

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: B4106 Zemědělská specializace

Studijní obor: Biologie a ochrana zájmových organismů

Katedra: Katedra biologických disciplín

Vedoucí katedry: doc. RNDr. Ing. Josef Rajchard, Ph.D.

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Klíčivost vybraných druhů vstavačovitých rostlin na obnovených
loukách na území CHKO Bílé Karpaty.

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Jana Jersáková, Ph.D.

Konzultanti diplomové práce: RNDr. Tamara Těšitelová

Ing. Zuzana Balounová, Ph.D.

Autor: Pavel Sucháček

České Budějovice, 2013

Prohlášení

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

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě (v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Zemědělskou fakultou JU) elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích dne 12. dubna 2013

.....
Pavel Sucháček

Poděkování

Na tomto místě bych rád poděkoval především své školitelce RNDr. Janě Jersákové, Ph.D., která mě přivedla ke studiu vstavačovitých rostlin, za odborné vedení a velmi laskavý a trpělivý přístup při zpracovávání této bakalářské práce. Velký dík patří také RNDr. Tamaře Těšitelové za pomoc při zpracovávání dat a asistenci v laboratoři. Dále vyjadřuji velký dík RNDr. Ivaně Jongepierové a Mgr. Karlu Fajmonovi, díky nimž byl umožněn terénní výzkum v CHKO Bílé Karpaty. Poděkování směřuji také ke své rodině, která se postarala o dokonalé zázemí ke studiu vstavačovitých rostlin.

Za rozličnou pomoc při bádání v oblasti vstavačovitých rostlin děkuji dále Bc. Tereze Holicové, Mgr. Tereze Sucháčkové a Bc. Elišce Nekvapilové.

Abstrakt

Cílem práce bylo zjištění klíčivosti osmi druhů orchidejí (*Anacamptis pyramidalis*, *Gymnadenia conopsea* subsp. *conopsea*, *Platanthera bifolia*, *Neottia ovata*, *Traunsteinera globosa*, *Orchis mascula* subsp. *speciosa*, *Orchis ustulata* subsp. *aestivalis*, *Orchis militaris*) na různě starých obnovených loukách v jihozápadní části Chráněné krajinné oblasti Bílé Karpaty. Při vyhodnocování byla zjištěna větší klíčivost u dvou druhů, u *A. pyramidalis* a *G. conopsea* oproti ostatním druhům, které klíčily velmi málo (*P. bifolia* a *O. militaris*), nebo neklíčily vůbec (*N. ovata*, *T. globosa*, *O. mascula*, *O. ustulata*). Zároveň bylo zmapováno území v blízkosti obnovených luk z důvodu možné přítomnosti zdroje orchidejových semen.

Klíčová slova: Orchidaceae, klíčivost orchidejí, Bílé Karpaty, obnovené louky

Abstract

The aim of this thesis was to examine the germination of eight orchid species (*Anacamptis pyramidalis*, *Gymnadenia conopsea* subsp. *conopsea*, *Platanthera bifolia*, *Neottia ovata*, *Traunsteinera globosa*, *Orchis mascula* subsp. *speciosa*, *Orchis ustulata* subsp. *aestivalis*, *Orchis militaris*) on restored meadows of various ages in the southwest of the White Carpathians protected landscape area. During the evaluation, it was discovered that two species (*A. pyramidalis* and *G. conopsea*) had better germination than other species which germinated insufficiently (*P. bifolia* and *O. militaris*) or they didn't germinate at all (*N. ovata*, *T. globosa*, *O. mascula*, *O. ustulata*). Also the area around the restored meadows was mapped because of the potential orchid seed source for the research area.

Keywords: Orchidaceae, seed germination, White Carpathian, restored meadows

Seznam zkratk použitých v textu

AP	<i>Anacamptis pyramidalis</i>
GC	<i>Gymnadenia conopsea</i>
OMi	<i>Orchis militaris</i>
OMa	<i>Orchis mascula</i>
NU	<i>Neotinea ustulata</i>
NO	<i>Neottia ovata</i>
TG	<i>Traunsteinera globosa</i>
PB	<i>Platanthera bifolia</i>
CHKO BK	Chráněná krajinná oblast Bílé Karpaty

Obsah

1. LITERÁRNÍ ÚVOD	9
1.1 Čeleď Orchidaceae, základní popis	9
1.2 Mykorhizní symbióza	10
1.3 Orchideoidní mykorhizní symbióza (OM)	12
1.4 Houboví symbionti orchidejí	13
1.5 Klíčení orchidejových semen	14
1.6 Semenná banka	15
1.6.1 Semenná banka u orchidejí	16
1.7 Biotopy vstavačovitých	17
1.8 Druhově bohaté bělokarpatské louky	17
1.9 Obnova bělokarpatských luk	18
1.10 Cíl práce	18
2. METODIKA	19
2.1 Základní charakteristika modelových druhů	19
2.1.1 <i>Gymnadenia conopsea</i> (L.) r. BR. – pětiprstka žežulník	19
2.1.2 <i>Traunsteinera globosa</i> (L.) Reichenb. – hlavinka horská	20
2.1.3 <i>Anacamptis pyramidalis</i> (L.) L. C. M. RICH. – rudohlávek jehlancovitý	21
2.1.4 <i>Platanthera bifolia</i> (L.) L. C. M. RICH. – vemeník dvoulistý	22
2.1.5 <i>Orchis militaris</i> (L.) – vstavač vojenský	24
2.1.6 <i>Neotinea ustulata</i> (L.) – vstavač osmahlý	25
2.1.7 <i>Orchis mascula</i> (L.) – vstavač mužský	26
2.1.8 <i>Neottia ovata</i> (L.) R. BR. – bradáček vejčitý	27
2.2 Charakteristika pokusných lokalit	28
2.2.1 Obnovené louky	29
2.2.2 Kontrolní louky	31
2.3 Sběr semen	33
2.4 Výsev semen pomocí rámečků na diapozitivy	33
2.5 Založení terénního pokusu	35
2.6 Hodnocení klíčivosti	36
2.7 Volný výsev semen	37
2.8 Mapování výskytu orchidejí v okolí obnovených luk	38
2.9 Statistické zpracování dat	38

