

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Zemědělská fakulta

Obor: Biologie a ochrana zájmových organismů

Katedra: Biologických disciplín

Anatomické adaptace terestrických orchidejí na zastínění

Diplomová práce

Bc. Veronika Kempská

Vedoucí práce

Doc. RNDr. Hana Čížková, CSc.

České Budějovice 2012

Prohlášení:

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

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě, elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdánému 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.

Datum:

Podpis:

Poděkování

Touto cestou bych chtěla poděkovat mé vedoucí diplomové práce Doc. RNDr. Haně Čížkové, CSc. za trpělivost s vedením mé práce. Mgr. Bohumilu Vondrušovi za rostlinný materiál a výbornou náladu. Bc. Janu Dolanovi DiS. za anglický překlad, podporu a pomoc, když technika selhávala. A rovněž své rodině za podporu.

Anotace

Orchideje *Erythrodes nobilis*, *Macodes petola*, *Ludisia discolor*, *Erythrodes hirsura*, *Dosinia marmorata* a *Anoectochilus sp.* patří mezi terestrické orchideje jihovýchodní Asie, které se přizpůsobily podmínkám podrostu tropického deštného pralesa. Tato diplomová práce se zabývá jejich anatomickými adaptacemi na zastínění. Hlavní pozornost je věnována anatomickým adaptacím a obsahu listových barviv (chlorofyl *a*, chlorofyl *b*, karotenoidy, anthokyany).

Typickým rysem anatomické stavby listů studovaných druhů je jednovrstevná po-kožka tvořená buňkami čočkovitého tvaru a vrchní vrstva mezofylu s anatomickými znaky palisádového parenchymu, a s vysokým obsahem chlorofylu.

Klíčová slova: *Erythrodes nobilis*, *Macodes petola*, *Ludisia discolor*, *Erythrodes hirsura*, *Dosinia marmorata*, *Anoectochilus sp.*, anatomické adaptace

Annotation

The Orchids *Erythrodes nobilis*, *Macodes petola*, *Ludisia discolor*, *Erythrodes hirsura*, *Dosinia marmorata* a *Anoectochilus sp.* belongs to a group of terrestrial orchids of south-eastern Asia. These orchids are adapted to life the undergrowth of tropical rain forests. This thesis deals with the adaptations to shading of these orchids especially with the anatomical adaptations and the concentration of pigments (chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, carotenoids, anthocyanins).

The typical attributes of the leaf anatomical structure of the species studied include one-layer epidermis consisting of lens-like cells, and the upper layer of mesophyll with signs of palisade parenchyma and high content of chlorophylls.

Keywords: *Erythrodes nobilis*, *Macodes petola*, *Ludisia discolor*, *Erythrodes hirsura*, *Dosinia marmorata*, *Anoectochilus sp.*, anatomical adaptations

Obsah

1	ÚVOD	1
2	LITERÁRNÍ PŘEHLED	2
2.1	Botanické vlastnosti a ekologické nároky subtribu <i>Physurinae</i>	2
2.1.1	Botanické vlastnosti a ekologické nároky rodu <i>Erythrodes</i>	3
2.1.2	Botanické vlastnosti a ekologické nároky rodu <i>Macodes</i>	5
2.1.3	Botanické vlastnosti a ekologické nároky rodu <i>Dosinia</i>	9
2.1.4	Botanické vlastnosti a ekologické nároky rodu <i>Anoectochilus</i>	11
2.1.5	Botanické vlastnosti a ekologické nároky rodu <i>Ludisia</i>	13
2.2	Absorpce záření listem	18
2.3	Důsledky stínomilnosti orchidejí pro jejich kultivaci	20
3	METODIKA	22
3.1	Rostlinný materiál	22
3.2	Anatomická stavba listu	22
3.3	Stanovení množství listových barviv	23
4	VÝSLEDKY	25
4.1	Anatomická stavba listů <i>Erythrodes nobilis</i>	25
4.2	Anatomická stavba listů <i>Erythrodes hirsuta</i>	27
4.3	Anatomická stavba listů <i>Macodes petola</i>	29
4.4	Anatomická stavba listů <i>Dosinia marmorata</i>	31
4.5	Anatomická stavba listů <i>Anoectochilus sp.</i>	33
4.6	Anatomická stavba listů <i>Ludisia discolor</i>	35
4.6.1	Světle zelené listy se zlatým žilkováním	35
4.6.2	Tmavě zelené listy bez žilkování	37
4.6.3	Zeleno - červené listy s červeným žilkováním	39
4.6.4	Tmavě zelené listy s bílou hlavní žilkou	41
4.6.5	Tmavě zelené listy s hlavní bílou žilkou a dvěma souběžnými žilkami	43
4.7	Stanovení množství chlorofylu, anthokyanů a karotenoidů	45
5	DISKUSE	48
5.1	Anatomické vlastnosti listů	48
5.2	Obsah listových pigmentů	49
5.2.1	Principy stanovení listových pigmentů	49

5.2.2	Srovnání druhů a kultivarů	49
5.2.3	Porovnání s výsledky studií jiných autorů	50
5.3	Adaptační význam zjištěných vlastností listu	50
5.3.1	Světelné prostředí bylinného patra tropických pralesů	50
5.3.2	List jako optický systém	51
5.3.3	Genetické, modifikační a modulační adaptace	51
6	ZÁVĚR	52
7	LITERATURA	53
8	DATOVÉ PŘÍLOHY	55

1 ÚVOD

Orchideje patří mezi velmi specializované rostliny, proto se jen velmi těžko vyrovnávají se změnami prostředí a stejně tak i s mezidruhovou konkurencí. Právě proto je čeleď *Orchidaceae* zařazena do Příhory II (výjimky v Příloze I) Úmluvy o mezinárodním obchodu s ohroženými druhy volně žijících živočichů a planě rostoucích rostlin (CITES).

Sluneční záření je nezbytné i pro tuto čeleď. Některé druhy se však dokázaly přizpůsobit i extrémnímu nedostatku záření na silně zastíněných stanovištích, například v podrostu tropických deštných lesů, kde by jiné druhy nemohly přežít. Mezi druhy snášející extrémní zastínění patří také druhy *Erythrodes nobilis*, *Macodes petola*, *Ludisia discolor*, *Erythrodes hirsura*, *Dosinia marmorata* a *Anoectochilus sp.*.

Tyto druhy patří k druhům pěstovaným pro své okrasné listy. Jsou zařazeny do Přílohy II úmluvy CITES (<http://www.cites.org/eng/app/appendices.php> 17.4.2012). Ovšem i přesto, že jsou pěstitelsky zajímavé a obchod s nimi je regulován, je o nich k dispozici jen velmi málo informací. Cílem mé diplomové práce bylo:

- zdokumentovat anatomickou stavbu listů terestrických stínomilných orchidejí *Macodes petola*, *Erythrodes nobilis* a *Ludisia discolor*. S pomocí Mgr. Bohumila Vondruše se mi podařilo rozšířit studijní materiál o další druhy a kultivary, takže v práci je navíc charakterizována anatomická stavba listů.
- studium anatomické stavby jsem doplnila ještě o stanovení obsahu listových barviv.

2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Botanické vlastnosti a ekologické nároky subtribu *Physurinae*

Pokud není uvedeno jinak, informace v kapitole 2.1 (včetně podkapitol) jsou zpracovány podle monografie Pridgeona (2003). Subtribus Physurinae (Dušek et Kříštek 1986), v jiných zdrojích též označovaný jako subtribus Goodyerinae, je rozsáhlý subtribus obsahující 34 široce rozšířených rodů vyskytujících se zejména v tropech a subtrophech Evropy, Asie, Austrálie, Afriky, Makronezie/Makronézie, Madagaskaru a Ameriky. Zástupci subtribu se nalézají také v dalších geografických oblastech s mírným klimatem včetně lokalit daleko na severu v Kanadě, Rusku, Japonsku a Korei, tak také dále na jihu v Austrálii, Novém Zélandu, Argentině a Jižní Africe. Například druh *Zeuxine strateumatica* byl nedávno nalezen v Saudské Arábii.

Oddenky druhů tohoto subtribu, protáhle kuželovité až kulaté, krátké až protáhlé. Mají několik až mnoho internodií se stejnou délkou a jen výjimečně jsou zkrácené. Lodyha je vzpřímená a protáhle kuželovitá. Je málo i mnoholistá a jen zřídka bezlistá. Lodyžní listy jsou objímavé. Zřídka jsou redukovány na pochvy, pak pozbývají chlorofylu. Čepel je šikmo kopinatá až téměř kruhová. Je zelená, fialová nebo téměř černá, někdy je žilnatá, popřípadě bíle, žlutě či červeně skvrnitá.

Květenství tvoří vzpřímený hrozen květů, který je lysý, žlaznatý nebo ochmýřený. Květní stopka má obvykle několik úzkých, roztroušených krycích listenů. Květní listeny jsou kopinaté až oválné, žlaznaté a ochmýřené nebo lysé. Květy jsou obvykle resupinátní (tj. otočené o 180°). Jsou lysé a vnější povrch intratepalů je žlaznatý nebo ochmýřený. Intratepaly jsou obvykle volné je zřídka u báze srostlé. Střední vnější okvětní lístek je vyklenutý a často je tvarovaný do čepičky s postranními vnějšími okvětními lístky.

Vnitřní okvětní lístky jsou nesrostlé a často na bázi skloněné. Dolní polovina vnitřních okvětních lístků je rozšířená a končí po stranách na bázi pysku. Postranní vnější okvětní lístky jsou volné nebo spojené a přirostlé ke krátkému rostelu. Často jsou průhledné, celistvé a obvykle s horním okrajem přirostlým k střednímu vnějšímu okvětnímu lístku. *Labellum* je obvykle dužnaté, spojené s bází a obvykle také se spodním okrajem sloupku. Je celistvé, dvou až třílaločné. Hypochil je vyklenutý, váčkovitý nebo ostnatý a občas s dužnatými okraji. Vyvinuty jsou dvě tyčinky z vnitřního kruhu, které se srůstají s čnělkou a bliznou ve sloupek a se dvěma pylovými váčky uvnitř (Štěpánková 2011).

Mezochil (pokud je přítomen) má tvar čepičky a může být lemovaný. Epichil nasedá na mezochil kolmo či podélně, je krátký nebo dlouhý, přímý, oválný, srpkovitý nebo příčně rozeklaný. Ostruha (pokud je přítomna) je celistvá či rozeklanná, zužující se, válcovitá nebo oddělená.

Sloupek je krátký či dlouhý, a nasedá kolmo či podélně. Prašník je obvykle vzpřímený, složený ze dvou částí. Brylky jsou dvě a jsou rozdvojené nebo výjimečně celistvé. Mají lepkavý povrch, obvykle jsou rozdelené a zužují se do krátké či protáhlé rostelové žlázky. *Clinandrium* je obvykle hluboce klenuté. Rostelum je krátké až protáhlé, vzpřímené až vytáhlé. Často je trojhranné a mírně až hluboce vykrojené. Semeník je válcovitě vretenovitý, hladký a žlaznatý nebo ochmýřený, popřípadě stochený či nikoli. Tobolka je obvykle válcovitě vretenovitá a rozevřená. Semena jsou typu *Goodyera*.

2.1.1 Botanické vlastnosti a ekologické nároky rodu *Erythrodes*

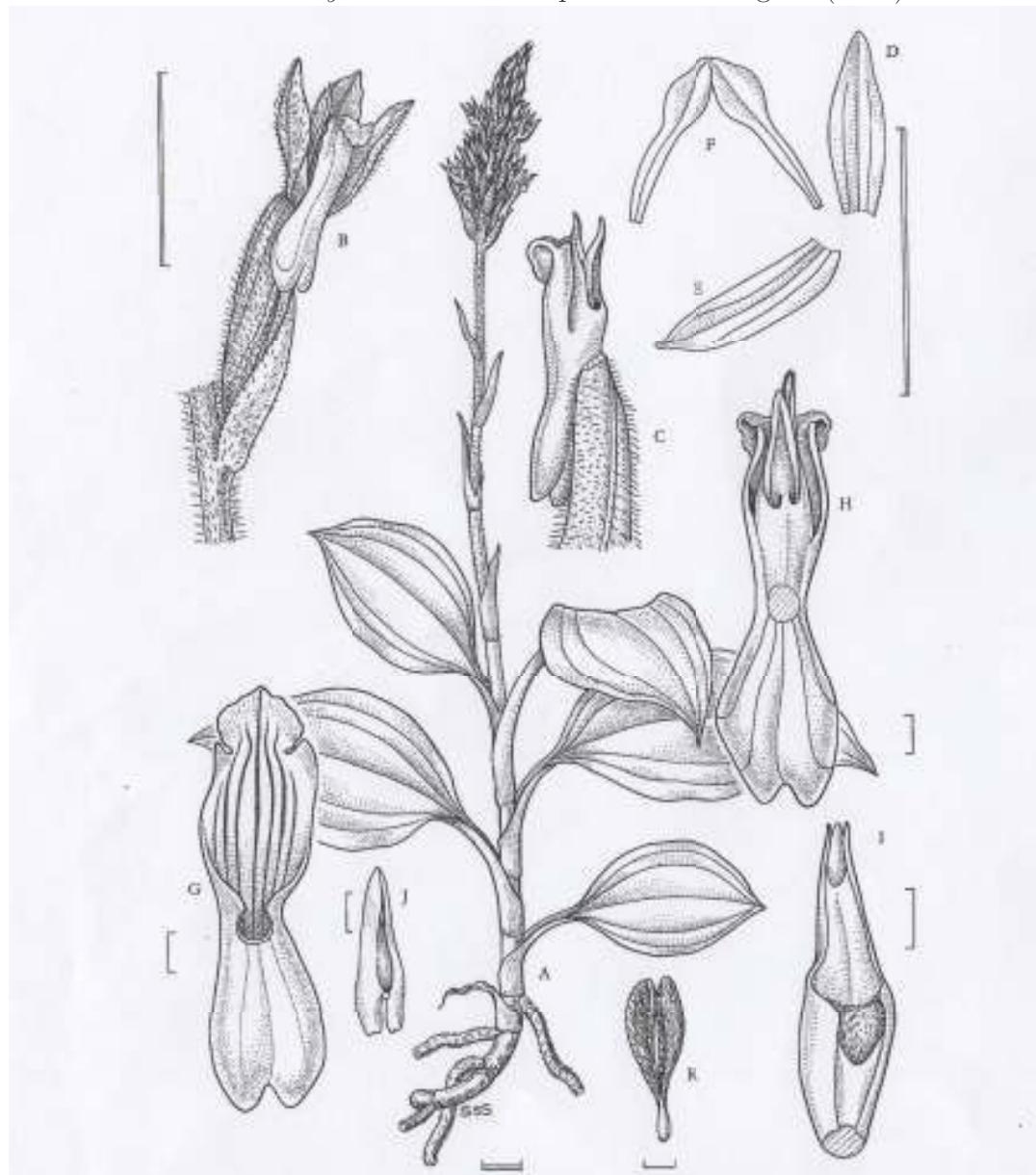
Druh *Erythrodes* roste v humózních půdách na stinných nížiných stanovištích a horských lesích do 1600 m. n. m. Občasně se rostliny vyskytují i ve více otevřeném prostoru u vodopádů. Jedná se o terestrické či výjimečně epifytické rostliny.

Oddenky se skládají z několika až mnoha internodií se stejnou délkou. Stonek má několik nepravidelně až růžicově uskupených listů. Čepele listů se zužují do báze podobně řapíku, která přechází v objímavou pochvu. Čepel je vejčitá až eliptická. Barva je zelená až načervenale fialová.

Květenství je ochmýřené. Květní stopka má několik roztroušených potažených listenu. Kališní lístky jsou stejně dlouhé či delší než je délka korunních lístků se semeníkem. Květy jsou přetočené a vnější strany intratepaly ochmýřené. Vnitřní okvětní lístky jsou volné a šikmě se rozšiřující. Neuzavírají se v ostruhu a jsou podobné střednímu vnějšímu okvětnímu lístku. Postranní vnější okvětní lístky jsou blanité, šikmě lžižkovité až úzce kosočtvercové s horním okrajem srostlým se středním vnějším okvětním lístkem. *Labellum* má nafouknutý výběžek s vakovitou ostruhou. Je dvoulaločné s nízkými výrůstky, někdy s až dvěma paličkovitými výběžky na každé straně, jindy je zcela bez výběžků.

Hypochil má tvar žlábkou či loďky. Epichil je celistvý a nasedá na hypochil. Sloupek má krátkou napůl tálkovitou základnu. Je štíhlý po celé délce a dilatovaný. Tyčinka je oválovitá až ostře elipsovitá. Brylka má paličkovitý tvar (až dvojitě paličkovitý) zužující se do stopečky, která nasedá na šikmě oválný až eliptický lepivý terčík. Rostelum je trojúhelníkovité a rozeklané. *Erythrodes* není běžně kultivována, ale pravděpodobně ji vyhovují stejné podmínky jako druhu *Anoectochilus* a *Goodyera*.

Obrázek 1: *Erythrodes hirsuta* - převzato z Pridgeon (2003)



A: *Erythrodes hirsuta*, B: květ a semeník, C: *labellum*, sloupek a semeník - z boku, D: střední vnější okvětní lístek, E: vnitřní okvětní lístky, F: postranní vnější okvětní lístky, G: *labellum* a ostruha, H: *labellum* a sloupek - ze zadu, I: sloupek, J: pouzdro prašníku, K: *pollinarium*

Přibližně 20 druhů se vyskytuje v tropech na Srí Lance, v Indii, Bhútánu, Barmě (Myanmar), Thajsku, Vietnamu, Filipínách, Malajsii, Indonésii, Papui Nové Guneii, Vanuatu, Nové Kaledonii, Fidži, Tonze a Samoi.

Obrázek 2: Výskyt rodu *Erythrodes* - převzato z Pridgeon (2003)



Druh *Erythrodes nobilis* je drobného vzrůstu se vzpřímenými nebo lehce poléhavými lodyhami. Stonek je měkký. Z uzlin stonku vyrůstají adventivní kořeny. Listy jsou oválné a ke konci zašpičatělé. Jejich šířka je v rozmezí 2,0 až 5,3 cm. Povrch listů je sametově tmavě zelený a nervatura nápadně zlatavě lesklá. Květenství tvoří vzpřímený hrozen drobných bíložlutých květů o velikosti 7 – 10 mm. Rostliny kvetou každoročně na přelomu zimních a jarních měsíců (Husák et Haager 1977). Po odumření květenství rostlina znova obráží.

2.1.2 Botanické vlastnosti a ekologické nároky rodu *Macodes*

Rod *Macodes* patří mezi terestrické někdy epifytické rostliny. Oddenek je tvořen několika internodii stejně délky. Stonek má několik růžicových listů. Listy jsou objímavé až krátce řapíkaté. Čepel je šikmě oválně eliptická až okrouhlá. Světle až tmavě zelené barvy, někdy s rudými skvrnami. Sítování je stříbrné až zlaté. Rub listu je načervenale fialový.

