

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta lesnická a dřevařská

Katedra ekologie lesa



Česká
zemědělská
univerzita
v Praze

**Výskyt a reprodukční biologie kriticky ohrožené orchideje
švihlíku krutiklasu (*Spiranthes spiralis*) v České republice**

Bakalářská práce

Autor: Anastázie Panská

Vedoucí práce: Mgr. Petr Karlík, Dr. rer. nat.

2020

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta lesnická a dřevařská

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Anastázie Panská

Lesnictví
Lesnictví

Název práce

Výskyt a reprodukční biologie kriticky ohrožené orchideje švihlíku krutiklasu (*Spiranthes spiralis*) v České republice

Název anglicky

Distribution and biology of critically endangered orchid *Spiranthes spiralis* in the Czech Republic

Cíle práce

Práce se bude zabývat kriticky ohroženým druhem výslunných strání, švihlíkem krutiklasem (*Spiranthes spiralis*), v České republice. Cílem je provést rešerši a spolupodílet se na opatřeních využitelných pro podporu jeho výskytu.

Metodika

Rešeršní část se bude zabývat výskytem orchidejí v ČR a specifiky jejich reprodukce. Pozornost bude věnována především problematice klíčení a přežívání semenáčků. Dále budou charakterizovány všechny recentní lokality studovaného druhu v ČR.

V praktické části se bude studentka (spolu)podílet na monitoringu tohoto druhu a na založení experimentu sledujícího klíčivost a to jak v podmínkách in situ, tak in vitro.

Doporučený rozsah práce

Minimálně 40 normostran textu bez příloh.

Klíčová slova

Spiranthes spiralis, orchideje, cévnaté rostliny, červený seznam, klíčení

Doporučené zdroje informací

- Brabec J., Křenová Z., Nesvadbová J. (2004): Švihlík krutiklas – pozoruhodný druh naší přírody. – Živa (5): 209–211.
- Dykyjová D. (2003): Ekologie středoevropských orchidejí. – Kopp, České Budějovice.
- Ipser Z (2012): Vliv biotických a abiotických faktorů na populační dynamiku kriticky ohroženého druhu *Spiranthes spiralis*. – Ms., Dipl. Práce, depon in Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta.
- Jacquemyn H., Brys R., Honnay O. (2009): Large population sizes mitigate negative effects of variable weather condition on fruit set in two spring woodland orchids. – *Biology Letters* 5: 495–498.
- Jacquemyn H., Brys R., Jongejans E. (2010): Size-dependent flowering and costs of reproduction affect population dynamics in a tuberous perennial woodland orchid. – *Journal of Ecology* 98: 1204–1215.
- Jersáková J. & Kindlmann P. (2004): Zásady péče o orchidejová stanoviště. – Kopp, České Budějovice.
- Kindlmann P. & Jersáková J. (2005): Effect of floral display on reproductive success in terrestrial orchids. – *Folia Geobotanica* 41: 47–60.
- Nesvadbová J. & PIVOŇKOVÁ L (1996): Monitoring populace *Spiranthes spiralis* (L.) Chevall. na trvalých plochách v národní přírodní památce Pastviště u Fínů. *Příroda* 6: 95–104.
- Procházka F. & Velíšek V. (1983): Orchideje naší přírody. – Academia, Praha.
-

Předběžný termín obhajoby

2019/20 LS – FLD

Vedoucí práce

Mgr. Petr Karlík, Dr. rer. nat.

Garantující pracoviště

Katedra ekologie lesa

Konzultant

Mgr. Radka Broumová

Elektronicky schváleno dne 4. 9. 2019

prof. Ing. Miroslav Svoboda, Ph.D.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 22. 2. 2020

prof. Ing. Róbert Marušák, Ph.D.

Děkan

V Praze dne 04. 06. 2020

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma Výskyt a reprodukční biologie kriticky ohrožené orchideje švihlíku krutiklasu (*Spiranthes spiralis*) v České republice vypracovala samostatně pod vedením Mgr. Petra Karlíka, Dr. rer. nat. a použila jen prameny, které uvádím v seznamu použitých zdrojů.

Jsem si vědoma, že zveřejněním bakalářské práce souhlasím s jejím zveřejněním dle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách v platném znění, a to bez ohledu na výsledek její obhajoby.

V Sušici dne 15.06.2020

.....
Anastázie Panská

Poděkování:

Na tomto místě bych ráda poděkovala Mgr. Petru Karlíkovi, Dr. rer. nat. za skvělé vedení této práce, Mgr. Radce Broumové za konzultace a pomoc v laboratoři a při zpracování dat a Ing. Janu Vítámvásovi, Ph.D. za pomoc v laboratoři. Dále bych ráda poděkovala RNDr. Jiřímu Brabcovi za poskytnutí mnoho informací ke studované lokalitě NPP Pastviště u Fínů, za možnost zúčastnit se monitoringu, za pomoc při odběru semeníků a vytvoření dlouhodobého pokusu na lokalitě.

Poděkování patří i ostatním účastníkům monitoringu, RNDr. Janu Ponertovi, Ph.D. za poskytnutí informací o laboratorním zpracování semeníků, Ing. Jiřímu Šmitákovi za sdělení informací a osobních zkušeností z lokality NPP Švařec a lokality u Hostýnských vrchů. Ráda bych poděkovala své rodině za trpělivost, podporu, ale i za účast na některých činnostech spojených s prací a svým přátelům za podporu.

Abstrakt

Čeleď vstavačovité (*Orchidaceae*) je druhá nejpočetnější čeleď rostlin na světě. Čtvrtina druhů z čeledě je ohrožena vyhynutím z důvodu změny klimatu, přirozených stanovišť a hospodaření s nimi. Tato práce je zaměřena na výzkum kriticky ohrožené orchideje švihlíku krutiklasu (*Spiranthes spiralis*). Tento druh je z orchidejí České republiky jediný, který kvete na podzim, zároveň vytváří nové nadzemní orgány, které přezimují v zeleném stavu a na jaře usychají. V minulosti se u nás vyskytoval v hojném počtu na více než 100 lokalitách. Dnes se ve volné přírodě vyskytuje na dvou lokalitách, a sice v NPP Švařec na Českomoravské vrchovině a v NPP Pastviště u Fínů v Pošumaví.

Úkolem této práce bylo spolupodílet se na monitoringu v NPP Pastviště u Fínů, přímo na lokalitě založit experiment s klíčením a vývojem semen a zjistit vliv biotopu a fitness matečné rostliny na klíčení semen v laboratorních podmínkách. Za účelem výzkumu byla na lokalitě vymezena tři různá stanoviště (vyprahlé, suché a mezické). Na těchto třech místech byly umístěny diarámečky se semeny pro zjištění dynamiky klíčení a vývoje semenáčků, které budou vyhodnocovány v následujících sezónách.

Výsledky klíčení semen v laboratorních podmínkách, odebraných na třech různých stanovištích nepotvrzují, že by na něj měl vliv charakter stanoviště či fitness mateřské rostliny. Pouze semena pocházející z rostliny, která měla tři listové růžice vykazovala větší klíčivost, než tomu bylo u semen z rostliny s jednou listovou růžicí.

Ze tří zvolených míst byl proveden odběr směsného vzorku půdy pro stanovení obsahu chemických prvků a pH půdy. Suchá a mezická lokalita při porovnání nevykazovaly velké rozdíly ve sledovaných parametrech, ale vyprahlá lokalita se již lišila. Například v obsahu fosforu či vápníku, kterých třetí lokalita obsahovala vyšší množství.

V laboratorních podmínkách nadále pokračuje kultivace mladých rostlin. Je sledován mj. vliv různých živných médií na vývoj protokormů. Autorka se hodlá tomuto tématu věnovat i ve své diplomové práci, kde budou vyhodnoceny výsledky založených dlouhodobějších pokusů.

Klíčová slova: *Orchidaceae*, *Spiranthes spiralis*, NPP Pastviště u Fínů, populační dynamika, protokorm

Abstract

The orchid family (*Orchidaceae*) is the second most numerous family of plants in the world. A quarter of the species in the family is threatened with extinction due to climate change, natural habitats and their management. This work is focused on the research of a critically endangered orchid švihlík krutiklas (*Spiranthes spiralis*). This species is the only orchid in the Czech Republic that blooms in autumn, at the same time creates new above-ground organs that overwinter in a green state and dry out in spring. In the past, it was found in large numbers in more than a hundred localities. It occurs in the wild in two localities today, namely in the NPP Švařec in the Českomoravská vrchovina (Bohemian-Moravian Highland) and in the NPP Pastviště u Fínů in Pošumaví.

The task of this work was to participate in the monitoring in NPP Pastviště u Fínů, to establish an experiment with germination and seed development directly on the site and to determine the influence of the biotope and fitness of the mother plant on seed germination in laboratory conditions. For the purpose of the research, three different habitats (parched, dry and mesophile) were defined on the site. Slide frames with seeds were placed in these three places to determine the dynamics of germination and seedling development, which will be evaluated in the following seasons.

The results of seed germination in laboratory conditions taken at three different habitats don't confirm that it is affected by the character of the habitat or the fitness of the mother plant. Only seeds from a plant that had three leaf roses showed greater germination than seeds from a plant with the one leaf rosette.

A mixed soil sample was taken from three selected sites to determine the content of chemical elements and the pH of the soil. In comparison, the dry and mesophile localities didn't show large differences in the monitored parameters, but the parched locality was already different. For example, in the content of phosphorus or calcium, of which the third site contained higher amounts. Under laboratory conditions continues the cultivation of young plants. Among other things is monitored the influence of various nutrient media on the development of protocorms. The author intends to address this topic in her dissertation, where will be evaluated the results of long-term experiments.

Keywords: *Orchidaceae*, *Spiranthes spiralis*, NPP Pastviště u Fínů, population dynamics, protocorms

Obsah

1. Úvod	14
2. <i>Orchidaceae</i> – vstavačovité	16
2.1. Charakteristika.....	16
2.2. Rozmnožování.....	16
2.3. Klíčení semen v přírodě a v laboratorních podmínkách.....	20
2.4. Orchideoidní mykorhiza.....	21
2.5. Stanoviště	25
3. <i>Spiranthes spiralis</i> – švihlík krutiklas	27
3.1. Morfologie.....	27
3.2. Stanoviště	29
3.3. Specifický management	30
3.4. Rozšíření ve světě.....	30
3.5. Historický a současný výskyt v České republice	32
3.5.1. NPP Švařec	33
3.5.2. NPP Pastviště u Fínů.....	36
4. Metodika	43
4.1. Cíle	43
4.2. Popis lokality	43
4.3. Odběry semeníků.....	43
4.4. In situ – založení pokusu na klíčení a přežívání semenáčků na lokalitě	44
4.5. In vitro kultivace protokormů.....	46
4.5.1. Výsev semen	46
4.5.2. Pikýrování protokormů	48
4.6. Půdní vlastnosti	49
4.7. Zpracování dat	51
4.8. Analýza dat.....	52

5. Výsledky.....	53
5.1. In situ – založení pokusu na klíčení a přežívání semenáčků na lokalitě	53
5.2. Ex situ – laboratorní stanovení klíčivosti semen.....	54
5.2.1. Vliv biotopu na klíčení semen	54
5.2.2. Vliv počtu růžic na klíčení semen.....	55
5.2.3. Vliv výšky stvolu na klíčení semen	56
5.2.4. Vliv počtu květů na klíčení semen.....	57
5.3. In vitro kultivace protokormů.....	58
5.4. Půdní vlastnosti	58
6. Diskuze.....	60
6.1. In situ – založení pokusu na klíčení a přežívání semenáčků na lokalitě	60
6.2. Ex situ – laboratorní stanovení klíčivosti semen.....	61
6.2.1. Vliv biotopu na klíčení semen	61
6.2.2. Vliv počtu růžic na klíčení semen.....	61
6.2.3. Vliv výšky stvolu na klíčení semen	61
6.2.4. Vliv počtu květů na klíčení semen.....	62
6.3. In vitro kultivace protokormů.....	62
6.4. Půdní vlastnosti	63
7. Závěr	65
8. Seznam literatury.....	66

Seznam grafů

Graf. 1: Počet kvetoucích exemplářů od začátku monitoringu (1986) a počet živých exemplářů od roku 1998 do roku 2019 v NPP Pastviště u Fínů (Brabec 2019). 42

Graf. 2: Krabicový graf, ve kterém je porovnán typ biotopu s procentuální hodnotou klíčících semen *Spiranthes spiralis*. V grafu jsou zahrnuta i abnormálně klíčící semena. Čára v grafu zobrazuje medián, box vymezuje první a třetí kvartil. Dále je zobrazen rozsah hodnot. Odlehlé hodnoty jsou označeny kolečkem..... 54

Graf. 3: Krabicový graf znázorňující ovlivnění klíčení semen počtem růžic. Graf zahrnuje i abnormálně klíčící semena. Box zobrazuje první a třetí kvartil, čára v boxu zobrazuje medián a dále je zobrazen rozsah hodnot 55

Graf. 1: Bodový graf znázorňující ovlivnění klíčivosti nezralých semen výškou stvolu. Body byla proložena regresní křivka (lineární regrese), jejíž rovnice a testová kritéria jsou uvedena v rámečku..... 56

Graf. 5: Bodový graf zobrazující závislost množství klíčících a abnormálně klíčících semen na počtu květů na dané rostlině. Do grafu jsou zahrnuty i abnormálně klíčící semena. Body byla proložena regresní křivka (lineární regrese), jejíž rovnice a testová kritéria jsou uvedena v rámečku. 57

Seznam obrázků

Obr. 1: Kvetoucí exemplář <i>Spiranthes spiralis</i> s vyrůstajícími listovými růžicemi (Brabec 2005).....	27
Obr. 2: Fenologické fáze <i>Spiranthes spiralis</i> během roku (Brabec et al. 2004).....	29
Obr. 3: Areál rozšíření <i>Spiranthes spiralis</i> (Brabec et al. 2004).	31
Obr. 4: Přirozený výskyt <i>Spiranthes spiralis</i> v České republice (Ipser 2012).	32
Obr. 5: Pohled na části stráně NPP Švařec (Broumová 2019).....	34
Obr. 6: Severní část NPP Pastviště u Fínů tzv. Švihlíkoviště. V popředí dvě květenství <i>Spiranthes spiralis</i> (Juráková 2014).	37
Obr. 7: Diarámeček s uloženými semeny v síťce uhelon (Panská 2019).....	45
Obr. 8: Jednotlivé plochy s umístěnými diarámečky v severní části NPP Pastviště u Fínů, v tzv. Švihlíkovišti (Mapy.cz 2020).	45
Obr. 9: Petriho misky s vyšetými nezralými semeny (Panská 2019).....	47
Obr. 10: Nezralý semeník v roztoku chlornanu vápenatého (Panská 2019).....	47
Obr. 11: Petriho miska s protokormy, těsně před pikýrováním (Panská 2019).....	52
Obr. 12: Označení stavu semen. Červeně jsou označené klíčící semena, zeleně abnormálně klíčící a modrou neklíčící semena (Panská 2019).....	52
Obr. 13: Uložení a označení diarámeček na lokalitě (Panská 2019).	53

Seznam tabulek

Tab. 1: složení média BM-1 Terrestrial Orchid Medium (Phygenera 2020).....	46
Tab. 2: složení média Orchid maintenance medium (HiMedia 2020).....	49
Tab. 3: Půdní reakce-pH (H ₂ O) (Moravec et al.1994).....	50
Tab. 4: Hodnota pH a pokrývnost půd jednotlivých ploch.....	58
Tab. 5.: Obsah chemických prvků půdy jednotlivých ploch zjištěných XRF analyzátozem (g.kg ⁻¹).....	59

1. Úvod

Čeď vstavačovité (*Orchidaceae*) zahrnuje více než 27 tisíc druhů rostlin, z toho se 19 tisíc druhů řadí mezi epifyty (Zotz 2012). Jedná se o druhou největší čeď rostlin na světě, ale čtvrtina druhů je ohrožena vyhynutím, které způsobuje změna klimatu, změna stanovišť a hospodaření s nimi, ale i pašování a obchod s rostlinami (Swarts & Dixon 2009).

Druhy z této čeledi se zařazují do tří životních forem. Epifyty a litofyty se vyskytují hlavně v tropických oblastech, terestrické orchideje rostou převážně v mírném pásmu. Poslední zmíněná životní forma čelí největšímu ohrožení kvůli změně klimatu (Swarts & Dixon 2009).

Fenologie většiny druhů terestrických orchidejí začíná na začátku vegetačního období. Nejprve vytvářejí květenství a nadzemní orgány. Většina druhů přežívá nepříznivé období v asimilačních orgánech jako např. prstnatec májový (*Dactylorhiza majalis*), kruštík bahenní (*Epipactis palustris*), okrotice bílá (*Cephalanthera damasonium*), hlísník hnízdák (*Neottia nidus-avis*). Jsou mezi nimi výjimky, které nadzemní orgány a květenství vytvoří na podzim, poté nadzemní orgány fungují během zimy. Na jaře dalšího roku nadzemní část zaschne a léto přečkají v asimilačních orgánech, mezi ně patří např. švihlík krutikals (*Spiranthes spiralis*), vstavač osmahlý (*Neotinea ustulata*), vstavač kukačka (*Anacamptis morio*, syn. *Orchis morio*), rudohlávek jehlancovitý (*Anacamptis pyramidalis*) (Rasmussen 1995; Jersáková & Kindlmann 2004).

Spolu s mykotrofní houbou tvoří vstavače tzv. orchideoidní mykorhizu. Pomocí houby rostlina během raného vývojového stádia, ale někdy i během celého života, přijímá rozpuštěné minerální látky ve vodě a roztoky asimilátů. Houby získávají tyto látky od jiných vyšších rostlin a z půdy. Saprophytické houby rozkládají rostlinné zbytky, ze kterých získávají minerální látky. Pomocí této vlastnosti rozdělujeme orchideje na zelené (využívají mykorhizu během vývoje až do doby schopnosti produkce fotosyntézy, popřípadě v nepříznivých světelných podmínkách během ontogeneze) a nezelené (závislé na mykorhize po celý život) (Dykyjová 2003).

Tato bakalářská práce se věnuje blíže ohroženému druhu švihlík krutiklas (*Spiranthes spiralis*), který patří mezi dlouhověké orchideje, přežívající období suchého léta v asimilačních orgánech (Dykyjová 2003). Švihlík krutiklas je ohrožen především změnou zemědělského hospodaření a likvidací vhodných biotopů (Jersáková & Kindlmann 2004). Dříve byl v ČR rozšířen na více než 100 lokalitách. V dnešní době se u nás ve volné přírodě vyskytuje pouze na dvou lokalitách (Pastviště u Fínů u Albrechtic a Švařec) (Procházka 2010, Průša 2019), záznam o třetí lokalitě pochází z Hostýnských vrchů, kde se nalézá na soukromé zahradě (Průša 2019, Šmiták - ústní sdělení). Na první uvedené lokalitě, v NPP Pastviště u Fínů probíhá již od roku 1985 pravidelný monitoring koordinovaný Jiřím Brabcem. V roce 2018 se autorka předkládané práce k tomuto monitoringu připojila se snahou lépe porozumět reprodukci sledovaného druhu.

2. *Orchidaceae* – vstavačovitě

2.1. Charakteristika

Čeď je rozdělena na pět podčeďí, které zahrnují přibližně 870 rodů. Největší zastoupení této čeďi nalezneme v tropech, kde je typický epifytický způsob života orchidejí. Podle CITES je považována téměř polovina terestrických orchidejí již za vyhynulé. (Swarts & Dixon 2009).

Orchideje mají velmi složitý životní cyklus, z tohoto důvodu nejsou některé druhy dostatečně prozkoumány, přestože se jedná o velmi intenzivně studovanou čeď. Mnoho druhů orchidejí zřejmě ještě čeká na své objevení (Dykyjová 2003; Jersáková & Kindlmann 2004). Většina druhů je chráněna úmluvou o mezinárodním obchodu s ohroženými druhy volně žijících živočichů a planě rostoucími rostlinami (CITES) a uvedena ve vyhlášce č. 395/1992 Sb. a na Červeném seznamu České republiky (Grulich & Chobot 2017; AOPK 2019). U nás se vyskytuje 25 rodů orchidejí s přibližně 64 druhy a poddruhy (Průša 2019).