3.	VÝSLEDKY	39
3.1	Průběh klíčivosti.....	39
3.1.1	Klíčení na obnovených a recentních plochách.....	39
3.2	Mapování orchidejí.....	43
4.	DISKUZE.....	45
4.1	Průběh klíčivosti u jednotlivých druhů	45
4.2	Klíčivost na obnovených a kontrolních loukách	47
4.3	Nález protokormu <i>Anacamptis pyramidalis</i>	49
4.4	Semenná banka.....	49
4.5	Mapování orchidejí.....	49
4.6	Kolonizační potenciál semen.....	50
5.	ZÁVĚR	50
6.	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	52

1. LITERÁRNÍ ÚVOD

1.1 Čeď Orchidaceae, základní popis

Vstavačovitě – Orchidaceae jsou jednou z největších a nejvíce diverzifikovaných čeledí v říši rostlin (Cribb *et al.*, 2003). Podle nedávných odhadů bylo zjištěno více než 26 tisíc druhů (Joppa *et al.*, 2011). Avšak neustálé objevování nových druhů může tímto pořadím každoročně zamíchat, protože jen u čeledi Orchidaceae se ročně objeví 100–200 nových druhů (KEW, 2012). V České republice bylo doposud zaznamenáno asi 70 druhů a poddruhů (Štěpánková *et al.*, 2010). Toto číslo však ani u nás nemusí být konečné, mnohé z našich domácích orchidejí stále čekají na své taxonomické zařazení, a také není vyloučena možnost překvapivého nálezu, především v rodě *Epipactis* (Batoušek a Kežlínek, 2012).

Vstavačovitě rostliny nalezneme téměř po celém světě. Obsadily většinu terestrických biotopů různých nadmořských výšek (Smith a Read, 2008). Těžištěm výskytu jsou však tropy a subtropy Asie, Ameriky, Afriky a Austrálie. Směrem od rovníku k pólům této diverzity rychle ubývá (Procházka, 2010). Velmi zajímavá je také jejich schopnost přizpůsobit se různým podkladům. Velké množství (zejména v tropech rostoucích orchidejí) žije epifytickým způsobem života nebo také jako liány (Smith a Read, 2008). V evropských podmínkách pak dominují především geofyty.

Orchideje se dále vyznačují specifickou adaptabilitou na různé skupiny opylovačů. Nejčastějšími opylovači orchidejí jsou zástupci blanokřídlého hmyzu, motýli a dvoukřídlý hmyz. Další unikátností v této čeledi je pak tvorba orchideoidní mykorhizní symbiózy, bez které se orchideje v přírodních podmínkách neobejdou.

Orchideje jsou jednou z nejohroženějších skupin v říši rostlin. Jsou to často druhy endemické, závislé na podmínkách daných oblastí. Především úbytek přirozených biotopů a ústup od tradičního hospodaření způsobily značný ústup orchidejí z krajiny. V České republice je to především problém s intenzifikací zemědělství a lesnictví v 50. letech minulého století, kdy se začaly ve velkém měřítku rozorávat meze a nivní louky, listnaté lesy byly často vykáceny a nahrazeny monokulturami smrkových porostů. Mokřadní biotopy, rašeliniště či prameniště byly vytěženy nebo odvodněny. V současné době je úbytek orchidejí způsoben především nadměrným hnojením květnatých luk a pastvin minerálními hnojivy, vymizením

jejich tradičního obhospodařování formou pastvy drobných stád ovcí a koz. Upustilo se také od pravidelného sečení biomasy, vyhrabávání stařiny apod.

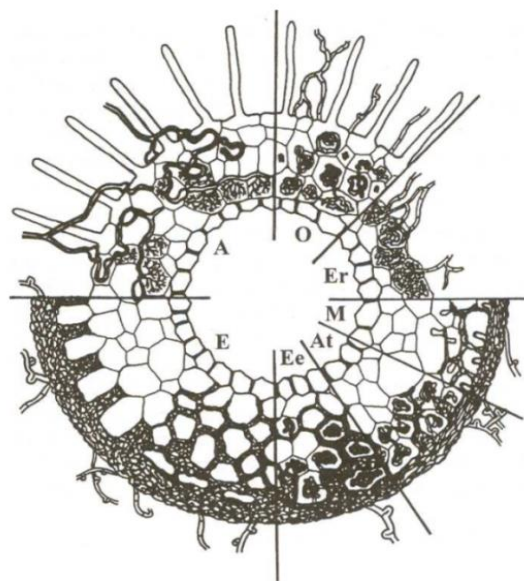
Vstavačovitě jsou přitom rostliny všeobecně ohrožené vyhynutím. Základním předpokladem pro jejich účinnou ochranu je mít co nejpodrobnější údaje o jejich biologii. Důležitá je znalost jejich ekologických nároků, fyziologie, fenologických fází, procesů klíčení a jiných důležitých faktorů, které by nám měly dopomoci pro úspěšnou záchranu těchto ohrožených rostlin (Jersáková a Kindlmann, 2004).

1.2 Mykorhizní symbióza

Mykorhizní symbióza, neboli soužití rostlin s některými druhy hub (s jejím podhoubím), je v přírodě široce rozšířená (Gryndler, 2004). Bylo zjištěno, že téměř 92 % všech druhů vyšších rostlin vytváří mykorhizní symbiózu (Wang a Qiu, 2006).

Mykorhizní symbiózu tvoří několik tříd z říše hub. Jsou to houby ze skupiny Basidiomycota, Ascomycota a Glomeromycota (Smith a Read 2008). Tyto houby se můžou v půdě vyskytovat souběžně, tvoří tak jakési společenstvo. Vlákná těchto hub však nekolonizují celý kořen, ale pouze primární kůru, kořenovou kůru a rhizodermis (Gryndler, 2004).

Mykorhizní symbiózu dělíme podle způsobu kolonizace kořene na dva typy a kombinaci těchto dvou typů, tedy na „endomykorhizní typy“ a „ektomykorhizní typy“. Kombinaci těchto dvou typů pak tvoří „ektendomykorhizní typy“ symbiózy (Gryndler, 2004). Přehled typů zobrazuje příčný průřez (obr. 1).



Obr. 1 Typy mykorhiz znázorněné v příčném řezu. A – arbuskulární mykorhiza, O – orchideoidní mykorhiza, Er – erikoidní mykorhiza, M – monotropoidní mykorhiza, At – arbutoidní mykorhiza, Ee – ektendomykorhiza, E – ektomykorhiza. Převzato z Gryndler, 2004.