Květenství je ochmýřené. Květní stopka má několik roztroušených listenů. Kalíšní lístky jsou ochmýřené a stejně dlouhé jako délka korunních lístků se semeníkem. Květy nejsou resupinátní. Vnější strany intratepalů jsou ochmýřené. Vnitřní

okvětní lístky uzavírají bázi labella. Někdy jsou rozptýlené podobně jako střední vnější okvětní lístek. Postranní vnější okvětní lístky jsou blanité, lineárně jazýčkovité. Jejich tvar je šikmě oválný až kopinatý s horním okrajem shluknutým se středním vnějším okvětním lístkem. *Labellum* je asymetrické až zkroucené a připojené k bázi a spodnímu okraji sloupku.

Hypochil je u báze váčkovitý, polokulovitý. Na stranách je vzpřímený, pokud se rozšiřuje má čtvercový tvar. Každý jeho vrchol vytváří okrouhlý lalok, který je často podélně rodělený nízkým masitým kýlem. Mezochil, pokud je přítomen, je úzký, krátký až relativně dlouhý. Epichil je celistvý, má srdečkovitý, oválný nebo příčně ováný tvar. Sloupek je šikmě zkroucený, protáhlého tvaru. Občas je bazálně zahnutý vpřed a tvorí šikmý úhel se semeníkem. Tyčinka je oválná až úzce oválná, popřípadě rozeklaná. Brylky jsou vejčité a mají tvaru drápu. Zužující se do stopečky až k masitému, oválnému lepivému terčíku. Rostelum je úzce trojúhelníkovité. Jeho boční laloky jsou spojené a umístěny pod bází rostela. Patyčinky jsou dvě čtvercového tvaru. Semeník je ochmýřený a tobolka není zřejmá.

Rod *Macodes* obsahuje kolem 10 druhů vyskytujících se ve Vietnamu, Japonsku, Filipínách, Malajsii, Indonésii, Nové Guinei, Šalamounových ostrovech a Vanuatu.

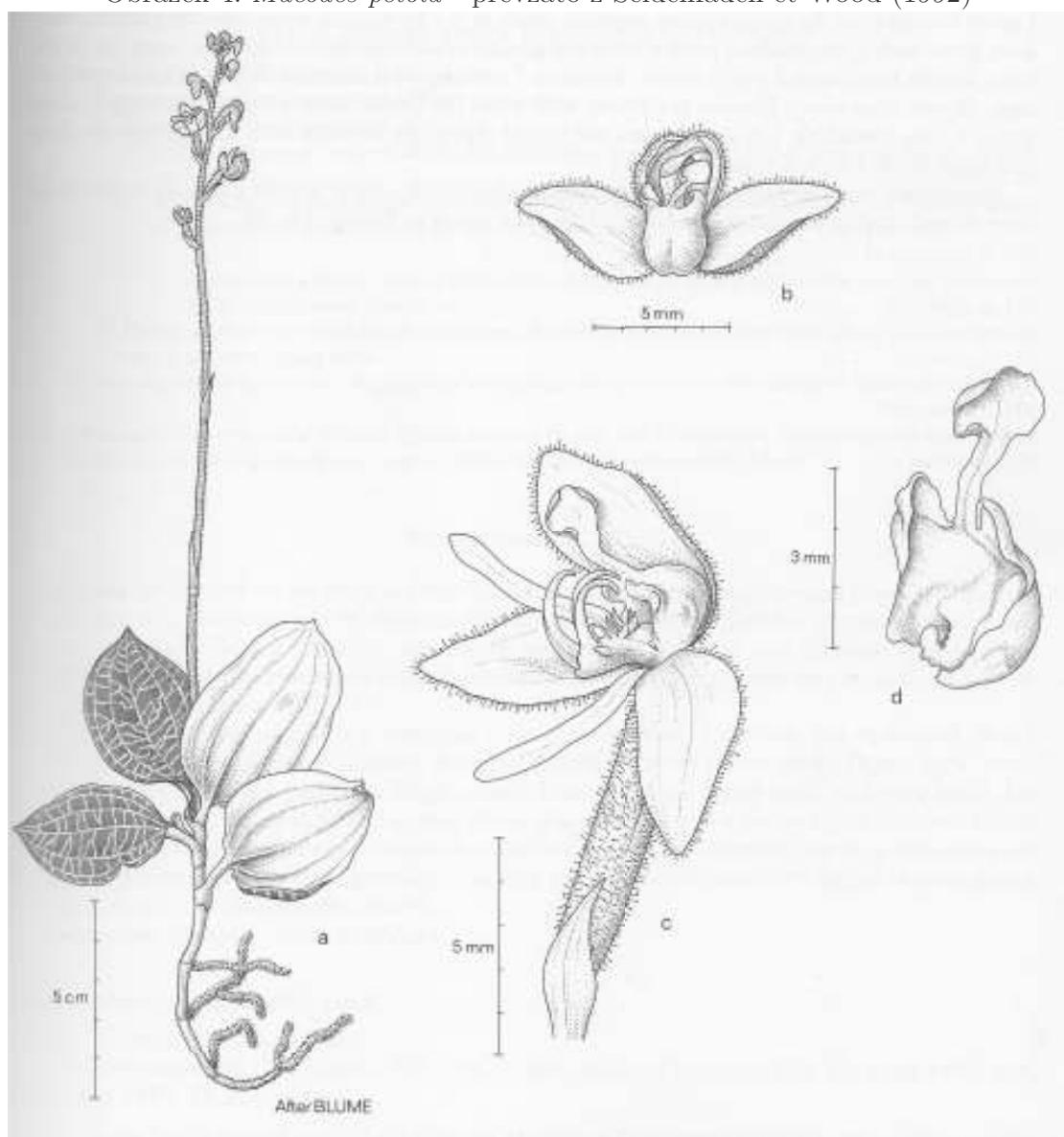
Obrázek 3: Rozšíření rodu *Macodes* - převzato z Pridgeon (2003)



Druh *Macodes petola* má listy blízko u země a také velmi blízko sobě navzájem. Čepel je 6,5 až 4,2 cm dlouhá, oválná a krátce zašpičatělá. Barva listů je tmavě zelená s 5 podélnými zlatými žilkami a skupinou malých zlatých bočních žilek. Stvol

je maximálně 16 cm dlouhý, krátce chloupkatý, se dvěma sterilními listeny. Květní stvol je 7 cm dlouhý se zhruba 15 květy. Květy jsou červeno - hnědé s bílým pyskem. Střední vnější okvětní lístek je kolem 5 mm dlouhý. Vnitřní okvětní lístek je 6mm dlouhý. Pysk kratší než vnitřní okvětní lístky. Druh *Macodes petola* je rozšířen od Sumatry k Filipínám. V Malajsii bylo nalezeno několik lokalit v lesích od nížin do středních nadmořských výšek pohoří, severně od Pinangu.

Obrázek 4: *Macodes petola* - převzato z Seidenfaden et Wood (1992)



A: *Macodes petola*, B: květ, C: květ - roztažený, D: pysk

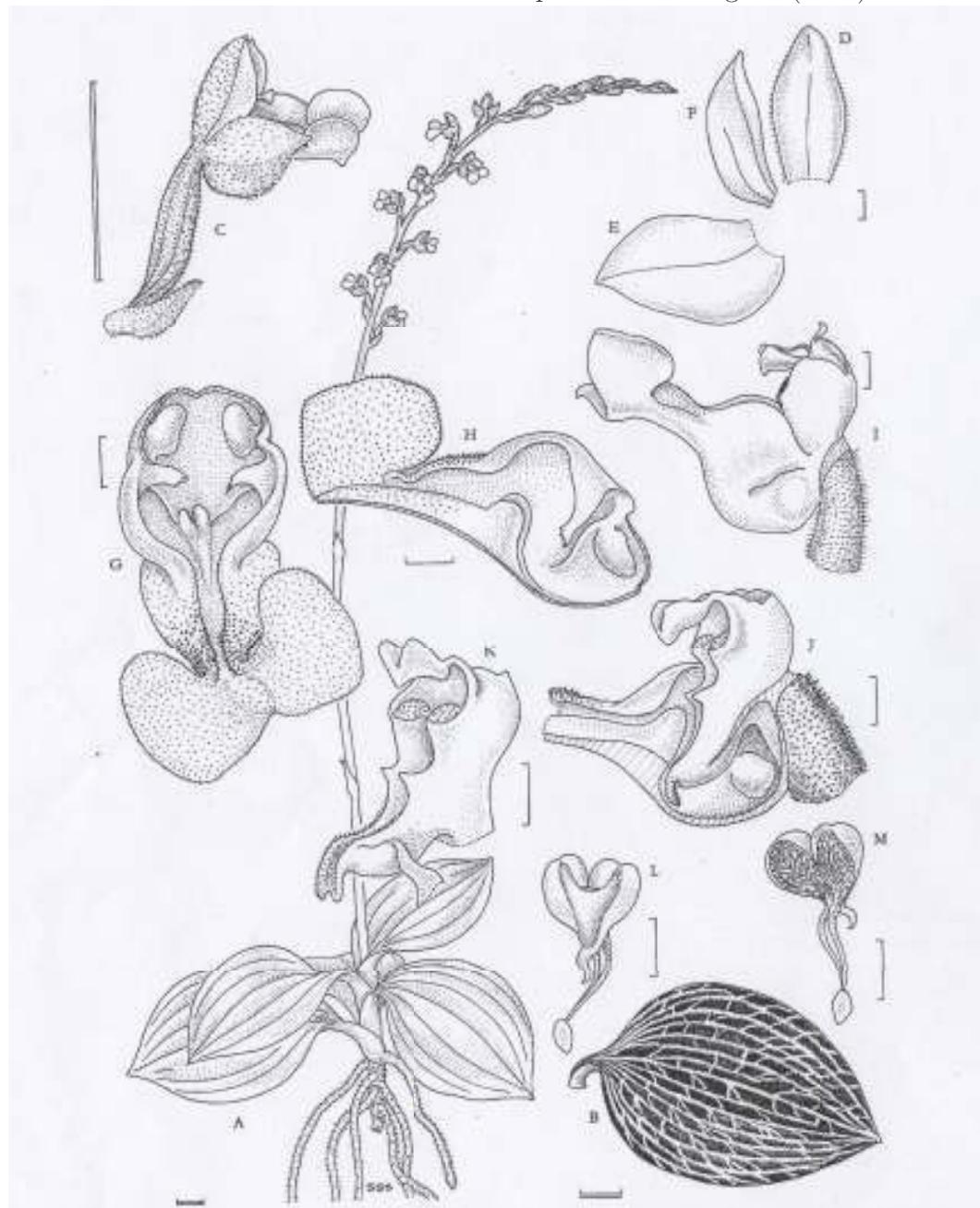
2.1.3 Botanické vlastnosti a ekologické nároky rodu *Dosinia*

Rod *Dosinia* patří mezi terestrické a jen zřídka mezi litofytické rostliny. Oddeny jsou sukulentní a skládají se z několika či více internodií stejné délky. Stonek je řídce olistěný. Listy jsou objímavé. Čepel je oválná a barevně proměnná. Listy jsou tmavě zeleně mramorované až bohatě stříbrno - zlatě mřížkované. Květenství je ochmýřené. Květní stopka má několik roztroušených listenů. Kališní lístky jsou ochmýřené pouze z vnější strany. Mají celistvý okraj a jsou stejně dlouhé jako délka korunních lístků se semeníkem. Květy jsou resupinátní a vnější strana extratepalů je ochmýřená. Vnitřní okvětní lístky jsou volné, na bázi šikmě a postupně se rozšiřující. Jejich délka je téměř stejná jako střední vnější okvětní lístek.

Hypochil je bazálně váčkovitý, rozdvojený a po stranách vzpřímený. Pokud se rozšiřuje má čtvercový tvar. Okraje jsou zkrácené. Bazálně na každé straně obsahuje jednoduchý, nerozdělený, masitý výběžek. Mezochil je krátký a zužující se k vrcholu. Jeho vnější masitý okraj je zahnutý dovnitř a pokračuje jako obruba vnější čtvrtiny hypochilu se dvěma ochmýřenými lístky na bázi. Epichil je přičně rozdvojený s téměř čtvercovými laloky. Sloupek je mírně šikmě stočený a tähle kuželovitý do slabého oblouku. Rozdvojuje se v horní polovině. Tyčinka je vejcovitého tvaru. Brylky jsou přichycené k semeníku mírně stočeným lepivým terčíkem. Rostelum je tvořeno dvěma masitými, špachtlovitými výstupky. Semeník je ochmýřený a stočený. Tobolka je vretenovitá.

Rod *Dosinia* je pravděpodobně příbuzný k rodu *Macodes* (Blume) Lindl., jelikož má podobné jasně žilkované olistění, *labellum* s relativně velkým hypocchilem a s dužnatým přívěškem. Z každé strany má mírně stočený, napůl tähle kuželovitý sloupek se sourodými lalůčky blizny. Dosinie odlišuje od *Macodes* v tom, že má resupinátní květ, mnohem větší, přičně dvoulaločný epichil, sloupek se široce trojúhelníkovými křidélky a rozdvojené dužnaté, oválné rozvětvené rostelum.

Obrázek 5: *Dosinia marmorata* - převzato z Pridgeon (2003)



A: *Dosinia marmorata*, B: list, C: květ z boku, D: střední vnější okvětní lístek, E: vnitřní okvětní lístky, F: postranní vnější okvětní lístky, G: labellum - zpředu, H: labellum - podélný průřez, I: labellum, sloupek a část semeníku z boku, J: bazální část labela, sloupek, a část semeníku - podélný řez, K: sloupek, L, M: pouzdro prašníku a *pollinarium*

Dosinia marmorata je specifický druh pro Borneo. Vyskytuje v nížinných deštných pralesech (do 400 m. n. m.) na vápencových krasových útvarech, útesech a strmých svazích. Roste ve vlhkých zastíněných kapsách naplněných zbytky listí, vyskytujících se na skalách či mezi nimi a také v trhlinách.

Obrázek 6: Výskyt druhu *Dosinia marmorata* - převzato z Pridgeon (2003)



Kultivace je stejná jako u druhu *Anoectochilus*, až na přídavek nasekané kůry či dubových listů. Jako drenáž je možné přidat perlit. Dobře se jim daří v květináčích, kde jsou zasázeny po skupinkách.

2.1.4 Botanické vlastnosti a ekologické nároky rodu *Anoectochilus*

Anoectochilus je terestrický rod nacházející se v podrostu tropického deštného pralesa. Jeho zástupci vyrůstají přímo z půdy, ze zbytků listí a humusu, v lesích, v nížinách a středních polohách (do 2135 m. n. m.) a také z kamenů porostlých mechem. Rostliny je mnohdy obtížné nalézt, protože jejich listy velmi snadno splynou s odumřelými listy a často je prozradí pouze přítomnost květu.

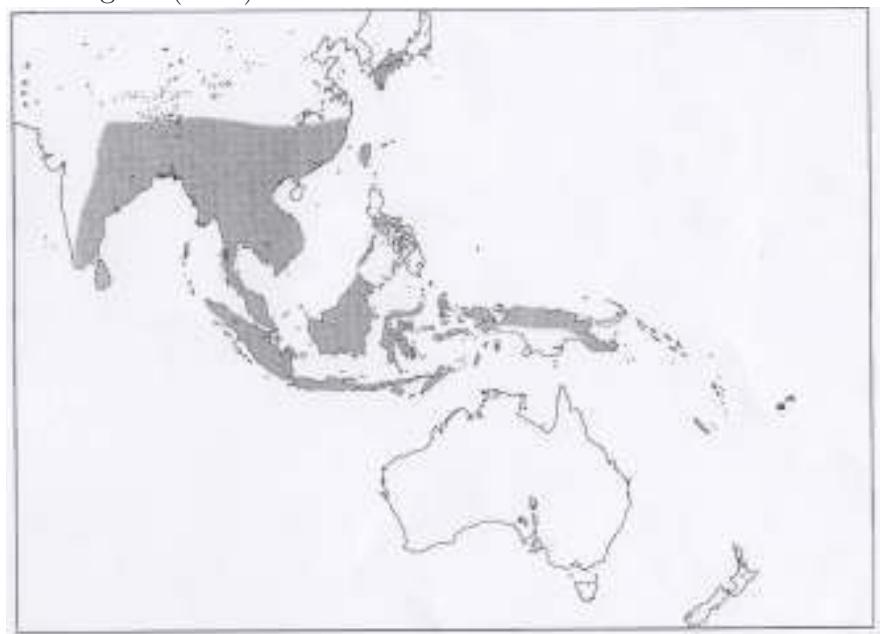
Jedná se o terestrické či občasné litofytické rostliny. Oddenky jsou vytrvalé a plazivé, s několika či více internodii stejné délky. Stonek tvoří několik seskupených přízemních růžic. Čepele listů tvoří bázi podobnou řapíku, která se rozšiřuje v objímavou pochvu. Čepel je zelená až načernalá s obvykle bílým až zlatavě měděným žilkováním.

Květenství je ochmýřené. Kališní lístky jsou téměř stejně dlouhé jako délka korunních lístků se semeníkem. Květy bývají obvykle resupinátní a ochmýřené na vnější straně extratepalů. Vnitřní okvětní lístky jsou volné a často rozptýlené, podobně jako střední vnější okvětní lístek. Intratepaly jsou blanitého, šikmého, oválného až eliptického tvaru. *Labellum* je kónické až válcovité a celistvé nebo rozdvojené s válcovitě kuželovitým výběžkem na každé straně.

Hypochil má tvar žlábku a je na stranách vyvýšený a při napnutí téměř čtvercovitý. Mezochil je krátký až protáhlý, trubicovitý a na každé straně má celistvý, hřebenovitý, vláknitý lem. Epichil je celistvý až rozdvojený a laloky má zřídka rozeklané. Sloupek je dorzálně roztažený. Tyčinka je vzprímená, oválovitá až ostře elipsovítá. Brylka je lepkavá, paličkovitá a zužuje se do souběžných vláken připevněných k malému vejcovitému lepivému terčíku. Rostelum je trojúhelníkovité a mírně rozeklané. Boční laloky jsou oddělené a umístěné laterálně poblíž horních růžků sloupku.

Přibližně 30 druhů rodu *Anoectochilus* se nachází na území Srí Lanky, Indie, Nepálu, Bhútánu, Číny, Taiwanu, Barmy (Myanmar), Laosu, Thajska, Vietnamu, Malajsie, Filipín, Japonska, Indonésie, Papui Nové Guinei, Austrálie (severovýchodní Queensland), Šalamounových ostrovů, Vanuatu, Nové Kaledonie, Fiji a Samoy.

