. M., Roshier D. A., Wiegand T. (2007): spatial ecology of a root parasite – from pattern to process. – Austral Ecology 32: 359-369.
- Weigand T. (2004): Introduction to point pattern analysis with Ripley's L and O-ring statistic usin Programita software, 166 s.

- Wiegand T., Kissling W. D., Capriotti P. B., Aguiar M. R. (2006): Extending point pattern analysis for objects of finite size and irregular shape. – *Journal of Ecology* 94: 825-837
- Wiegand T., Moloney K. A. (2004): Rings, circles, and null models for point pattern analysis in ecology. - *Oikos* 104: 209-229.
- Winkler, Heinken (2007): Spread of ant-dispersed annual herb: An individual-based simulation study on population development of *Melampyrum pratense* L. – *Ecological Modelling* 203: 424-438.
- Wolfe A. D., Randle Ch. P., Liu L., Steiner K. E. (2005): Phylogeny and biogeography of *Orobanchaceae*. – *Folia Geobotanica* 40: 115-134.
- Zopfi H. J. (1995): Life history variation and infraspecific heterochrony in *Rhinanthus glacialis* (*Scrophulariaceae*). - *Plant Systematic Evolution* 198: 209-233.
- Zopfi H. J. (1998): Life history variation among populations of *Euphrasia rostkoviana* Hayne (*Scrophulariaceae*) in relation to grassland managemet. *Biological Journal of the Linnean Society* – 64: 179-205.