Endomykorhizní typ symbiózy, charakteristický průnikem mykorhizní houby do vnitřního prostoru kořene hostitele, se pak dělí na další podtypy (Gryndler, 2004):

a) Arbuskulární mykorhizní symbióza (AM) – je velmi významným typem, jelikož ji nalezneme u většiny cévnatých rostlin. Smith a Read (2008) ji

uvádějí až u 80 % druhů. AM tvoří houby z oddělení Glomeromycota. Vytvářejí charakteristické útvary zvané arbuskuly. Ty jsou tvořeny tlustými hyfami, které vypouštějí do buněk typické vidličnatě větvené útvary (Gryndler, 2004).

b) Erikoidní mykorhizní symbióza (EM) je specifický druh symbiózy charakteristický pro řád Ericales (vřesovcotvaré). Jejím typickým prostředím jsou kyselé biotopy. Kořeny těchto rostlin postrádají kořenové vlášení, jehož funkci nahrazují mycelia symbiotických hub. Hyfy hub kolonizují buňky rhizodermis, případně pronikají do nejsvrchnějších vrstev primární kůry. Typickým útvarem pro ER je tvorba smotků houbových hyf (velmi podobná u orchideoidní mykorhizy). Vyznačuje se však kolonizací jinými druhy mykorhizních hub (Gryndler, 2004).

c) Orchideoidní mykorhizní symbióza (OM) – Jedná se o typ mykorhizy nacházející se pouze u čeledi Orchidaceae. Má zásadní význam pro životní cyklus všech orchidejí. Anatomickou zvláštností typickou pro OM je tvorba klubíček hyf (pelotonů), které se dál vyvíjejí uvnitř buněk primární kůry (Gryndler, 2004).

Druhým typem je **ektomykorhizní symbióza (ECM)**, která se vyznačuje přítomností mykorhizních hub pouze v mezibuněčných prostorech, hyfy nikdy nevstupují do buněk. ECM je typická pro většinu stromů a keřů zejména v oblastech mírného pásma a lesích boreálního typu (Smith a Read, 2008).

Poslední typ tvoří kombinaci dvou výše zmíněných a je označována jako **ektendomykorhizní typ symbiózy**. Patří sem arbutoidní mykorhizní symbióza a monotropoidní mykorhizní symbióza (Gryndler, 2004).

Arbutoidní mykorhizní symbiózu najdeme u některých rostlin z řádu Ericales (Zak, 1974; Molina a Trappe, 1982). Mezi symbiotické houby patří někteří zástupci oddělení Basidiomycota a Ascomycota, kteří na povrchu kořene vytvářejí Hartigovu síť a dále se šíří do rhizodermis a kořenové kůry (Gryndler, 2004).

Monotropoidní mykorhizní symbióza je charakteristická pro podčeleď Monotropoidea (čeleď Ericaceae), která je tvořena převážně fotosynteticky neaktivními druhy. Tyto druhy jsou výhradně závislé na výživě skrze symbiotické houby. Mykorhizní houby tvořící monotropoidní symbiózu tvoří hyfový plášť a Hartigovu síť. Do vnitřního prostoru pak prostupují malé hyfové výrůstky („kolíčkovitá haustoria“, Mejstřík, 1988), které jsou pro tento typ mykorhizy charakteristickým ukazatelem. Další zajímavostí u tohoto typu mykorhizy je tvorba antibiotických látek, které zajišťují houbě konkurenční výhody oproti jiným půdním organismům (Gryndler, 2004).

1.3 Orchideoidní mykorhizní symbióza (OM)

Orchideoidní mykorhiza je specifickým druhem mykorhizy v říši rostlin. Je typická pouze pro čeleď Orchidaceae. Řadíme ji k endomykorhiznímu typu (Gryndler, 2004; Rasmussen, 2009). Pro jedince této čeledi je soužití s mykorhizními houbami důležitým faktorem, bez kterého nemůžou v přírodních podmínkách přežít (Gryndler, 2004).

Orchideoidní mykorhiza se dělí na dva základní morfotypy. Prvním typem je tolypofágní forma, která je nejrozšířenější a je typická pro většinu vstavačovitých rostlin. Tolypofágní forma je charakteristická vytvářením pelotonů houbových hyf. Druhý typ je mnohem méně rozšířený a je známý pouze u několika nezelených druhů tropických orchidejí. Rozdíl mezi těmito dvěma typy je ve způsobu prorůstání hyf. Ptyofágní forma také tvoří pelotony, ale oproti tolypofágní formě v mnohem menším množství, a navíc se pelotony nacházejí jen na nejsvrchnějších buňkách primární kůry. V hlubších vrstvách primární kůry se již pelotony nevyskytují, jsou zde jen tzv. vchlípené hyfy (Gryndler, 2004).

Pelotony se nacházejí ve všech stádiích rostliny, vyskytují se jak u klíčících semenáčů, tak v kořenech dospělých jedinců a plní funkci přenosu živin mezi houbou a rostlinou. Po určité době spustí rostlina lýzi pelotonů, což je považováno za obrannou reakci rostliny (Smith a Read, 2008). Tato lýze je nejspíše důležitým prvkem ve výživě rostliny (Rasmussen a Whigham, 2002). Dodnes se však uvádí možnost, že celkové zhroucení pelotonů nemusí být způsobeno aktivitami rostlinných buněk, nýbrž se může jednat o autolýzu hub samotných (Gryndler, 2004). Další možností může být přenos přes membránu živých pelotonů, tedy mutualistického soužití (Cameron *et al.*, 2006). Byly také vyizolovány řady fungicidních látek, k nejznámějším patří hydroxyderiváty 9,10-dihydrofenanthrenu známé jako hircinol a orchinol (Gäumann *et al.*, 1960), které plní funkci omezování houbové infekce rostlinou (Hu a Huang, 1994).

Semena orchidejí jsou velmi drobná a neobsahují téměř žádné zásobní látky. Při klíčení jsou tedy plně závislé na získávání uhlíkatých látek, živin a vody od mykorhizních hub (Rasmussen, 1995).