Převzato z Pridgeon (2003):



Obrázek 7: Výskyt rodu *Anoectochilus*

Druh *Anoectochilus* nesnáší přímé oslunění, a druhy s tmavými listy mohou být úspěšně pěstovány ve vlhkém a temném prostředí. Během léta by teplota neměla

klesnout pod 24 °C a neměla by překročit 28 °C. V zimě by se teploty měly pohybovat mezi 15 - 24 °C. Substrát by měl zůstávat chladný. Většině druhů vyhovuje malý hliněný plochý květináč pro větší rostliny. Jako substrát se doporučuje vzdušný, dobře vysušený kompost. Osvědčil se kompost skládající se z malých skořápek lískových oříšků, kousků rašeliny, nasekaného rašeliníku, kousků pálených cihel o velikosti hrášku a několika nasekaných odumřelých listů. Nádoba se naplní do poloviny střepy a na ně se navrší substrát, který se setřese dolů, ale neupěchuje se. Jiné substrátové směsi mohou být:

1. ostrý písek v kombinaci s rašelinou a rašeliníkem
2. dva díly vláknité zeminy se dvěma díly dobré rozdrcené kůry nebo rašeliny, jednoho dílu štěrku či písku s přídavkem nasekaných dubových či bukových listů.

Mohou se také přidat hnojiva s pozvolným uvolňováním.

Rostliny aktivně rostou od března do října a vyžadují stálou vlhkost okolo u kořenů, které nikdy nesmí vyschnout. Během zimy vyžadují pouze tolik vláhy, aby substrát zůstával vlhký. Doporučuje se přesazovat rostliny jednou ročně na konci února nebo začátku března. Pro udržení rostlin v dobré kondici je nezbytná čistota květináčů. Vegetativní rozmnožování je možné provést řezem oddenku tak, aby každá část měla živý kořínek. Hlavními škůdci jsou svilušky druhu *Tetranychus urticae* (sviluška chmelová), třásněnky, šváby a slimáci. K pěstovaným druhům patří např. *A. roxburghii Lindl.*, *A. reinwardtii Blume* a *A. setaceus*.

2.1.5 Botanické vlastnosti a ekologické nároky rodu *Ludisia*

Rostliny se vyskytují v nížinách a horských deštných pralesích od 100 do 1500 m. n. m. Rostou ve vlhkém hnijícím listí nebo v půdě v stínu až v temnu.

Ludisie jsou terestrické někdy epifytické rostliny. Oddenek je tvořen několika internodii stejně délky. Stonek má několik růžicových listů. Listy jsou objímavé. Čepel je šikmě oválně eliptická až okrouhlá. Barva je světle až tmavě zelená občas s rudými fleky. Sítování listů je se stříbrné až zlaté. Rub listu je načervenale fialový.

Květenství je ochmýřené. Květní stopka má několik roztroušených listenů. Kalíšní lístky jsou ochmýřené a stejně dlouhé jako délka korunních lístků se semeníkem. Květy jsou neresonatinátní. Vnější strany intratepalů jsou ochmýřené. Vnitřní okvětní lístky uzavírají bázi labella. Někdy jsou rozptýlené podobně jako střední vnější okvětní lístek. Postranní vnější okvětní lístky jsou blanité, lineárně jazýčkovité. Jejich tvar je šikmě oválný až kopinatý s horním okrajem shluknutým se středním vnějším okvětním lístkem. *Labellum* je asymetrické, zkroucené a připojené k bázi a spodnímu okraji sloupku.

Hypochil je u báze váčkovitý, polokulovitý. Na stranách je vzpřímený, pokud se rozšiřuje má čtvercový tvar. Každý jeho vrchol vytváří okrouhlý lalok, který je často podélně rozdelen nízkým masitým kýlem. Nakaždé straně má jednoduché, masité, válcovitě zahnuté výběžky na bázi. Vnějšek má z každé strany úzkou obrubu rovnoběžnou s blanitým horním okrajem hypochilu. Mezochil, pokud je přítomen, je úzký, krátký až relativně dlouhý, epichil celistvý, srdcovitý, oválný nebo příčně oválný. Sloupek je šikmě zkroucený, protáhlý, mírný až rozdelený uprostřed, občas bazálně zahnutý vpřed v šikmém úhlu se semeníkem. Tyčinka je oválná až úzce oválná, rozeklaná. Brylka je vejčitá až tvaru drápu, zužující se do svazku vláken a připojená k malému, masitému, oválnému lepivému terčíku. Rostelum úzce trojúhelníkovité, ve zbytku hluboce rozeklané, boční laloky jsou spojené, umístěné pod bází rostella. Patyčinky dvě, ventrálne vrstvené, téměř čtvercové až sekerkovité. Semeník je ochmýřený. Tobolka není zřejmá.

Ludisia roste na kamenech a humusu, v zastíněných stálezelených lesích, poblíž vodních zdrojů. Roste především ve výškách do 1300 m. n. m. Ludisie jsou terestrické, jen zřídka litofytické rostliny. Oddenky jsou sukulentní a skládající se z několika internodií stejné délky. Stonek se skládá z několika internodií stejné délky a několika málo listů. Čepel listu tvoří bázi podobnou řapíku, která se rozšiřuje v objímavou pochvu. Čepel je oválná až eliptická a jejich barva je proměnlivá, ale převážně je sametově načervenale hnědá se stříbrným až narůžověle zlatavým žilkováním a síťováním.

Květenství je ochmýřené. Květní stopka nese 1 až 3 roztroušené listeny. Kališní lístky jsou z vnějšku ochmýřené s celistvými okraji. Často jsou téměř stejně dlouhé jako délka korunních lístků se semeníkem. Květy jsou resupinátní a často asymetricky zkroucené. Květy jsou do široka rozevřené. Vnější strany intratepalů jsou ochmýřeny bíle. Vnitřní okvětní lístky jsou volné a rozšiřující se. Postranní vnější okvětní lístky jsou blanité, jazýčkovité. Jejich horní okraj je shluknutý se středním vnějším okvětním lístekem. *Labellum* je šikmě zkroucené a připojené ke spodní čtvrtině až třetině okrajů sloupku.

Hypochil je tobolkovitý a obsahuje čirou, nektaru podobnou tekutinu. Na každé straně má masitý nerozdelený výrůstek. Na stranách vzpřímený mezochil vytváří žlábkovitou chodbičku, která (pokud se rozšiřuje) je oválná až úzce kosočtvercová. Epichil je příčně podlouhlý. Sloupek je šikmo stočený v opačném směru vůči labellu. Je rozšířený v horní polovině. Tyčinka je zřejmě odkloněná kvůli zahnutí sloupku. Má elipsovity, rozeklaný tvar. *Clinandrium* je dobře vyvinuté a bazálně obaluje tyčinku. Brylky jsou žluté, zužují se do stopečky a končí v malém lepivém lepivém terčíku.

Rostelum je trojúhelníkovité. Semeník je ochmýřený a zkrouceného tvaru. Tobolka není viditelná.

Podmínky pro kultivaci jsou stejné jako pro rod *Anoectochilus*.

Obrázek 8: *Ludisia discolor* - převzato z Pridgeon (2003)



A: *Ludisia discolor*, B: květ a semeník, C: květ a semeník - pohled ze strany, D: květ - se shora, E: sloupeček a semeník - pohled ze strany, F: *labellum*, G: *labellum* - pohled svrchu, H: *labellum*, I: střední vnější okvětní lístek, J: postranní vnější okvětní lístky, K: vnitřní okvětní lístky, L: *pollinarium*

Rod *Ludisia* se vyskytuje v Číně, Laosu, Kambodže, Vietnamu, Barmě (Myanmar), Thajsku, poloostrovní části Malajsie a na indonéském souostroví Anambas a Natoema.

Obrázek 9: Výskyt rodu *Ludisia* - převzato z Pridgeon (2003)



Druh *Ludisia discolor* má vzpřímené olistěné části krátké lodyhy, se 3 – 6 listy. Listová čepel je tmavě fialová nebo tmavě zelená, obvykle sestředním žebrem. Na každé straně jsou dvě hlavní žilky s bočními žilkami. Jejich barva je červená nebo zlatá, zelená čepel má obvykle světle zelené žilky. Čepel měří obvykle 8 – 4,3 cm, někdy je úměrně užší a oválná. Čepel má velmi krátké a ostré zakončení. Stonek je kolem 12 cm vysoký a nese 3 bledé sterilní listeny, které jsou krátce chloupkaté. Vřeteno květenství je 5 - 15 cm dlouhé a chlupaté. Nese 5 a více květů. Listeny jsou růžové a dlouhé 1,5 cm. Jsou úzké, chlupaté jen na okrajích a jen o málo kratší než semeník. Květy jsou bílé se žlutými prašníky. Intratepaly měří kolem 5 - 7 mm. Pysk je stočený a váčkovitý. Báze je rýhovaná až téměř lehce dvoulaločná a obsahuje bezlodyžnou žlázkou po obou stranách. Čepel pysku je 8 mm široká. Příčně se rozšiřuje (je širší než delší) a je nezubatá. Sloupek je stočený ve směru hodinových ručiček (opačných směrem k pysku) a je bez přívěsků. Blizna je samostatná a nachází se na přední straně sloupu. Brylky jsou tenké a protáhlé. *Ludisia* je rozšířena v Barmě

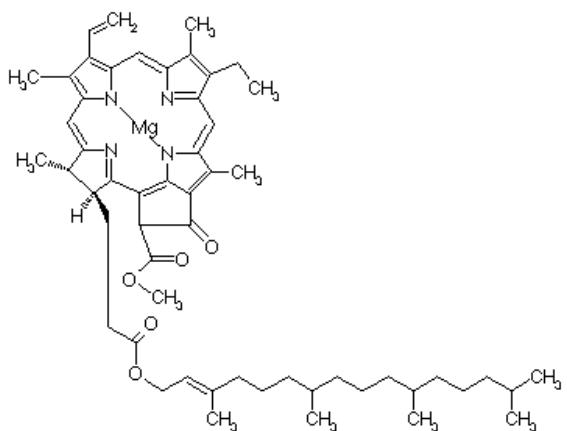
(Tenasserim), na jihu a jihovýchodě Thajska, Vietnamu, Číně (JV Yunnan, Hainan, Kwangtung), Hong Kongu, Sumatře, Anambasu a Natunai; v Malajsii je výskyt hlášen v Palau Tinggi, Pulau Tioman a Pulau Aur, Bukit Fraser v Pahangu a v Pinangu a Kedahu. Současní autoři považují *Ludisii* za monotypický rod, ale s velkou variabilitou a mnoha druhy a varietami.

2.2 Absorpce záření listem

Záření je pro rostlinu jak energetickým zdrojem, díky svým fotoenergetickým účinkům, tak také stimulátorem vývoje s fytofybernetickými účinky. Před průchodem atmosférou je intenzita záření $1,39 \text{ kW} \cdot \text{m}^{-2}$. Z tohoto záření dopadne na zem jen 47% a asi jen polovina projde atmosférou přímo, zbytek je rozptylován mraky či vzduchem. Proto vznikají díky nadmořské výšce značné rozdíly v hodnotách záření. Samotná ekosféra přijímá záření jen v rozmezí 290 - 3 000 nm. Toho záření je postupně absorbováno vegetačním pokryvem. Samotný úbytek záření závisí na hustotě porostu a uspořádání listů. Část záření dopadající na povrch rostliny se odrazí, část je absorbována pro další fyziologické pochody a část je propuštěna. Záření procházející porostem má sníženou hustotu a je i kvalitativně změněno. Prošlé záření je složeno z vlnových délek kolem 500 nm a 800 nm. Samotné přizpůsobení změnám spektrálního složení se nazývá chromatografická adaptace (Larcher 1988).

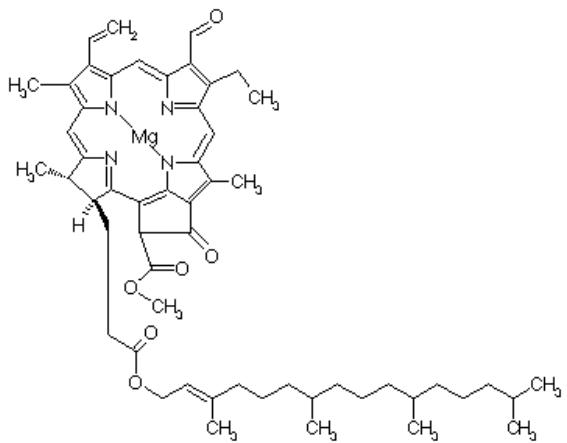
Listy odrážejí kolem 70% záření v infračervené oblasti dopadajícího kolmo na list. Ve viditelném spektru světla se odráží pouze 6 - 12% záření a u ultrafialového záření je to jen kolem 3%. Schopnost odrážet záření závisí na vlastnostech listového povrchu. Průchod záření listem je dán jak tloušťkou, tak strukturou listu. Například měkké a ohebné listy jsou schopny propustit kolem 10 - 20% záření, velmi tenké listy jsou schopné propustit až 40% záření. Tuhé listy někdy nepropustí záření vůbec. Listy z větší části záření absorbují. Kolem 70% fotosynteticky účinného záření (400 - 700 nm) pojmul chloroplasty. Záření v oblasti kolem 700 nm je absorbováno až 97%. Fotoreceptory působící při fotosyntéze se nazývají chlorofyly (Larcher 1988).

Chlorofyl představuje hlavní třídu pigmentů odpovědných za absorpci světla ve fotosyntéze a byl nalezen ve všech fotosyntetických organismech. Různé typy chlorofylu se zjišťují pomocí chromatografie. Například přibližně 1g chlorofylů určených jako chlorofyl *a* a chlorofyl *b*, je přítomen v 1 kg čerstvé hmotnosti listů. Nyní známe 10 druhů chlorofylů. Nejdůležitější je chlorofyl *a* s relativní molekulovou hmotností 893,5. Chlorofyl *a* se nachází ve všech fotosyntetických organismech s výjimkou želených a fialových bakterií (Nobel 2004).



Obrázek 10: Chemická struktura chlorofylu *a*

Další druhy chlorofylů jsou svojí strukturou podobné chlorofylu *a*. Například chlorofyl *b* se liší od chlorofylu *a* tím, že má formylovou skupinu (-CHO) v místě methylové skupiny. Chlorofyl *b* se nachází v prakticky všech pevninských rostlinách (včetně kapradin a mechů), zelených řasách a euglenophytech. Chlorofyl *b* není nezbytný pro fotosyntézu, jelikož hybrydy pšenice obsahující pouze chlorofyl *a* mají dostatečně výkonnou fotosyntézu (Nobel 2004).



Obrázek 11: Chemická struktura chlorofylu *b*

Karotenoidy se vyskytují ve všech zelených rostlinách, řasách a fotosyntetických bakteriích. Narozdíl od chlorofylů, které absorbují červenou a modrou část spektra, karoteoidy absorbují většinou modrou a částečně zelenou část spektra. Karotenoidy zapojené do fotosyntézy jsou vázané a pomáhají stabilizovat chlorofyl-proteinové

komplexy (Nobel 2004).

2.3 Důsledky stínomilnosti orchidejí pro jejich kultivaci

Kultivační nároky orchidejí vzhledem ke světelným nárokům souborně zpracovala Rasmussen (1995).

Čerstvě vzniklé semenáčky většiny terestrických druhů jsou velmi citlivé na světlo a odborníci doporučují úplnou tmu po prvních několik měsíců po vyklíčení. Van Waes (1984) uvádí mortalitu semenáčků přes 85% u orchideje *Orchis morio* pokud jsou vystaveny ozáření přímým světlem, v průběhu 24 týdnů po vyklíčení, ačkoliv již mají vyvinuté výhony, které jsou až 20 mm dlouhé. Nižší intenzita světla je lépe snášena a již 14 denní semenáčky se stávají méně citlivými. Australské druhy nejsou zjevně takto nepříznivě ovlivněny světlem, jelikož obvykle rostou ve 20 hodinové fotoperiodě. Některé severoamerické druhy byly pěstovány v šeru, což znamená, že tolerují určitou míru ozáření. To ovšem neznamená, že v tomto stádiu vyžadují ozáření pro úspěšnou kultivaci. Semenáčky terestrických druhů často zůstávají bez viditelného chlorofylu, i když jsou vystaveny světlu. Podle Heinricha a kol. (1981) u semenáčků rostoucích ve tmě nedochází k abnormálnímu prodlužování. Totéž zaznamenala Rassmussen (1995) u symbiotických semenáčků. Etiolizace při kultivaci ve tmě nebyla pozorována. Ichihashi (1990) sledoval částečné prodlužování internodií u druhu *Bletilla striata*, rostoucího ve tmě, ale výška rostlin byla zhruba stejná při ozáření i ve tmě. Fakt, že semenáčky terestrických orchidejí se ve tmě nadměrně neprodlužují (nebo jen nepatrнě) je nicméně další známkou obligátní semenáčkové mykotrofie.

Prodlužovací odezva semenáčků, je obecně mechanismem, který může pomoci listům dosáhnout nad povrch půdy. To pro semenáčky s dlouhou heterotrofickou životní fází v půdě ale nepřináší žádnou výhodu. Tma podporuje utváření rhizoidů na semenáčcích. Oddenky, které nejsou kompletně pokryty půdou, mají rhizoidy pouze na své podzemní části. Tma je doporučena pro kultury, v nichž se protokorm rozrůstá nepřirozeně z důvodu poranění. Toto rozrůstání se očekává u terestrických druhů, k vegetativní reprodukci obvykle dochází pod zemí. V tkáňových kulturách druhů rodu *Aceras* se dosáhlo rozrůstání pupenů v pletivech *in vitro* při 8 hodinové fotoperiodě, ale při 16 hodinové fotoperiodě pletiva hnědla a odumírala. Odborníci si tento jev vysvětlují jako náznak letní dormance navozené pomocí dlouhé fotoperiody; ta upravuje normální roční růstový cyklus druhů rodu *Aceras*. Semenáčky epifytických druhů obvykle zezelenají, pokud jsou vystaveny světlu, podobně jako některé terestrické druhy; ostatní terestrické druhy zůstávají nezelené s výjimkou špičky výhonku. Navzdory viditelnému chlorofylu je nejisté, zda-li semenáčky mohou okamžitě foto-

syntetizovat. Nicméně jsou zde známky toho, že heterotrofická fáze se zkrácuje po vystavení světlu, jak se ukázalo na tropických hybridech rodu *Cymbidium*. Zatímco tma stimuluje vývoj protokormu a mykorhizomu, inhibuje tvorbu prýtu i kořenů, které jsou obojí třeba pro přechod do fotosyntetické fáze. Stejná reakce byla zaznamenána u semenáčků druhu *Calopogon tuberosus*. Za malé světelné intenzity ($0,6 \text{ W.m}^{-2}$) se kořeny vyvýjely a prodlužování listů bylo indukováno u druhu *Bletilla striata* ve tmě se žádné kořeny netvořily. U *Cymbidium sp.* bylo pozorováno, že pokud byly semenáčky osvětleny, rozvíjely se listy ještě před rozvojem kořenů. Nicméně u holoarktických druhů se první kořen obvykle vyvíjí ještě v době, kdy jsou listy v pupenu. Výsledky naznačují, že polarita semenáčků *Cymbidium* může být stanovena užitím substrátu, který je ztmaven dřevěným uhlím a osvětlováním kultury; to způsobuje pozitivní geotropická růst kořenů dolů v médiu. Stoutamire (1974) vypozoroval pozitivní geotropismus v mykorhizomech několika druhů australských terestrických orchidejí, k němuž mohlo zřejmě docházet proto, že kultury byly osvětlované. Po několika měsících kultivace, kdy se pupeny vyvýjely, se špička výhonku otočila směrem vzhůru. V kulturách jsou semenáčky obvykle orientovány horizontálně, pokud jsou velmi malé. Když je apikální pupen dobře vyvinut, směřuje vertikálně vzhůru. Pokud jsou kultury umístěny ve tmě, je to pravděpodobně odezva na gravitaci. Nicméně tento jev nebyl ověřen ve striktním experimentu a byl pozorován na kulturách, které byly vystaveny určitému množství ozáření během pozorování a manipulace. Pokud se v přírodě špička výhonu vyvine blízko povrchu, může orientovat svůj růst, pomocí světla, které proniká nejvrchnějšími úrovněmi půdy. Semenáčky, které naklíčí hlouběji, však musí reagovat na jiné stimuly, jako je například gravitace. Když dosáhnou dospělého stádia, většina terestrických orchidejí umí zpracovávat přirozené světlo pro fotosyntézu, ale některé zůstávají silně mykotrofní, některé zcela mykotrofní. *Neottia nidus-avis* je extrémně adaptována heterotroficky: chloroplasty a chlorofily jsou vyvinuty, ale není zde žádný chlorofyl *b* a fotosyntetická aktivita nebyla zjištěna (Montfort 1940).