Orchideje pro svůj vývoj potřebují mykorhizní houby, vytvářejí spolu tzv. orchideoidní mykorhizní symbiózu. Jedná se o nejmladší typ endomykorhizní symbiózy. Nejčastěji ji tvoří stopkovýtrusé houby, a to hlavně rodu *Rhizoctonia* (teleomorfní stádia – *Tulasnella*, *Sebacina*, *Thanatephorus*, *Ceratobasidium*, *Armillaria*, *Fomes*, atd.) (Botanický ústav 2019). Na základě dlouhodobých populačních studií dělíme vstavačovitě na krátkověké (*Dactylorhiza viridis*) a dlouhověké druhy (*Spiranthes spiralis*, *Ophrys apifera*). Pro svoji existenci potřebují orchideje přirozená, nenarušená stanoviště a specifické opylovače, kteří jsou rovněž populačně na ústupu (Dykyjová 2003; Jersáková & Kindlmann 2004).

2.2. Rozmnožování

Květ orchidejí je typicky zygomorfní. Okvětní lístky jsou barevně i tvarově odlišené, jeden z nich se přeměnil do podoby pysku (*labellum*), u některých druhů jsou často trubkovitě srostlé a prodloužené do ostruhy. V poupatech se pysk obvykle nachází v horním prostředním okvětním lístku, ale při plném rozkvětu se již nachází v dolní části květu. K tomuto jevu dochází díky tzv. resupinaci květu. To znamená, že při rozkvětu se semeníky (*anthera*) nebo pouze jeho spodní část geotropicky otáčí o 180°. Proto může pysk tvořit přistávací plochu pro opylovače. Některé druhy

resupinaci neprovádí, jejich pysk se do dolní části dostane díky překlopení celého květu z přivrácené polohy k listenům do odvrácené polohy (rody *Cypripedium* a *Ophrys*). Tyčinky u orchidejí jsou redukovány na jednu tyčinku, která je srostlá s pestíkem v charakteristický sloupek. Na něm je umístěna tyčinka a blizna (*stigma*) je posunutá na vnitřní stranu květu, tudíž leží v jedné ose souměrnosti s pyskem. Prašník tyčinky je rozdělen na dva prašné váčky a pylová zrna jsou slepena viscinovými vlákny v balíček (*pollinium*), ten je pomocí viscinové stopečky (*caudicula*) připevněn k lepivému terčíku. Prašníkový orgán se nazývá brylka (*pollinarium*). Brylky se terčíkem přilepí na končetiny opylovače a jsou přenášeny na ostatní květy. Semeník (*ovarium*) leží pod okvětím, je srostlý ze tří plodolistů a zralé tobolky pukají třemi chlopněmi. Pyl z květů není náhodně rozmístěn do ostatních květů, ale je využit již v prvním květu (Dykyjová 2003; Průša 2019).

Hmyz do květů je lákán nejen různými tvary květů, barvou, ale i vůní. U nás se vyskytuje velmi zřídka červená barva květu. Tento fakt je způsoben tím, že většina našich včel jsou barvoslepá k červenému spektru světla, jejich zrak je více posunut k ultrafialovému spektru. Pro naše včely jsou nejvýraznější oranžové, žluté, zelené (tyto barvy od sebe téměř nerozlišují), modrozelené, modrofialové a ultrafialové barvy květů. Nejnápadnější jsou pro ně žluté a modré květy, dále rozkvetlé větší plochy. Denní motýli lákají pestré květy, ale víc než jejich barevnost, rozhoduje o jejich návštěvě délka ostruhy. Noční motýli reagují na bílou, smetanovou a zelenou barvu květů a kombinaci silné vůně. Pro opylování květů mouchami, které se vyskytují na mršinách, hnojícím mase a kompostech, se květy uzpůsobily nejen svou barvou, ale hlavně vůní, která napodobuje silný zápach hnojících bílkovin. Květ produkuje vůně během dne různě silně. Probíhá tím regulace návštěv opylovačů a určování specifického vývoje druhu. Druhy, které postrádají nektar využívají vůni jako největší lákadlo pro své opylování. Tato metoda lákání přitahuje pouze samečky, neboť pomocí éterických olejů z květu, označují své teritorium, ve kterém očekávají své samičky pro zasnubní lety. Každý druh včel mají svou specifikaci na určité druhy éterických olejů, díky kterým jsou na květ přilákané. Jakmile dojde k opylení květu, přestane být vůně z květu vylučována (Dykyjová 2003).

Orchideje využívají pro své opylování také hmatové orgány hmyzu. Přizpůsobily své povrchy květních plátků a to hlavně pysku. Obvykle bývá porostlý papilami a chloupky. Květy nabízejí pro hmyz potravu ve formě nektaru, který je pouze zdrojem

energie a pamlskem, vylučuje se jako přebytek cukerných roztoků produkovaných fotosyntézou. Proto je jeho sekrece závislá na světelnosti stanoviště. Pyl orchidejí neslouží pro hmyz jako bílkovinný zdroj, ale je hmyzem pouze přenášen z květu na květ (Dykyjová 2003).

Mezi orchidejemi se nacházejí druhy s tzv. šálivými květy. Tyto květy se vyznačují tím, že nemají ve své ostruže ani kapku nektaru, pouze na hmyz působí dojmem, že nektar obsahují. Také pomocí žluté barvy imitují pyl v květech nebo svazek tyčinek. Když na takový květ sedne těžší druh hmyzu, pysk se ohne a tím dojde, že přenesou na bliznu pyl, který mají nalepený na zádech a zároveň převezmou nový pyl. Střevíčník je přizpůsoben tak, že naláká hmyz na žlutou barvu pysku, hmyz sklouzne do konvičky, ten se snaží vylézt po hladké straně konvičky. Nakonec je donucen vylézt po straně, která je porostlá chloupky a vede přes úzký otvor. V tomto otvoru se dotknou zády blizny, na kterou rozmažou pylovou kaši. Jednoduché tvary květů nemají slepený pyl do brylek. Hrudky pylových zrn se přímo přilepí na terčík, nebo jsou hmyzem rozmazané jako pylová kaše, která neslouží hmyzu jako zdroj potravy. Hmyz je využit jako sprostředkovatel svatebního obřadu a potravu si musím obstarat v květech jiných druhů rostliny. Vypělejší druhy orchidejí mají brylky dokonale vyvinuté. Tuhnutí lepidla a jeho pevnost je přizpůsobena době přenosu na jiný květ za pomoci hmyzího těla. Darwin popsal podrobně mechanismy přenosu pylu, které zjišťoval na louce svého statku v Kentu. Zde čekal u květů na hmyzí opylovače a pomocí stopek měřil jednotlivé kroky opylování (dobu přeletu, tuhnutí lepidla, zakřívování stopek brylek). Při opylování vstavačů, dochází k narušení kapsičky pomocí čela opylovače, na které se lepidlem přilepí brylky a terčíky. Lepidlo rychle ztuhne a během cca 30 vteřin se smrskne do úhlu přibližně 90°. Díky této vlastnosti se brylky přilepí v dalším opyleném květu, přímo na bliznu. Darwin dále zjistil, že pokud má květ krátkou a ne příliš úzkou ostruhu, jsou navštěvovány včelami a mouchami. Druhy, které mají velmi prodlouženou a úzkou ostruhu jsou opylovány motýly. Každý druh orchideje mají své specifické druhy opylovačů, kterým jsou tyto květy přizpůsobeny. Květy opylované čeledi blanokřídlí (*Hymenoptera*) se rozevírají v denních hodinách mají jasné barvy a vylučují vůně, které jsou pro lidský čich příjemné. Velký pysk je pokryt nektarovými vodítky. Pomocí nich je hmyz naveden do středu květu. Noční motýli z rodu můrovití (*Nucutidae*), přistávají na plošině pysku, lišajovití (*Sphingidae*) se pouze vznášejí před květem. Specifická modifikace květů

pro tyto motýly je, že v noci zůstávají otevřené, jsou světlé barvy (bílá, smetanová, zelenavá), pysk je zpět ohnutý nebo hluboce rozdělen a produkují velmi silnou, těžkou vůni. V květu se vyskytují dlouhé a úzké ostruhy, které jsou naplněné nektarem. Rod dlouhozobka (*Macroglossum*) létá za dne a je citlivá k barvám. Květy pro denní motýly se vyznačují otevíráním v denní dobu, jsou nápadně zbarvené a oplývají svěží vůní. Na pysku jsou slabě vyvinuté vodivé drážky, delší, rovné ostruhy s nektarem, kterého je méně než u květů opylovaných nočními motýli. Dále jsou květy opylované hmyzem z čeledi dvoukřídlí (*Diptera*) a brouky (*Coleoptera*) (příležitostní opylovači).

Orchideje tvoří mnoho malých semen, u autogamního druhu okrotice bílé (*Cephalanthera damasonium*), Darwin odhadl 6 020 semen v tobolce a u endogamního druhu prstnatce plamatého (*Dactylorhiza maculata*) 6 200 semen. Ale jejich váha je velmi malá, pohybuje se v mezích tisícín miligramu (Dykyjová 2003). Jejich nízká hmotnost jim umožňuje šířit se na větší vzdálenosti. Při vývoji celého květního klasu, nacházíme v dolní části již plně vyvinuté tobolky, přičemž v horní části klasu jsou některé květy v poupatech (Dykyjová 2003). V embryu se nachází pouze velmi malé množství zásobních látek a postrádají endosperm, tudíž semena nejsou schopna sama od sebe vyklíčit, potřebují pro to zvláštní okolnosti. Zdlouhavé klíčení semen způsobuje pomalé přijímání vody. Semena jsou při vývoji zcela závislá na mykoheterotrofii, díky které přes mykorhizní houbu prochází uhlíkaté látky do semen a protokormů rostliny. Během vývoje se tato závislost na houbě zmenšuje (Swarts & Dixon, 2009). Některé druhy orchidejí jsou schopny se spojit s více druhy hub, ale existují i takové, které mají svoji specifickou houbu (Stuppy 2019). Klíčení semen je zaručeno tam, kde mají přímý styk s vlákny symbiotické houby. Díky tomu se vyskytují častěji tam, kde je půda odkryta (příkopy, podél cest, násypy...) a umožněn přímý styk s hyfami houby (Dykyjová 2003).

Terestrické orchideje přežívají nepříznivé podmínky v podobě zásobních, vytrvalých orgánů (hlízy, oddenky, kořeny). Obsahují i specifické glycidy (salep) a škrob, neobsahují tuky. Během vývoje se obnovují i tyto orgány, a to tím stylem, že rostlina při rašení a kvetení bere zásobní látky z těchto orgánů, během toho loňská hlíza odumírá a zároveň vzniká nová, která se připravuje pro novou rostlinu. U některých druhů, trvá tento vývoj i několik let. Zásobní orgány slouží i k reprodukci. Druhy jako např. sklenobýl bezlistý (*Epipogium aphyllum*) je závislý na výživě symbiotické houby, jelikož nemá kořeny. Oddenky vyhánějí dlouhé, tenké výběžky,

na kterých se vytvoří malé kulovité hlízy. Při infikování hlízy hyfou houby z ní vyrostे nový korálovitý oddenek. Zelené autotrofní druhy většinou tvoří jednoduché oddenky nebo hlízy různého tvaru. Loňská hlíza vyraší v květonosnou lodyhu a zároveň na bázi odnožuje novou hlízu, která obsahuje zásobní látky pro další sezónu (Dykyjová 2003; Průša 2019).

2.3. Klíčení semen v přírodě a v laboratorních podmínkách

Semena nemají zásobní látky a jejich bezděložné embryo je nedokonale vyvinuté. Obsahují menší množství zásobních proteinů, lipidů a výjimečně také škrobu. Aby došlo ke klíčení, musí vzniknout endotrofní mykorhiza. Poté se začne embryo zvětšovat a protrhne osemení. V přírodě dochází k největším ztrátám semen v této fázi. Embryo přijímá vodu a zvětšuje objem svých buněk. Některé druhy mohou buňky jednou rozdělit či vyprodukovat útvary, které jsou podobné kořenovým vláskům. Dojde tím k vyčerpání zásob semen, která jsou již odkázána na cizí pomoc. Naklíčená semena na ni mohou čekat delší dobu (Procházka & Velíšek 1983; Ponert 2016). Semena orchidejí neobsahují meristém, proto nevzniká ani prýt ani kořen. Odborně je tento oválný útvar nazývaný protokorm. Během růstu se všechny části protokormu nevyvíjí stejně. Apikální konec buňky se dělí intenzivněji, bazální konec se již nedělí a pouze se zvětšuje. Na bazální části protokormu dochází k napojení na hyfy mykorhizní houby díky kterým získává výživu. Na vrcholu vytváří první pletivo (Ponert 2016). Protokormy dosahují 2-6 mm, někdy i více než 10 mm. Protokormy terestrických orchidejí bývají bělavé, bez chlorofilu, s dlouhými rhizoidy. Houba poskytuje organické látky protokormu pomaleji, než mateřská rostlina u ostatních druhů rostlin, proto růst protokormu trvá v řádu měsíců až několik let.

Když protokorm založí první meristém, jeho vývoj začne být podobný ostatním rostlinám. Vytvoří se podzemní stonek a z něj vyrostou první kořeny. V podobě tzv. mykorhizom, mohou přežívat i několik let, než jim narostou listy. Kořenový systém orchidejí je mnohem menší a chudší, než u jiných čeledí, protože i v dospělosti využívají více či méně houby pro získání vody a v ní rozpuštěných živin (Ponert 2016).

V podmínkách *in vitro* (kultivace organismů v laboratorních podmínkách) probíhá klíčení na speciálních médiích, např. Mo2, Michl-15, Michl-16, bez přítomnosti hub (Ponert et al. 2011). Média obsahují agar, glycinu (glukózu, fruktózu, sacharózu) jako zdroj uhlíku pro klíčící semena. Kromě těchto látek může médium

obsahovat vitamíny thiamín, pyridoxin, biotin, fytohormony nebo organické doplňky (ananasový džus, tomatová šťáva, rybí emulze, pangamin, pepton, živočišné uhlí, ...) (Procházka & Velíšek 1983, Ponert et al. 2013). Smíchání složek médií proběhne před autoklávováním. Po autoklávování je nutno směs míchat ještě před ztuhnutím agaru (při obsahu živočišného uhlí). Semena z otevřených semeníků se nejprve dezinfikují roztokem 70 % ethanolu pomocí injekční stříkačky, ve které jsou umístěna semena spolu s nylonovou látkou. Ethanol byl použit pro lepší namáčení semen. Po 1 - 5 minutách se roztok odstraní ze stříkačky. Následují tři mytí v destilované vodě. Vybraná semena jsou máčena ve 2 % H_2SO_4 po dobu 10 minut. Poté se aplikuje dezinfekční roztok $Ca(OCl)_2$ nebo vodní roztok $NaOCl$ 2,5 % nebo 5 % po dobu 3 - 30 minut. Opětovné promytí destilovanou vodou se třemi opakováními. Před výsevem se vymění jehla injekční stříkačky na větší průměr a semena se protřepají, aby vznikla homogenní suspenze. Semena se na pevné médium v Petriho miskách vysévají pomocí destilované vody. Petriho misky jsou následně uzavřené a pomocí parafilmu alespoň dvakrát obtočené a utěsněné. Po výsevu se vloží do tmy při stálé teplotě podle druhu orchideje, až do doby vytvoření protokormu (Ponert et al. 2011; Ponert et al. 2013). Některé střeoevropské druhy orchidejí (např. prstnatce, pětiprstka žezulník, vemeník dvoulistý, střevičník) potřebují klidové období chladu. Z tohoto důvodu je třeba snížit teplotu na 2-5 °C po dobu 8-12 týdnů (Procházka & Velíšek 1983). Orchideje, které pocházejí z in vitro kultur, jsou schopné přežít a rozmnožovat se v květináči. Po přesazení dospělých rostlin do volné půdy postupně vyhynuly, i když předtím byla půda vhodně upravená (Dykyjová 2003).

2.4. Orchideoidní mykorhiza

Mykorhizní symbióza může být definována jako mutualistický vztah rostliny a houby. Navzájem si vypomáhají v transportu organických a anorganických látek rozpuštěných ve vodě. Propojení houby a rostliny probíhá pomocí houbových vláken (hyf) s kořeny rostliny nebo orgány strukturou podobné kořenům. Podle tohoto spojení se rozlišují dva druhy mykorhizy – endomykorhiza s ektomykorhiza. Endomykorhiza se dále rozděluje na arbuskulární, erikoidní a orchideoidní. Přechodové stádium mezi ektomykorhizou a endomykorhizou je ektendomykorhizní symbióza. Ektomykorhiza je tvořena na povrchu kořenů, tzv. hyfovým pláštěm. Houby prorůstají do mezibuněčných prostorů, kde vytvářejí tzv. Hartigovu síť. Při endomykorhize, prorůstají vlákna hub nejen do mezibuněčných prostorů, ale i do buněk vnitřní kůry.

Pouhým okem ji nelze poznat. Charakteristické pro ni jsou tenké vlasové kořínky. U cévnatých rostlin se nejčastěji vyskytuje arbuskulární mykorrhiza (Pešková 2008, Pikorová 2011). Když odumřou arbuskulární mykorrhizní houby, z rozkladu jejich hyf se uvolní do půdy glomalin. Glomalin má příznivý vliv na ukládání uhlíku v půdě, tvoří a stabilizuje půdní agregáty (slepuje půdní částice k sobě), zvyšuje zadržování vody v půdě, odolnost vůči erozi, zlepšuje pórovitost půdy a podporuje rozvoj kořenových systémů rostlin. Také má vlastnost omezovat dostupnost a toxicitu polutantů v půdě. Glomalin se nabízí k zabránění degradace půdy a to hlavně změnou obhospodařování půdy (Bečvářová 2020).

Orchideoidní mykorrhiza se považuje za nejmladší typ endomykorrhizní symbiózy (Smith & Read 2008). Spojení houbové hyfy a buňky hostitele nemají mezi sebou ideální vztah. Navzájem si nepomáhají v opatrování organických asimilátů, vody a v ní rozpuštěných minerálních látek jak je to známé u jiných čeledí rostlin využívající mykorrhizu (např. lišejníky). Pravděpodobně jde o promyšlené vzájemné hlídání partnera. Houba napadne buňky vyšší rostliny a s její pomocí se nechává živit. Heterotrofně získané látky z okolí využije jak houba, tak i hostitelská rostlina. Jakmile začne rostlina provozovat fotosyntézu, započne vyrábět obranné látky. S jejich pomocí parazita zahubí a vysaje (Procházka & Velíšek 1983; Rasmussen 1995; Dykyjová 2003). Orchideoidní mykorrhiza je celosvětově rozšířená, ale není známa jiná skupina rostlin tvořící tento typ mykorrhizy. Dospělé rostliny orchidejí jsou zcela anebo částečně autotrofní, kombinují fotosyntézu s mykotrofní výživou (mixotrofií). Mixotrofií využívají především ranná vývojová stadia rostlin, při které nejsou samy schopné produkovat fotosyntézu. Pro své přežití jsou závislé na příjmu uhlíkatých látek z mycelia hub (mykoheterotrofií) (Smith & Read 2008). Vědecká zkoumání orchideoidní mykorrhizy je velmi obtížné, neboť stačí nepatrná změna podmínek a může dojít k parazitismu houby na rostlině.

Již od 19. století mnoho vědců zkoumalo průběh mykorrhizy. Díky pokusu klíčení *in vitro*, kde orchideje byly živeny pomocí hyf hub zjistili, že při porušení tohoto spojení rostliny zahynuly. Usoudili, že vývoj rostliny nemůže být založen pouze na zásobě živin v semeni. Živiny jsou dodávány houbovým myceliem, které přijme živiny z okolního prostředí a pomocí hyf je dodá klíčícímu semeni (Rasmussen 1995).