V souvislosti s životními strategiemi a stanovištěm výskytu byly u zelených orchidejí zkoumány dva způsoby získávání energie, a to autotrofie, kdy je rostlina

schopna získávat veškeré uhlíkaté látky fotosyntetickou asimilací přímo ze vzduchu anebo kombinací výživy, mixotrofií, kdy rostlina získává část uhlíku z fotosyntézy a část z mykorhizních hub pomocí heterotrofie. Mixotrofní a mykoheterotrofní druhy rostou často na stanovištích s nižším osvětlením, tímto tedy kompenzují nedostatek uhlíkatých látek získaných od mykorhizní houby (Gebauer a Meyer, 2003). Kromě těchto v dospělosti zelených druhů se vyvinuly i druhy, které jsou nezelené a postrádají fotosyntetický aparát i v dospělosti. Tyto druhy zcela závislé na houbové výživě se označují jako druhy mykoheterotrofní (Leake *et al.*, 1994).

1.4 Houboví symbionti orchidejí

Většinu symbiotických hub s OM tvoří zástupci saprotrofně žijících hub, polyfyletické skupiny rhizoctonia, která patří do oddělení Basidiomycota (Gryndler, 2004). Dále se skupina rhizoctonií dělí do tří základních skupin – Sebacinales, Ceratobasidiaceae a Tulasnellaceae, jedná se o orchideoidní mykorhizní houby.

Čeledě Tulasnellaceae a Ceratobasidiaceae náležející k řádu Cantharellales tvoří skupiny s nejbohatším zastoupením orchideoidních mykorhizních hub (Otero *et al.*, 2007). Většina zástupců těchto čeledí jsou saprotrofní druhy, které se pojí převážně s epifytickými druhy orchidejí, ale také s terestrickými druhy z lučních biotopů.

Poměrně netypickým řádem ze skupiny rhizoctonia se zdá být řád Sebacinales, který byl rozdělen na dvě hlavní skupiny lišící se svou ekologií (Weiss *et al.*, 2004). První skupina byla vyizolována z MH (Selosse *et al.*, 2002) a MX druhů orchidejí (Selosse *et al.*, 2004) a mimo OM byla také izolována z ECM různých druhů dřevin (Selosse *et al.*, 2002). Druhou skupinou jsou pak saprotrofní druhy hub pojící se s OM s autotrofními druhy orchidejí (Weiss *et al.*, 2004), které ale tvoří také erikoidní mykorhizu či žijí endofyticky v kořenech různých druhů rostlin (Selosse *et al.*, 2007).

Další skupinou hub, které se často vyskytují u OM, jsou houby typické spíše pro ECM, a to především z oddělení Basidiomycota – Agaricomycetes (Agaricales, Cantharellales, Russulales, Hymenochaetales, Sebacinales, Thelephorales), ale také houby z oddělení Ascomycota – Pezizomycetes (Pezizales). Tyto houby jsou charakteristické pro temperátní druhy MH a MX orchidejí (Dearnaley *et al.*, 2012).

Selosse *et al.* (2004), který zkoumal lesní druh *Epipactis microphylla* uvádí jako možnosti posunu k ektomykorhizním houbám fakt, že ECM houby mají

stabilnější zdroje uhlíkatých látek než saprofytické houby. Jako další možnost uvádí horší dostupnost rhizoctonií v lesních společenstvech nebo snazší přístup k produktům fotosyntézy stromů právě přes ECM. Toto předávání uhlíkatých látek je všeobecně přisuzováno řadě nezelených orchidejí, ovšem jsou i výjimky, které parazitují pouze na saprotrofních houbách.

1.5 Klíčení orchidejových semen

O semenech čeledi vstavačovitých je všeobecně známo, že jsou velmi malá oproti jiným čeledím rostlinné říše. Snad jen spolu s rodem *Voyria* z čeledi Gentianaceae se řadí mezi nejmenší semena vůbec. Hmotnost semen se pohybuje v rozmezí hodnot 0,31 µg – 24 µg (Leake, 1994; Arditti a Ghani, 2000). Semena obsahují pouze velmi malý zárodek, který je obklopen o semením (testou). Embrya obsahují jen minimum zásobních látek, proto je klíčení nemožné bez výživy skrze mykorhizní houby (Rasmussen, 1995; Smith a Read, 2008). I přes minimum zásobních látek se tato strategie jeví jako poměrně výhodná. Orchideje vyhledávají specifické podmínky biotopů s přítomností mykorhizní houby. Díky malým rozměrům, minimální hmotnosti a velkému počtu se můžou semena orchidejí anemochoricky šířit krajinou (Smith a Read, 2008; Devey, 2008).

Semena procházejí v přírodních podmínkách několika fázemi klíčení. U většiny druhů orchidejí nejprve probíhá vstřebávání vody, poté embryo nabobtná, ztrácí pigmentovaný obal a zvětšuje svůj objem. Embryo získává kulovitý tvar a často produkuje rhizoidy. V případě přítomnosti vhodné mykorhizní houby může dojít ke kolonizaci a dalšímu růstu (Smith a Read, 2008). Naopak u druhu *Corallorhiza trifida* je přítomnost mykorhizní houby nutná k počáteční iniciaci klíčení (McKendrick *et al.*, 2000).

Unikátností u OM je mykorhizní útvar zvaný protokorm, který vzniká z klíčícího embrya. Nejprve se vytvářejí vlásky (rhizoidy), které rostou přímo z protokormu. Z protokormu dále vyrůstá prýt, který vytvoří nejprve nadzemní orgány – listy a druhotně až adventivní kořeny, u hlíznatých druhů je to stolon s první hlízou (Raghavan a Goh, 1994).

Ne vždy však dochází k úspěšnému založení symbiózy. Rasmussen (1995) popsala několik možností při interakci semen se symbiotickými houbami.

- 1 – vznik mykorhizní interakce a následné tvorby houbových pelotonů
- 2 – degradace semene vlivem parazitace houby

3 – odmítnutí houbového symbionta

Mykorrhizní houby jsou tedy klíčové pro růst vstavačovitých rostlin, nicméně o jejich rozšíření v přírodních podmínkách se toho moc neví, avšak bude nejspíše značně nesouvislé (Diez, 2007). Klíčivost je také ovlivněna frekvencí výskytu symbiotických hub v půdě či množstvím opadu na povrchu půdy (McCormick *et al.*, 2012).