3 METODIKA

3.1 Rostlinný materiál

Ve své práci jsem studovala několik druhů a kultivarů tropických stínomilných orchidejí, které patří do společného tribu *Cranichideae* a to:

- *Erythrodes nobilis*
- *Erythrodes hirsuta*
- *Macodes petola*
- *Dosinia marmorata*
- *Anoectochilus sp.*
- *Ludisia discolor*

U *Ludisia discolor* jsem studovala pět různých kultivarů, které se lišily morfologickými znaky listu:

- světle zelené listy se zlatým žilkováním
- tmavě zelené listy bez žilkování
- zeleno - červené listy s červeným žilkováním
- tmavě zelené listy s bílou hlavní žilkou
- tmavě zelené listy s hlavní bílou žilkou a dvěma souběžnými žilkami

Rostliny jsem získala ze soukromé sbírky Mgr. Bohumila Vondruše, Katedry biologických disciplín na Zemědělské fakultě JČU a své vlastní sbírky.

3.2 Anatomická stavba listu

Tuto část diplomové práce jsem zhotovovala od května 2011 do prosince 2011. Pro studium anatomické stavby listu jsem použila druhé nejrozvinutější listy z každé rostlinky. List jsem uchytila v polystyrenovém bločku a žiletkou nařezala několik příčných řezů. Z řezů jsem zhotovila dočasné preparáty v kapce vody (Pazourek 1961). Preparáty jsem pozorovala mikroskopem Olympus (Model CX31) a fotografovala digitální zrcadlovkou Olympus E-410 na 3 možná zvětšení.

Na mikrofotografiích jsem v programu QuickPHOTO (Olympus) zjišťovala tyto anatomické charakteristiky:

- šířka listů
- šířka buněk horní pokožky
- výška buněk horní pokožky
- šířka buněk dolní pokožky
- výška buněk dolní pokožky
- šířka buněk palisádového parenchymu
- výška buněk palisádového parenchymu
- šířka buněk houbového parenchymu
- výška buněk houbového parenchymu
- šířka anthokyanových buněk
- výška anthokyanových buněk
- průměr buněk chlorofylů

Následně jsem pomocí programu MS Excel 2007 provedla výpočet aritmetických průměrů a směrodatných odchylek.

3.3 Stanovení množství listových barviv

Z vybraného listu určitého druhu jsem pomocí korkovrtu 4 terčíky o průměru 8 mm a vložila do třecích misek. Zde jsem je smíchala s křemičitým pískem a špetkou MgCO₃ pro neutralizaci organických kyselin. Ke vzniklé kaši jsem přilila nepatrné množství bezvodého acetonu a následně třela 3 minuty. Jakmile byla vzniklá kaše homogenní, přidala jsem 3 ml 80% acetonu a rozmíchala. Roztok jsem kvantitativně převedla přes sintr S3 do zkumavky umístěné v odsávací baňce. Vzniklou kaši jsem ještě 2x prolila 2 ml 80% acetonu tak, aby výsledný filtrát nebyl větší než 10 ml. Filtrát jsem následně převedla do 10 ml odměrné baňky a doplnila po rysku 80% acetonem. Poté jsem na spektوفotometru (Spekol) stanovila extinkci extraktu při vlnových délkách 663 nm, 645 nm, 537 nm, 470 nm. Výpočet koncentrací barviv ze zjištěných extinkcí jsem prováděla pomocí vzorce Simse a Gamona (2002).

$$chlorofyla = 0,01373A_{663} - 0,000897A_{537} - 0,003046A_{647}$$

$$chlorofylb=0,02405A_{647}-0,004305A_{537}-0,005507A_{663}$$

$$anthokyany=0,08173A_{537}-0,00697A_{647}-0,002228A_{663}$$

$$karotenoidy=\frac{(A_{470}-[17,1\left\{ chlorofyla+chlorofylb\right\} -9,479anthokyany])}{119,26}$$

4 VÝSLEDKY

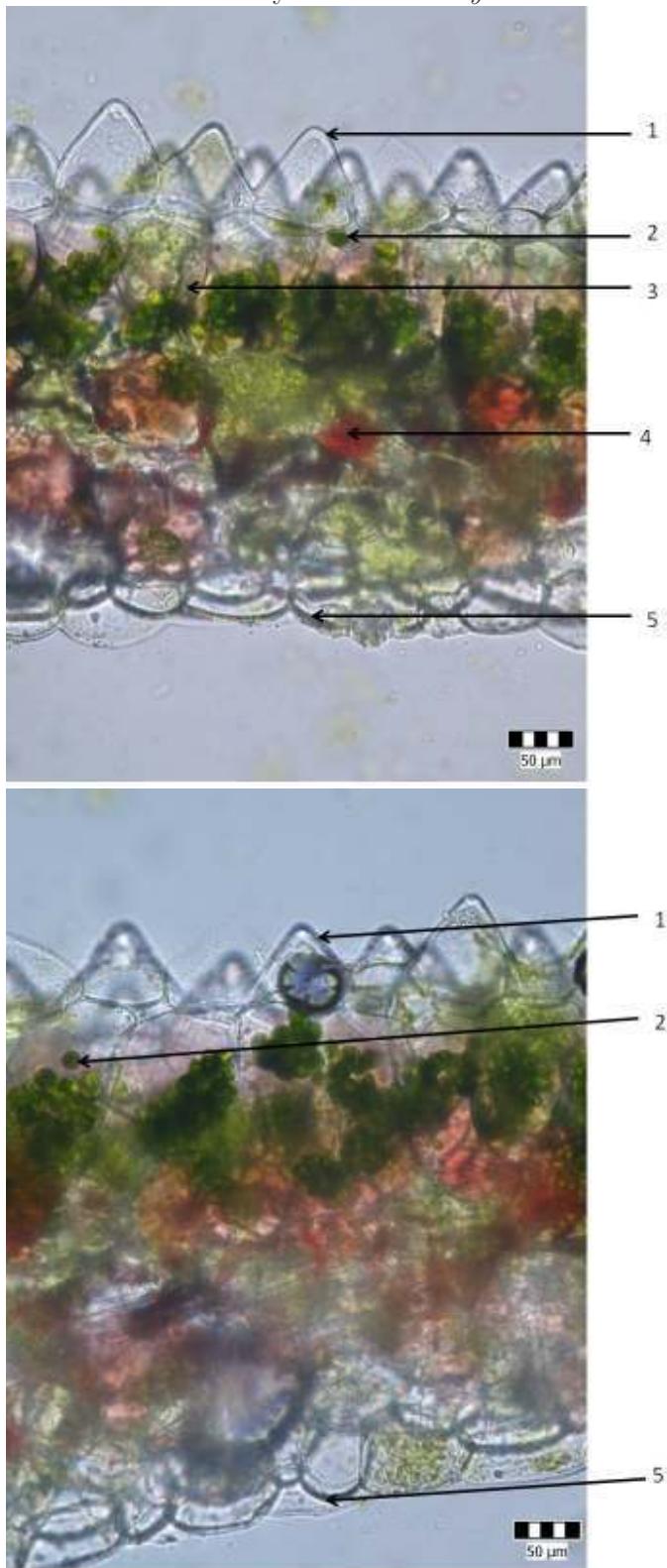
4.1 Anatomická stavba listů *Erythrodes nobilis*

Svrchní strana listu byla tvořena pokožkou s čočkovitými buňkami. Následovala vrstva mezofylu. Svrchní vrstva mezofylu byla tvořena buňkami obsahujícími chloroplasty. Chloroplasty byly uspořádány hlavně ve spodní části buněk. Následovala spodní vrstva mezofylu o třech vrstvách buněk. Některé buňky obsahovaly viditelné anthokyany.

Tabulka 1: Průměr a směrodatná odchylka anatomických struktur orchideje *Erythrodes nobilis* (μm)

Anatomické struktury	Průměr	Směrodatná odchylka
tloušťka listu	366,44	26,34
šířka buněk pokožky horní	73,33	5,60
výška buněk pokožky horní	77,56	11,04
šířka buněk pokožky dolní	62,22	9,29
výška buněk pokožky dolní	41,11	6,42
šířka buněk svrchní vrstvy mezofylu	69,33	6,82
výška buněk svrchní vrstvy mezofylu	91,00	5,83
šířka buněk spodní vrstvy mezofylu	74,00	9,24
výška buněk spodní vrstvy mezofylu	56,56	13,06
šířka anthokyanových buněk	77,44	10,37
výška anthokyanových buněk	60,56	6,31
průměr chloroplastů	13,44	2,22

Obrázek 12: Příčný řez listem *Erythrodes nobilis*



1 - čočkovité buňky pokožky, 2 - chloroplast, 3 - mezofylové buňky s chloroplasty, 4 - mezofylové buňky s anthokyanem, 5 - spodní pokožka

4.2 Anatomická stavba listů *Erythrodes hirsuta*

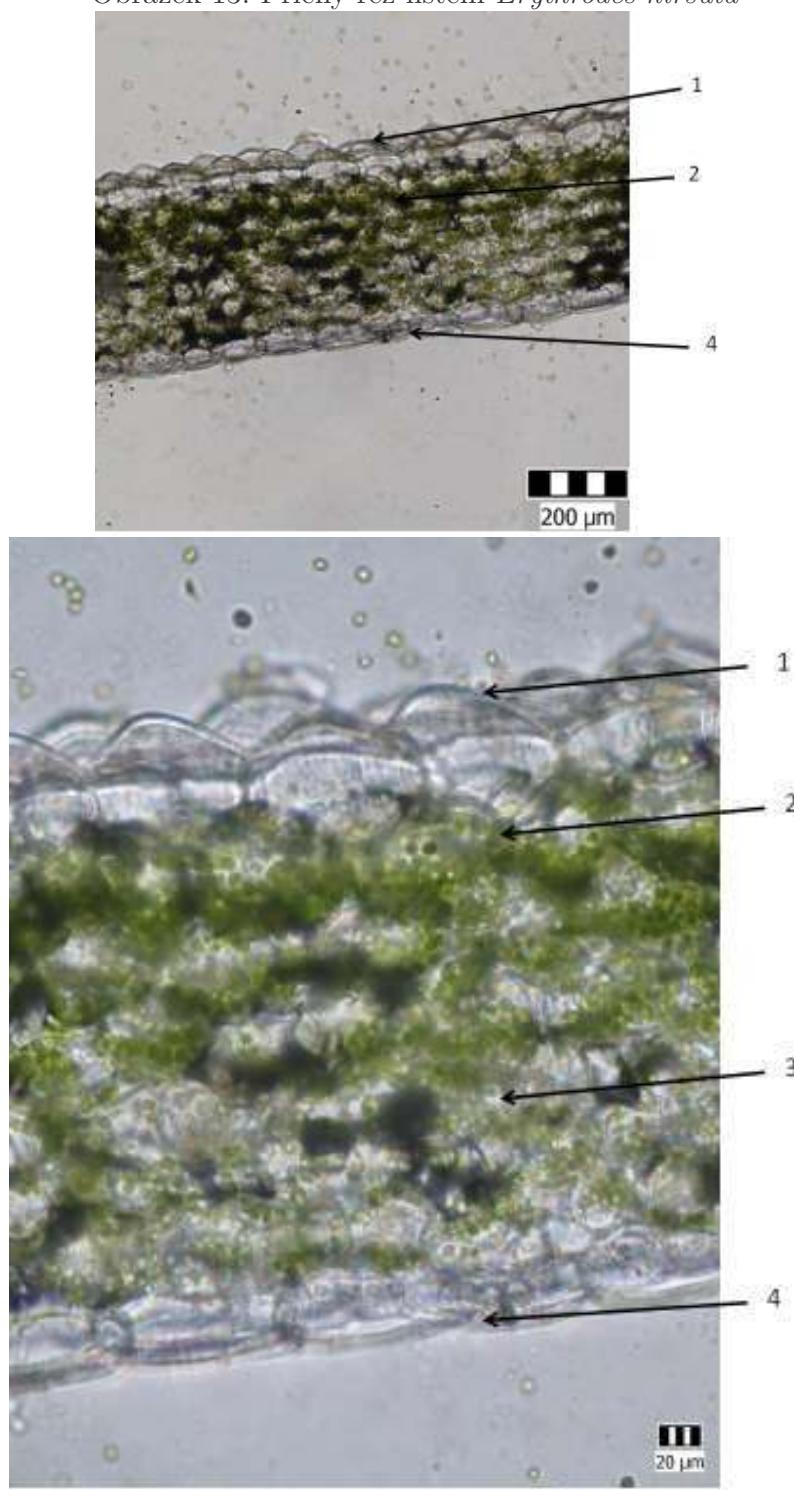
Svrchní strana listu byla tvořena pokožkou s čočkovitými buňkami. Buňky měly na rozdíl od *Erythrodes nobilis* méně ostrý tvar. Následovala svrchní vrstva mezofylu o třech vrstvách buněk. Tato vrstva obsahovala také nejvíce chloroplastů uspořádaných hlavně v dolní části buněk. Následovala spodní vrstva mezofylu, také obsahující chloroplasty, ale už v menší míře než v palisádovém parenchymu. Buňky spodní vrstvy mezofylu neobsahovaly viditelné anthokyany.

Tabulka 2: Průměr a směrodatná odchylka anatomických struktur orchideje *Erythrodes hirsuta* (μm)

Anatomické struktury	Průměr	Směrodatná odchylka
tloušťka listu	401,89	14,25
šířka buněk pokožky horní	88,56	13,90
výška buněk pokožky horní	69,00	17,26
šířka buněk pokožky dolní	89,22	15,92
výška buněk pokožky dolní	35,56	10,06
šířka buněk svrchní vrstvy mezofylu	69,89	14,21
výška buněk svrchní vrstvy mezofylu	77,33	4,62
šířka buněk spodní vrstvy mezofylu	74,44	8,80
výška buněk spodní vrstvy mezofylu	53,33	7,36
šířka anthokyanových buněk	n	n
výška anthokyanových buněk	n	n
průměr chloroplastů	10,22	1,31

n - nezjištěno

Obrázek 13: Příčný řez listem *Erythrodes hirsuta*



1 - čočkovité buňky pokožky, 2 - buňky svrchního mezofylu s chloroplasty, 3 - buňky spodního mezofylu s chloroplasty, 4 - spodní pokožka

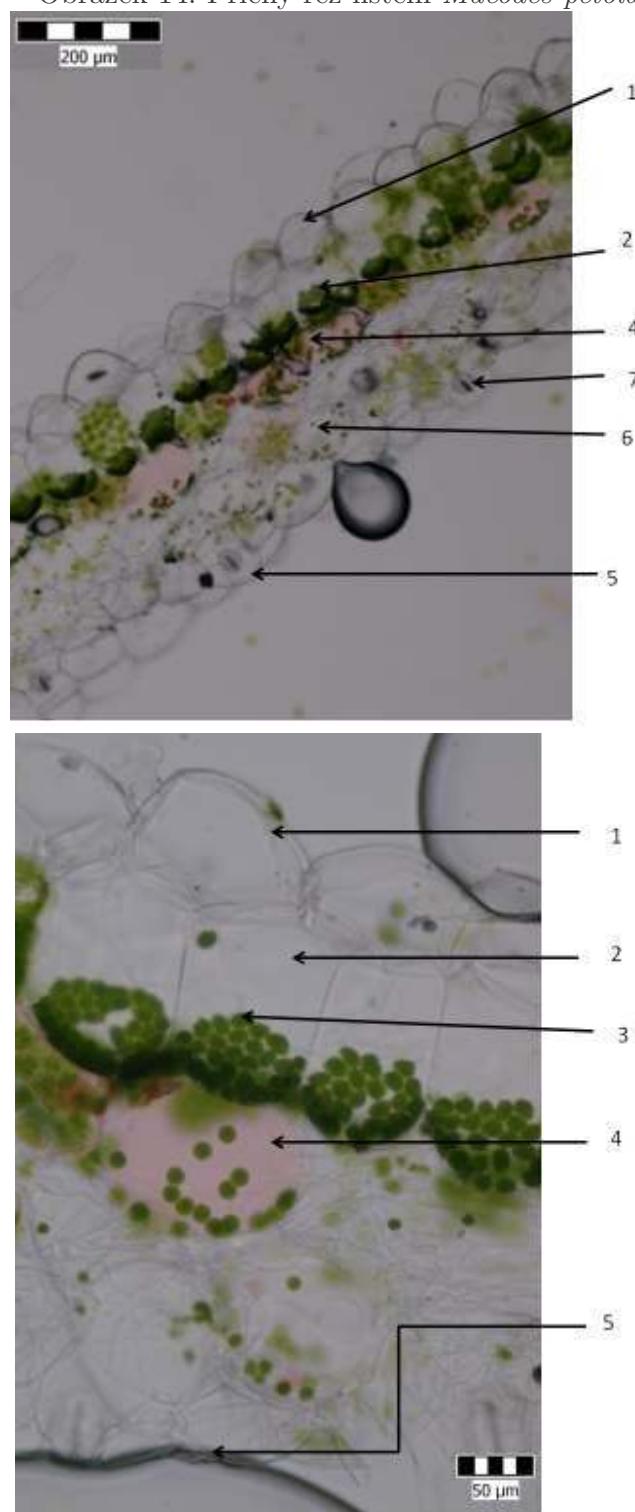
4.3 Anatomická stavba listů *Macodes petola*

Svrchní část listu byla tvořena jednovrstevnou pokožkou s čočkovitými buňkami. Buňky měly, ve srovnání s *Erythrodes nobilis*, méně ostrý tvar. Následovala jedna svrchní vrstva mezofylu obsahující chloroplasty. Ty byly pozorovány hlavně ve spodní části buněk. Následovala spodní vrstva mezofylu. Některé buňky spodní vrstvy mezofylu obsahovaly viditelné anthokyany.