Orchideoidní mykorrhiza se dělí na dva druhy podle uspořádání struktur, a to na tolypofágní a ptyofágní typ. Tolypofágní typ je význačný tvořením klubíček hyf (smotků, peletonů). Je běžnější a rozšířenější. Hyfa proroste do primární kůry kořene, kde se rozvětví a vytvoří hustou, spletenou strukturu. Mykorrhiza je charakteristická tím, že při možném prorůstání hyf do sousedních buněk nedochází ke kontaktu s cytoplazmou buňky, ale je obalená plazmatickou membránou hostitelské buňky. Peleton může zkolabovat a vytvoří se z něj shluk amorfni houbové tkáně. Šíření hyf je omezeno pouze na primární kůru kořene. Peletony se nejvíce tvoří ve vrstvách hostitelských a stravovacích buněk. Druhý ptyofágní typ se vyskytuje u nezelených druhů tropických orchidejí. Hyfy pronikají do primární kůry kořene, kde nevytváří peletony, ale vrchol hyfy praská a obsah vytéká do měchýřků tzv. ptyozómů, které se nacházejí v cytoplazmě buňky (Průša 2019).

Hyfy napadají protokormy, kořeny a oddenky, nikoliv nadzemní orgány. Také nenapadnou buňky, které obsahují chlorofyl, jak při svém pokusu zjistil Burges (1939). Nasvítíl část kořene prstnatce pleťového (*Dactylorhiza incarnata*), vlivem světla se v ní vytvořil chlorofyl, a díky tomu nebyly tyto buňky napadené (Rasmussen 1995).

Orchideje jsou vybavené chemickými látkami (např. orchinol, loroglossol a hircinol) patřící do skupiny fytoalexiny, pomocí těchto látek regulují růst houbových hyf. Tyto látky se vyskytují nejen v kořenech, ale také v nadzemních orgánech rostlin. Látky se vytváří i při poranění nebo napadení jinými patogeny a parazity (Rasmussen 1995). Rostliny kromě využití chemických látek používají k obraně i fyzických zábran. Brání se pomocí tloušťky buněčných stěn, ukládání fenolových sloučenin v rhizodermis kořene. Houby, které se podílejí na orchideoidní mykorrhize, jsou převážně řazené mezi oddělení stopkovýtrusné (*Basidiomycota*) (*Thanatephorus*, *Tulasnella*, *Sebacina*, *Marasmius*, *Hypochnus* a *Corticium*), výjimečně i mezi vřeckovýtrusné (*Ascomycota*) (Rasmussen 1995; Beneš 2010). Některé druhy hub, tvoří zároveň i ektomykorrhizu s kořeny stromů na stanovišti. Tvoří mezi orchidejí a stromem spojnicí. Fotosyntézu provozuje hlavně strom a pomocí hyf probíhá přenos živin z fotosyntézy do orchidejí. Houby převádí cukry z kořenů stromů na mannitol nebo trehalózu. Stromy tyto látky nejsou schopné metabolizovat, ale orchideje ano. Přemění je na vlastní sacharózu a dále ho čerpají ve svých vlastních metabolických procesech (Průša 2019).

Orchideje lze členit do tří skupin, podle závislosti na výživě pomocí orchideoidní mykorhizy. První skupina jsou nezelené orchideje, které nemají vyvinuté listy, nebo jsou zakrslé, chybí jim úplně nebo částečně chlorofyl. Listy často bývají přeměněné pouze v bezbarvé šupiny. Tudíž je rostlina zcela závislá na příjmu látek přes houbové mycelium. Najdeme zde druhy jako hlístník hnízdák (*Neottia nidus-avis*), korállice trojkланá (*Corallorhiza trifida*) nebo sklenobýl bezlistý (*Epipogium aphyllum*). Do druhé skupiny patří zelené druhy orchidejí, které rostou na lesních stanovištích a jsou závislé na svém fykobiontovi po celou dobu ontogeneze. Rostliny jsou schopné provozovat fotosyntézu, jenže díky nedostatku slunečního záření zapříčiněno lesním stanovištěm nejsou schopné vyprodukovat tolik látek pro uspokojení svých potřeb metabolismu. Z tohoto důvodu potřebují část uhlíkatých látek získat prostřednictvím fykobionta. Řadí se zde např. okrotice červená (*Cephalanthera rubra*) kruštík široolistý (*Epipactis helleborine*). Třetí skupina jsou zelené orchideje, které rostou na otevřených stanovištích. Tyto druhy jsou závislé na mykorhize pouze v ranných stádiích ontogeneze. Když rostlina dospěje do stádia zelených listů, přestává být závislá a je schopna produkovat uhlíkaté látky pro svůj život (autotrofní způsob výživy). Patří sem druhy jako stěvíčnick pantoflíček (*Cypripedium calceolus*), vstavač mužský (*Orchis mascula*), prstnatec májový (*Dactylorhiza majalis*). Mezi těmito skupinami může docházet k přechodu (Dykyjová 2003, Průša 2019).

Jelikož mají orchideje málo vyvinutý kořenový systém, jejich příjem vody a živin z půdy je značně omezen (Smith & Read 2008). K lepšímu příjmu těchto látek využívají rostliny houbové mycelium, které se nachází v těsné blízkosti kořenů. Tímto způsobem jsou do rostliny dodávány hlavně fosfátové ionty, které je pro rostlinu obtížné získat z půdy. Pokud je rostlina schopna již asimilovat, pravděpodobně dodává uhlíkaté látky do mycelia houby (Swarts & Dixon 2009; Průša 2019). Jejich výživa je často orientovaná na specifické houby. Rostlina může tvořit symbiózu i s více druhy hub, jenž musí být specifické pro určitý druh orchideje (Dykyjová 2003).

2.5. Stanoviště

Čeled' *Orchidaceae* se rozprostírá téměř od rovníku až k polárním kruhům. Směrem na sever výrazně ubývá její diverzita. Orchideje se přizpůsobily na charakteristické podmínky stanovišť. S nástupem antropogenního ovlivnění prostředí začaly přirozené biotopy mizet, až některé druhy orchidejí vymřely. Ostatní se dokázaly adaptovat podle způsobu a míry ovlivnění prostředí (Jersáková & Kindlmann 2004; Průša 2019).

Vápencové půdy osidluje vstavač vojenský (*Orchis militaris*), vstavač nachový (*Orchis purpurea*), vstavač trojzubý (*Neotinea tridentata*), okrotice bílá (*Cephalanthera damasonium*), okrotice červená (*Cephalanthera rubra*), tořič hmyzonosný (*Ophrys insectifera*). Na podmínky kyselé louky a vrchovištního rašeliniště se přizpůsobilo jen velmi málo druhů. Patří mezi ně např. prstnatec plamatý (*Dactylorhiza maculata*), prstnatec Traunsteinerův (*Dactylorhiza traunsteineri*), bradáček srdčitý (*Neottia cordata*), běloprstka bělavá (*Pseudorchis albida*) a měkkyně bažinná (*Hammarbya paludosa*). Prstnatec májový (*Dactylorhiza majalis*) se vyskytuje na slabě kyselých a podmáčených loukách (Dykyjová 2003).

Naše středoevropská stanoviště, která nebyla natolik narušená člověkem, aby z nich vymizely nejen orchideje ale i další choulostivé druhy rostlin, jsou charakteristické hromadným výskytem více druhů orchidejí s podobnými ekologickými nároky najednou. Stanoviště musí obsahovat hyfy nebo alespoň spory symbiotických hub (Jersáková & Kindlmann 2004; Pešková 2008). Sudermann rozlišil několik typů stanovišť, podle nadmořské výšky, půdních reakcí a vláhovou dostupností a výskytem typických druhů orchidejí. Od vysokohorských luk a pastvin, kde se vyskytují druhy, které nejsou vázané na pH půdy (prstnatec zelený (*Dactylorhiza viridis*), pětiprstka žežulník (*Gymnadenia conopsea*)), přes suché travnaté louky, na kterých se vyskytují teplomilné druhy orchidejí (tořiče (*Ophrys*), vstavač mužský (*Orchis mascula*), okrotice bílá (*Cephalanthera damasonium*)), až k vlhkým loukám (vstavač kukačka (*Anacamptis morio*), bradáček vejčitý (*Neottia ovata*)). Mezi další typy stanovišť patří suchý bor, slatinné louky a bažiny, vrchoviště, rašeliniště a horský les (Jersáková & Kindlmann 2004).

Orchideje se kromě těchto typických stanovišť vyskytují podél lesních cest, v příkopech, dřevních skládkách či vypuštěných vodních nádrží. Jelikož se řadí mezi

rostliny první sukcesní fáze, nedělá jim problém při výskytu vhodného druhu mykorhizní houby osídlit narušené prostředí pomocí semen. Vyskytne se zde mnoho jedinců, ovšem tato populace není stabilní, neboť je velmi silně ohrožena konkurenčně silnějšími bylinami a dřevinami, které se zde později vyvíjí. Na původních stanovištích takové ohrožení nehrozí, udržují si svoji stabilitu, i když nedochází k přílišnému rozrůstání populace (Dykyjová 2003, Průša 2019).

3. *Spiranthes spiralis* – švihlík krutiklas

3.1. Morfologie

Spiranthes spiralis patří do čeledi vstavačovité (*Orchidaceae*). Řadí se mezi vytrvalé, polykarpické, vzpřímené byliny s řepovitými hlízami (Jacquemyn & Hutchings 2010; Procházka 2010). Hlízy se obvykle vyskytují v počtu 2-4, výjimečně 5-6 kusů. Mají světle hnědou barvu, vejčité nebo oválné, či vřetenovitého tvaru, někdy tupě špičaté, podlouhlé. Dlouhé jsou 1-3 cm, nejvíce 5 cm. Široké minimálně od 0,3 maximálně do 2 cm (Dykyjová 2003; Jacquemyn & Hutchings 2010). Vývoj hlíz začíná během zimního období, pravděpodobně od prosince do února (Ipser 2012).

Vysoké 7-22 cm, turecké populace dosahují výšky až 40 cm (Brabec et al. 2004; Procházka 2010; Stroh 2014). Tenká modrozelená lodyha je v horní části žláznatě pýřitá. Vyvíjí se během pozdního léta a kvetou od srpna do října. Vyrůstání mimo růžici listů způsobuje to, že květonosná lodyha vyrůstá z hlízy, která má již odumřelé listové růžice. Listové růžice, které se nachází vedle květonosné lodyhy, pocházejí z nové hlízy, která ponese květonosnou lodyhu v příštím roce po odumření listů. Klas květenství je dlouhý 3-12, někdy až 20 cm, štíhlý, hustě chlupatý. Květy rostou jednotlivě v počtu obvykle 10-25



Obr. 1: Kvetoucí exemplář *Spiranthes spiralis* s vyrůstajícími listovými růžicemi (Brabec 2005).

výjimečně až 30 kusů, jsou drobné, uspořádané spirálovitě v jedné řadě ve směru nebo protisměru hodinových ručiček kolem osy (Procházka & Velíšek 1983; Jacquemyn & Hutchings 2010; Procházka 2010).

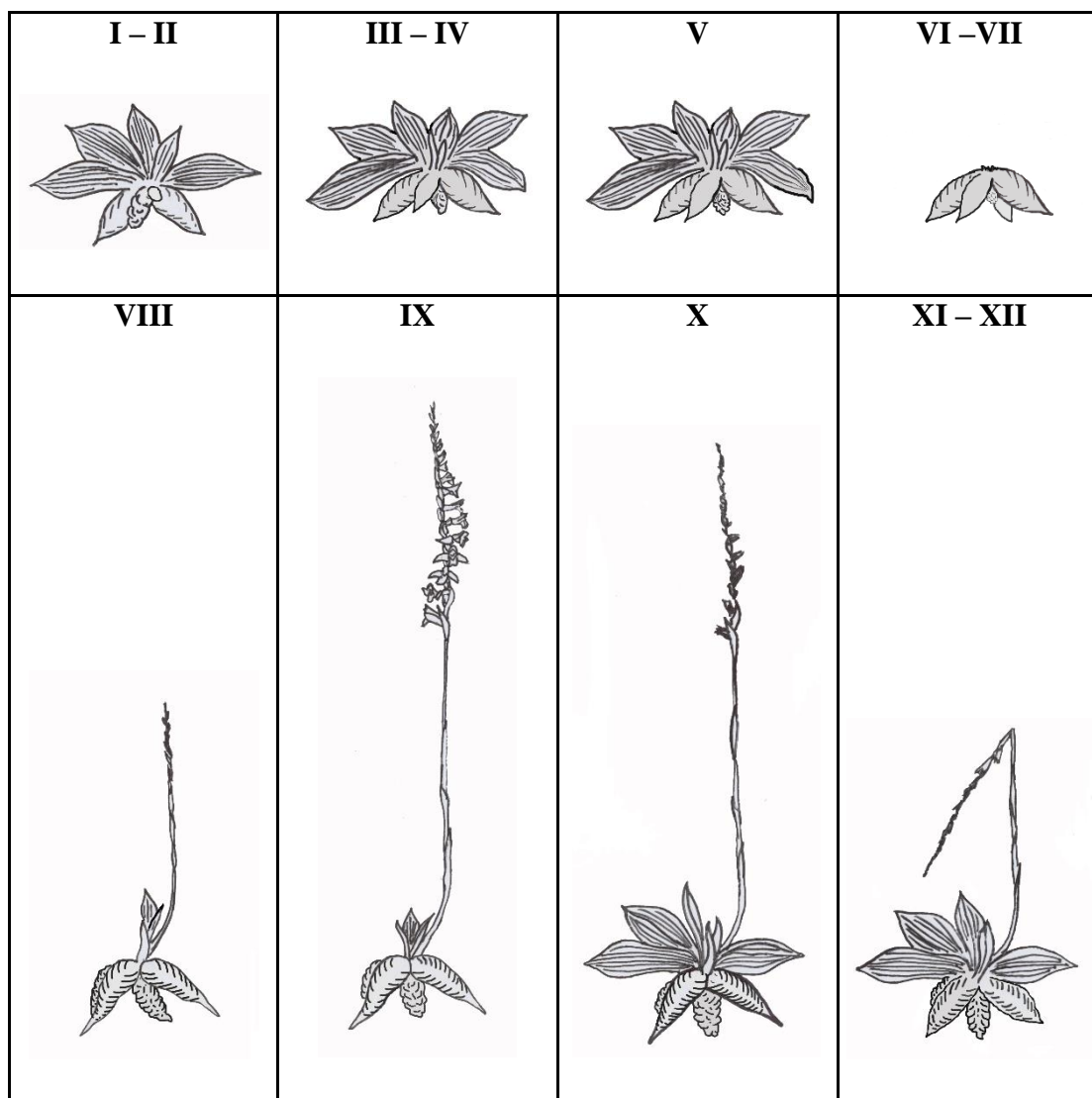
Korunní lístky jsou 3-7 mm dlouhé a 1,5-2 mm široké, plně vyvinutý květ má maximálně 10 mm. Zahnuté špičky směřují ven a zvenčí jsou chlupaté. Pysk bez ostruhy, obvejčitý, 5-6 mm dlouhý a 3,5-4 mm široký, žlutozelený, na okraji zvlňený a bělavý. Pysk tvoří spojením horním vnějším a vnitřním segmentem okvěti, trubkovitou trubku, která je světle zelená se širokým krystalickým zubatým okrajem, obsahuje žlázy, které vylučují nektar. Otevírají se postupně od spodu, a to ve skupinách po 3-5 (Brabec et al. 2004; Jacquemyn & Hutchings 2010). Nektar je vylučován ještě před otevřením poupatek (Dykyjová 2003).

Spiranthes spiralis opylují zejména čmeláci nebo včely. Opylovači postupují vždy od spodního květu nahoru. Přitom se jim přilepí brylky na sosák a přenesou je na jiný květ. Toto chování pozoroval již v roce 1877 přírodovědec Charles Darwin. Květy jsou schopné i spontánní autogamie s tím, že pyl samovolně vypadává na bliznu (Dykyjová 2003). Pravděpodobně u nich dochází i k apomixii (Procházka & Velíšek 1983; Brabec et al. 2004).

Listy jsou uspořádané v přízemní listové růžici v počtu (3) 4 - 6 (- 19) listů, o délce až 6,3 cm a šířce až 2,4 cm. Objevují se s květní lodyhou nebo později v postranní bazální růžici. Tato růžice může příští rok vykvést. Listy jsou krátce řapíkaté, s vejčitou čepelí, modrozelené, velmi lesklé, s 3-5 žilami. Listové růžice jsou produktivní v zimním období a na jaře zasychají, tato adaptace je zřejmě reakce na suché období (Rasmussen 1995; Brabec et al. 2004; Jacquemyn & Hutchings 2010). Intenzita srážek na velikost růžic, mají hlavně během listopadu, prosince a února a března následujícího roku. Sněhová pokrývka na jejich velikost vliv nemá (Ipser 2012). Vegetativní rozmnožování je u *Spiranthes spiralis* častým jevem. Z jedné hlízy se vyvine více nových hlíz a vytvoří skupiny více rostlin (Procházka & Velíšek 1983). Průměrná doba přežití rostliny je 6,9 roku. Výjimečně se mohou dožít i přes 9 let (Jersáková & Kindlmann 2004).

Plodem je tobolka 5,5-7 (- 9) mm dlouhá a 2-4 (- 5) mm široká, zpočátku zelená, později hnědá, vejčitá s četnými malými semínky, které patří k nejmenším u středoevropských orchidejí (0,32-0,38 mm dlouhá, 0,1-0,15 mm široká). V jedné tobolce dosahuje počet i přes 1 000 semen (Brabec et al. 2004; Jacquemyn & Hutchings 2010). Semena jsou do okolí šířena pomocí větru, přesto veškerá semena dopadnou do neprostřední blízkosti matečné rostliny. Nový jedinec, který vznikne

generativním množením, vytvoří první listy ve stáří 11 let a květonosnou lodyhu až ve 13. či 14. roce života (Jacquemyn & Hutchings 2010).



Obr. 2: Fenologické fáze *Spiranthes spiralis* během roku (Brabec et al. 2004).

3.2. Stanoviště

Převážně se vyskytuje se na krátkostébelných loukách a chudých pastvinách. Nesnáší velkou okolní konkurenci. Osidluje travnaté porosty na acidofilních i bazických půdách, ale častější výskyt je na půdách s pH 8-9. Areál rozšíření se pohybuje od nížin přes pahorkatiny až do hor. Roste i na vlhčích rašelinných a slatinných loukách, v xerothermních a semixerothermních trávnících, na suchých pastvinách, vřesovištích a písčínách. Nejčastější biotop výskytu jsou Mezofilní ovsíkové louky (T1.1) svazu *Arrhenantherion* (*Trifolio-Festucetum rubrae*) a biotop Podhorských a horských smilkových trávnících (T2.3) svazu *Violion caninae*

(*Hyperico-Polygaletum*). Předpokládá se, že na zaniklých moravských nalezištích v Beskydech a Bílých Karpatech byl na biotopu poháňkových pastvin (sv. *Cynosurion*) (Rasmussen 1995, Jersáková & Kindlmann 2004; Jacquemyn & Hutchings 2010; Procházka 2010).