Klíčení ovlivňuje i vzdálenost semen od dospělých jedinců. Diez (2007) zkoumal klíčivost v různých vzdálenostech (5, 10, 20 a 100 cm) od dospělců a zjistil, že čím jsou semena vzdálenější od dospělých rostlin, tím se klíčivost snižuje. Kromě přítomnosti symbiotické houby jsou však důležité i jiné faktory. Batty *et al.* (2001) zjistili pozitivní korelaci klíčivosti semen u *Caladenia arenicola* v závislosti na draslíku a organické hmotě v půdě, avšak tento fakt může být způsoben vlivem zrnitosti půdy. Klíčení naopak negativně korelovalo s pH. Dalším důležitým faktorem je také vyšší půdní vlhkost, bez které semena vysychají a následně masivně odumírají (Rasmussen, 1995).

1.6 Semenná banka

Semenná banka je zásoba živých semen v půdě. Semena zpravidla po dozrání dopadávají na povrch půdy. Tato semena mohou začít klíčit, nebo u nich nastane klidová fáze, jež přečká nepříznivé období. Během této klidové fáze jsou semena součástí semenné banky (Fenner a Thompson, 2005).

Semena mají obecně různou dobu životnosti a často podléhají dormanci. Semena takto začnou klíčit až po dormantním stavu, tedy změnami vnějších podmínek (Thompson, 1979).

Semennou dormancí se myslí stav, kdy semena nevyklíčí bezprostředně po vysemenění z dospělých rostlin i přes příznivé podmínky pro klíčení. Je to nezbytná adaptace k odolávání nízkým teplotám během zimního období nebo naopak horkým a suchým podmínkám léta (Baskin a Baskin, 1998).

V průběhu let se klasifikace semenných bank velmi různila. Jako první se jimi zabývali Thompson a Grime (1979), kteří rozeznávali čtyři typy semenných bank (2 typy přechodné a 2 typy trvalé). Tato klasifikace se však jevila jako příliš nepraktická. Jednoznačnější klasifikaci uvádějí teprve Thompson *et al.* (1997), kteří semenné banky rozlišili na tři skupiny podle doby, po kterou mohou semena schopná klíčení zůstat v půdě.

- 1 – Přečodná semenná banka (semena jsou v půdě živá maximálně 1 rok)
- 2 – Krátkodobě přetrvávající semenná banka (semena jsou v půdě 1–5 let)
- 3 – Dlouhodobě přetrvávající semenná banka (semena jsou v půdě déle než 5 let)

Důležitou informací pro určení typu semenné banky je zjištění životaschopnosti semen. Životaschopnost semen se určuje dvěma způsoby – metodou přirozeně vložených semen nebo na základě pokusů s uměle vloženými semeny do půdy. Metoda přirozeně vložených semen se užívá například při odkrývání archeologických nalezišť nebo po demolici budov. Tato metoda využívá klíčivosti semen záhy po odkrytí těchto ploch. Předpokládá se, že semenáčky, které vyrůstají z takto odkrytých semen, byly po dlouho dobu pohřbené pod zemí (Bekker, 1998).

Příkladem umělého vkládání semen jsou například sítky s drobnými semeny podle Rasmussen a Whigham (1993). Sítky se semeny jsou zakopány do půdy, kde semena mohou růst v téměř přirozených podmínkách a v určitých časových intervalech mohou být z půdy zase vyjmuta. Tato vykopaná semena pak mohou být prohlédnuta pod binolupou, při čemž se zkoumá životnost embrya.

Pro studium zastoupení druhů v semenné bance se používají dvě metody:

1. Separační metoda – vzorky se semeny se vyplavují nebo vymývají pomocí sít s různým průměrem ok. Přesetá semena se pak určují pod mikroskopem pomocí srovnávacích sbírek či literatury.

2. Metoda vysévání – vzorky se semeny se nechají vyklíčit v určených podmínkách. Metoda vysévání je na rozdíl od metody separační využívána mnohem častěji. Vzorek ze semenné banky se rozprostře na sterilizovanou půdu v kultivačních nádobách, které jsou poté uloženy za předem daných podmínek (teplota, osvětlení). Vyklíčené semenáčky takto vyšetých semen se poté v pravidelných intervalech vybírají a určují. V mnoha studiích se také využívá teplotní stratifikace, kdy jsou semena uchovávána v temnu a chladu (při 4 °C). Takto narušená dormance může zapříčinit lepší klíčivost semen oproti normálnímu vysetí (Baskin a Baskin, 1998).

1.6.1 Semenná banka u orchidejí

Při studiu semenných bank u orchidejí se většina studií zaměřuje především na odolnost, životaschopnosti semen. Van der Kinderen (1995), který zkoumal dva evropské druhy *Dactylorhiza maculata* a *Epipactis helleborine*, zjistil, že životaschopnost semen v půdě dosáhla maxima po 1,5 roce. Oien *et al.* (2008)

u druhu *Dactylorhiza lapponica* zjistili životnost semenné banky 3 roky. Rasmussen *et al.* (2011) u druhu *Cypripedium calceolus* zjistili první klíčivost semen až po 4,5 letech od vysazení. Batty *et al.* (2000) zkoumal semena západoaustralských druhů orchidejí *Caladenia arenicola* a *Pterostylis sanguinea*. Většina semen buď vyklíčila nebo se rozpadla již během roku v půdě. Zelmer a Currah (1997) zkoumali severoamerický druh *Spiranthes lacera* a zjistili, že většina semen vyklíčila po roce v půdě. Většina takto prováděných studií však nebyla určena pro dlouhodobý výzkum, životnost takto zkoumaných semen může být tedy podceňována.

Dlouhodobější životaschopnost semen zaznamenali např. McKendrick *et al.* (2000) u druhu *Corallorhiza trifida*, přičemž sice většina semen vyklíčila během prvního roku, ale autoři zaznamenali životaschopnost semen i po 31 měsících po vložení do půdy. Dlouhodobou semennou banku (déle než 5 let) pak zaznamenali např. Whigham *et al.* (2006) u druhů *Liparis liliifolia*, *Tipularia discolor* a *Aplectrum hyemale*, které byly životaschopné i po sedmi letech v půdě.

Znalost semenné banky se tak zdá být důležitým faktorem pro obnovu terestrických orchidejí, většina z nich je totiž velmi vzácná a přímo ohrožená vyhynutím (Whigham a Willems, 2003).