Tabulka 3: Průměr a směrodatná odchylka anatomických struktur orchideje *Macodes petola* (μm)

Anatomické struktury	Průměr	Směrodatná odchylka
tloušťka listu	457,89	36,22
šířka buněk pokožky horní	130,44	17,55
výška buněk pokožky horní	91,78	14,41
šířka buněk pokožky dolní	87,67	18,60
výška buněk pokožky dolní	71,44	9,15
šířka buněk svrchní vrstvy mezofylu	86,56	8,74
výška buněk svrchní vrstvy mezofylu	103,00	18,42
šířka buněk spodní vrstvy mezofylu	114,44	16,68
výška buněk spodní vrstvy mezofylu	68,44	6,72
šířka anthokyanových buněk	128,67	19,43
výška anthokyanových buněk	75,56	8,39
průměr chloroplastů	11,89	1,85

Obrázek 14: Příčný řez listem *Macodes petola*



1 - čočkovité buňky pokožky, 2 - mezofylové buňky s chloroplasty, 3 - chloroplast, 4 - mezofylové buňky s anthokyanem, 5 - spodní pokožka, 6 - buňky spodního mezofylu, 7 - průduchy

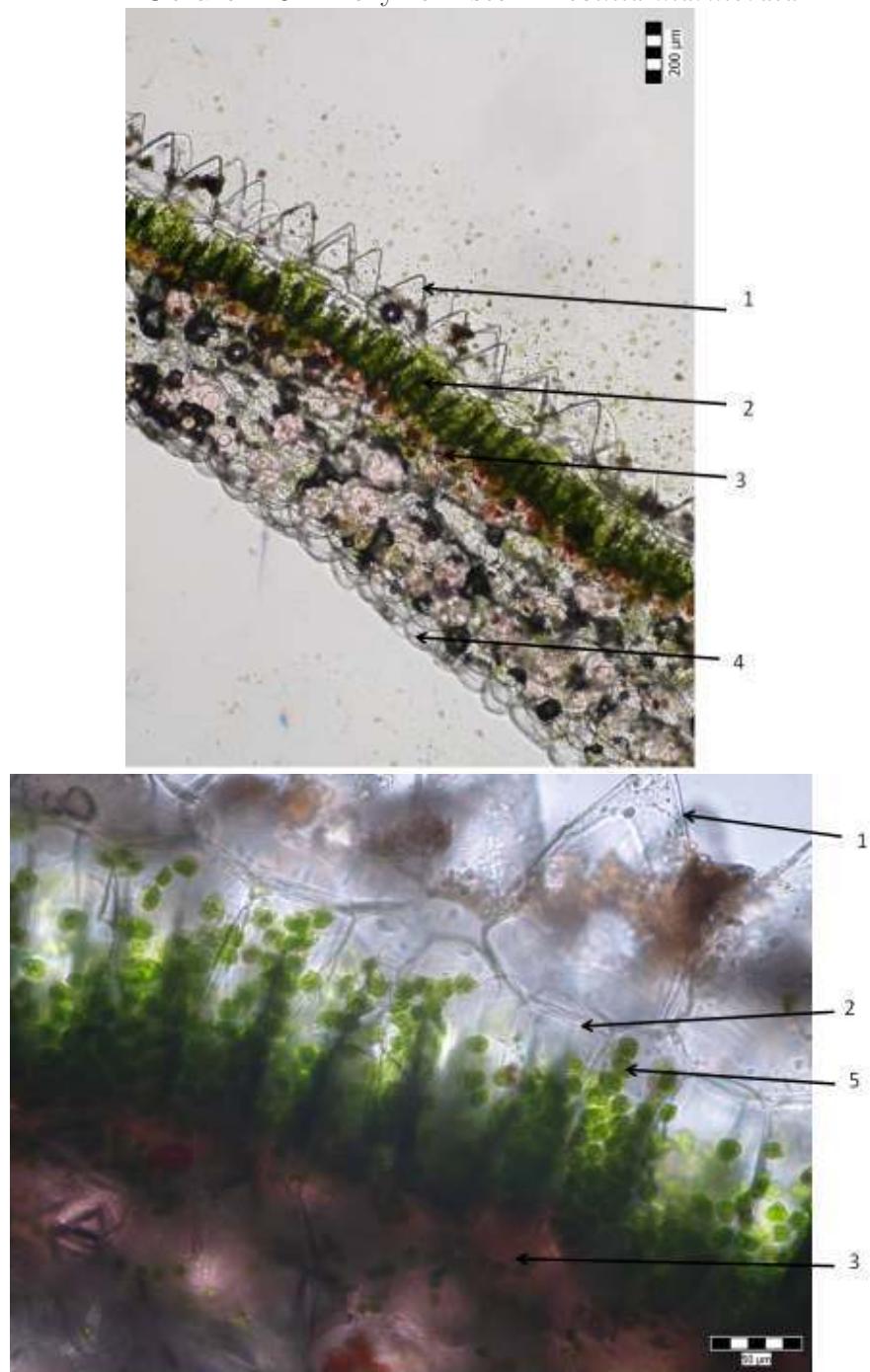
4.4 Anatomická stavba listů *Dosinia marmorata*

Svrchní vrstvu listu tvořily čočkovité buňky pokožky. Pokožkové buňky byly velmi ostrého tvaru. Následovala svrchní vrstva mezofylu s chloroplasty. Ty se převážně vyskytovaly ve spodní části buněk. Na protáhlé buňky svrchní vrstvy mezofylu nadala 1 vrstva spodní vrstvy mezofylu s viditelnými anthokyany. Ve spodní vrstvě mezofylu byly roztroušeně přítomny buňky s viditelným obsahem anthokyanů.

Tabulka 4: Průměr a směrodatná odchylka anatomických struktur orchideje *Dosinia marmorata* (μm)

Anatomické struktury	Průměr	Směrodatná odchylka
tloušťka listu	686,67	18,10
šířka buněk pokožky horní	105,78	13,71
výška buněk pokožky horní	137,22	18,56
šířka buněk pokožky dolní	105,89	23,85
výška buněk pokožky dolní	87,67	11,03
šířka buněk svrchní vrstvy mezofylu	49,56	9,12
výška buněk svrchní vrstvy mezofylu	128,56	18,40
šířka buněk spodní vrstvy mezofylu	137,00	18,68
výška buněk spodní vrstvy mezofylu	69,44	11,55
šířka anthokyanových buněk	87,78	16,44
výška anthokyanových buněk	48,78	8,12
průměr chloroplastů	12,78	1,03

Obrázek 15: Příčný řez listem *Dosinia marmorata*



1 - čočkovité buňky pokožky, 2 - mezofylové buňky s chloroplasty, 3 - mezofylové buňky s anthokyany, 4 - spodní pokožka, 5 - chloroplast

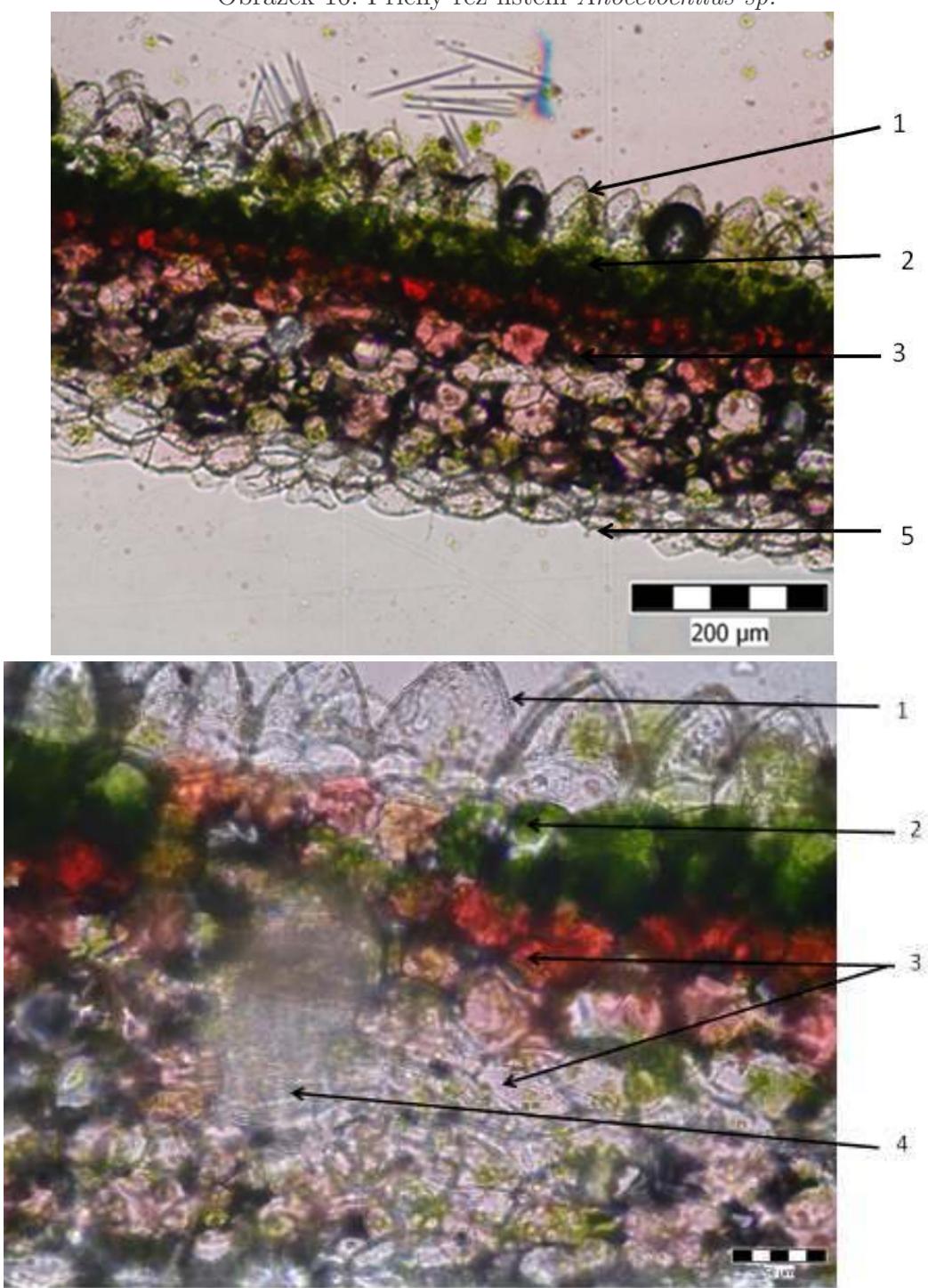
4.5 Anatomická stavba listů *Anoectochilus sp.*

Svrchní vrstvu tvořily pokožkové buňky čočkovitého tvaru. Následovaly buňky svrchní vrstvy mezofylu s chloroplasty, které se vyskytovaly téměř po celých buňkách. Na svrchní vrstvu mezofylu těsně nasedala spodní vrstva mezofylu obsahující velké množství viditelných anthokyanů. Ve zbývajících vrstvách spodní vrstvy mezofylu se viditelné anthokyany vyskytovaly roztroušeně.

Tabulka 5: Průměr a směrodatná odchylka anatomických struktur orchideje *Anoectochilus sp.* (µm)

Anatomické struktury	Průměr	Směrodatná odchylka
tloušťka listu	363,56	32,49
šířka buněk pokožky horní	56,22	7,98
výška buněk pokožky horní	57,44	6,13
šířka buněk pokožky dolní	62,44	10,48
výška buněk pokožky dolní	52,00	15,66
šířka buněk svrchní vrstvy mezofylu	50,11	5,36
výška buněk svrchní vrstvy mezofylu	54,00	4,32
šířka buněk spodní vrstvy mezofylu	64,33	7,64
výška buněk spodní vrstvy mezofylu	40,33	4,45
šířka anthokyanových buněk	51,89	6,03
výška anthokyanových buněk	42,33	2,31
průměr chloroplastů	14,67	1,83

Obrázek 16: Příčný řez listem *Anoectochilus* sp.



1 - čočkovité buňky pokožky, 2 - mezofylové buňky s chloroplasty, 3 - mezofylové buňky s anthokyany, 4 - cévní svazek, 5 - spodní pokožka

4.6 Anatomická stavba listů *Ludisia discolor*

4.6.1 Světle zelené listy se zlatým žilkováním

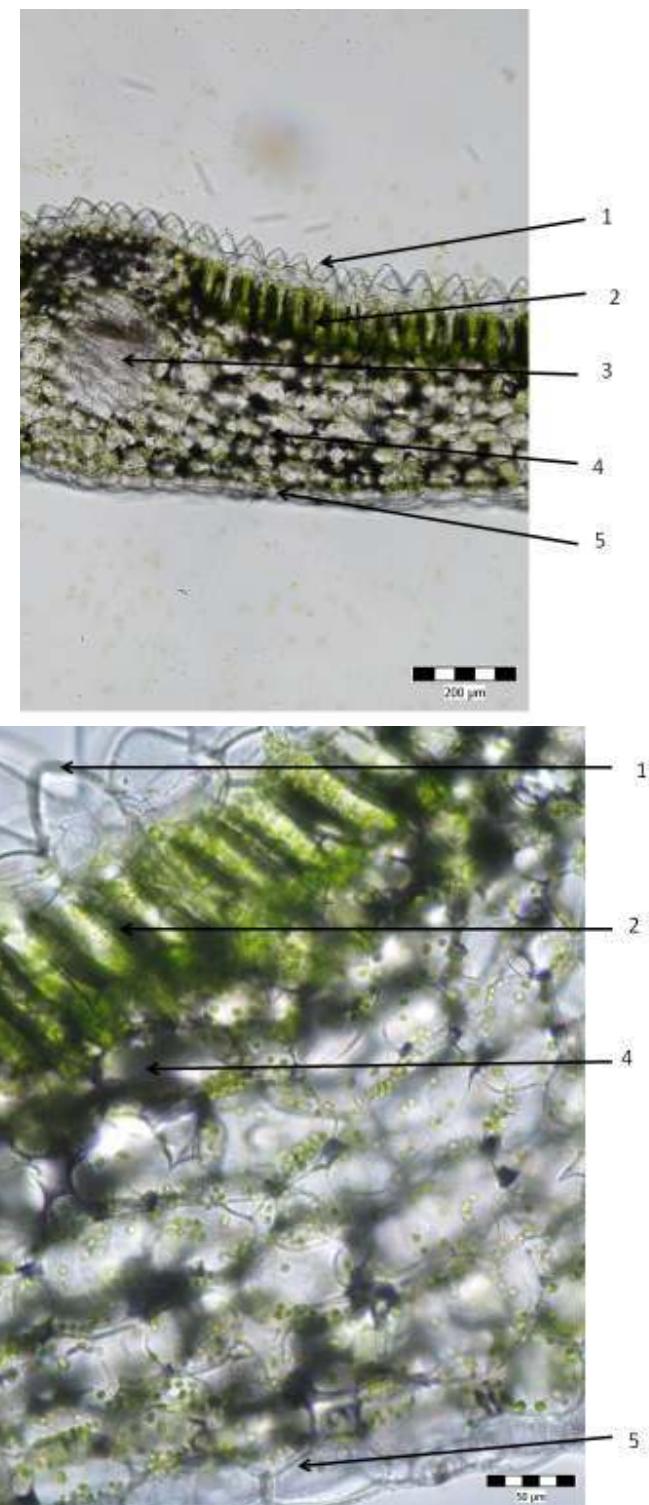
Svrchní vrstvu tvořily čočkovité buňky pokožky poměrně ostrého tvaru. Následovaly protáhlé buňky svrchní vrstvy mezofylu obsahující chloroplasty. Ty byly soustředěny převážně vesopod a po stranách jednotlivých buněk. Následovala spodní vrstva mezofylu, která obsahovala menší množství chloroplastů. Svrchní vrstva mezofylu neobsahovala žádné viditelné anthokyaniny.