3.3. Specifický management

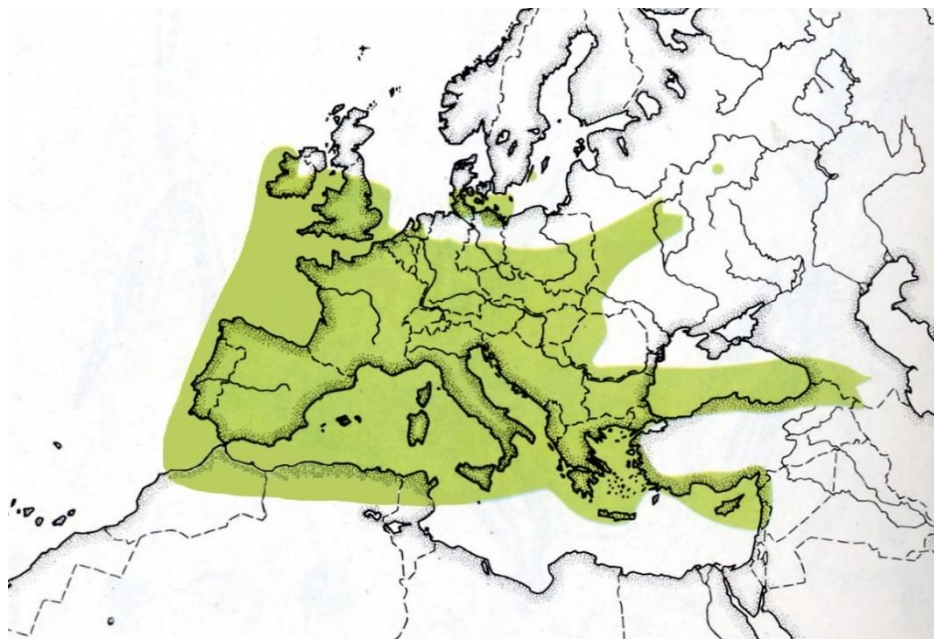
Vliv péče o stanoviště na *Spiranthes spiralis* je zkoumán v NPR Pastviště u Fínů, nizozemské rezervaci Berghofweide v Jižním Limbursku a na pár lokalitách na Slovensku. Druh se vyskytuje na ovčích pastvinách. Z výsledků bylo tudíž zjištěno, že pastva ovcí je pro zachování tohoto druhu velmi zásadní. Neboť ovce odstraňují vegetaci, která zastíňuje *Spiranthes spiralis*, tím mu napomáhají k dalšímu rozvoji. Pohybem pasoucích ovcí vznikají ve vegetaci mezery, které pravděpodobně pomáhají k uchycení semen. Při menším zastínění listové růžice jsou mohutnější, zelenější a více přitisklé k půdě, díky tomu jsou odolnější sešlapu, okusu či seči. Zastíněné rostliny mají úzké listy, které nejsou přitisklé k zemi, světlejší barvy. Pastva by neměla být prováděna v době květu a při vývoji semen (srpen – říjen). Když bude stanoviště vypasené, je vhodné v dubnu až v květnu také pastvu omezit, protože růžice jsou v tomto období v největším rozvoji. Ideální rozložení pastvy je dvakrát do roka. Nejlépe v pozdním jaře a o pozdním podzimu. Jako nevhodný druh pastvy se jeví pastva hovězím dobyt看em (Jersáková & Kindlmann 2004).

3.4. Rozšíření ve světě

Rod *Spiranthes* je zastoupen v Severní a Střední Americe a s několika druhy v Asii, Evropě a severní Africe. Výskyt zasahuje až na jih Austrálie a na Nový Zéland. Existuje přibližně 40 druhů *Spiranthes* (Rasmussen 1995; Jacquemyn & Hutchings 2010). Jejich výskyt převažuje v mírném pásmu severní polokoule (Procházka & Velíšek 1983).

Druhy vyskytující se v Severní Americe se dají rozdělit na druhy s listy a bezlisté. Mezi bezlisté druhy patří například *Spiranthes parasitica*. Jeho stvol je bledý, postrádá chlorofyl a rozmnožuje se pomocí kořenů nebo oddenků. *Spiranthes aestivalis* a *Spiranthes sinensis* již mají listové růžice, díky kterým jsou tvořené reprodukční orgány (hlízy). Další vyskytující druhy s listy je *Spiranthes spiralis*, který je schopen díky mykorhize přežít minimálně rok pod zemí. Také *Spiranthes cernua* a *Spiranthes magnicamporum* využívají život pod zemí (Rasmussen 1995). V Evropě se vyskytují

čtyři druhy: *Spiranthes aestivalis*, *Spiranthes romanzoffiana*, *Spiranthes sinensis* a *Spiranthes spiralis* (Jacquemyn & Hutchings 2010).



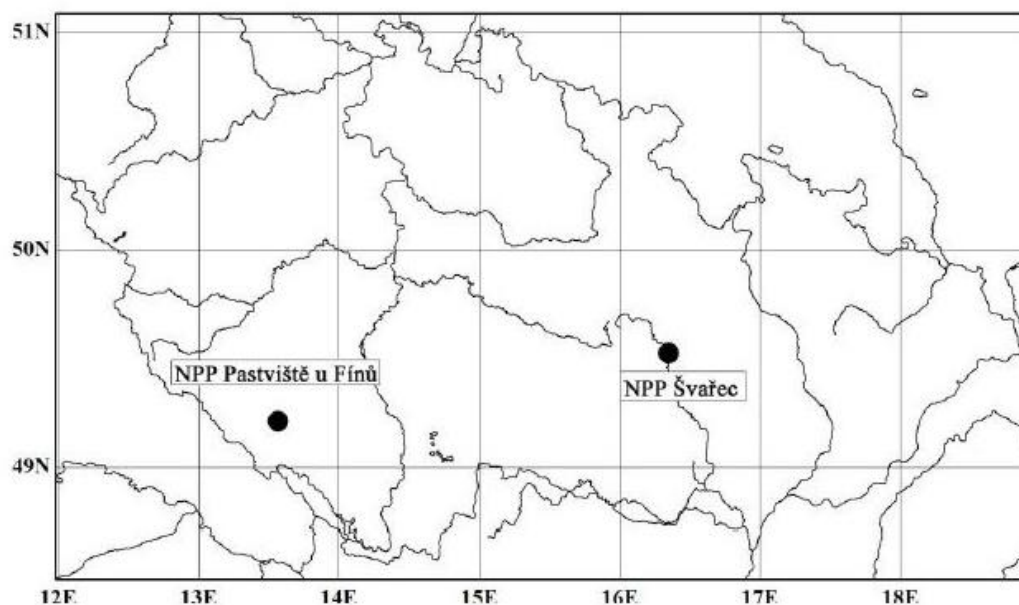
Obr. 3: Areál rozšíření *Spiranthes spiralis* (Brabec et al. 2004).

Spiranthes spiralis je považován za primárně oceánický a atlantsko-mediteránní druh. Rozšířen je po většině Středomoří a Britských ostrovech (kromě Skotska), v těchto oblastech je jeho populace početná a tak se jedná o běžný druh flory. Ve střední a východní Evropě již není tak hojný, spíše vzácný, a to především v Belgii, České republice, severní Francii, Německu, Nizozemsku, Portugalsku, Slovensku a Švýcarsku (Jacquemyn & Hutchings 2010). Severní hranice výskytu prochází přes Benelux, Německo, Dánsko, Polsko, Slovensko až do evropského Ruska (Stroh 2014; Průša 2019). Některé populace jsou rozšířené i na pobřežní území severní Afriky, Sýrie, Kavkazu, severozápadního Íránu, Ruska, Ukrajiny a v západních Himalájích. V severní Francii tento druh pomalu ubývá a již nyní je ohrožen vyhynutím. V Británii se vyskytuje hlavně v nížinách maximálně do 180 m.n.m., ale například v Rakousku se vyskytuje i v nadmořských výškách do 900 m. Výskyt a šíření rostliny na sever a do horských poloh je omezeno díky pozdnímu kvetení, neboť nelze vyloučit brzký výskyt sněhu, který zabrání rozšiřování semen. Výskyt *Spiranthes spiralis* dle údajů z Velké Británie končí v polohách, kde průměrné lednové teploty klesají pod 4-5 °C (Jacquemyn & Hutchings 2010; Stroh 2014), ale v Předšumaví průměrné lednové teploty dosahují -3,8 °C (Meteobox 2020). Vymírání

tohoto druhu způsobuje hlavně změna způsobu obhospodařování a likvidace vhodných stanovišť (Dykyjová 2004).

3.5. Historický a současný výskyt v České republice

V České republice lze tento druh nalézt přirozeně již pouze na dvou lokalitách. A to v NPP Švařec na Českomoravské vrchovině, v okrese Žďár nad Sázavou a v NPP Pastviště u Fínů v Pošumaví, v okrese Klatovy (Brabec et al 2004, Průša 2019).



Obr. 4: Areál rozšíření *Spiranthes spiralis* (Brabec et al. 2004).

Tento druh byl v historii u nás rozšířen na více než 100 lokalitách. Jeho těžiště dosahovalo v mezofytiku, vzácně v termofytiku a oreofytiku, od kolinného do montánního stupně (min. Kunětice u Pardubic - 250 m.n.m., max. Lysá hora (Beskydy) - 1 100 m.n.m.). Vyskytoval se na různých lokalitách v Čechách (Benešov, České středohoří, Český Brod, Cheb, Podkrkonoší, Polabí, Prachaticko, Třeboňsko, ...), na Moravě (Beskydy, Bílé Karpaty, Opavsko, Vizovice, ...) (Procházka 2010).

Nově byla nalezena třetí lokalita, kde se *Spiranthes spiralis* vyskytuje. Nachází se na soukromé zahradě v Hostýnských vrších na Moravě, z tohoto důvodu nelze potvrdit přirozený výskyt (Průša 2019). Tato lokalita byla objevena v roce 2011 téměř po 100 letech od zániku lokalit v okolí. V historických záznamech z 20. století je v okolí zaznamenáno 13 lokalit, kde se *Spiranthes spiralis* vyskytoval. Majitelka zahrady byla seznámena s doporučeným managementem pozemku a nepřeje si, aby zde byl prováděn

intenzivní monitoring. Lokalita zůstává v paměti Orchidea klubu a v rámci exkurzí bývá navštěvována (v roce 2018 exkurze od České botanické společnosti). Předseda Orchidea klubu Brno, Jindřich Šmiták, toto místo v roce 2013 a 2014 měl možnost navštívit. Zjistil, že se na malé ploše několika arů vyskytují ohromující počty rostlin. V roce 2013 to bylo 800 ks v začátku květu a v roce 2014 dokonce 1 800 až 2 000 kusů rostlin. V trávníku dominuje světlík lékařský (*Euphrasia rostkoviana*), vřes obecný (*Calluna vulgaris*), trojzubec poléhavý (*Danthonia decumbens*), mateřídouška vejčitá (*Thymus pulegioides*) a kostřava (*Festuca sp.*) (Šmiták - ústní sdělení, AOPK ČR 2020).

O švihlíku letním (*Spiranthes aestivalis*) pochází historické záznamy o jeho výskytu na jižní Moravě. Díky možné záměně se *Spiranthes spiralis*, jeho výskyt na našem území není doložen. Tyto dva druhy se od sebe liší lodyhou, která vyrůstá z plně vyvinutých listových růžicích. *Spiranthes aestivalis* kvete již od července do srpna (Procházka 2010).

3.5.1. NPP Švařec

Národní přírodní památka Švařec se nachází 500 m severovýchodně od obce Švařec, okres Žďár nad Sázavou. Svou polohou fytogeograficky spadá do Moravského podhůří Vysočiny, pod geomorfologickou jednotku Hornosvratecké vrchoviny (AOPK ČR 2020). Jedná se o klimaticky mírně teplou oblast (MT3). Rozléhá se na 13,93 ha, v nadmořské výšce 376-468 m.n.m (MZCHÚ 2020). Území je zvláště chráněné od 25.07.1985. Orgánem ochrany přírody je Agentura ochrany přírody a krajiny České republiky, regionální pracoviště správa CHKO Žďárské vrchy (AOPK ČR – RP CHKO Žďárské vrchy). Hlavním předmětem ochrany území jsou společenstva suchých trávníků s jalovci a vstavačovitými, mezofilních ovsíkových luk a mezofilních bylinných lemů. Vyskytují se zde vzácné a ohrožené druhy rostlin a živočichů (*Anacamptis morio*, *Maculinea arion*, *Spiranthes spiralis*) (AOPK ČR 2020).



Obr. 5: Pohled na části stráně NPP Švařec (Broumová 2019).

Geologie

Území je tvořeno proterozoickými horninami moravika svratecké klenby olešnické skupiny. Tvořené drobnozrnnými biotitickými a biotit-muskovitickými pararulami, místy se vyskytuje granát a granátické pararuly, muskovitické a muskovit-biotitické kvarcicity a kvarciticke ruly, svory až fylity, převážně grafitické. Místy lze nalézt kvarcicity, grafity a krystalické vápence. V úzkých pásech se horniny střídají přibližně ve směru od severu k jihu. Podloží jižního svahu obsahuje pleistocenní sprašové půdy. NPP Švařec je umístěn na pravém, příkrém údolním svahu Brťovského potoka, který je těžbou nerostů změněn. Převážně se zde vyskytuje kambizem typická, která po celém území mění svou hloubku půdního profilu. (Čech et al. 2002; AOPK ČR 2020)

Flóra

Hlavním prvkem vegetace jsou semixerotermní travinobylinná společenstva třídy *Festuco-Brometea*. Mělké půdy jižních svahů osidlují krátkostébelné kostřavové trávníky, ve kterých se vyskytuje kostřava žlábkovitá (*Festuca rupicola*), chrpa latnatá (*Centaurea stoebe*), vstavač kukačka (*Anacamptis morio*), vzácně koniklec velkokvětý (*Pulsatilla grandis*). Hlubší půdy a území s podložím krystalických vápenců obývají

náročnější druhy rostlin, např. válečka prapořitá (*Brachypodium pinnatum*), vítod chocholatý (*Polygala comosa*), pětiprstka žežulník (*Gymnadenia conopsea*), hořec brvitý (*Gentianopsis ciliata*). Centrální část je tvořena ovsíkovými loukami svazu *Arrhenatherion* s druhy ovsíkem vyvýšeným (*Arrhenatherum elatius*), škartou dvouletou (*Crepis biennis*). Ráz území udává dominance jalovce obecného (*Juniperus communis*). V podrostu lze nalézt orlíček obecný (*Aquilegia vulgaris*), Lýkovec jedovatý (*Daphne mezereum*), lilie zlatohlavá (*Lilium martagon*), vemeník zelenavý (*Platanthera chlorantha*).

Švihlík krutiklas se během 35 let existence této rezervace vyskytoval na sedmi větších či menších mikrolokalitách. Působením mnohých vlivů některé zanikly. V dnešní době zde nalezneme pouze dvě plochy, na kterých tato rostlina každoročně kvete. Sporadicky se objeví ještě na dalších dvou místech, ale ty jsou ovlivněné hlavně počasím, pastvou, kosením a jinými faktory. V roce 1985 se *Spiranthes spiralis* vyskytoval na mikrolokalitě, která byla vzdušnou čarou vzdálená přibližně 1 km na protější straně údolí. Šmiták ho na této lokalitě viděl pouze jednou, a to ve skromných počtech do deseti jedinců, v dalších letech se již neobjevil a v dnešní době není tato lokalita sledovaná (Čech et al. 2002; AOPK ČR 2020, Šmiták-ústní sdělení).

Fauna

Výskyt převážně teplomilných druhů hmyzu (vřetenušky, hnědásek květelový, soumračník čárkovaný, modrásek). Vyskytuje se zde i vzácný modrásek černoskvřinný, vzácnější nosatci (*Mecaspis alternans*, *Minyops carinatus*), chrobák vrubounovitý (*Sisyphus schaefferi*), svižník polní (*Cicindela campestris*), stěvlík měděný (*Carabus cancellatus*). V početných populacích se zde vyskytuje ještěrka obecná (*Lacerta agilis*), užovka hladká (*Coronella austriaca*), slepýš křehký (*Anguis fragilis*) (Čech et al. 2002; AOPK ČR 2020)

Monitoring *Spiranthes spiralis*

Druh *Spiranthes spiralis* zde byl objeven v roce 1984, studentkou agronomické fakulty Mendelovy zemědělské univerzity (tehdy VŠZ) v rámci diplomové práce. Jelikož tento druh neznala, přinesla ho Jindřichovi Šmitákovi, aby tento druh určil. Druh byl na Moravě prohlášen za vyhynulý, proto ho viděl Šmiták poprvé v životě. Díky tomuto objevu byl následující rok Švařec prohlášen za chráněné území.

Od roku 1984 začal Šmiták pravidelně lokalitu monitorovat. Zprvu byl sám, maximálně ve dvou. V 90. letech již vytvořili s jeho několika přáteli z Orchidea klubu sledovací skupinu. Přibližně od roku 2000 se jejich pravidelné návštěvy změnilly v klubovou akci na ukončení orchidejové sezóny. V dnešní době se monitoringu účastní 25-35 členů Orchidea klubu Brno z celé České republiky.

Nejprve si záznamy nepořizoval. V 80.-90. letech se každoroční počty pohybovaly v rozmezí jednotkách až desítkách kusů. První vedený záznam pochází až z roku 1999, kde bylo napočítáno 180 kvetoucích rostlin. V roce 2002 kvetlo 40 ks, protože byla zvolena pastva v nevhodnou dobu. 01.09.2005 kvetlo přibližně 100 ks rostlin. Rok 2006 byl zřejmě hojný, ale z důvodu návštěvy lokality až v polovině října, nebyly jednotlivé kvetoucí rostliny počítané. V letech 2007–2012 probíhalo počítání v rozmezích 20. - 30. srpna, záznamy z těchto let neexistují. Od roku 2013 došlo k řádnému každoročnímu zaznamenávání počtů, monitoring probíhal obvykle v druhé polovině srpna, nejdéle na začátku září: 2013 - přes 100 ks, 2014 - přes 200 ks, 2015 - cca 40 ks (monitoring byl proveden 29.8., kdy teprve začaly rostliny kvést, tudíž lze předpokládat, že konečné číslo kvetoucích rostlin bylo vyšší), 2016 - 200 - 250 ks, 2017 - přes 500 ks (nejbohatší rok), 2018 - i přes několik opakovaných kontrol prováděných od srpna do října nebyla nalezena ani jedna kvetoucí rostlina (z důvodu horkého a suchého léta), 2019 - přes 100ks (Šmiták-ústní sdělení).

3.5.2. NPP Pastviště u Fínů

Národní přírodní památka se nachází přibližně 1 km severovýchodně od obce Albrechtice u Sušice, v okrese Klatovy. Oblast začala být chráněná od 01.06.1985 po objevení výskytu rostliny *Spiranthes spiralis*. Rozloha chráněného území činí 4,14 ha. Rozprostírá se v nadmořské výšce od 580 do 646 m.n.m. Patří pod orgán ochrany AOPK ČR – RP SCHKO Český les (AOPK ČR 2020). NPP Pastviště u Fínů patří do bioregionu Sušického (1.42), dle fyto geografického členění do Volyňské Předšumaví (37e), a je zařazena do geomorfologické jednotky Šumavského podhůří (IB2). Klimaticky mírně teplá oblast 3 (MT3). Přírodní lesní oblast Předhoří Šumavy a Novohradských hor (12) (MZCHÚ 2020). Na území se lokálně vyskytují rašelinové plochy. Roční průměrná teplota se zde pohybuje okolo 7 °C, ve vegetačním období

13 °C. Úhrn srážek za rok činí průměrně 700 mm, ve vegetačním období 450 mm (Juráková 2014).



Obr. 6: Severní část NPP Pastviště u Finů tzv. Švihlíkoviště. V popředí dvě květenství *Spiranthes spiralis* (Juráková 2014).

Geologie

Lokalita se nachází v Šumavském podhůří, podcelku Svatoborská vrchovina a v oblasti Sušické vrchoviny. Podle regionální geologické jednotky se řadí k jižní části Českého masivu a moldanubiku. Geologický podklad tvoří injikované ruly, pararuly a arterity moldanubika. Na povrchu se vyskytují kvartérní hlinité a hlinitokamenité sutě. Půdní pokryv tvoří kyselá a dystrická kambizem. Vlhká a zamokřená stanoviště jsou tvořena ostrůvky pseudoglejové kambizemě, pseudoglejů, glejů až organozemí. Rendziny zde tvoří půdní typ, které jsou zastoupené místy plochami s rašeliníkem. Dominantu zde tvoří středně sklonité severovýchodní a jihovýchodní svahy erozně denudačního původu se zvětralinami podloží, částečně přemístěnými svahovými pohyby. Plochu, kde se *Spiranthes spiralis* vyskytuje, lze charakterizovat jako pramennou oblast bezejmenného potoka levostranného přítoku Podmokelského potoka. Okolní svahy mají sklon 10 - 12° (AOPK ČR 2020).