1.7 Biotopy vstavačovitých

Orchideje tvoří nedílnou součást naší přírody. Jsou to rostliny, které přirozeně rostly v lesích, lesních světlínách, na místech narušených lavinami, požáry či zaplavovanými místech. Antropogenní vlivy, které zapříčinily rozvoj kulturní krajiny, tak zapříčinily, že mnohé druhy přesídlily na otevřená stanoviště lučních porostů a pastvin. Orchideje se tak staly indikátory tradičního hospodaření, které zvyšují rozmanitost krajiny a pomáhají tak utvářet krajinný ráz (Jersáková a Kindlmann, 2004).

1.8 Druhově bohaté bělokarpatské louky

Květnaté louky patří v současné době k nejtypičtějším prvkům vegetace Bílých Karpat. Kostrou tohoto typu vegetace jsou především graminoidy s početným zastoupením dvouděložných rostlin. Pro vegetaci je dále typické střídání aspektů během vegetační sezony a mozaikovitost s výskytem lučních, lesních a lemových, suchomilných či vlhkomilných druhů rostlin. Vysoká diverzita je tedy dána četnými

mozaikami s ostrůvky lesních porostů a křovin, mokřadní vegetací podmíněnou pramennými výchozy, ale také četnými sesuvy půdy.

Květnaté louky jsou také velmi významné kvůli značnému výskytu vstavačovitých rostlin (v Bílých Karpatech potvrzeno více jak 40 druhů), které často vyhledávají kvůli své nízké konkurenceschopnosti stanoviště s mechanicky narušovanými plochami, jako jsou pravidelně kosené louky, extenzivně obhospodařované pastviny, ale také sady. Avšak velmi negativně reagují na změny těchto stanovišť, ze kterých posléze rychle mizí. Je to především hnojení lučních porostů, intenzivní pastva dobytka apod. (Kuča *et al.*, 1992).

1.9 Obnova bělokarpatkých luk

V 70. a 80. letech minulého století byla velká část bělokarpatkých luk rozorána. Tyto louky se začaly intenzivně využívat (intenzivní pastva, meliorace, hnojení), nebo byly z důvodu špatné dostupnosti neobhospodařovány. Obě varianty však vedly k degradaci biodiverzity a jejich ekologických funkcí. Po roce 1989 se postupně začala měnit zemědělská politika, a tím bylo výrazně podporováno zpětné zatravnění orné půdy.

Zatravnění může probíhat s využitím samovolné sukcese, komerčními jetelotravními směsmi semen nebo regionálními semennými směsmi. Hlavní motivací k opětovnému zatravnění bylo zachování půdního fondu, zachování vodohospodářských funkcí, ale také navýšení původní biodiverzity těchto biotopů. Je tedy důležité, aby se ekologie obnovy zabývala obnovou bělokarpatkých travních porostů (Jongepierová *et al.*, 2008; Prach *et al.*, 2009).

Zjištění klíčivosti orchidejí na těchto plochách by mělo dopomoci k doplnění vědomostí o obnově květnatých luk, jak uvádím v kapitole níže.

1.10 Cíl práce

V práci jsem se pokusil zodpovědět následující otázky pomocí vysévacího pokusu u 8 druhů vstavačovitých rostlin, které se běžně vyskytují v Bílých Karpatech.

- 1) Jaká je klíčivost orchidejí na obnovených loukách různého stáří?
- 2) Jaká je životnost semenné banky u orchidejí?
- 3) Jaký je výskyt zkoumaných druhů v blízkosti obnovených luk?

2. METODIKA

2.1 Základní charakteristika modelových druhů

Při popisu druhů byla použita nomenklatura nejnovějšího vydání Delforgeova klíče (Delforge, 2006) s úpravami dle Bateman *et al.* (2003).

2.1.1 *Gymnadenia conopsea* (L.) r. BR. – pětiprstka žezulník

V České republice se rozlišují dva základní cytotypy z okruhu *Gymnadenia conopsea* s. l., a to *Gymnadenia conopsea* subsp. *conopsea* – pětiprstka žezulník pravá se 40 chromozomy a *Gymnadenia conopsea* subsp. *montana* s 80 chromozomy (Marhold *et al.*, 2005). Ve své práci zmíním pouze diploidní formu, kterou jsem se zabýval. *Gymnadenia conopsea* je druhem rostoucím na suchých, ale i vlhčích loukách či pastvinách. Typickými stanovišti jsou výslunné travnaté plochy či křovinaté stráně, méně často lesní lemy. Roste na půdách bazických, neutrálních i kyselých, hlinitých i mírně skeletovitých (Procházka, 2010)

Houboví symbionti pojící se s *Gymnadenia conopsea*

Gymnadenia conopsea se pojí s mykorrhizními houbami z čeledi Tulasnellaceae a Ceratobasidiaceae, dále se pojí s houbami z řádu Pezizales (*Peziza*, *Tefezia*, *Morchella*, *Geopyxis*, *Wilcoxina*). Z endofytické skupiny oddělení Ascomycota se druh pojí s rody *Exophiala*, *Fusarium*, *Leptodontium* a *Tetracladium* (Stark *et al.*, 2009).

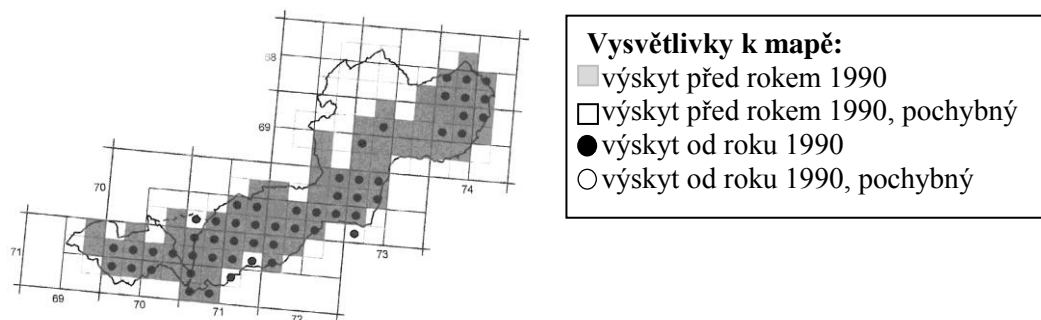
Stanoviště výskytu (Jersáková a Kindlmann, 2004)