Tabulka 6: Průměr a směrodatná odchylka anatomických struktur orchideje *Ludisia discolor* (kultivar - světle zelené listy se zlatým žilkováním) (µm)

Anatomické struktury	Průměr	Směrodatná odchylka
tloušťka listu	419,22	57,26
šířka buněk pokožky horní	64,25	7,28
výška buněk pokožky horní	71,00	4,67
šířka buněk pokožky dolní	60,33	12,01
výška buněk pokožky dolní	30,44	4,67
šířka buněk svrchní vrstvy mezofylu	34,11	6,59
výška buněk svrchní vrstvy mezofylu	95,00	6,73
šířka buněk spodní vrstvy mezofylu	68,56	16,06
výška buněk spodní vrstvy mezofylu	39,44	7,35
šířka anthokyanových buněk	n	n
výška anthokyanových buněk	n	n
průměr chloroplastů	7,11	1,45

n - nezjištěno

Obrázek 17: Příčný řez listem *Ludisia discolor* (kultivar - světle zelené listy se zlatým žilkováním)



1 - čočkovité buňky pokožky, 2 - mezofylové buňky s chloroplasty, 3 - cévní svazek, 4 - buňky spodního mezofylu s chloroplasty, 5 - spodní pokožka

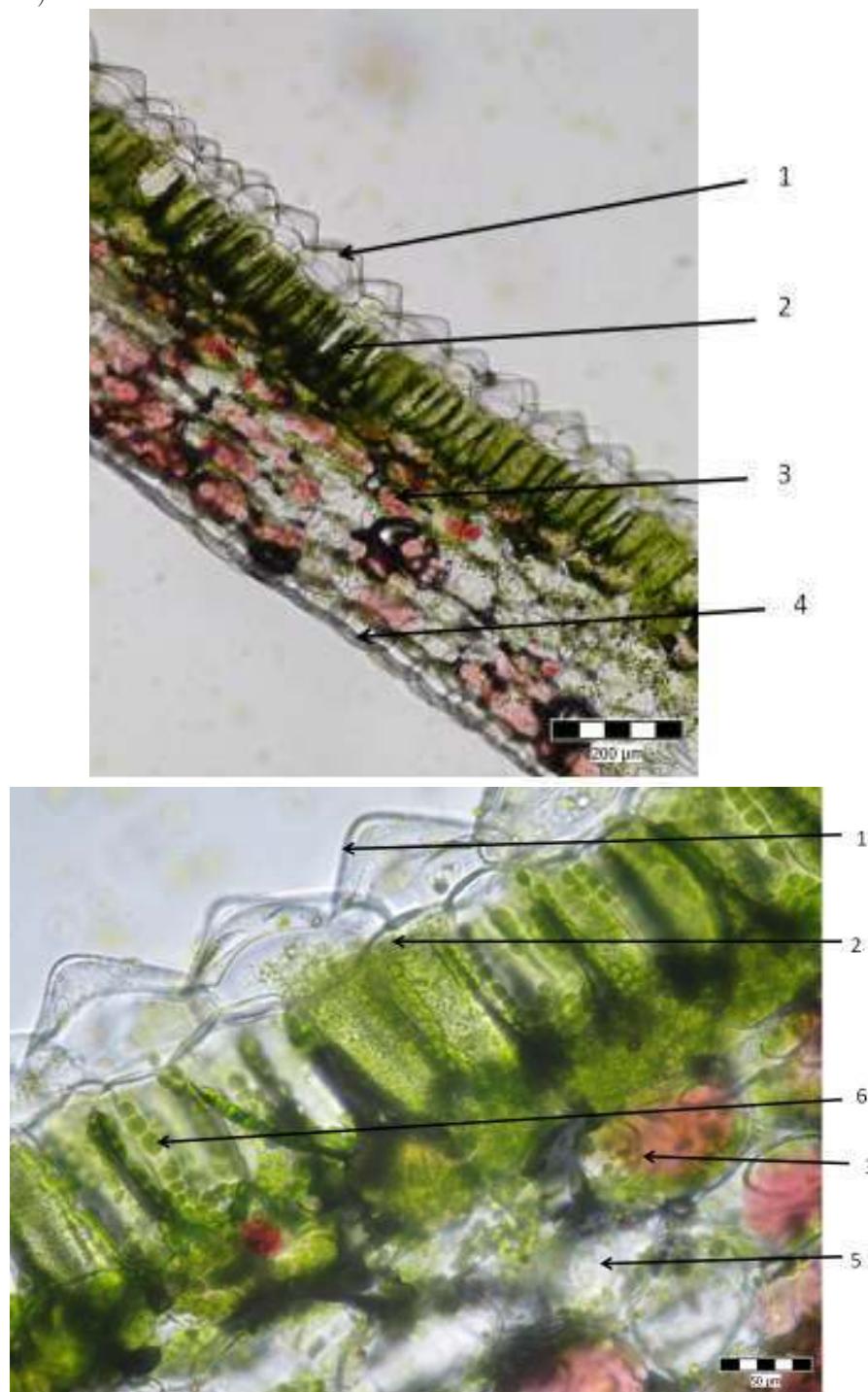
4.6.2 Tmavě zelené listy bez žilkování

Svrchní část listu byla tvořena jednovrstevnou pokožkou s čočkovitými buňkami. Svrchní vrstva mezofylu měla anatomické znaky palisádového parenchymu. Následovala jedna svrchní vrstva mezofylu obsahující chloroplasty. Ty byly pozorovány hlavně ve spodní části buněk a po jejich okrajích. Následovala spodní vrstva mezofylu. Některé buňky spodní vrstvy mezofylu obsahovaly viditelné anthokyany.

Tabulka 7: Průměr a směrodatná odchylka anatomických struktur orchideje *Ludisia discolor* (kultivar - tmavě zelené listy bez žilkování) (μm)

Anatomické struktury	Průměr	Směrodatná odchylka
tloušťka listu	489,67	9,61
šířka buněk pokožky horní	83,22	15,05
výška buněk pokožky horní	72,78	5,29
šířka buněk pokožky dolní	80,56	14,21
výška buněk pokožky dolní	39,89	7,19
šířka buněk svrchní vrstvy mezofylu	50,22	6,43
výška buněk svrchní vrstvy mezofylu	101,33	7,66
šířka buněk spodní vrstvy mezofylu	107,44	33,27
výška buněk spodní vrstvy mezofylu	68,89	8,20
šířka anthokyanových buněk	101,67	22,07
výška anthokyanových buněk	66,44	8,76
průměr chloroplastů	9,33	1,56

Obrázek 18: Příčný řez listem *Ludisia discolor* (kultivar - tmavě zelené listy bez žilkování)



1 - čočkovité buňky pokožky, 2 - mezofylové buňky s chloroplasty, 3 - mezofylové buňky s anthokyany, 4 - spodní pokožka, 5 - buňky spodního mezofylu, 6 - chloroplast

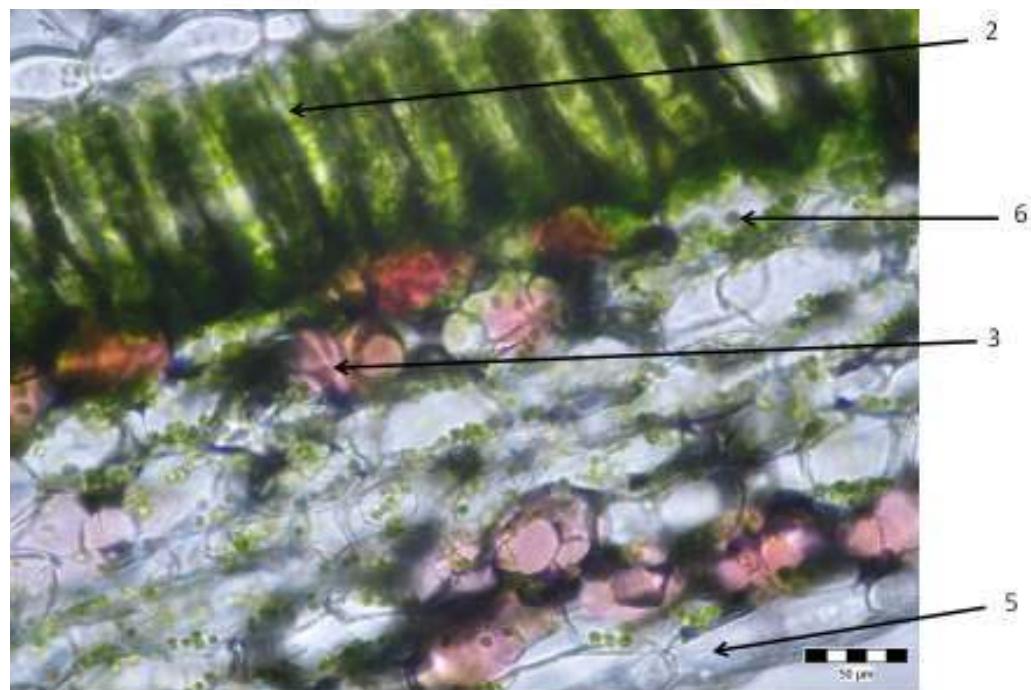
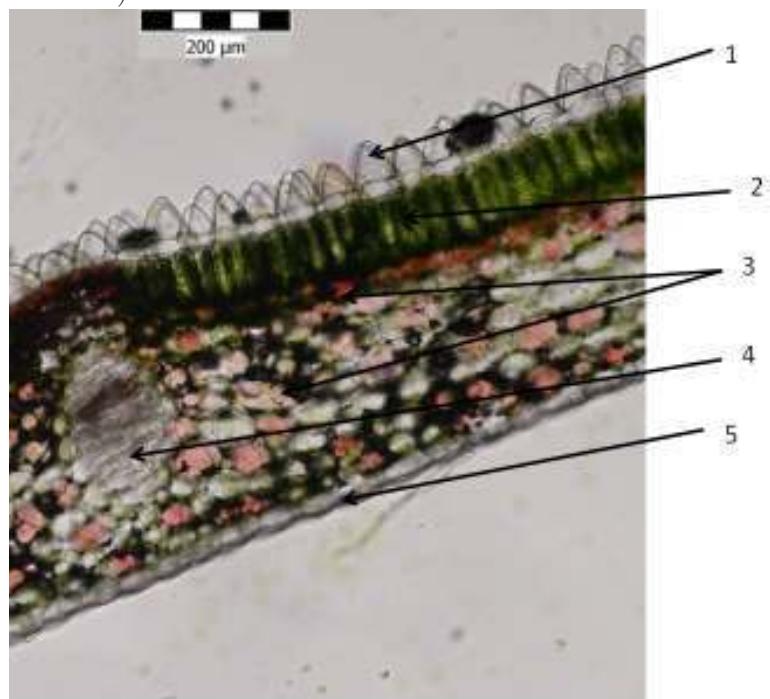
4.6.3 Zeleno - červené listy s červeným žilkováním

Svrchní vrstvu listu tvořily čočkovité buňky pokožky. Pokožkové buňky byly velmi ostrého tvaru. Následovala svrchní vrstva mezofylu s chloroplasty. Ty se převážně vyskytovaly po stranách a ve spodní části buněk. Svrchní vrstva mezofylu měla anatomické znaky palisádového parenchymu. Na protáhlé buňky svrchní vrstvy mezofylu nasedala 1 vrstva spodního mezofylu s viditelnými anthokyany. Další spodní vrstvy spodní vrstvy mezofylu obsahovaly buňky s viditelným anthokyanem jen roztroušeně.

Tabulka 8: Průměr a směrodatná odchylka anatomických struktur orchideje *Ludisia discolor* (kultivar - zeleno - červené listy s červeným žilkováním) (μm)

Anatomické struktury	Průměr	Směrodatná odchylka
tloušťka listu	485,11	44,39
šířka buněk pokožky horní	73,00	8,67
výška buněk pokožky horní	81,78	6,97
šířka buněk pokožky dolní	67,78	11,73
výška buněk pokožky dolní	37,56	6,20
šířka buněk svrchní vrstvy mezofylu	37,00	4,62
výška buněk svrchní vrstvy mezofylu	108,44	6,29
šířka buněk spodní vrstvy mezofylu	72,44	8,00
výška buněk spodní vrstvy mezofylu	36,67	6,25
šířka anthokyanových buněk	59,89	11,44
výška anthokyanových buněk	43,11	8,71
průměr chloroplastů	8,56	0,83

Obrázek 19: Příčný řez listem *Ludisia discolor* (kultivar - zeleno - červené listy s červeným žilkováním)



1 - čočkovité buňky pokožky, 2 - mezofylové buňky s chloroplasty, 3 - mezofylové buňky s anthokyany, 4 - cévní svazek, 5 - spodní pokožka

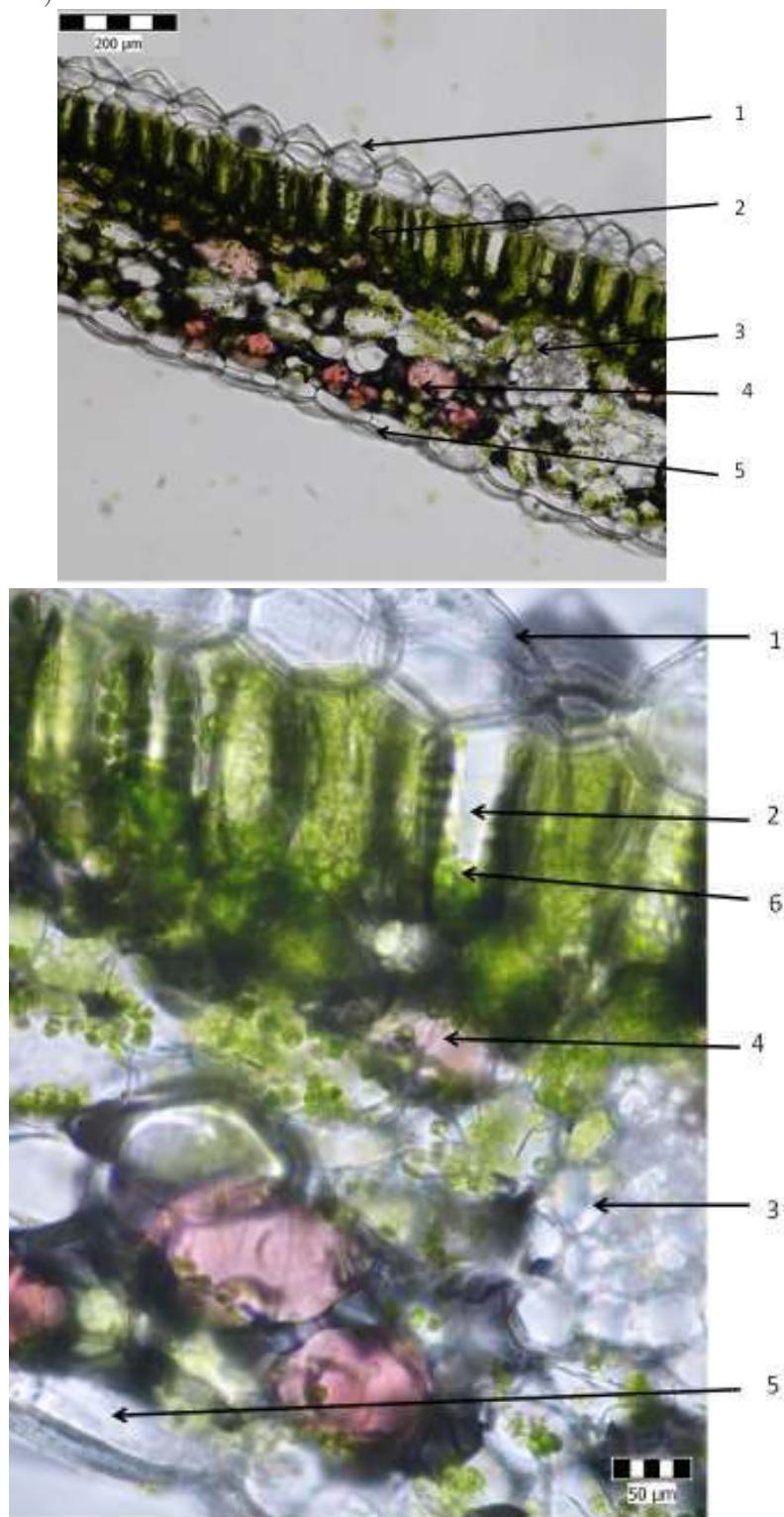
4.6.4 Tmavě zelené listy s bílou hlavní žilkou

Svrchní strana listu byla tvořena pokožkou s čočkovitými buňkami. Následovala svrchní vrstva mezofylu, který byl tvořen buňkami obsahující chloroplasty. Nejvíce chloroplastů obsahovala první svrchní vrstvu mezofylu, které byly uspořádány hlavně po stranách a ve spodní části buněk. Následovalo několik vrstev spodní vrstvy mezofylu. Některé buňky spodní vrstvy mezofylu obsahovaly viditelné anthokyany.

Tabulka 9: Průměr a směrodatná odchylka anatomických struktur orchideje *Ludisia discolor* (kultivar - tmavě zelené listy s bílou hlavní žilkou) (μm)

Anatomické struktury	Průměr	Směrodatná odchylka
tloušťka listu	605,89	26,59
šířka buněk pokožky horní	100,22	11,37
výška buněk pokožky horní	89,33	7,82
šířka buněk pokožky dolní	114,67	19,58
výška buněk pokožky dolní	56,89	9,04
šířka buněk svrchní vrstvy mezofylu	59,11	9,34
výška buněk svrchní vrstvy mezofylu	134,56	7,90
šířka buněk spodní vrstvy mezofylu	91,56	17,79
výška buněk spodní vrstvy mezofylu	51,00	14,82
šířka anthokyanových buněk	91,56	27,80
výška anthokyanových buněk	70,22	13,55
průměr chloroplastů	11,78	1,81

Obrázek 20: Příčný řez listem *Ludisia discolor* (kultivar - tmavě zelené listy s bílou hlavní žilkou)



1 - čočkovité buňky pokožky, 2 - mezofyllové buňky s chloroplasty, 3 - cévní svazek, 4 - mezofyllové buňky s anthokyany, 5 - spodní pokožka, 6 - chloroplast

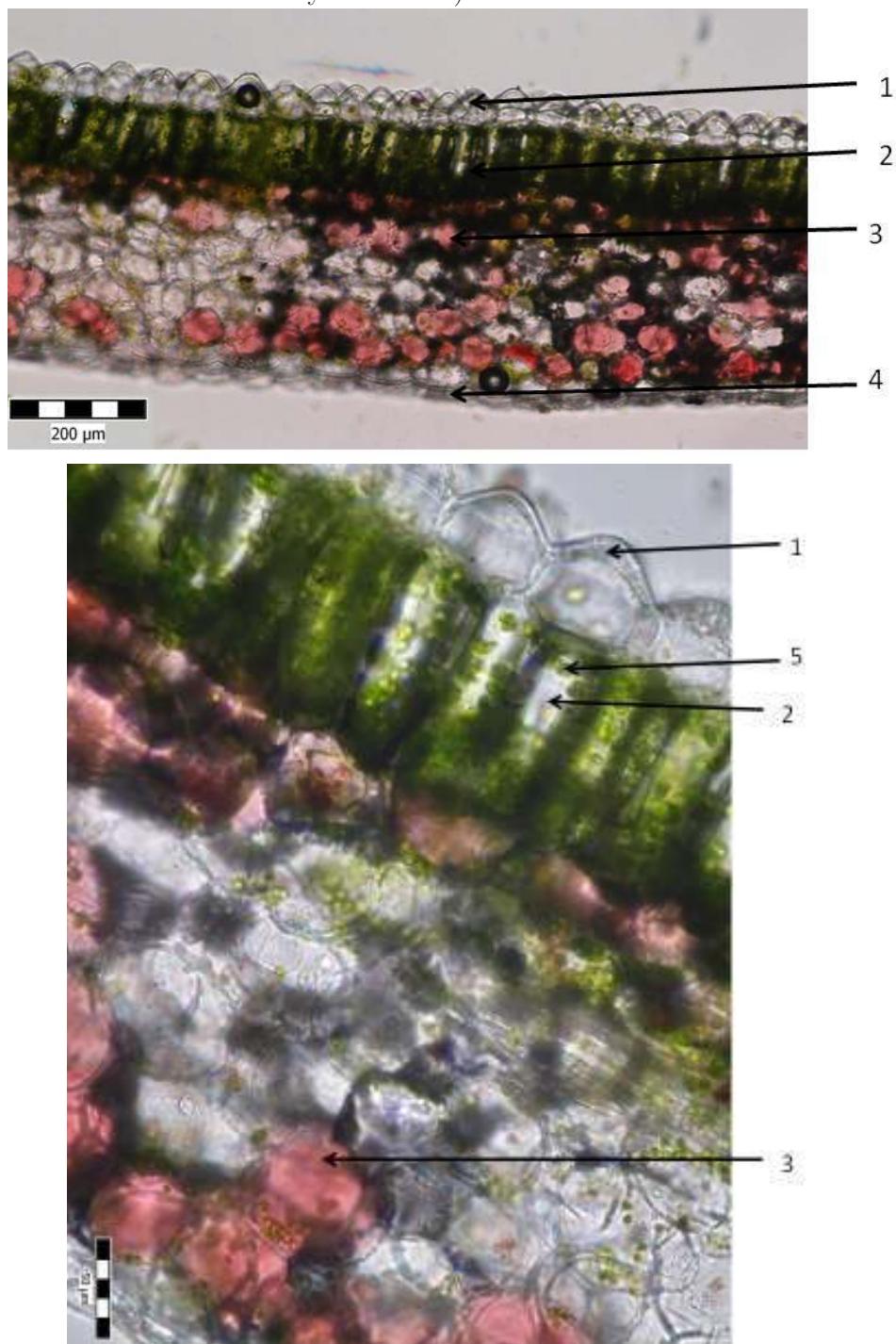
4.6.5 Tmavě zelené listy s hlavní bílou žilkou a dvěma souběžnými žilkami

Svrchní vrstvu listu tvořily čočkovité buňky pokožky. Následovala svrchní vrstva mezofylu s chloroplasty. Ty se převážně vyskytovaly po stranách a ve spodní části buněk. Svrchní vrstva mezofylu měla anatomické znaky palisádového parenchymu. Na protáhlé buňky svrchní vrstvy mezofylu nasedala 1 vrstva spodní vrstvy mezofylu s viditelnými anthokyany. Další vrstvy spodní vrstvy mezofylu obsahují buňky s viditelným anthokyanem jen roztroušeně.