Flóra

Nejen NPP, ale i jeho okolí patří mezi botanicky nejcennější lokality v Plzeňském kraji. Vyskytují se zde pestrá společenstva rostlin od pastvin s výskytem vzácných rostlin, přes rašelinné slatinné louky až k lučnímu prameništi a vlhkým koseným loukám. V NPP roste více než 260 druhů rostlin s řadou ohrožených druhů. Kromě výskytu *Spiranthes spiralis*, se na této lokalitě vyskytuje několik ohrožených jedinců hořeček mnohotvarý český (*Gentianella praecox* subsp. *bohemica*) (15 exemplářů v roce 2012 (Juráková 2014)), vratička heřmánkolistá (*Botrychium matricariifolium*) a vstavač kukačka (*Anacamptis morio*). Mimo tyto rostliny lze nalézt 68 druhů mechorostů včetně 7 druhů jätrovek, nejvýznamnější dvouhrotec bahenní (*Dicranum bonjeanii*), rašeliník modřínový (*Sphagnum contortum*). Lokalita je významná i po mykologické stránce a to výskytem zástupců z červeného seznamu makromycetů. *Spiranthes spiralis* se na tomto území vyskytuje ve společenství krátkostébelných porostů (Juráková 2014; AOPK ČR 2020).

Fauna

Vyskytují se zde bezobratlí živočichové řadící se na červený seznam. Například mnoho druhů měkkýšů z rodu vrkoč a kuželík tmavý. Z obratlovců zde žije zmije obecná (*Vipera berus*), rosnička zelená (*Hyla arborea*), ropucha obecná (*Bufo bufo*), ještěrka obecná (*Lacerta agilis*), ještěrka živorodá (*Zootoca viviparia*), slepýš křehký (*Anguis fragilis*) a chřástal polní (*Crex crex*) (Juráková 2014; AOPK ČR 2020).

Historie NPP

Lokalita byla objevena 21.09.1980 Ladislavem Kučerou, konzervátorem státní ochrany přírody. Na ploše 50 x 100 m našel více než 100 kvetoucích exemplářů *Spiranthes spiralis*, což byla jediná známá lokalita jeho výskytu v tehdejší ČSR (Nesvadbová et al. 1989). Podle evidence parcelních ploch byla lokalita s výskytem *Spiranthes spiralis* (Švihlíkoviště) do 2. světové války obhospodařovaná jako orná půda. Podle starousedlíků se zde orba prováděla i v 50. letech. Tato činnost mohla ovlivnit vývoj lokality a způsobit větší erozní působení. Po odebrání pozemků původním majitelům se zde vystřídalo několik státních a družstevních organizací. Když v 80. letech došlo k reorganizacím zemědělských podniků, přestalo se na této lokalitě z důvodu nezájmu hospodařit. Do roku 1984 spravovali toto území Státní

statky Sušice (dříve Hartmanice). Ty o tyto louky nejevily zájem, díky tomu zůstaly travnaté pozemky ladem. Pouze pravidelné kosení bylo prováděno na okrajové louce v severozápadní části území. Poté byly pozemky určené k užívání JZD Žihobce, které o lokalitu nepečovalo. Na lokalitě byla prováděná nepravidelná pastva hovězího dobytka, kterou doplňovala pastva ovcí, koz a jalovic majitelky pozemků paní Marie Prinzové z těsného sousedství s chráněným územím. Krátkostébelné pastviště se začalo přeměňovat v přehoustlé území, kde pokryvnost rostlin stoupla až na 80 - 90 % a zároveň byla lokalita ohrožena dřevinnými nálety z okolních druhů stromů (Nesvadbová et al. 1989; Nesvadbová & Pivoňková 1996; Matějková et al. 2015).

Po objevení švihlíku Kučerou nebyla přesto lokalita pravidelně sledovaná a více energie bylo věnováno do úsilí k vyhlášení oficiální ochrany lokality. Tato snaha byla splněna až po 5 letech. Při provádění inventarizace vegetace v roce 1986 byl zjištěn značný úbytek jedinců kvůli špatnému hospodaření s travním porostem (Nesvadbová et al. 1989). Tento stav si vyžádal vypracování návrhů na asanační zásahy v lokalitě. Proto byl vystaven Ochranařský plán na období 1986-1990, který byl později prodloužen až do začátku platnosti nového plánu péče. Dokument poukazyval hlavně na problematiku nedostatečného hospodaření s lokalitou, které se stalo ohrožující populace švihlíku a navrhl nutná opatření k jeho zachování a obnovení obhospodařování lokality. Realizace byla uskutečněna mnoha dobrovolnými, ale i profesionálními ochranaři a botaniky-floristy. Odstranili nálety dřevin, vykáceli nevhodné stromy a provedli seč trávy. Na podzim roku 1986 proběhla první inventarizace třech ploch s nejhojnějším výskytem kvetoucích jedinců. Stabilizaci ploch zajišťovaly silné kovové trubice zapuštěné v zemi v rozích čtverce. Následující rok zde bylo provedeno ruční vysekání trávy pomocí srpu a kosy, vyhrabání stařiny za účelem udržení příznivých podmínek pro populaci švihlíku a také inventarizace celé vegetace (Nesvadbová et al. 1989; Nesvadbová & Pivoňková 1996). V roce 1988 se konzervátorům při OK ONV povedlo sehnat zájemce o sezónní pastvu ovcí na této lokalitě. Pastva se uskutečňovala na severních a severovýchodních částech lokality. Pastvu obstarával Jozef Šlapka z Nezdic na Šumavě až do roku 1992. V tomto roce došlo k mírnému rozšíření pastvy na okolní pozemky. Na podmáčených pozemkách byla doporučena ruční seč jednou za rok od poloviny června do konce července s likvidací sečných zbytků do 14 dnů. Plán nařídil pročištění vodoteče a její okolních přítoků (Matějková et al. 2015).

Stručné doplnění původního plánu péče o území bylo vypracováno a schváleno v roce 1993. Reagovalo na změnu vlastníků a hospodaření. Od úmrtí Prinzové (r.1990) přestalo kosení a přepásání travního porostu v jižní části území, reakcí byly první nežádoucí projevy degradace. Proto bylo nařízené ruční sečení jednou za rok na začátku léta s odstraněním posečeného materiálu do 14 dní (Matějková et al. 2015).

V roce 1997 zde byl opakován vegetační průzkum a porovnání dat. Výsledky ukázaly, že hospodaření pozemku mělo kladné dopady na druhovou pestrost lokality. Tvorba nového plánu péče navazovala na předchozí plán. Pouze dbali více na opravení oplocení, které umožňovalo únik ovcím a vláčení. Pastva ovcí byla vymezena na období od 01.06. do 15.08. a od 15.10. do 30.04. následujícího roku. Také jejich počet byl navýšen na 40 ks na tři stabilní plochy (Matějková et al. 2015).

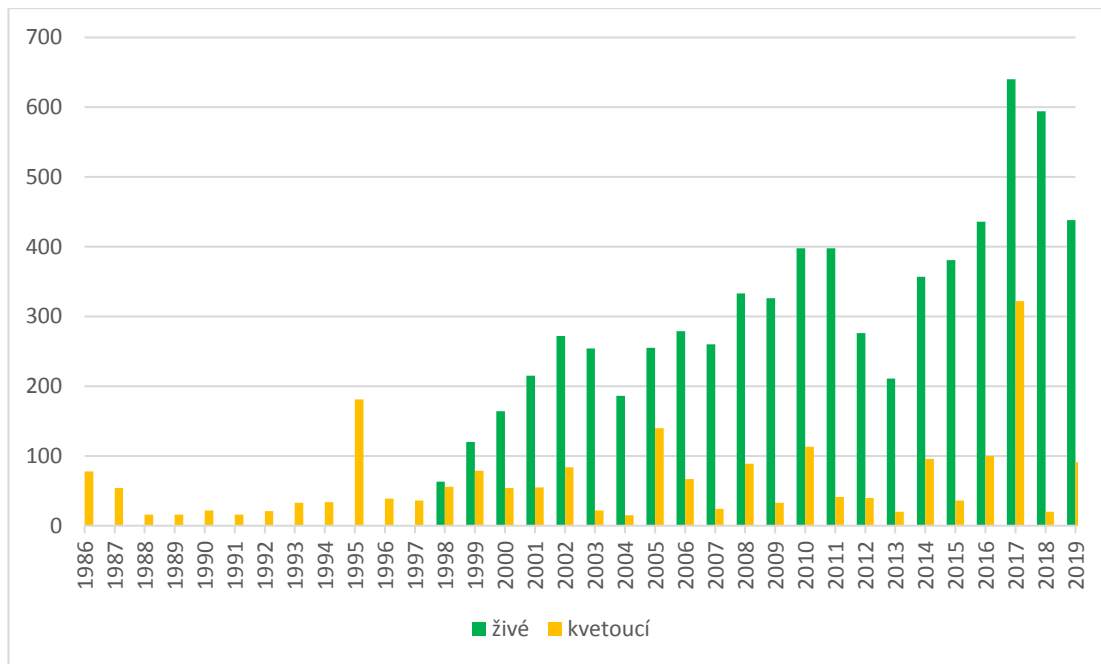
Aktuální plán péče platný od 2015 do 2024 počítá s odstraněním a odvezením nevyhovující salaše pro ovce, odstraněním nahromaděného ovčího trusu, který obohacoval půdu a tím umožňoval růst ruderalních druhů rostlin. Odstranění náletů dřevin z ploch, jejich okrajů a v okolí vodoteče tyto dřeviny pouze omezit. V části lokality s výskytem kruštíku bahenního (*Epipactis palustris*) je doporučeno vyznačit místo jeho výskytu a při seči ho vynechat za účelem podpory entomofauny, neboť je prováděna v době květu kruštíku. Vhodné provádět narušení drnu jednou za rok mimo vegetační dobu, např. pomocí brán či vertikutátoru. Na dále je vhodné pokračovat s pastvou ovcí. Ideální počet se pohybuje v rozmezí 20-30 ks, maximálně 50 ks. Na eutrofizovaných místech je nutno provádět seč během roku častěji. Sledovat stav oplocení ploch, případně provést jeho opravu a nainstalovat dřevěné přeazy pro lepší pohyb lidí po ploše. Nadále provádět údržbu odvodňovacích stružek, ale v menší míře. Dřívější zásah způsobil prohloubení stružek a následnou změnu vodních poměrů. To způsobilo ústup rašeliníků a mokřadních druhů mechorostů. Plán péče navrhuje upravit sklon dna stružky pomocí kamenů, nebo shození břehových drnů (Juráková 2014).

Monitoring *Spiranthes spiralis*

Monitoring zde probíhá od roku 1985. Až do 1995 neprobíhal po celé pastvině, proto mohou být data mírně podhodnocena (Brabec et al. 2011). Označování postupně nalezených jednotlivých rostlin započalo v roce 1998 a trvá až do současnosti. Využity jsou k tomu dvě metody. První metoda označí přímo jedince hřebem s vyraženým číslem, v přesně definované vzdálenosti a směru od jedince (např. 10 cm, ve směru borovice s označením 8). Následující roky jsou hřeby vyhledávány pomocí detektoru kovů. Při druhé metodě se zaměřuje výskyt rostlin s přesností na 0,5 cm k pevně fixovaným liniím či plochám. Tyto rostliny jsou hledány pomocí pásma. Druhý postup se využívá v místech, kde jsou rostliny v hustém výskytu. Z důvodu lepší přehlednosti se přistupuje k druhé metodě detekce rostlin. Na lokalitě jsou fixované dvě plochy a sedm linií, ke kterým byly zaměřené jednotlivé rostliny a očíslované hřebíky. Přítomnost a stav rostlin je pravidelně kontrolován dvakrát ročně, a to v období přelom duben – květen a srpen – září. Během podzimního monitoringu je zaznamenána prezence či absence nadzemních částí jedinců, počet listových růžic, květů a délka stonku (Brabec 2019). Při jarním monitoringu je provedena fotodokumentace. V blízkosti růžice je umístěn kalibrační rámeček o velikosti 1 cm² a označení rostliny. Z dat několikaletého monitoringu, bylo zjištěno, že v této populaci švihlíků je mnohem častější opakující se kvetení v dalším roce, než tomu je v Nizozemí (Brabec et al. 2011).

Na lokalitě je označeno celkem 932 míst s výskytem jedinců (k roku 2019). Rok 2017 byl jak na výskyt živých, tak i kvetoucích jedinců nejsilnější (celkový počet jedinců 419, kvetoucích 246). Monitoring zaznamenal pokles výskytu živých rostlin z důvodu suchého roku (2012, 2015, 2018) a narušení populace zrytím divokými prasaty (2013) (Brabec 2019).

Aktuálně má monitoring v kompetenci Jiří Brabec se spolupracovníky, kteří se skládají z dobrovolníků, zejména z členů a přátel ČSOP Silvatica Brejl a botanického oddělení Západočeského muzea v Plzni. Mezi hlavní koordinátory patří Jiří Brabec, Václav Somol a Lenka Plesková (Brabec 2019).



Graf. 1: Počet kvetoucích exemplářů od začátku monitoringu (1986) a počet živých exemplářů od roku 1998 do roku 2019 v NPP Pastviště u Finů (Brabec 2019).

4. Metodika

4.1. Cíle

- Sledování populační dynamiky *Spiranthes spiralis*
- Laboratorní stanovení klíčivosti semen
- Založení dlouhodobého pokusu na klíčení a přežívání semenáčků v NPP Pastviště u Fínů
- Založení dlouhodobého pokusu v podmínkách in vitro, sledování optimálních podmínek pro klíčení semen a vývoj protokormů v laboratorním prostředí (různé druhy živného média)

4.2. Popis lokality

NPP Pastviště u Fínů o rozloze 4,14 ha je vzdáleno 1 km od obce Albrechtice (okres Klatovy) (AOPK 2020). Populace *Spiranthes spiralis* se nachází v severní části území zvaného tzv. švihlíkoviště. Rozprostírá se na ploše o rozloze přibližně 1 ha a svazích se sklonem 3-20° orientovaných směrem k jihovýchodu (Nesvadbová et al. 1989). Okolní vegetace tvoří mozaiku krátkostébelných porostů ze svazů *Violion caninae* (as. *Polygalo-Nardetum*, a as. *Thymo-Festucetum ovinae*), *Arrhenatherion* (as. *Trifolio-Festucetum rubrae* subas. *nardetosum*), v místech, kde vystupuje skalní podloží, se vyskytuje ve svazu *Hyperico perforati-Scleranthion perennis* (as. *Jasiono montanae-Festucetum ovinae*) (Nesvadbová et al. 2003).

4.3. Odběry semeníků

Na Pastvišti u Fínů probíhaly dva odběry semeníků, jelikož nepříznivé počasí na konci září opozdilo fenologický vývoj rostlin. Během prvního odběru byly odebrány nezralé ale i zralé semeníky. Odběr se uskutečnil 23.09.2019 při polojasném až oblačném počasí, s větší vlhkostí vzduchu, za teploty 19 °C a mírného vánku. Při druhém odběru byly odebrány zralé semeníky z rostlin, u kterých nebyl uskutečněn první odběr. Druhý odběr probíhal 03.10.2019 při oblačném počasí po dešti a za teploty 10°C.

Nezralé semeníky musely být při odběru zelené a neporušené, bez žádného mechanického poškození, nekrotických a jiných vad. Vhodné semeníky k odebrání se většinou nacházely nad prvním zralým semeníkem na stvolu. Jednotlivý semeník byl

obežretně uchopen pinzetou a pomocí skalpelu či malých nůžek byl odstříhnut i s malou částí stonku. Zbytek stonku na semeníku vytvořil pojistku proti otevření. Při odebírání a následné manipulaci se semeníkem nesmělo dojít k jeho poškození. Následovalo umístění jednotlivých semeníků do minimálně kontaminované Eppendorfovy uzavíratelné zkumavky. Přes noc zůstaly uchované v chladu a druhý den byly odvezené do laboratoře v Kostelci nad Černými lesy, kde proběhl jejich okamžitý výsev.

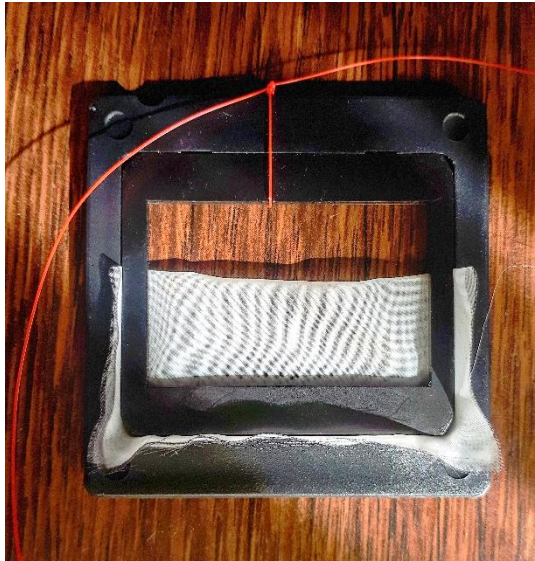
Odebírání zralých semeníků probíhalo ve fázi, kdy již změnilly barvu a byly před puknutím anebo těsně po puknutí. Odebírání probíhalo přímo do papírové obálky, umístěné těsně pod semeníkem. Zralý semeník byl odstraněn stejným způsobem jako nezralé semeníky. Z každé rostliny byly odebrány 2-3 semeníky, podle jednotlivých možností rostlin. Složené obálky se semeníky byly uloženy nastojato v papírové krabici. Krabice musela zajišťovat prodyšnost a zároveň v ní nesmělo hrozit vyfouknutí semen z papírové obálky. Takto uložené semeníky se nechaly dozrát v suchu a ve tmě (Ponert et al 2011).

4.4. In situ – založení pokusu na klíčení a přežívání semenáčků na lokalitě

V NPP U Fínů, v části pracovně nazývané „Švihlíkoviště“, byly 04.10.2019 založeny tři pokusné plochy o velikosti 4 x 4 m. Na výsev byla použita semena z druhého odběru (03.10.2019) z náhodně vybraných semeníků. Nejprve proběhlo spočítání a rozdělení semen. Do jedné síťoviny uhelon s velikostí ok 42 μm byla vložena semena o počtu 500 ± 50 kusů semen. Poté došlo k upevnění do diarámečků dle metodiky Rasmussen & Whigham 1993. Na jednotlivé diarámečky se připevnil vlasec, který byl následně navléknut na neoznačený hřeb s podložkou a zapravil se do půdy. Na jednotlivé ploše jsou umístěny čtyři diarámečky v páru naproti sobě. Rámečky jsou v půdě přibližně pod úhlem 75° , síťovina se semeny se nachází přibližně 4 cm hluboko pod zemí (Ipser 2012).

- Pokusná plocha č.1 se nachází ve střední části Švihlíkoviště, na suchém biotopu a s hojným výskytem *Spiranthes spiralis*.
- Pokusná plocha č.2 je umístěna v dolní části Švihlíkoviště, v mezickém stanovišti.

- Pokusná plocha č.3 se nachází v severní horní části Švihlíkoviště, na vyprahlém stanovišti.



Obr. 7: Diarámeček s uloženými semeny v síťce uhelon (Panská 2019).



Obr. 8: Jednotlivé plochy s umístěnými diarámečky v severní části NPP Pastviště u Fínů, v tzv. Švihlíkovišti (Mapy.cz 2020).

4.5. In vitro kultivace protokormů

4.5.1. Výsev semen

Pro výsev semen je nutno nejprve připravit živné medium do Petriho misek o průměru 9 cm. Jako základ živného média bylo použito BM-1 Terrestrial Orchid Medium (složení viz tab.1) z PhytoTechnology Laboratories s přidavkem 0,5mg/l kinetinu, 1 g/l MES (2-(N-Morpholio) ethanesulfonic Acid Monohydrate), 20g/l sacharózy a 5g/l Gerlite.