- Mezofilní ovsíkové louky (T1.1) – *Arrhenatherion* (*Arrhenatheretum elatioris*, *Trifolio-Festucetum rubrae*)
- Horské trojštětové louky (T1.2) – *Polygono-Trisetion* (*Geranio-Trisetetum*)
- Horské smilkové trávníky s alpínskými druhy (T2.2) – *Nardo-Agrostion tenuis* (*Sileno vulgaris-Nardetum*)
- Podhorské a horské smilkové trávníky (T2.3) – *Violion caninae* (*Hyperico-Polygaletum*, *Gymnadenio-Nardetum*)
- Širokolisté suché trávníky (T3.4) – *Bromion erecti* (*Cirsio pannonicis-Seslerietum calcariae*, *Potentillo albae* – *Brachypodietum pinnati*, *Brachypodio pinnati-Molinietum arundinaceae*)
- Poháňkové pastviny (T1.3) – *Cynosurion*
- Vlhké pcháčové louky (T1.5) – *Calthion palustris*

- Střídavé vlhké bezkolencové louky (T1.9) – *Molinion caeruleae*
- Úzkolisté suché trávníky (T3.3) – *Festucion valesiaca*
- Suché bylinné lemy (T4.1) – *Geranion sanguinei (Peucedanetum cervariae)*
- Mezofilní bylinné lemy (T4.2) – *Trifolion medii (Trifolio medii-Agrimonieta)*
- Sekundární podhorská a horská vřesoviště (T8.2) – *Genistion (Arnico montanae-Callunetum)*

Rozšíření druhu v CHKO BK (obr. 2)

Gymnadenia conopsea je velmi častá na květnatých loukách po celé CHKO. (Jongepier a Jongepierová, 2006).



Obr. 2 Rozšíření pětiprstky žežulníku (*Gymnadenia conopsea*) na území CHKO BK. Převzato z Jongepier a Pechanec, 2006.

2.1.2 *Traunsteinera globosa* (L.) Reichenb. – hlavinka horská

Traunsteinera globosa je druhem vyskytujícím se na loukách, nivách či lučních prameništích. Vyhledává vlhčí, na živiny bohaté půdy. Především na vápenných, ale i slabě kyselých, humózních či kamenitohlinitých půdách (Procházka, 2010).

Houboví symbionti pojící se s *Traunsteinera globosa*:

Studie mykorhizních asociací u druhu *Traunsteinera globosa* nejsou k dispozici, ale vzhledem k tomu, že se jedná o druh vázaný na luční biotopy, předpokládá se, že se bude pojít s houbami z čeledi Tulasnellaceae a Ceratobasidiaceae.

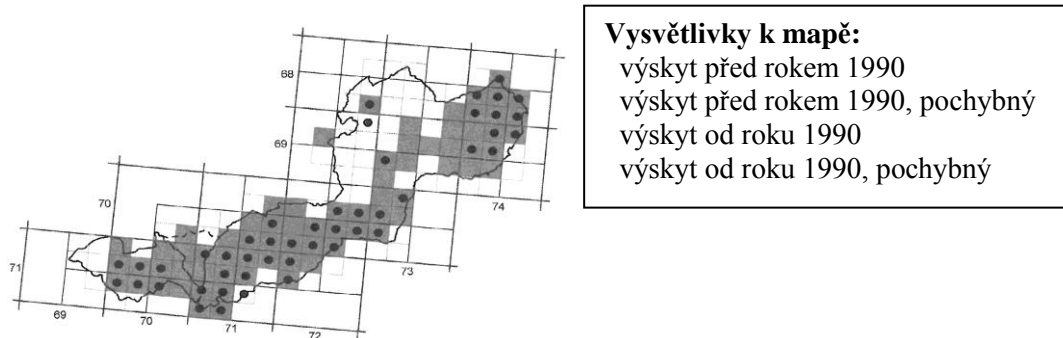
Stanoviště výskytu (Jersáková a Kindlmann, 2004)

- Mezofilní ovsíkové louky (T1.1) – *Arrhenatherion (Trifolio-Festucetum rubrae)*

- Poháňkové pastviny (T1.3) – *Cynosurion (Anthoxantho odorati-Agrostietum capillaris)*
- Širokolisté suché trávníky (T3.4) – *Bromion erecti (Brachypodio pinnati-Molinietum arundinaceae)*

Rozšíření druhu v CHKO BK (obr. 3)

Traunsteinera globosa se vyskytuje roztroušeně po celém území CHKO (Jongepier a Jongepierová, 2006).



Obr. 3 Rozšíření hlavinky horské (*Traunsteinera globosa*) na území CHKO BK. Převzato z Jongepier a Pechanec, 2006.

2.1.3 *Anacamptis pyramidalis* (L.) L. C. M. RICH. – rudohlávek jehlancovitý

Anacamptis pyramidalis je druhem rostoucím na výslunných stepních a lesostepních loukách. Často vyhledává křovinaté stráně a světlé lesy. Roste na půdách vápničných, humózních i hlinitých (Procházka, 2010).

Houboví symbionti pojící se s *Anacamptis pyramidalis*

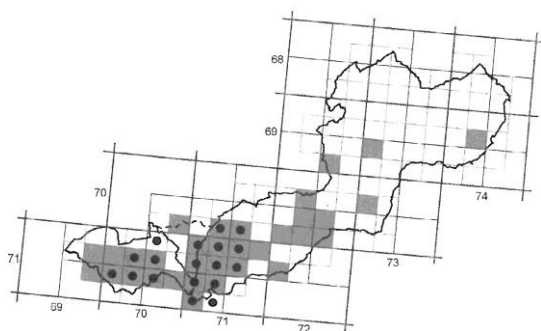
Druh se pojí s houbami z řádu Sebaciales (Weiss *et al.*, 2011) a rodem *Papulospora* (Gezgin a Eltem, 2009).

Stanoviště výskytu (Jersáková a Kindlmann, 2004)

- Širokolisté trávníky (T3.4) – *Bromion erecti (Brachypodio pinnati-Molinietum arundinaceae)*
- Mezofilní ovsíkové louky (T1.1) – *Arrhenatherion (Arrhenatherum elatioris)*
- Bazofilní teplomilné doubravy perialpidské (L6.1) – *Quercion pubescenti-petraeae (Lathyro versicoloris-Quercetum pubescentis)*

Rozšíření druhu v CHKO BK (obr. 4)

Druh se vyskytuje v jihozápadní části území s nejbohatším výskytem v NPR Čertoryje u Kněždubu (Jongepier a Jongepierová, 2006).