Tabulka 10: Průměr a směrodatná odchylka anatomických struktur orchideje *Ludisia discolor* (kultivar - tmavě zelené listy s hlavní bílou žilkou a dvěma souběžnými žilkami) (μm)

Anatomické struktury	Průměr	Směrodatná odchylka
tloušťka listu	433,00	19,64
šířka buněk pokožky horní	62,67	8,91
výška buněk pokožky horní	53,78	4,89
šířka buněk pokožky dolní	64,56	6,06
výška buněk pokožky dolní	34,33	6,04
šířka buněk svrchní vrstvy mezofylu	34,44	7,48
výška buněk svrchní vrstvy mezofylu	85,89	11,09
šířka buněk spodní vrstvy mezofylu	63,67	4,71
výška buněk spodní vrstvy mezofylu	47,22	9,48
šířka anthokyanových buněk	53,44	5,62
výška anthokyanových buněk	47,67	5,16
průměr chloroplastů	8,44	2,01

Obrázek 21: Příčný řez listem *Ludisia discolor* (kultivar - tmavě zelené listy s hlavní bílou žilkou a dvěma souběžnými žilkami)

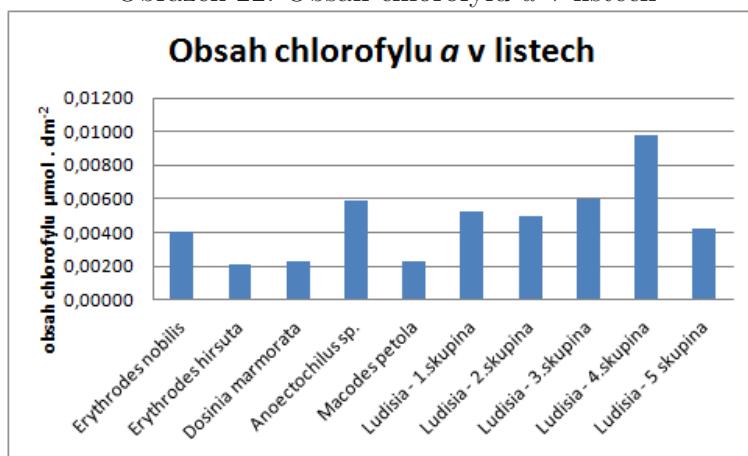


1 - čočkovité buňky pokožky, 2 - mezofylové buňky s chloroplasty, 3 - mezofylové buňky s anthokyany, 4 - spodní pokožka, 5 - chloroplast

4.7 Stanovení množství chlorofylu, anthokyanů a karotenu-idů

Nejvíce chlorofylu *a* obsahovaly orchideje *Anoectochilus sp.* a kultivary *Ludisia*. Naopak nejméně chlorofylu *a* obsahovaly orchideje *Erythrodes hirsuta* a *Macodes petola* a to téměř 1,5 krát oproti nejvyšším hodnotám.

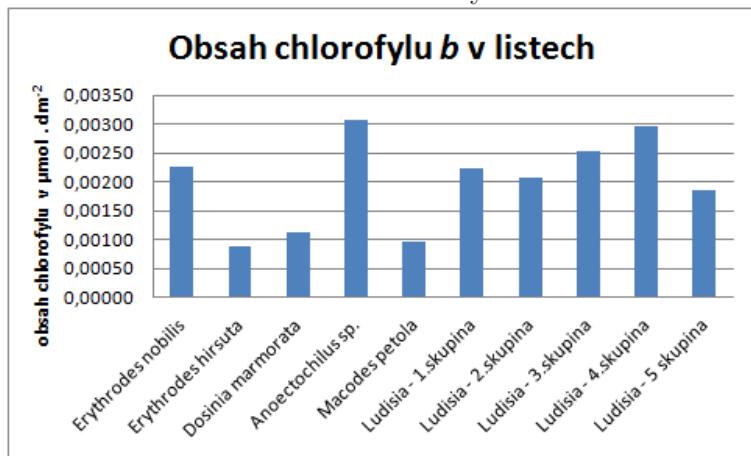
Obrázek 22: Obsah chlorofylu *a* v listech



Ludisia - 1.skupina - tmavě zelené listy bez žilkování, *Ludisia* - 2.skupina - tmavě zelené listy s bílou hlavní žilkou, *Ludisia* - 3.skupina - tmavě zelené listy s hlavní bílou žilkou a dvěma souběžnými žilkami, *Ludisia* - 4.skupina - zeleno - červené listy s červeným žilkováním, *Ludisia* - 5.skupina - světle zelené listy se zlatým žilkováním

Nejvíce chlorofylu *b* obsahovaly orchideje *Anoectochilus* a kultivary *Ludisia* podobně jako u chlorofylu *a*. Naopak nejméně chlorofylu *b* obsahovaly orchideje *Erythrodes hirsuta*, *Macodes petola* a *Dosinia marmorata*. Tyto orchideje měly téměř shodné množství chlorofylu *b*.

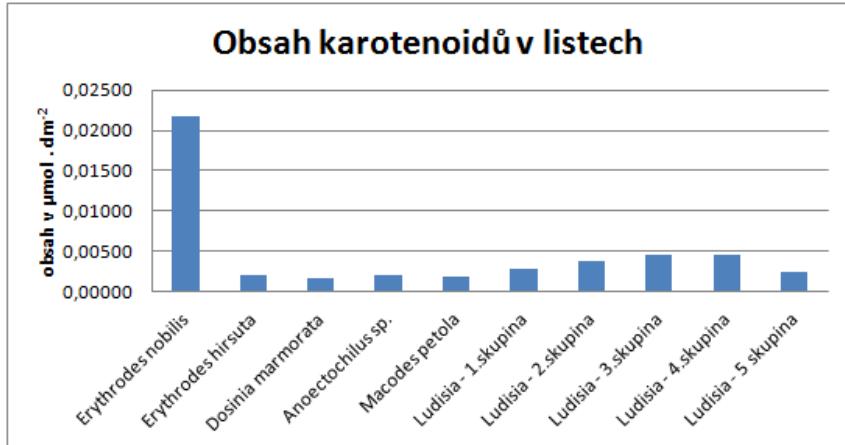
Obrázek 23: Obsah chlorofylu *b* v listech



Ludisia - 1.skupina - tmavě zelené listy bez žilkování, *Ludisia* - 2.skupina - tmavě zelené listy s bílou hlavní žilkou, *Ludisia* - 3.skupina - tmavě zelené listy s hlavní bílou žilkou a dvěma souběžnými žilkami, *Ludisia* - 4.skupina - zeleno - červené listy s červeným žilkováním, *Ludisia* - 5.skupina - světle zelené listy se zlatým žilkováním

Nejvíce karotenoidů obsahovala orchidej *Erythrodes nobilis* a to několikanásobné množství oproti ostatním pozorovaným druhům. Naopak ostatní pozorované druhy obsahovaly karotenoidy jen ve velmi malém množství.

Obrázek 24: Obsah karotenoidů v listech



Ludisia - 1.skupina - tmavě zelené listy bez žilkování, *Ludisia* - 2.skupina - tmavě zelené listy s bílou hlavní žilkou, *Ludisia* - 3.skupina - tmavě zelené listy s hlavní bílou žilkou a dvěma souběžnými žilkami, *Ludisia* - 4.skupina - zeleno - červené listy s červeným žilkováním, *Ludisia* - 5.skupina - světle zelené listy se zlatým žilkováním

Největší množství anthokyanů obsahovaly orchideje *Anoectochilus sp.* a kultivary *Ludisia*. Výjimkou byl kultivar se světle zelenými listy se zlatým žilkováním, který

naopak obsahoval anthokyanů nejméně ze všech sledovaných taxonů. Velmi málo anthokyanů obsahovala také orchidej *Dosinia marmorata*.

Obrázek 25: Obsah anthokyanů v listech



Ludisia - 1.skupina - tmavě zelené listy bez žilkování, *Ludisia* - 2.skupina -tmavě zelené listy s bílou hlavní žilkou, *Ludisia* - 3.skupina -tmavě zelené listy s hlavní bílou žilkou a dvěma souběžnými žilkami, *Ludisia* - 4.skupina - zeleno - červené listy s červeným žilkováním, *Ludisia* - 5.skupina - světle zelené listy se zlatým žilkováním

5 DISKUSE

5.1 Anatomické vlastnosti listů

U všech pozorovaných druhů byla jednovrstevná pokožka tvořena buňkami čočkovitého tvaru. Na pokožku nasedala svrchní vrstva mezofylu s chloroplasty. Tato vrstva měla často anatomické znaky palisádového parenchymu (např. u druhů *Erythrodes nobilis*, *Macodes petola*, *Dosinia marmorata* a u všech sledovaných kultivarů *Ludisia discolor*).

U druhů *Erythrodes nobilis*, *Macodes petola*, *Dosinia marmorata*, *Anoectochilus sp.* a většiny kultivarů *Ludisia discolor* nasedala na svrchní vrstvu mezofylu spodní vrstva mezofylu s roztroušenými buňkami obsahující viditelné anthokyany. U druhů *Anoectochilus sp.*, *Dosinia marmorata* a některých kultivarů *Ludisia discolor* (zeleno - červené listy s červeným žilkováním a tmavě zelené listy s hlavní bílou žilkou a dvěma souběžnými žilkami) se v první spodní vrstvě vyskytovala jedna souvislá vrstva buněk s viditelnými anthokyany. U druhů *Erythrodes hirsuta* a kultivaru *Ludisia discolor* se světle zelenými listy se zlatým žilkováním se viditelné anthokyany nevyskytovaly vůbec.

Všechny kultivary *Ludisia discolor* měly jednovrstenou pokožku tvořenou čočkovitými buňkami. Poté následovala svrchní vrstva mezofylu. U všech kultivarů (kromě kultivaru se světle zelenými listy se zlatým žilkováním) měla tato vrstva anatomické znaky palisádového parenchymu. Na svrchní vrstvu mezofylu u kultivarů zeleno - červené listy s červeným žilkováním a tmavě zelené listy s hlavní bílou žilkou a dvěma souběžnými žilkami nasedala spodní vrstva mezofylu, kde první řada buněk obsahovala viditelné anthokyany. Další řady obsahovaly viditelné anthokyany jen roztroušeně. Kultivar světle zelené listy se zlatým žilkováním neobsahoval viditelné anthokyany.

Rajchard et Balounová (2001) uvádějí, že stavba parenchymu u orchideje *Macodes petola* je adaptována na extrémní světelné podmínky díky konkávnímu tvaru buněk pokožky, které umožňují rostlině lépe využít dopadající záření. Kempská (2010) uvádí stejný tvar pokožkových buňek u orchideje *Erythrodes nobilis*. U všech pokusných rostlin se tento tvar pokožkových buněk vyskytoval. I celková stavba listů byla velmi podobná.

5.2 Obsah listových pigmentů

5.2.1 Principy stanovení listových pigmentů

Fotoautotrofní organismy získávají svou energii fixací energie záření v procesech fotosyntézy. Chloroplast je nejmenší funkční jednotkou, která je schopna i po izolaci absorbovat záření. V průměrný list obsahuje asi $5 \cdot 10^9$ chloroplastů a v každém z nich je asi 600 milionů molekul chlorofylu (Procházka a kol. 1998).

Poměr chlorofylu *a* a chlorofylu *b* v organismech je obvykle kolem 3:1. Chlorofyl *a* absorbuje modré a červené spektrum, což jsou charakteristické barvy pro zelený chlorofyl. Modré spektrum světla má absorpční maximum kolem 430 nm pro chlorofyl *a*. Chlorofyl *a* má hlavní pásmo v červeném spektru, kdy maximální koeficient absorpce λ_{\max} je 662 nm, pokud je pigment rozpuštěný v éteru. Chlorofyl *a* má také minimální absorpční pásmo. Například v éteru rozpuštěný chlorofyl *a* má absorpční minimum v 615 nm (Nobel 2004).

Karotenoidy slouží jako doplňkový pigment pro fotosyntetickou absorpci hlavně v modré části spektra (425 - 490 nm) a v zelené části spektra (490 - 560 nm). Maximální koeficient absorpce λ_{\max} pro karotenoidy záleží na rozpouštědlu a na počtu dvojných vazeb v konjugovaném systému. Pro příklad lze uvést *n*-hexan, kde se v hlavním řetězci vyskytují 3 dvojné vazby, a proto absorpční spektrum odpovídá 286 nm. Absorpční maximum dosahuje 347 nm pro pět dvojných vazeb, 400 nm pro sedm dvojných vazeb, 440 nm pro 9 dvojných vazeb, 472 nm pro 11 dvojných vazeb, a 500 nm pro 13 dvojných vazeb. To tedy znamená, čím větší stupeň konjugace, tím větší vlnová délka maximálního koeficientu absorpce λ_{\max} (Nobel 2004).

Z výše uvedených vlastností fotosyntetických pigmentů vyplývá, že při volbě metodiky stanovení fotosyntetických pigmentů záleží na volbě extrakčního postupu, protože v různých rozpouštědlech se liší absorpční minima a maxima pigmentů.

Z důvodů obsahu většího množství anthokyanů byl zvolen výpočet pomocí rovnice Simse a Gamona (2002), které zohledňují jejich obsah v listech. Zjištěný obsah anthokyanů lze považovat pouze za orientační, jelikož do vzorců nebyla vložena rovnice upravující anthokyanovou absorbanci.

5.2.2 Srovnání druhů a kultivarů

U obsahu chlorofylu *a* byl zjištěn nepatrný rozdíl mezi jednotlivými druhy a kultivary Ludisie. Samotné kultivary Ludisie obsahovaly více chlorofylu *a*. Největší množství chlorofylu *a* obsahoval druh *Anoectochilus sp.* a poté kultivar *Ludisia discolor* se zeleno - červenými listy s červeným žilkováním.

U obsahu chlorofylu *b* byl zjištěn jen nepatrný rozdíl mezi jednotlivými druhy a kultivary *Ludisiae*, podobně jako u chlorofylu *a*. Největší množství chlorofylu *b* obsahoval druh *Anoectochilus sp.* a poté kultivar *Ludisia discolor* se zeleno - červenými listy s červeným žilkováním, podobně jako tomu bylo u chlorofylu *a*.

Množství karotenoidů bylo všeobecně velmi malé, a to jak u jednotlivých druhů, tak kultivarů *Ludisiae*. Jen druh *Erythrodes nobilis* obsahoval mnohonásobně větší množství karotenoidů než ostatní sledované rostliny.

Větší množství anthokyanů obsahovaly kultivary *Ludisiae*, až na výjimku kultivaru se světle zelenými listy se zlatým žilkováním. Velké množství anthokyanů obsahoval také druh *Anoectochilus sp..*

Obecně tedy lze říci, že kultivary *Ludisiae* obsahují větší množství pigmentových barviv společně s druhem *Anoectochilus sp..*

5.2.3 Porovnání s výsledky studií jiných autorů

Poměr chlorofylu *a* a chlorofylu *b* závisí na stádiu ontogenetického vývoje. Je vysoký na počátku synthézy chlorofylů v mladých chloroplastech. Následný rapidní pokles je následován malým vzrůstem a poté poklesem. Ontogenetické změny v množství chlorofylů a poměru chlorofylů *a* a *b* jsou často ovlivňovány jinými faktory (např. fotoperiodou, vlnovou délkou záření) proto všechny důvody změn v množství chlorofylu během ontogeneze listu musí být založeny na analýze růstu rostlin v optimálním prostředí (Šesták a kol. 1985).

Kempská (2010) uvedla u orchideje *Erythrodes nobilis*, že nejvíce chlorofylu *a* obsahovaly dospělé listy pěstované po určité období v temnotě a nejméně naopak zatemněné mladé listy. Nejvíce chlorofylu *b* obsahovaly rovněž zatemněné dospělé listy a nejméně zatemněné mladé listy.

5.3 Adaptační význam zjištěných vlastností listu

5.3.1 Světelné prostředí bylinného patra tropických pralesů

Na půdu v tomto lese proniká jen 1% z plné intenzity slunečního záření, které dopadá na povrch korun hlavního stromového patra. Hranice pro život cévnatých rostlin leží obvykle v tomto rozmezí. Podrost tvoří řídké keřové patro doplněné o stínomilné stromy nižšího vzrůstu, o mladé stromy druhů z vyšších pater a bylinky, které jsou stínomilné (Sychrová 2009).

Do porostu dopadá záření přímé a difuzní. Difúzní záření (rozptýlené) může být rostlinami využito v celém rozsahu, naopak přímé a příliš intenzivní záření jim může

i škodit (Slavíková 1986).

Vzhledem k tomu, že část záření se odrazí od povrchů listů, proniká zbytek záření dále do porostu pralesů již ve snížené hustotě a je změněno i kvalitativně. Rostliny z nižších pater pralesa se proto musely na toto prostředí adaptovat.

5.3.2 List jako optický systém

Část záření dopadající na povrch listu rostliny se odrazí, část je pohlcena (absorbována) a část prochází (Larcher 1988). Jen absorbované světlo je schopné vytvářet chemické změny. Toto platí, pokud energie záření je přeměněna na jinou formu (Nobel 2004). V bylinném patře tropických lesů, kde je k dispozici jen malé množství záření, lze očekávat adaptace, které budou maximalizovat absorpci.

Rajchard et Balounová (2001) uvádějí, že stavba parenchymu u orchideje *Macodes petola* je adaptovaná na extrémní světelné podmínky díky konkávnímu tvaru pokožkových buněk, které umožňují rostlině co nejlépe využít záření. Je tedy pravděpodobné, že tyto čočkovité buňky soustředují záření doprostřed buněk svrchní vrstvy mezofylu, kde je největší hustota chloroplastů. A zároveň v případě difúzního záření, které je v přirozených stanovištích těchto orchidejí typické, se může jednat o snahu rostlin zvětšit svou absorpční plochu a absorbovat tak větší množství záření.