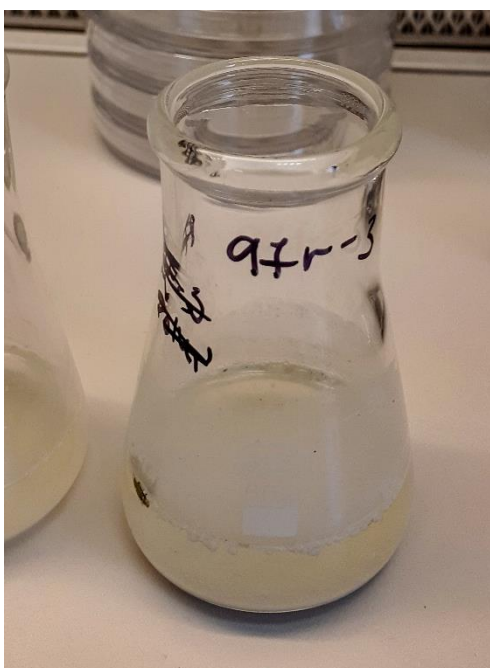
Tab. 1: složení média BM-1 Terrestrial Orchid Medium (Phygenera 2020).

Makroprvky		
dihydrogenfosforečnan draselný	KH_2PO_4	300 mg/l
síran hořečnatý	MgSO_4	100 mg/l
Mikroprvky		
chelát železa	FeNaEDTA	36,7 mg/l
monohydrát síranu manganatého	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	10 mg/l
kyselina boritá	H_3BO_3	10 mg/l
dihydrát molybdenanu sodného	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0,25 mg/l
hexahydrát chloridu kobaltnatého	$\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0,025 mg/l
pentahydrát síranu měďnatého	$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	0,025 mg/l
Vitamíny		
myo-Inositol		100 mg/l
niacin		5 mg/l
glycin		2 mg/l
kyselina listová		0,5 mg/l
pyridoxin		0,5 mg/l
thiamin		0,5 mg/l
biotin		0,05 mg/l
Aminokyseliny		
glutamin		100 mg/l
Ostatní prvky		
kasein		500 mg/l
sacharóza		20 000 mg/l

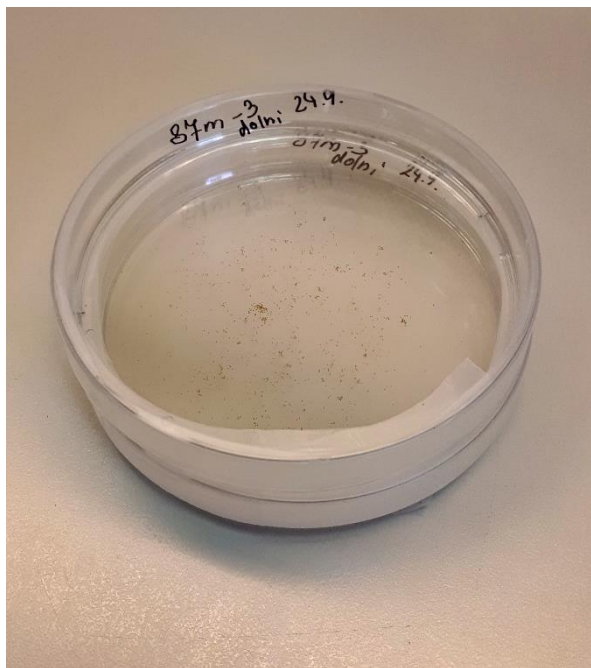
Roztok byl upraven pomocí KOH (1-molární roztok), aby došlo ke snížení nebo KCl (0,1-molární roztok), aby došlo ke zvýšení pH na hodnotu 5,70-5,75. Do uzavíratelných skleněných lahví o objemu 500 ml byl roztok přelit tak, aby obsahovaly 400 ml živného média. Poté proběhla sterilizace roztoku v parním sterilizátoru, při

121 °C po dobu 25 minut. Po sterilizaci živného media bylo rozlito po 25 ml do Petriho misek v laminárním boxu s horizontálním prouděním vzduchu, aby byla zajištěna sterilita pracovního prostředí. Po zchladnutí média byly Petriho misky použité buď rovnou k výsevu, nebo byly dané do polyethylenových sáčků a uložené ve tmě až do doby, než byly použité pro výsev semen (Ponert et al. 2013).

Dne 24.9.2019 proběhl výsev nezralých semeníků z Pastviště U Finů. Nejprve proběhla příprava sterilizačního roztoku. Ten obsahoval 70 % líh, vápno v poměru 10 g na 50 ml vody. Tento roztok se nechal hodinu odstát. Po odstátí proběhla filtrace pomocí filtračního papíru. Do přefiltrovaného roztoku se přidaly 1-2 kapky Tween 20 (polysorbát). Nezralé semeníky po vyjmutí z Eppendorfovy uzavíratelné zkumavky byly umístěné do 70 % lihu po dobu 2-3 minut. Po vyjmutí z lihu proběhlo promytí demineralizovanou vodou. Následovalo vložení do připraveného roztoku chlornanu vápenatého na dobu 8-10 minut. Poté došlo k opětovnému promytí demineralizovanou vodou. Ošetřenou tobolku bylo třeba osušit na sterilním filtračním papíře ve flow-boxu s laminárním prouděním vzduchu. Pomocí sterilní pinzety byla uchopena a sterilním skalpelem odstraněna špička semeníku tak, aby semena samovolně nevypadávala. Na připravené živé médium v Petriho misce byla semena poklepem vysypaná. Petriho misky s vysetými semeny byly uzavřeny Parafilmem M, popsané a umístěné do kultivačních klimaboxů na 24 hodin ve tmě a teplotě 22 ± 1 °C (Beneš 2010).



Obr. 9: Nezralý semeník v roztoku chlornanu vápenatého (Panská 2019).



Obr. 10: Petriho misky s vysetými nezralými semeny (Panská 2019).

Výsev zralých semeníků proběhl 21.11.2019. Ze semeníků, které byly odebrané z jedné matečné rostliny, byl proveden homogenizovaný vzorek. Nasypal se do plastové injekční stříkačky o objemu 5 ml, která byla opatřena nylonovým filtrem s okem 0,42 μm a injekční jehlou o velikosti 1,2x40 mm. Nejprve se semena promyla v injekční stříkačce 70 % lihem po dobu jedné minuty. Poté byla semena třikrát promyta demineralizovanou vodou. Dále následovalo nasátí roztoku chlornanu vápenatého, který obsahoval 10 g chlorového vápna na 50 ml demineralizované vody. Roztok se ponechal v injekční stříkačce 5 minut. Po uplynutí této doby byla semena třikrát promyta demineralizovanou vodou. Demineralizovaná voda se nasála počtvrté a byla ponechána v injekční stříkačce. Ihned byla sejmuta injekční jehla s nylonovým filtrem, nahradila ji injekční jehla o rozměrech 1,6 x 40 mm. Pomocí pístu stříkačky byla semena s opatrností vytlačena na živná média ve sterilních Petriho miskách, uzavřena a pomocí dvojité vrstvy parafínové pásky Parafilm M zalepena. Petriho misky s vysetými semeny byly umístěné do kultivačních boxů s teplotou 22 ± 1 °C a udržované 24 hodin ve tmě. Celý výsev probíhal sterilně ve flow-boxu s laminárním prouděním vzduchu (Ponert et al. 2011).

4.5.2. Pikýrování protokormů

Dne 19.12.2019 proběhlo po 12 týdnech od výsevu pikýrování klíčících protokormů z nezralých semeníků do nových Petriho misek. Protokormem je označen zvětšující se oválný útvar, vzniklý z klíčícího embrya, který je vyživován mykorhizní houbou. Protokorm se nerovnoměrně zvětšuje a postupně vytváří meristémové pletivo prýtu na apikálním konci, na bázi se formuje mykorhiza (Ponert 2016). Klíčící protokormy byly rovnoměrně rozděleny na dvě části tak, aby každá část obsahovala podobný počet a velikost protokormů. Protokormy byly rovnoměrně přepikýrovány do dvou Petriho misek. Jedna miska obsahovala původní médium BM-1, do kterého byla semena vyseta a druhá miska obsahovala nové médium Orchid maintenance medium (OMM) (složení viz. tab.2). Petriho misky byly opět zalepeny dvojitou vrstvou parafínové pásky Parafilm M a umístěny do kultivačních boxů s teplotou 22 ± 1 °C a udržovány 24 hodin ve tmě.

Tab. 2: složení média Orchid maintenance medium (HiMedia 2020).

Makroprvky		
dusičnan draselný	KNO_3	950 mg/l
dusičnan amonný	$\text{NH}_4 \text{NO}_3$	825 mg/l
chlorid vápenatý	Ca Cl_2	166,1 mg/l
síran hořečnatý	Mg SO_4	90,34 mg/l
hydrogenfosforečnan draselný	$\text{K}_2 \text{HPO}_4$	85 mg/l
Mikroprvky		
dihydrát disodné soli EDTA	$\text{EDTAH}_2\text{Na}_2$	37,3 mg/l
heptahydrát síranu železnatého	$\text{Fe SO}_4 * 7 \text{H}_2\text{O}$	27,8 mg/l
monohydrát síranu manganatého	$\text{Mn SO}_4 * \text{H}_2\text{O}$	8,45 mg/l
heptahydrát síranu zinečnatého	$\text{Zn SO}_4 * 7 \text{H}_2\text{O}$	5,3 mg/l
kyselina boritá	H_3BO_3	3,1 mg/l
jodid draselný	KI	0,42 mg/l
molybdenan sodný	$\text{Na}_2 \text{MoO}_4$	0,125 mg/l
hexahydrát chloridu kobaltnatého	$\text{CoCl}_2 * 6 \text{H}_2\text{O}$	0,012 mg/l
pentahydrát síranu měďnatého	$\text{Cu SO}_4 * 5 \text{H}_2\text{O}$	0,012 mg/l
Vitamíny		
inositol		100 mg/l
thiamin		10 mg/l
pyridoxin (B6)		1 mg/l
kyselina nikotinová		1 mg/l
Uhlohydrát		
sacharóza		20 000 mg/l
Ostatní prvky		
aktivní uhlí		2 000 mg/l
MES		1 000 mg/l
tryptone		2 000 mg/l

4.6. Půdní vlastnosti

Během umístování diarámečků 04.10.2019 proběhl na pokusných plochách odběr půdních vzorků pro rozbor chemických vlastností půdy. Z každé zkusné plochy byly odebrány čtyři vzorky z humusového horizontu (do hloubky 10 cm), ve vzdálenosti 2 – 2,5 metru od umístění diarámečků. Na každé ploše byl odebrán směsný vzorek ze čtyř míst. Tato místa tvořila pomyslný čtverec se vzdáleností od diarámečků ± 3 m,

kteře tvořily pomyslný střed čtverce. Místo odběru bylo vybráno tak, aby nebyly poškozené okolní hlízy živých rostlin.

Ze vzorků jednotlivých ploch byl proveden směsný vzorek. Tyto tři vzorky byly přepraveny do laboratoře, kde započalo jejich sušení na vzduchu. Následovalo očištění od zbytků organické hmoty, jiného nežádoucího materiálu a přesetí přes síto o velikosti ok 2 mm. Získaná jemnozeme byla použita pro měření pH půdy a stanovení totálního obsahu prvků v půdě (Hroník 2014).

Půdní reakce, nebo jinak zvané pH půdy, označuje kyselost půdy. Hodnota pH je ovlivněna přítomností a aktivitou iontů vodíku. Mimo jiné tato hodnota ovlivňuje příjem živin rostlinami. Způsobuje to reakce iontů na hodnotu pH. Některé se sráží, což omezuje či přímo znemožňuje jejich příjem. Pomocí hodnoty pH lze předpokládat, jaké živiny jsou pro rostliny dostupné a jaké nikoliv. Pro změřeni pH je potřeba vytvořit půdní roztok, ve kterém proběhne měření pH metrem. Před samotným měřením je nutné přístroj zkalibrovat použitím kalibračních pufrů o známé a přesné hodnotě pH. Půdní roztok vznikl smícháním 10 g vytvořené jemnozeme z určité plochy a 25 ml demineralizované vody. Tato směs se nechala 30 minut usadit. Následně došlo k opakovanému promíchání a odstátí roztoku po dobu jedné minuty. Do tohoto roztoku byla ponořena elektroda pH metru. Po ustálení změřené hodnoty byla zaznamenána. Tím to způsobem byly změřeny všechny tři vzorky (Hroník 2014, Mejstřík 2018).

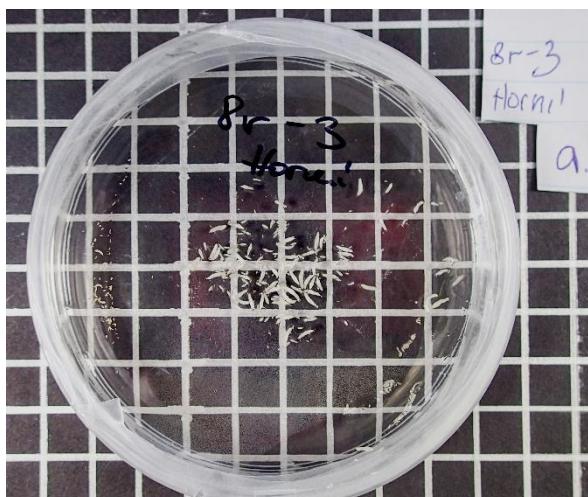
Tab. 3: Půdní reakce-pH (H₂O) (Moravec et al.1994).

<3,5	velmi silně kyselé
3,5 - 4,5	silně kyselé
4,5 - 5,5	středně kyselé
5,5 - 6,5	mírně kyselé
6,5 - 7,2	neutrální
7,2 - 8,0	mírně zásadité
8,0 - 8,5	středně zásadité
8,5 - 9,0	silně zásadité
9,0<	velmi silně zásadité

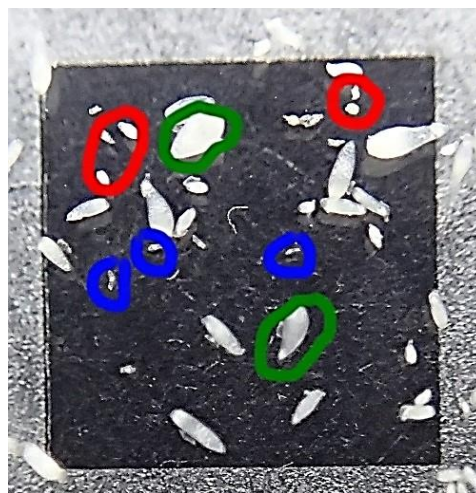
Pro druhou analýzu směsných prvků byl použit rentgenový analyzátor Delta. Výhodou se jeví to, že pro tuto analýzu není nutná žádná příprava vzorků půdy a měření je nedestruktivní. Pouze stačí vložit vzorek půdy do detekčního přístroje a spustit měření. Jelikož je analyzátor propojen s počítačem, zobrazí se výsledek v počítačovém softwaru EveryWan Remote Support Personal Edition. Tento výsledek se uloží ve formátu programu Microsoft Excel. U každého vzorku bylo provedeno dvojí měření. Z těchto hodnot byla následně vypočítána průměrná hodnota. Rentgenový analyzátor stanovuje totální obsah přítomných prvků a uvádí je v hmotnostních procentech v jednotkách ppm (parts per million) což znamená jeden million), znamenající $10^{-4}\%$ či hmotnost složky v mg na 1 kg soustavy. Naměřené hodnoty z každé plochy, které rentgenový analyzátor naměřil, byly následně porovnány mezi sebou (Mejstřík 2018).

4.7. Zpracování dat

Dne 19.12.2019 proběhla fotodokumentace, která se uskutečnila po 12 týdnech od výsevu nezralých semeníků do Petriho misek. K fotodokumentaci byl použit fotoaparát Olympus při nejvyšším rozlišení 12 Mpx. Pod Petriho misku byl vložen černý čtvercovaný papír, kde jeden čtverec představoval 1 cm². V programu IrfanView 64 byly fotografie zvětšeny o 165 % za účelem detailního rozpoznávání stavu klíčení semen. Poté byl náhodně vybrán kvadrant, ve kterém se semena spočítala a označila tímto způsobem: klíčící semena byla označena červenou barvou, abnormálně klíčící zelenou a neklíčící modrou barvou. Abnormálně klíčícími semeny jsou chápani jedinci, kteří svou velikostí převyšují ostatní klíčící semena či již vykazují znaky protokormu. Po tomto kvadrantu se pokračovalo ve vodorovné řadě do celkového součtu 200 semen. Počty jednotlivých semen byly ručně zaznamenány do programu Microsoft Excel s označením rostlin. V datech z monitoringu z 31.08.2019 proběhlo k jednotlivým rostlinám dohledání hodnot: výška stvolu, počet květů, počet nově se tvořících růžic a typ biotopu na kterém se rostlina nachází (mezický, suchý, vyprahlý).



Obr. 11: Petriho miska s protokormy, těsně před pikýrováním (Panská 2019)



Obr. 12: Označení stavu semen. Červeně jsou označené klíčící semena, zeleně abnormálně klíčící a modrou neklíčící semena (Panská 2019)

4.8. Analýza dat

Statistické vyhodnocení jednotlivých proměnných prostředí bylo provedeno v programu STATISTICA. V této práci bylo porovnáváno, jak se po 12 týdnech liší procento vyklíčených semen signifikantně, podle typu biotopu, výšky stvolu, počtu květů a počtu růžic. K porovnání dat byl použit neparametrický Kruskal – Wallisův test. Pro lepší znázornění rozdílů byly z proměnných vytvořené krabicové grafy. Výška stvolu a počet květů byly porovnány pomocí R kvadrátu, korelací a p, regresivní rovnicí. Z těchto proměnných byly vytvořeny bodové grafy. K porovnání vlivu počtu růžic na klíčení semen bylo použito vícenásobné porovnání průměrného pořadí pro všechny skupiny.

5. Výsledky

5.1. In situ – založení pokusu na klíčení a přežívání semenáčků na lokalitě

Pokus byl založen 04.10.2019. Na Pastvišti u Finů byly určeny tři různé pokusné plochy. Na tyto plochy bylo celkově umístěno 12 diarámečků se semeny.

Na první ploše se vyskytuje nízkostébelný květnatý porost svazu *Violion canine*. Porostu dominují trávy s velmi hojným výskytem mateřídoušky vejčité (*Thymus plugeioides*). V poslední dekádě července byla provedena seč plochy.

Druhé ploše dominuje svaz *Violion canine* s výskytem nízkých otav (5-11 cm). Dále je zde hojně zastoupení trav, jetele a mateřídoušky vejčité (*Thymus plugeioides*). Plocha byla taktéž naposledy posečena v poslední dekádě července.

Třetí ploše dominuje krátkostébelný porost s dominancí kostřavy ovčí (*Festuca ovinia*) a psinečku obecného (*Agrostis capillaris*). Porost není po seči, přesto je velmi nízký 3-7 (-10) cm.