5.3.3 Genetické, modifikační a modulační adaptace

Z hlediska adaptací rozlišujeme 3 druhy adaptací vyvolané změnou podmínek prostředí (modulační a modifikační) a adaptace genetické (evoluční) (Larcher 1988). Modulační adaptace probíhají rychle a pouze dočasně. Příkladem mohou být pohyby listů vzhledem k dopadajícímu záření. Modifikační adaptace jsou adaptace k průměrným radiačním podmínkám. Například stínomilné rostliny vytvářejí velké listové plochy a větší množství chlorofylu a přídavných pigmentů.

Evoluční adaptace mají svůj základ v genotypických změnách. Určují rozdíly, které se objevují v distribuci různých druhů. Příkladem adaptace k životu v podrostu tropických deštných pralesů je i anatomická adaptace listů stínomilných terestrických tropických orchidejí.

Rostliny se přizpůsobují ke spektrálnímu složení záření a jsou schopné měnit složení chloroplastových pigmentů podle spektrálního složení světla. Záření, v němž převládá červená složka (800 nm), zvyšuje obsah chlorofylu *a*. Pokud převládá zelená (500 nm) a modrá složka, zvyšuje se množství chlorofylu *b* a karotenoidů (Larcher 1988).

6 ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo zdokumentování anatomické stavby listů terestrických stínomilných orchidejí *Macodes petola*, *Erythrodes nobilis* a *Ludisia discolor*. Následně byly pro porovnání přidány druhy *Dosinia marmorata*, *Anoectochilus sp.*, *Erythrodes hirsuta* a pět kultivarů *Ludisia discolor*.

Bыло зjištěno, že studované druhy mají podobnou stavbu listů. Typickým rysem jsou čočkovité buňky pokožky, svrchní buňky mezofylu s velkým obsahem chlorofylů a naopak velmi malým obsahem karotenoidů (kromě druhu *Erythrodes nobilis*). Listy většiny druhů (s výjimkou druhu *Erythrodes hirsuta* a kultivaru *Ludisia discolor* se světle zelenými listy se zlatým žilkováním) neobsahovaly v buňkách spodního mezofylu viditelné anthokyany.

7 LITERATURA

- Štěpánková (2011): Květena ČR 8, Praha, Academia
- Seidenfaden G. et Wood J. (1992): The orchids of peninsular Malaysia and Singapore, Fredensborg, Olsen&Olsen
- Larcher W. (1988): Fyziologická ekologie rostlin, Praha, Academia
- Dušek J. et Kříštek (1986): Orchideje, Praha, Academia
- Procházka S. et kol. (1998): Fyziologie rostlin, Praha, Academia
- Nobel P.S. (2004): Physicochemical and environmental plant physiology (third edition), Los Angeles, Elsevier Academic Press
- Šesták a kol. (1985): Photosynthesis during leaf development, Praha, Academia
- Slavíková J (1986): Ekologie rostlin, Praha, SPN
- Pridgeon A.M. (2003): Genera orchidacearum Vol.3, part 2. Orchidoideae, Vanilloideae, Oxford, Oxford University Press
- Husák Š. et Haager J. (1977): Žijeme s květinou, Praha, Academia
- Rajchard, J., Balounová, Z.: Macodes petola (Bl.) Lindl., ekologie a kultivace. Interorchid 2001, sborník referátů z mezinárodní konference, Brno 16. 3. - 17. 3. 2001, s. 89 – 94.
- Kempská V. (2010): Anatomická adaptace orchideje *Erythrodes nobilis* na zastínění (Bakalářská práce). České Budějovice, Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta. Vedoucí práce Doc. RNDr. Hana Čížková CSc.
- Sychrová J. (2009): Adaptace orchideje *Macodes petola* na zastínění (Bakalářská práce). České Budějovice, Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta. Vedoucí práce Doc. RNDr. Hana Čížková CSc.
- Pazourek J. (1961): Pracujeme s mikroskopem, Praha, SNTL
- Rasmussen H.N. (1995): Terrestrial orchids from seed to mycotrophic plant, Cambridge, Cambridge University Press
- Internetové zdroje:**
- Rovnice z Sims et Gamon (2002): http://employess.csbu.edu/SSAUPE/biol327/Lab/photosyn/chlorophyll_quant.htm
- Sekundární citace:**
- Van Waes (1984) In: Rasmussen H. (1995) Uvádí mortalitu semenáčků přes 85% u orchideje *Orchis morio* pokud jsou vystaveny ozáření přímým světlem, v průběhu 24 týdnů po vyklíčení, ačkoliv již mají vyvinuté výhony, které jsou již 20 mm dlouhé.” Heinricha a kol. (1981) In: Rasmussen H. (1995) Semenáčky rostoucí ve tmě se abnormálně neprodlužují.

Stoutamire (1974) In: Rasmussen H. (1995) Vypozoroval pozitivní geotropismus v mykorrhizomech několika druhů australských terestrických orchidejí, které mohou očekávat vzhledem k tomu, že kultury byly osvětlované.

Montfort 1940 In: Rasmussen H. (1995) *Neottia nidus-avis* je extrémně adaptována heterotroficky: chloroplasty a chlorofyly jsou vyvinuty, ale není zde žádný chlorofyl *b* a fotosyntetická aktivita nebyla zjištěna.

Ichihashi (1990) In: Rasmussen H. (1995) Sledoval částečně prodlužování internodií u druhu *Bletilla striata*, rostoucí ve tmě, ale výška rostlin byla zhruba stejná při ozáření i ve tmě.

8 DATOVÉ PŘÍLOHY

Tabulka 11: Příloha č. 1 - Rozměry anatomických struktur listu orchideje *Erythrodess nobilis* (μm)

	Měření č.										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	přůměr	směrodatná odchylka
tloušťka listu	415	382	382	359	360	382	343	317	358	366,44	26,34
šířka buněk pokožky horní	78	69	77	73	69	61	78	78	77	73,33	5,60
výška buněk pokožky horní	89	81	75	61	58	76	90	89	79	77,56	11,04
šířka buněk pokožky dolní	54	75	57	61	53	65	81	54	60	62,22	9,29
výška buněk pokožky dolní	39	33	44	41	35	41	57	40	40	41,11	6,42
šířka buněk svrchní vrstvy mezofylu	69	67	61	65	71	68	73	86	64	69,33	6,82
výška buněk svrchní vrstvy mezofylu	91	90	93	90	78	91	102	94	90	91,00	5,83
šířka buněk spodní vrstvy mezofylu	97	63	71	68	70	75	72	80	70	74,00	9,24
výška buněk spodní vrstvy mezofylu	49	79	59	45	49	59	79	45	45	56,56	13,06
šířka anthokyanových buněk	90	75	64	98	75	80	75	64	76	77,44	10,37
výška anthokyanových buněk	68	53	61	72	58	55	53	60	65	60,56	6,31
přůměr chloroplastů	16	15	15	9	12	12	12	16	14	13,44	2,22

Tabulka 12: Příloha č. 2 - Rozměry anatomických struktur listu orchideje *Erythrodess hirsuta* (μm)

	Měření č.								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
tloušťka listu	371	413	408	406	408	420	410	389	392
šířka buněk pokožky horní	82	74	71	69	102	105	95	94	88,56
výška buněk pokožky horní	42	44	73	68	61	66	87	94	69,00
šířka buněk pokožky dolní	76	75	61	116	96	105	94	84	96
výška buněk pokožky dolní	28	31	23	27	46	45	26	52	42
šířka buněk svrchní vrstvy mezofylu	72	65	58	51	103	71	64	81	64
výška buněk svrchní vrstvy mezofylu	74	73	72	77	82	77	74	80	87
šířka buněk spodní vrstvy mezofylu	80	95	70	72	78	72	65	74	64
výška buněk spodní vrstvy mezofylu	56	68	59	51	58	48	52	45	43
šířka anthokyanových buněk	n	n	n	n	n	n	n	n	n
výška anthokyanových buněk	n	n	n	n	n	n	n	n	n
průměr chloroplastů	12	8	12	11	9	10	10	11	9
									10,22
									1,31

Tabuľka 13: Příloha č. 3 - Rozměry anatomických struktur listu orchideje *Macodes petola* (μm)

	Měření č.								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
tloušťka listu	465	441	490	404	524	417	453	437	490
šířka buněk pokožky horní	117	117	113	118	151	127	158	155	118
výška buněk pokožky horní	97	93	74	84	77	74	106	114	107
šířka buněk pokožky dolní	110	93	69	126	78	81	63	84	85
výška buněk pokožky dolní	59	61	63	84	78	72	78	65	83
šířka buněk svrchní vrstvy mezofylu	101	96	78	94	78	80	87	90	75
výška buněk svrchní vrstvy mezofylu	98	88	92	82	139	100	131	91	106
šířka buněk spodní vrstvy mezofylu	137	100	111	134	139	110	103	91	105
výška buněk spodní vrstvy mezofylu	72	73	70	71	73	74	70	60	53
šířka anthokyanových buněk	143	139	139	135	128	133	150	84	107
výška anthokyanových buněk	59	75	74	92	68	79	78	79	76
průměr chloroplastů	10	11	14	14	15	10	12	11	10
								11,89	1,85

Tabulka 14: Příloha č. 4 - Rozměry anatomických struktur listu orchideje *Dosinia marmorata* (μm)

	Měření č.										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	přůměr	směrodatná odchylka
tloušťka listu	688	681	690	639	688	703	701	698	692	686,67	18,10
šířka buněk pokožky horní	115	94	114	117	106	81	104	128	93	105,78	13,71
výška buněk pokožky horní	162	138	122	147	151	131	161	107	116	137,22	18,56
šířka buněk pokožky dolní	107	105	156	88	112	120	92	110	63	105,89	23,85
výška buněk pokožky dolní	109	86	82	102	72	90	89	82	77	87,67	11,03
šířka buněk svrchní vrstvy mezofylu	69	49	52	53	45	44	47	54	33	49,56	9,12
výška buněk svrchní vrstvy mezofylu	138	143	135	129	139	141	132	80	120	128,56	18,40
šířka buněk spodní vrstvy mezofylu	165	162	138	137	109	120	128	120	154	137,00	18,68
výška buněk spodní vrstvy mezofylu	57	65	75	98	65	60	65	65	75	69,44	11,55
šířka anthokyanových buněk	90	80	53	85	94	106	73	104	105	87,78	16,44
výška anthokyanových buněk	45	42	34	52	62	55	57	44	48	48,78	8,12
přůměr chloroplastů	12	13	13	15	14	12	12	12	12	12,78	1,03

Tabulka 15: Příloha č. 5 - Rozměry anatomických struktur listu orchideje *Anoectochilus sp.* (μm)

	Měření č.								
tloušťka listu	1	2	3	4	5	6	7	8	průměr
šířka buněk pokožky horní	408	357	341	323	345	409	406	350	333
výška buněk pokožky horní	58	59	44	49	53	53	61	74	56,22
šířka buněk pokožky dolní	58	61	58	53	49	51	71	56	57,44
výška buněk pokožky dolní	63	59	54	46	61	62	59	73	85
šířka buněk svrchní vrstvy mezofylu	46	45	29	48	36	54	72	56	82
výška buněk svrchní vrstvy mezofylu	46	52	52	49	52	61	42	44	53
šířka buněk spodní vrstvy mezofylu	54	58	52	53	53	44	60	55	57
výška buněk spodní vrstvy mezofylu	60	75	72	60	64	70	55	71	52
šířka buněk spodní vrstvy mezofylu	46	45	41	39	39	41	45	35	32
šířka anthokyanových buněk	54	50	48	46	47	46	65	53	58
výška anthokyanových buněk	45	43	45	38	42	40	42	41	45
průměr chloroplastů	17	17	14	16	16	14	12	14	12
									14,67
									1,83

Tabulka 16: Příloha č. 6 - Rozměry anatomických struktur listu orchideje *Ludisia discolor* (kultivar - světle zelené listy se zlatým žilkováním) (µm)

	Měření č.									průměr	směrodatná odchylka
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	průměr	směrodatná odchylka
tloušťka listu	425	463	381	387	378	472	380	349	538	419,22	57,26
šířka buněk pokožky horní	70	74	68	57	58	55	59	73	-	64,25	7,28
výška buněk pokožky horní	72	70	73	69	79	70	77	65	64	71,00	4,67
šířka buněk pokožky dolní	60	66	45	90	54	55	58	52	63	60,33	12,01
výška buněk pokožky dolní	27	25	22	31	33	34	35	30	37	30,44	4,67
šířka buněk svrchní vrstvy mezofylu	40	29	26	44	44	29	28	32	35	34,11	6,59
výška buněk svrchní vrstvy mezofylu	100	99	107	93	98	93	94	82	89	95,00	6,73
šířka buněk spodní vrstvy mezofylu	65	103	78	65	40	69	75	66	56	68,56	16,06
výška buněk spodní vrstvy mezofylu	41	44	41	34	56	35	39	28	37	39,44	7,35
šířka anthokyanových buněk	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
výška anthokyanových buněk	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n
průměr chloroplastů	7	8	10	8	5	7	5	7	7	7,11	1,45

Tabulka 17: Příloha č. 7 - Rozměry anatomických struktur listu orchideje *Ludisia discolor* (kultivar - tmavě zelené listy bez žilkování) (μm)

	Měření č.									průměr	směrodatná odchylka
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	průměr	směrodatná odchylka
tloušťka listu	487	504	476	483	495	504	485	479	494	489,67	9,61
šířka buněk pokožky horní	104	108	99	79	76	72	65	71	75	83,22	15,05
výška buněk pokožky horní	73	82	71	68	80	64	71	75	71	72,78	5,29
šířka buněk pokožky dolní	64	95	81	65	100	84	66	70	100	80,56	14,21
výška buněk pokožky dolní	57	36	43	34	36	31	44	39	39	39,89	7,19
šířka buněk svrchní vrstvy mezofylu	56	57	45	52	39	49	56	56	42	50,22	6,43
výška buněk svrchní vrstvy mezofylu	101	88	104	92	99	101	105	106	116	101,33	7,66
šířka buněk spodní vrstvy mezofylu	59	141	181	100	105	110	96	81	94	107,44	33,27
výška buněk spodní vrstvy mezofylu	61	79	80	80	69	67	64	62	58	68,89	8,20
šířka anthokyanových buněk	94	91	78	86	74	141	126	101	124	101,67	22,07
výška anthokyanových buněk	58	55	61	60	64	83	70	77	70	66,44	8,76
průměr chloroplastů	8	8	8	9	8	10	12	9	12	9,33	1,56

Tabulka 18: Příloha č. 8 - Rozměry anatomických struktur listu orchideje *Luavisia discolor* (kultivar - zeleno-červené listy s červeným žilkováním) (μm)

	Měření č.										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	průměr	směrodatná odchylka
tloušťka listu	448	430	469	500	477	563	438	552	489	485,11	0,83
šířka buněk pokožky horní	61	92	80	71	75	71	75	68	64	73,00	8,67
výška buněk pokožky horní	74	85	84	75	89	69	85	91	84	81,78	6,97
šířka buněk pokožky dolní	60	50	92	56	76	70	65	75	66	67,78	11,73
výška buněk pokožky dolní	49	27	33	43	36	32	38	38	42	37,56	6,20
šířka buněk svrchní vrstvy mezofylu	42	29	40	36	35	37	39	44	31	37,00	4,62
výška buněk svrchní vrstvy mezofylu	98	118	108	108	102	113	104	117	108	108,44	6,29
šířka buněk spodní vrstvy mezofylu	65	77	81	66	71	87	66	77	62	72,44	8,00
výška buněk spodní vrstvy mezofylu	53	36	39	31	32	36	35	32	36	36,67	6,25
šířka anthokyanových buněk	74	67	53	77	69	50	42	52	55	59,89	11,44
výška anthokyanových buněk	55	30	39	54	34	51	37	39	49	43,11	44,39
průměr chloroplastů	8	9	8	9	8	9	9	7	10	8,56	8,71

Tabulka 19. Rozměry anatomických struktur listu orchideje *Ludisia discolor* (kultivar - trnavě zelené listy s bílou hlavní žilkou)
(μm)

	Měření č.										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	průměr	směrodatná odchylka
tloušťka listu	556	590	584	594	639	646	613	610	621	605,89	26,59
šířka buněk pokožky horní	106	88	97	99	97	78	109	116	112	100,22	11,37
výška buněk pokožky horní	90	89	79	79	107	94	89	88	89	89,33	7,82
šířka buněk pokožky dolní	104	78	116	112	140	92	125	139	126	114,67	19,58
výška buněk pokožky dolní	74	47	50	51	47	52	63	63	65	56,89	9,04
šířka buněk svrchní vrstvy mezofylu	71	62	62	54	73	42	49	57	59,11	9,34	
výška buněk svrchní vrstvy mezofylu	135	149	139	142	125	127	124	132	138	134,56	7,90
šířka buněk spodní vrstvy mezofylu	94	77	91	62	83	106	85	97	129	91,56	17,79
výška buněk spodní vrstvy mezofylu	88	55	40	34	56	51	40	45	50	51,00	14,82
šířka anthokyanových buněk	124	128	86	51	51	71	94	119	100	91,56	27,80
výška anthokyanových buněk	62	75	78	63	52	49	80	82	91	70,22	13,55
průměr chloroplastů	14	11	11	15	13	11	9	12	10	11,78	1,81

Tabulka 20: Rozměry anatomických struktur listu orchideje *Ludisia discolor* (kultivar - tmavě zelené listy s hlavní bílou žilkou a dvěma souběžnými žilkami) (pm)

	Měření č.										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	průměr	směrodatná odchylka
tloušťka listu	447	421	405	440	412	457	465	417	433	433,00	19,64
šířka buněk pokožky horní	56	65	72	53	66	79	49	65	59	62,67	8,91
výška buněk pokožky horní	59	59	49	49	62	53	47	53	53	53,78	4,89
šířka buněk pokožky dolní	75	62	59	56	63	59	69	66	72	64,56	6,06
výška buněk pokožky dolní	41	30	40	22	29	37	34	35	41	34,33	6,04
šířka buněk svrchní vrstvy mezofylu	27	36	29	27	32	51	32	33	43	34,44	7,48
výška buněk svrchní vrstvy mezofylu	94	74	88	101	96	92	67	88	73	85,89	11,09
šířka buněk spodní vrstvy mezofylu	66	56	60	65	64	74	60	64	64	63,67	4,71
výška buněk spodní vrstvy mezofylu	55	45	67	46	37	34	53	41	47	47,22	9,48
šířka anthokyanových buněk	58	58	57	50	62	54	43	51	48	53,44	5,62
výška anthokyanových buněk	43	52	51	51	56	46	40	41	49	47,67	5,16
průměr chloroplastů	8	11	6	6	12	8	7	10	8	8,44	2,01