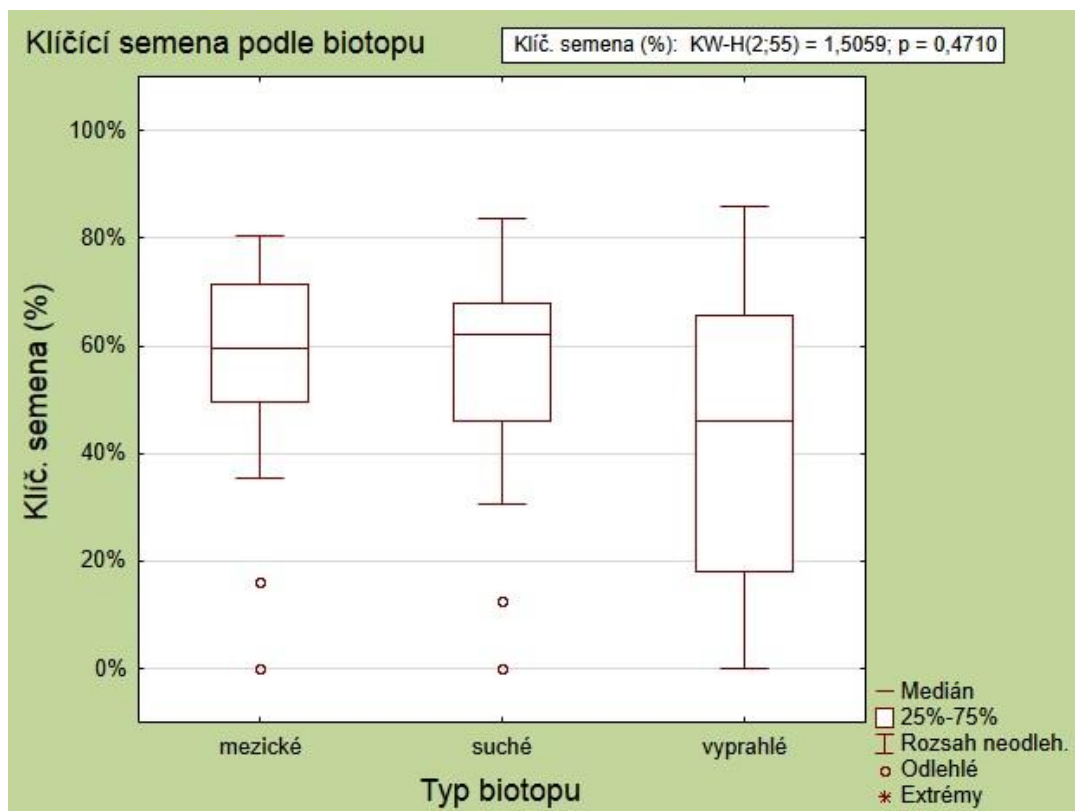


Obr. 13: Uložení a označení diarámečků na lokalitě (Panská 2019)

5.2. Ex situ – laboratorní stanovení klíčivosti semen

5.2.1. Vliv biotopu na klíčení semen

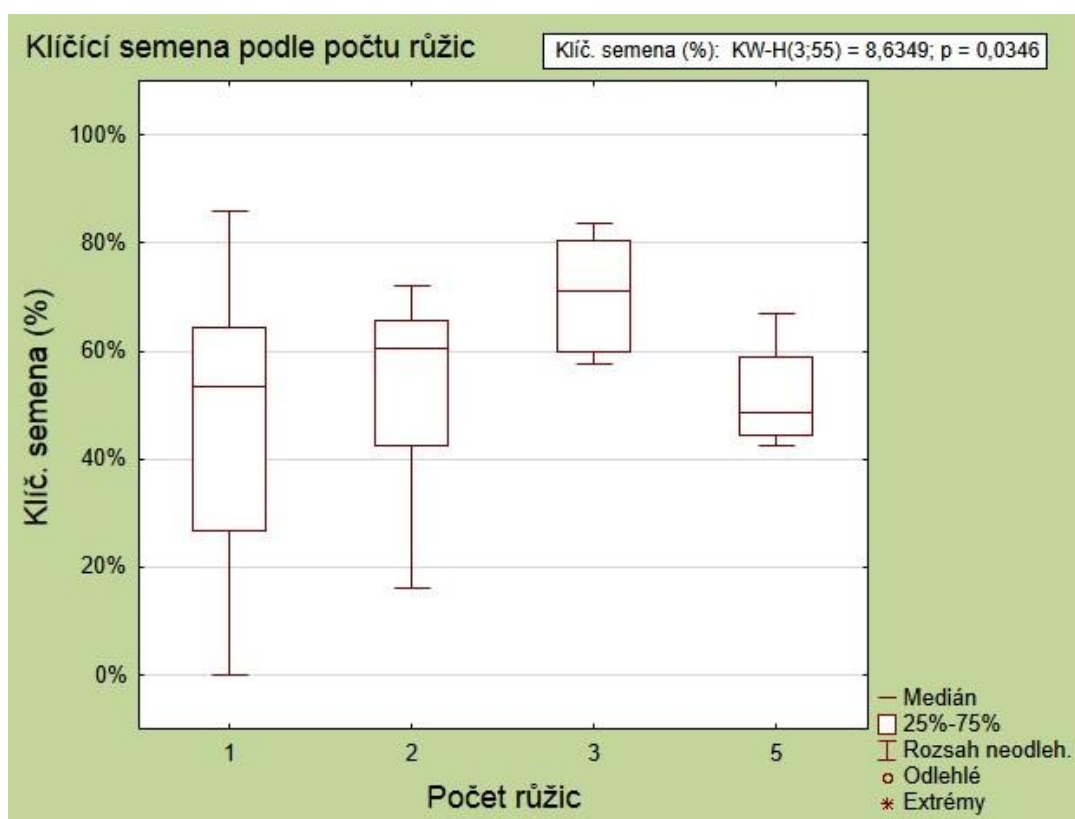
Testované byly typy biotopů a stav nezralých semen po 12 týdnech od výsevu. Mezi jednotlivými biotopy nebyly zjištěny žádné statistické rozdíly (Kruskal – Wallisův test (2;55) = 1,51; p=0,47). Na suchém biotopu se vyskytoval nejvyšší podíl klíčících rostlin. Nejvyšší podíl neklíčících semen byl na vyprahlém biotopu. Na mezickém i suchém biotopu se rovněž vyskytovala neklíčící semena. Abnormálně klíčící semena nevykazovala rozdíly v klíčení. Pro stručnost a přehlednost byla tato semena přiřazena k ostatním klíčícím semenům.



Graf. 2: Krabicový graf, ve kterém je porovnán typ biotopu s procentuální hodnotou klíčících semen *Spiranthes spiralis*. V grafu jsou zahrnuta i abnormálně klíčící semena. Čára v grafu zobrazuje medián, box vymezuje první a třetí kvartil. Dále je zobrazen rozsah hodnot. Odlehlé hodnoty jsou označeny kolečkem.

5.2.2. Vliv počtu růžic na klíčení semen

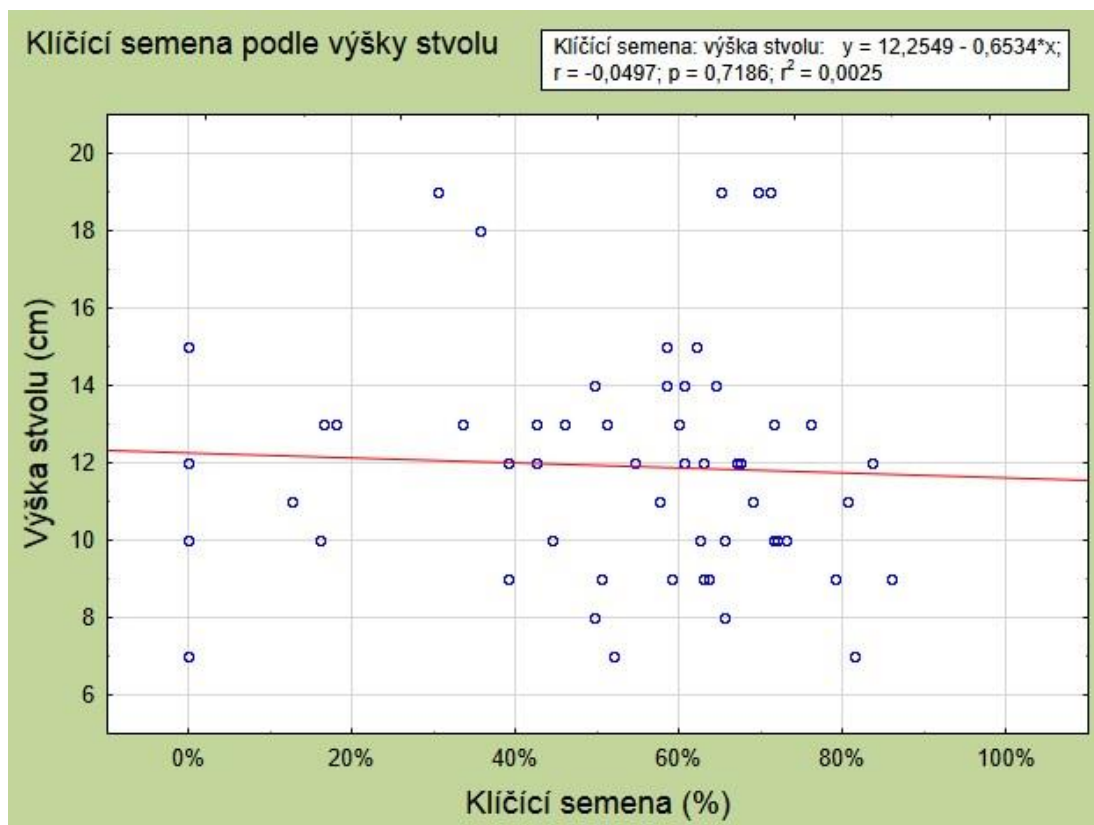
Statisticky testované byly počty růžic a procentuální hodnoty klíčících nezralých semen po 12 týdnech od výsevu se zahrnutými abnormálními semeny. Mezi počty růžic a klíčícími semeny byl nalezen rozdíl (Kruskal – Wallisův test (3;55) = 8,63; $p = 0,03$). Tři růžice mají významně větší počet klíčících semen, než jedna růžice ($p = 0,025$). Ostatní hodnoty jsou nevýznamné (viz graf 3). U testování vlivu počtu růžic na klíčení byla provedena korelace. Tou se neprokázala signifikantní lineární závislost ($p = 0,07$).



Graf. 3: Krabicový graf znázorňující ovlivnění klíčení semen počtem růžic. Graf zahrnuje i abnormálně klíčící semena. Box zobrazuje první a třetí kvartil, čára v boxu zobrazuje medián a dále je zobrazen rozsah hodnot.

5.2.3. Vliv výšky stvolu na klíčení semen

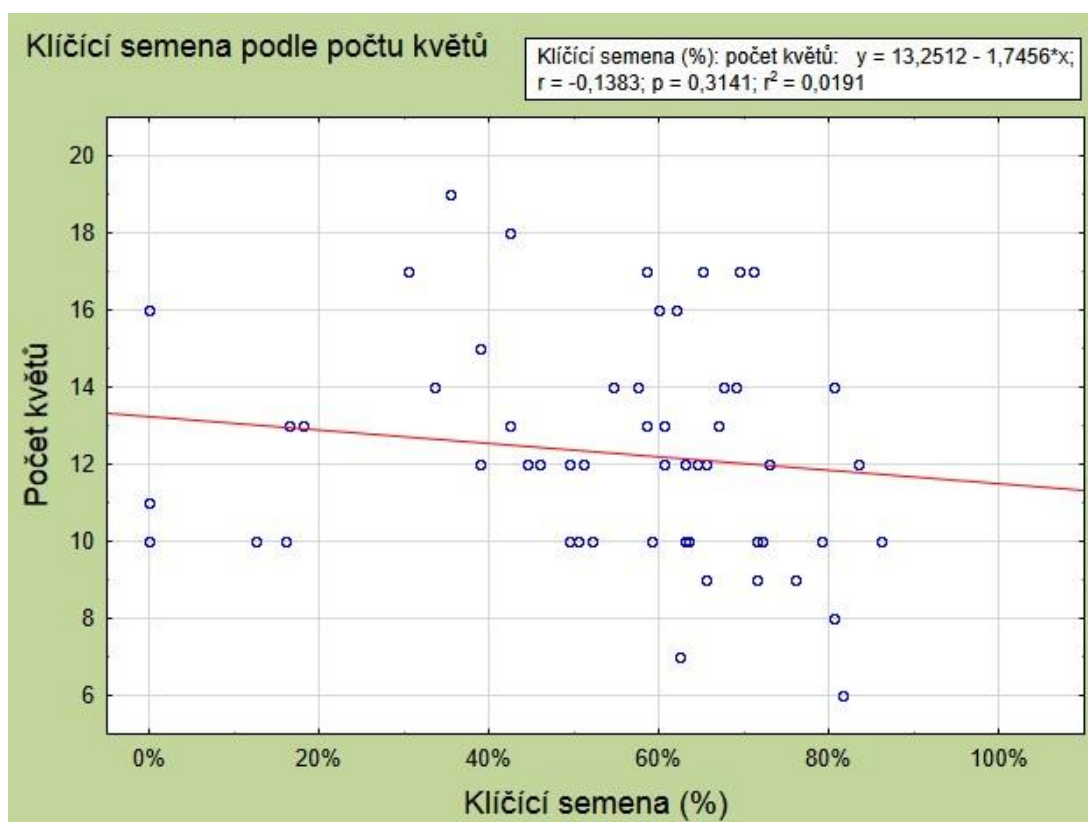
Jako testované proměnné se použily jednotlivé výšky stvolů a procentuální hodnota klíčivosti nezralých semen. Výšky stvolů nemají signifikantní vliv na klíčení semen ($p = 0,72$). Abnormálně klíčící semena nevykazovala rozdíly v klíčení. Pro stručnost a přehlednost jsou zařazena mezi klíčící semena.



Graf. 4: Bodový graf znázorňující ovlivnění klíčivosti nezralých semen výškou stvolu. Body byla proložena regresní křivka (lineární regrese), jejíž rovnice a testová kritéria jsou uvedena v rámečku.

5.2.4. Vliv počtu květů na klíčení semen

K testování byly použity počty květů a procentuální hodnoty klíčících nezralých semen. Testování bylo provedeno pomocí korelace, kterou se zjistilo, že počet květů na stvolu nemá významný vliv na klíčení semen ($p=0,31$). Nejčastější výskyt klíčících semen se nacházel u deseti květů na stvolu. K hodnotám klíčících semen byly přidáné i údaje o abnormálně klíčících semenech.



Graf. 5: Bodový graf zobrazující závislost množství klíčících a abnormálně klíčících semen na počtu květů na dané rostlině. Do grafu jsou zahrnuty i abnormálně klíčící semena. Body byla proložena regresní křivka (lineární regrese), jejíž rovnice a testová kritéria jsou uvedena v rámečku.

5.3. In vitro kultivace protokormů

Z nezralých a zralých semeníků byl založen dlouhodobý pokus, který má za úkol porovnat vývoj protokormů na dvou různých živných médiích. První zkoumané médium je BM-1 Terrestrial orchid medium. Použito bylo pro výsev semen, ale i následné pikýrování protokormů. Druhé médium Orchid maintenance medium (OMM) bylo použito až při pikýrování protokormů.

5.4. Půdní vlastnosti

Hodnoty $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ se na všech třech plochách výrazně nemění, všechny patří mezi středně kyselé půdy. Největší celkový pokryv půdy rostlinou vegetací (E_{celk}) se vyskytuje na druhé pokusné ploše.

Tab. 4: Hodnota pH a pokryvnost půd jednotlivých ploch.

	$\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$	E_{celk}	E_1 -bylinné patro	E_0 -mechové patro
1. Plocha - suché	5,14	95 %	80 %	25 %
2. Plocha - mezické	5,13	98 %	85 %	70 %
3. Plocha - vyprahlé	5,19	60 %	55 %	5 %

Měření XRF bylo celkem detekováno 21 prvků. Obsahy těchto prvků jsou uvedené v tabulce 6. Proměnná s označením LE (light elements) představuje sumu lehké prvky, které přístroj není schopen jednotlivě rozlišit a změřit. Na plochách se nejvíce vyskytuje křemík, hliník a železo. Třetí plocha vykazuje rozdílnější hodnoty prvků než ostatní plochy. Vyskytuje se na ní nejvíce fosforu, který se na zbylých plochách vyskytuje v množství přístrojem neměřitelném. Dále vykazuje více než dvojnásobné hodnoty vápníku a draslíku. Jako jediná plocha neobsahuje takové množství uranu, které je přístroj schopen změřit.

Tab. 5.: Obsah chemických prvků půdy jednotlivých ploch zjištěných XRF analyzátozem (g.kg⁻¹).

Prvky	1. plocha - suché	2. plocha - mezické	3.plocha - vyprahlé
LE	654,013	648,472	650,044
Si	174,940	201,180	165,002
Al	76,179	73,975	62,269
Fe	52,995	48,414	57,216
Mg	19,414	11,537	26,310
Ti	6,487	6,297	7,583
Ca	5,540	4,952	11,973
K	7,432	2,674	15,125
Mn	0,9152	0,7867	1,0708
S	0,7384	0,3793	0,6933
Zr	0,2512	0,3024	0,2086
V	0,3123	0,2727	0,3011
Zn	0,1672	0,1547	0,1295
Cu	0,0637	0,0622	0,0402
Ag	0,0521	0,0493	0,0626
Ni	0,0520	0,0468	0,0252
Pb	0,0382	0,0361	0,0497
Th	0,0151	0,0170	0,0292
As	0,0124	0,0108	0,0096
U	0,00157	0,00197	<0,0001
P	<0,01	<0,01	1,2284

6. Diskuze

6.1. In situ – založení pokusu na klíčení a přežívání semenáčků na lokalitě

Dlouhodobý pokus na lokalitě byl založen 04.10.2019. Do půdy bylo zapraveno celkem 12 diarámečků, ve kterých byla semena uložena v síti. Stav semen v této práci není uveden, protože ještě neproběhla první kontrola a sčítání, které se uskuteční rok po výsadbě tzn. na podzim 2020.

Testování klíčivosti a životaschopnosti semen provádělo již více autorů. Například Rasmussen a Whigham (1993) použili tuto metodu při zjišťování klíčivosti semen pěti terestrických orchidejí (*Corallorhiza odontorhiza*, *Goodyera pubescens*, *Galearis spectabilis*, *Liparis lilifolia*, *Tipularia discolor*) a zkoumali, jestli lze metodu využít i pro další studia dynamiky klíčení v půdě. Brundrett a kol. (2003) touto metodou zjišťovali druhy mykorhizních hub, které infikují klíčící semena testovaných druhů orchidejí na zkoumané lokalitě.

Ipsier (2012) přímo na Pastvišti u Fínů založil pokus na klíčivost semen v diarámečcích, vyhodnocoval stav semen (protokormy, klíčící, neklíčící, mrtvá) a jejich vztah k pozici na lokalitě. Rámečky umisťoval zhruba 10 cm od jednotlivých rostlin. Zjistil, že časem počet živých semen rychle klesal. Po 24 měsících od uložení diarámečků do půdy obsahovaly pouze 0,2 % klíčících semen. Nejvyšší počet klíčících semen (6,3 %) zaznamenal 12 měsíců po umístění do půdy. Následně porovnával, jestli daná lokalita ovlivňuje stav semen. Tuto svou hypotézu nepotvrdil. Ale jednotlivá místa uložení diarámečků vykazovala mezi sebou rozdíly. Dle Rasmussena (1995) mohou být tyto rozdíly způsobené abiotickými i biotickými vlivy. Ipsier (2012) ve svém sledování našel pouze tři protokormy. Cílem našeho pokusu je ověřit zda nízký počet protokormů u Ipsera byla náhoda nebo se jedná o běžný trend. Dalším důvodem pro realizaci pokusu je porovnání výsledků klíčivosti v ideálních podmínkách laboratoře a na původní lokalitě výskytu. Pro korektnost výsledků byla použita semena pocházející ze stejného fenologického cyklu. Naše plochy s diarámečky se shodují plochami Ipsera (2012). Rozdíl je ve vzdálenosti umístění rámečků od živých rostlin, které se vyskytují v rozmezí 45–188 cm od živé rostliny. Tomuto pokusu se autorka bude věnovat i nadále a své výsledky uvede v diplomové práci.

6.2. Ex situ – laboratorní stanovení klíčivosti semen

6.2.1. Vliv biotopu na klíčení semen

Vzhledem k okolnosti, že švihlík krutiklas preferuje suché pastviny a netoleruje okolní rostlinou konkurenci, bylo testováno jestli na klíčení v laboratorních podmínkách má vliv kvalita prostředí, ze kterého pocházejí zdrojové rostliny semen. Bylo zkoumáno, zda se tento vliv projeví snížením klíčivosti rostlin ze stanovišť, která rostliny nepreferují. V našem případě se jedná o porovnání semen z mezického, suchého a vyprahlého stanoviště. Podle statistického vyhodnocení nebyl rozdíl v klíčení na různých stanovištích prokázán. Klíčivost semen ze všech stanovišť se pohybovala mezi 45 - 65 %. Semena pocházející ze suchého biotopu vykazovala průměrně nejvyšší klíčivost, která by mohla souviset právě se stanovištními preferencemi druhu (Procházka & Velísek 1985) a s omezeným vlivem rostlinné konkurence (Jacquemyn & Hutchings 2010). Tyto vlastnosti stanoviště mohou umožňovat vytvářet rostlině kvalitnější semena. Jak bylo uvedeno, dosavadní výsledky jsou nesignifikantní. Aby tato myšlenka mohla být případně potvrzena, je potřeba provést další zkoumání a porovnávání vlivu dalších faktorů stanoviště.

6.2.2. Vliv počtu růžic na klíčení semen

Statistickou analýzou byl zjištěn signifikantní vliv počtu tří růžic na klíčivost. Vzhledem k malému počtu opakování hodnot v případě, že rostlina má tři růžice, je konstatování, že pokud má rostlina (právě) tři růžice, více klíčí, dosti diskutabilní. Malý počet opakování hodnot je způsoben tím, že na lokalitě se vykytovalo nejvíce jedinců majících právě jednu růžici. Tuto skutečnost potvrzují Jacquemyn a Hutchings (2010), kteří uvádějí, že rostliny obvykle tvoří nejčastěji jednu růžici a trend počtu růžic postupně klesá. K porovnání výsledků vlivu počtu růžic na klíčení semen nebyla nalezena vhodná literatura.

6.2.3. Vliv výšky stvolu na klíčení semen

Při statistickém porovnávání výšky stvolu a klíčících semen se zahrnutými abnormálně klíčícími semeny nedošlo k prokázání signifikantního vlivu. Jednotlivé výšky stvolu neobsahovaly stejné, nebo alespoň obdobné počty opakování, což mohlo negativně ovlivnit výsledek. Kindlmann a Jersáková (2006) porovnávali výšku rostliny na produkci semen druhu *Gymnadenia conopsea*. Zjistili, že velké rostliny měly vyšší produkci semen než malé. U druhu *Coeloglossum viride* spekulují, že kvůli

jeho velikosti opylovači nenašli mnoho květín, jelikož vytvořily málo semen. V jiném článku od Mooring et al. (1971) porovnávali vliv výšky na klíčení semen druhu *Spartina alterniflora*, který však nebyl prokázán. Bolmgren a Cowan (2008) porovnávali vliv výšky u dřevin, keřů, trvalek a letniček na rozvinutí květů. Zjistili, že pokud letničky a trvalky jsou vyšší rozkvetou později než je tomu u nižších jedinců stejného druhu.

6.2.4. Vliv počtu květů na klíčení semen

Počet květů na rostlině může být využit jako další parametr charakterizující fitness rostliny. Ani zde však nebyl potvrzen signifikantní vliv počtu květů na dynamiku klíčení semen. Porovnání počtu květů a tvorby semen při výzkumu použili například Kindlmann a Jersáková (2006), při zkoumání reprodukce 12 terestrických orchidejí. Středně velká květenství u druhů *Anacamptis morio* a *Dactylorhiza sambucina* měla větší produkci semen než malá a velká květenství. Jaký vliv to však mělo na klíčivost semen, však již není z literatury patrné.

Abnormálně klíčící semena při porovnávání proměnných neměla dostatečný počet opakování a nevykazovala rozdíly v klíčení semen. V některých Petriho miskách se abnormálně klíčící semena nevyskytovala nebo se vyskytovala v malém počtu. Aby práce byla přehledná a stručná, hodnoty abnormálně klíčících semen byly přiřazené do skupiny klíčící semena. Jednotlivé hodnoty abnormálně klíčících semen mohou být využité v budoucnu pro sledování trendu vývoje jednotlivých rostlin.

6.3. In vitro kultivace protokormů

Výsledky z vlastního porovnávání vlivu jednotlivých médií ještě nejsou známy. Vyhodnocení údajů proběhne až za delší časový úsek. Zkoumání vlivu různých médií na růst orchidejí in vitro provádí velké množství autorů (např. Ponert et al. 2011; Ponert et al. 2013). Rostliny, které již mají prýt a na jeho vrcholu se začínají tvořit listy, jsou přesazované do sklenic se živným médiem. Tyto sklenice jsou zakryté aluminiovou folií a umístěné na místo s 16 hodinovou fotoperiodou. Díky umělým kulturám lze pozorovat vývoj od protokormu až po dospělou rostlinu (Dykyjová 2003).

6.4. Půdní vlastnosti

Z každé plochy byly odebrány a měřeny směsné vzorky půdy. Naměřené hodnoty pH se řadí mezi středně kyselé stanoviště (dle Moravec et al. 1994) a pohybovaly se od 5,1 do 5,2. Mezi jednotlivými lokalitami nebyl významný rozdíl, nicméně třetí z nich vykazuje mírně zvýšenou hodnotu, která koreluje i se zvýšeným obsahem některých prvků (viz níže). Jacquemyn a Hutchings (2010) udávají, že se *Spiranthes spiralis* nejčastěji vyskytuje na mírně kyselých až alkalických půdách. Například v Nizozemské přírodní rezervaci Berg-hofweide dosahují hodnoty pH 6,0 až 7,5. Oproti tomu se v našem případě švihlík vyskytuje na poněkud kyselejších půdách. Měření pH bylo na Pastvišti u Fínů provedeno i v minulých letech. V roce 1987 byla zjištěna hodnota pH 5,9 a v roce 1991 byla naměřena hodnota pH 4,81 (Nesvadbová & Pivoňková 1996). Výsledky tedy neukazují trend klesání nebo stoupání hodnot, neboť námi naměřené hodnoty se nachází mezi uvedenými výsledky. Jelikož nevíme, kde přesně a jakým způsobem byly v předchozích letech odběry půdy provedené, nedokážeme přesně určit důvod rozdílných výsledků hodnot pH.

První a druhá pokusná plocha nevykazuje při společném porovnání výrazné rozdíly obsahu prvků. Plocha na mezickém (2. plocha) stanovišti má obsah prvků menší, než je tomu na suchém stanovišti. Pouze křemík, thalium, arsen a uran jsou na druhé ploše vyšší. Roleček et al. (2015) ve svém díle uvádějí, že na mezickém stanovišti se vyskytuje silnější okolní vegetační konkurence při dostatku hlavně dusíku, fosforu, vápníku a hořčičků. Obsahy prvků na třetí ploše jsou odlišné od obou předchozích. Jediná z nich vykazuje přítomnost fosforu v množství $1,2 \text{ g.kg}^{-1}$ a více než dvojnásobné množství vápníku a hořčičku (při srovnání s mezickou plochou). Roleček et al. (2015) ve svém díle uvádějí, že na mezickém stanovišti se vyskytuje silnější okolní vegetační konkurence při dostatku hlavně dusíku, fosforu, vápníku a hořčičku. Mezické stanoviště na lokalitě Pastviště u Fínů zmíněné chemické prvky obsahuje nejméně z testovaných lokalit, fosfor dokonce obsahuje v množství, které je pro přístroj již neměřitelné. Přesto je na ní vegetační konkurence pro *Spiranthes spiralis* největší ze zkoumaných ploch ($E_{\text{celk.}} = 98 \%$). Naopak tomu je u třetí plochy na vyprahlém stanovišti, které z naměřených hodnot vykazuje nejvyšší obsah těchto chemických prvků. Vegetační konkurence je zde nejmenší ($E_{\text{celk.}} = 60 \%$). Domnívám se, že tento rozdíl bude způsoben polohou stanoviště na lokalitě. Toto stanoviště je poměrně extrémní, neboť je zde nejnižší dostupnost vody, více se přehřívá a má mělký

půdní horizont, který dosahuje podle Matějkové et al. (2015) pouhých 10 - 15 cm. Je tedy pravděpodobné, že rostliny nezvládnou kvůli limitovanému růstu všechny živiny vyčerpat. Zvýšený obsah živin (typicky vápníku) může být vzhledem k mělkému půdnímu profilu také způsoben jejich snazším přísunem z mateřské horniny.

7. Závěr

Práce zkoumala dynamiku generativního rozmnožování vzácné orchideje *Spiranthes spiralis*. Bylo zjištěno, že biotopy s různými vláhovými režimy i jinou mírou okolní konkurence nemají statistický vliv na klíčivost semen. Neprůkazný výsledek vyšel i u výšky stvolu a počtu květů. Naopak u rostlin, které měly tři růžice, byla prokázána produkce semen s lepší klíčivostí, nežli u rostliny s jednou růžicí. Jelikož rostliny se třemi růžicemi měly menší počet opakování, bylo by zajímavé v budoucnu tento pokus zopakovat a zjistit, jestli se výsledky budou shodovat anebo lišit. Semena vykazovala dynamiku klíčení vhodnou pro další kontrolovatelné zkoumání v laboratorních podmínkách.

Účastí na monitoringu ohrožené orchideje švihlíku krutiklas jsem poznala jeho přirozené stanoviště výskytu. Díky této zkušenosti a poznání jednotlivých rostlin si nyní dokážu lépe představit například vliv stanovištních podmínek na jeho životní cyklus.

V této práci byly započaty dva dlouhodobé pokusy. Jejich dalšímu provádění a vyhodnocování bych se chtěla nadále věnovat v diplomové práci. V diplomové práci se hodlám zabývat nejen švihlíkem krutiklasem z Pastviště u Fínů, ale také jedinci z druhé lokality v ČR, ze Švařce. Jelikož se na obou lokalitách spolu se švihlíkem krutiklasem vyskytuje i vstavač kukačka (*Anacamptis morio*), bude výzkum v diplomové práci věnován i tomuto druhu.

8. Seznam literatury

Literární zdroje:

Bečvářová P.H. (2020): Neviditelný glomalin prospívá půdě. – Praha, Vesmír 99: 94–95.

Beneš M. (2010): Izolace a identifikace orchideoidních mykorhizních hub a symbiotické/asymbiotické klíčení semen terestrických orchidejí in vitro. – [Bakalářská práce; in České Budějovice, Jihočeská univerzita, Přírodovědecká fakulta]

Bolmgren K. & Cowan P. D. (2008): Time - size tradeoffs: a phylogenetic comparative study of flowering time, plant height and seed mass in a north-temperate flora. – Oikos 117: 424–429.

Brabec J.; Křenová Z.; Nesvadbová J. (2004): Švihlík krutiklas - pozoruhodný druh květeny ČR. – Praha, Živa 5: 209–201.

Brabec J., Ipsler Z., Jersáková J., Malinová T., Balounová Z., Plesková L., Somol V., Brabec J., Krinke L., Štefánek M., Nesvadbová J. (2011): Populační dynamika, energetická náročnost kvetení a přežívání švihlíku krutiklasu (*Spiranthes spiralis*) na tradičně obhospodařované lokalitě „NPP Pastviště u Fínů“. – Praha, Příroda 31: 185–200.

Brabec J. (2019): Jarní a podzimní monitoring a mapování švihlíku krutiklasu (*Spiranthes spiralis*) v NPP Pastviště u Fínů. Zprávy a materiály/2019. – Český svaz ochránců přírody 13/18 základní organizace Silvatica.

Brundrett M. C., Scade A., Batty A. L., Dixon K. W. Sivasithamparam K. (2003): Development of in situ and ex situ seedbaiting techniques to detect mycorrhizal fungi from terrestrial orchid habitats. – Mycological Research 107: 1210–1220.

Čech L., Šumpich J., Zabloudil V. a kol. (2002): Jihlavsko. In: Mackovčín P., Sedláček M. [eds]: Chráněná území ČR, svazek VII. – Agentura ochrany přírody a krajiny ČR a EkoCentrum Brno, Praha.

Dykyjová D. (2003): Ekologie střeoevropských orchidejí. – KOPP, České Budějovice.

- Grulich V. & Chobot K. [eds] (2017): Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Cévnaté rostliny. – Praha, Příroda 35.
- Hroník P. (2014): Lesní vegetace vrchu Voskop v Českém krasu. – Ms. [Diplom. práce, depon in: ČZU, FLD, Praha.]
- Ipsler Z. (2012): Vliv biotických a abiotických faktorů na populační dynamiku kriticky ohroženého druhu *Spiranthes spiralis*. – Ms. [Diplom. práce, depon in: Zf JU, České Budějovice.]
- Jacquemyn H. & Hutchings M.J. (2010): Biological Flora of the British Isles: *Spiranthes spiralis* (L.) Chevall. – Journal of Ecology 98: 1253–1267.
- Jersáková J. & Kindlmann P. (2004): Zásady péče o orchidejová stanoviště. – KOPP, České Budějovice.
- Juráková J. (2014): Plán péče NPP Pastviště u Fínů na období 2015-2024. – Správa CHKO Český Les.
- Kindlmann P. & Jersáková J. (2006): Effect of floral display on reproductive success in terrestrial orchids. – Folia Geobotanica 41: 47–60.
- Matějková I., Nesvadbová J., Brabec J., Somol V. (2015): Vegetační změny v NPP Pastviště u Fínů v letech 1987 až 2012. – Sborník Západočeského muzea, Plzeň, Příroda 119: 5–59.
- Mejstřík M. (2018): Lesní vegetace lokality Za Lípou v chráněné krajinné oblasti Český kras. – Ms. [Diplom. práce, depon in: ČZU, FLD, Praha.]
- Mooring M. T., Cooper A. W., Seneca E. D. (1971): Seed Germination Response and Evidence for Height Ecophenes in *Spartina alterniflora* from North Carolina. – American Journal of Botany 58: 48–55.
- Moravec J. et al. (1994): Fytocenologie. – Academia, Praha.
- Nesvadbová J., Sofron J., Vondráček M. (1989): Die Vegetation des geschützten Naturgebildes Weide „U Fínů“ (Südwestböhmen, Gebiet von Sušice). – Západočeské muzeum Plzeň, Plzeň.

Nesvadbová J. & Pivoňková L. (1996): Monitoring populace *Spiranthes spiralis* (L.) Chevall. na trvalých plochách v národní přírodní památce Pastviště u Fínů. – Praha, Příroda 6: 95–104.

Nesvadbová J., Brabec J., Matějková I., Křenová Z. (2003). Populační biologie *Spiranthes spiralis* (L.) Chevall. na tradičně obhospodařované lokalitě „NPP Pastviště u Fínů“. – In.: Pivničková M. (ed.) (2003): Sborník dílčích zpráv z grantového projektu VaV 610/10/00 „Vliv hospodářských zásahů na změnu v biologické rozmanitosti ve zvláště chráněných územích“. Praha, Příroda 386: 189–195.

Pešková V. (2008): Houby na kořenech lesních dřevin Mykorrhizy. Příloha Lesnické práce 12. Dostupné z: http://www.silvarium.cz/images/letaky-los/2008/2008_houby.pdf

Pikorová M. (2011): Vliv mykorrhizy na tvorbu sekundárních metabolitů u rostlin. – Ms. [Bak. práce, depon in: PŘF UK, Praha.]

Ponert, J., Vosolsobě, S., Kmecová, K., Lipavská, H. (2011): European orchid cultivation—from seed to mature plant. — European Journal of Environmental Sciences 1: 95–107.

Ponert J., Figura T., Vosolsobě S., Lipavská H., Vohník M., Jersaková J. (2013): Asymbiotic germination of mature seeds and protocorm development of *Pseudorchis albida* (Orchidaceae) are inhibited by nitrates even at extremely low concentrations. – Botany 91: 662–670.

Ponert J. (2016): Jak rostou orchideje ze semen. Praha, Živa 4: 168–171.

Procházka F. & Velíšek V. (1983): Orchideje naší přírody. – Academia, Praha.

Procházka F. (2010): *Spiranthes* L. C. M. Richard – švihlík. – In: Štěpánková J., (ed.): Květena ČR 8, Academia, Praha, 482–483.

Průša D. (2019): Orchideje České republiky (2. rozšířené vydání). – CPres, Brno.

Rasmussen H. N. & Wigham D.F. (1993): Seed Ecology of Dust Seeds in Situ: A New Study Technique and Its Application in Terrestrial Orchids. – American Journal of Botany 80: 1374–1378.

Rasmussen H. N. (1995): Terrestrial orchids, from seed to mycotrophic plant – Cambridge University Press, Great Britain.

Roleček J., Hájek M., Karlík P., Novák J. (2015): Reliktní vegetace na mezických stanovištích. – Praha, Zprávy České botanické společnosti 50: 201-245.

Smith S.E. & Read D.J. (2008): Mycorrhizal symbiosis, third edition. – Academic Press, New York.

Stroh, P.A. (2014): *Spiranthes spiralis* (L.) Chevall. Autumn Ladies-tresses. – Species Account, Botanical Society of Britain and Ireland.

Stuppy W.: Orchid seeds: Nature's tiny treasures. – In: Royal Botanic Gardens, Kew [online]. Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew, [cit. 25.9.2019]. Dostupné z: <https://www.kew.org/read-and-watch/discovering-new-orchids>

Swarts, N. D. & Dixon, K. W. (2009): Terrestrial orchid conservation in the age of extinction. – Annals of botany 104: 543–556.

Šmiták J. (2019): Ústní sdělení. Předseda Orchidea klubu Brno.

Zotz G. (2012): The systematic distribution of vascular epiphytes – a critical update. – Botanical Journal of the Linnean Society 171: 453-481.

Internetové zdroje:

Agentura ochrany přírody a krajiny České republiky. Druhová ochrana [online databáze]. Praha: © 2019 AOPK ČR [cit. 07.12. 2019]. Dostupné z: <http://www.ochranaprirody.cz/druhova-ochrana/>

Agentura ochrany přírody a krajiny České republiky. Lokality, Národní přírodní památka Pastviště u Fínů [online databáze]. Praha: © 2020 AOPK ČR [cit. 21.02.2020]. Dostupné z: <http://www.ochranaprirody.cz/lokality/?idmzchu=909>

Agentura ochrany přírody a krajiny České republiky. Lokality, Národní přírodní památka Švařec [online databáze]. Praha: © 2020 AOPK ČR [cit. 21.02.2020]. Dostupné z: <http://www.ochranaprirody.cz/lokality/?idmzchu=943>

Botanický ústav AV ČR. v.v.i., Oddělení mykorhizních symbióz [online], Botanický ústav AV ČR, v.v.i., Copyright 2016, [cit. 28.12.2019]. Dostupné z:

<https://www.ibot.cas.cz/mykosym/orch.html>

HiMedia Laboratories Pvt [online]: Product information: Orchid Maintenance Medium. HiMedia Laboratories Pvt. India. Copyright @ 2012 HiMedia Laboratories. [cit. 16.05.2020]. Dostupné z: <http://himedialabs.com/TD/PT055.pdf>

Maloplošná zvláště chráněná území (MZCHÚ), Pastviště u Fínů [online]. AOPK ČR, © T-MAPY spol. s r.o. [cit. 21.02.2020]. Dostupné z:

https://drusop.nature.cz/ost/chrobjekty/zchru/index.php?SHOW_ONE=1&ID=909

Maloplošná zvláště chráněná území (MZCHÚ), Švařec [online]. AOPK ČR, © T-MAPY spol. s r.o. [cit. 21.02.2020]. Dostupné z:

https://drusop.nature.cz/ost/chrobjekty/zchru/index.php?SHOW_ONE=1&ID=943

Mapy.cz [online]. © Seznam.cz, a.s., 2020, © TopGis 26.08.2016. [cit. 25.05.2020]. Dostupné z: <https://mapy.cz/s/jomebasegu>

Meteobox [online]. Meteobox: zdroj dat yr.no, © 2000 - 2020 AliaWeb, spol. s r.o. [cit. 03.03.2020]. Dostupné z: <https://meteobox.cz/susice-3/statistiky/>

Plant Biotechnology [online]: BM-1 | Terrestrial Orchid Medium incl. Sucrose. Phygenera® is a registered trademark of dephyte. Plant Biotechnology [cit. 25.03.2020]. Dostupné z: <https://phygenera.de/Terrestrial-Orchid-Medium>