Vysvětlivky k mapě:

výskyt před rokem 1990
výskyt před rokem 1990, pochybný
výskyt od roku 1990
výskyt od roku 1990, pochybný

Obr. 4 Rozšíření rudohlávku jehlancovitého (*Anacamptis pyramidalis*) na území CHKO BK. Převzato z Jongepier a Pechanec, 2006.

2.1.4 *Platanthera bifolia* (L.) L. C. M. RICH. – vemeník dvoulistý

Platanthera bifolia je druhem s širokou ekologickou amplitudou. Typickými stanovišti výskytu jsou křovinaté stráně, světlé listnaté lesy, lesostepní bory, vřesoviště či bezlesé luční enklávy. Roste na půdách vlhkých, bázemi bohatých, kyselých až zásaditých, vesměs však nevápnitých humózních půdách (Procházka, 2010).

Houboví symbionti pojící se s *Platanthera bifolia*:

Platanthera bifolia se pojí s houbami z řádu Cantharellales (*Sistotrema*) a druhem *Leptodontidium orchidicola* z oddělení Ascomycota (Rasmussen, 1995). Dále s rody *Epulorhiza* (Illyés *et al.*, 2006), *Thanatephorus* (Marchisio *et al.*, 1985).

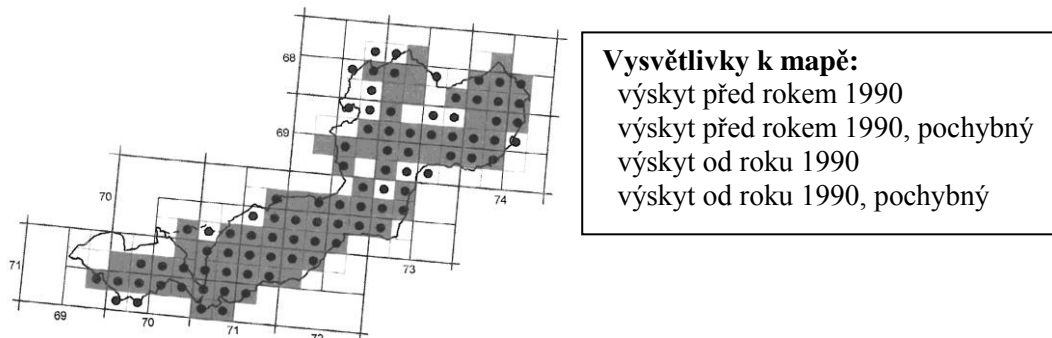
Stanoviště výskytu (Jersáková a Kindlmann, 2004)

- Mezofilní ovsíkové louky (T1.1) – *Arrhenatherion* (*Trifolio-Festucetum rubrae*)
- Poháňkové pastviny (T1.3) – *Cynosurion* (*Anthoxantho odorati-Agrostietum capillaris*)
- Podhorské a horské smilkové trávníky (T2.3) – *Violion caninae* (*Hyperico-Polygaletum, Gymnadenio-Nardetum*)
- Širokolisté suché trávníky (T3.4) – *Bromion erecti* (*Cirsio pannonici-Seslerietum calcariae, Brachypodio pinnati-Molinietum arundinaceae*)
- Dubohabřiny hercynské, karpatské, polonské a panonské (L3.1 – L3.4) – *Carpinion* (*Melampyro nemorosi-Carpinetum, Carici pilosae-Carpinetum, Tilio-Carpinetum, Primulo veris-Carpinetum*)
- Květnaté bučiny (L5.1) – *Fagion* (*Tilio platyphylli-Fagetum, Tilio cordatea-Fagetum, Carici pilosae-Fagetum, Dentario enneaphylli-Fagetum*)
- Vápnomilné bučiny (L5.3) – *Fagion* (*Cephalanthero-Fagetum*)

- Bazifilní teplomilné doubravy středoevropské a panonské teplomilné doubravy na spraši (L6.2, L6.4) – *Quercion petraea* (*Potentillo albae-Quercetum*), *Aceri tatarici-Quercion* (*Quercetum pubescenti-roboris*)
- Sekundární válečkové bory (Bazifilní teplomilné doubravy středoevropské, L6.4) – *Brachypodium pinnatum-Quercus robur* spol. (*Quercion petraeae*)
- Acidofilní teplomilné doubravy (L6.5) – *Quercion petraeae* (*Sorbo torminalis-Quercetum*)
- Suché acidofilní doubravy (L7.1) – *Genisto germanicae-Quercion* (*Luzulo albidae-Quercetum-petraeae*)
- Nálety pionýrských dřevin (X12) – spontánní nálet pionýrských dřevin (borovice, smrky, topoly, břízy apod.), které často vznikají na okrajích lesních lemů, jež nejsou zemědělsky využívány.
- Vápnitá rašeliniště (R2.1) – *Caricion davallianae*
- Horské trojštětové louky (T1.2) – *Polygono-Trisetion* (*Geranio-Trisetetum*)
- Vlhké pcháčové louky (T1.5) – *Calthion palustris* (*Calthenion: Cirsietum rivularis*)
- Střídavě vlhké bezkolencové louky (T1.9) – *Molinion caeruleae*
- Horské smilkové trávníky s alpínskými druhy (T2.2) – *Nardo-Agrostion tenuis* (*Sileno vulgaris-Nardetum strictae*)
- Acidofilní suché trávníky (T3.5) – *Koelerio-Phleion phleoidis*
- Suché bylinné lemy (T4.1) – *Geranion sanguinei*
- Mezofilní bylinné lemy (T4.2) – *Trifolion medii*
- Tvrdé luhy nížinných řek (L2.3) – *Alnion incanae* (*Ulmenion: Fraxino panninicae-Ulmetum, Fraxino-Populetum*)
- Acidofilní bučiny (L5.4) – *Luzulo-Fagion*

Rozšíření druhu v CHKO BK (obr. 5)

Platanthera bifolia je častý druh, vyskytuje se roztroušeně po celém území CHKO (Jongepier a Jongepierová, 2006).



Obr. 5 Rozšíření vemeníku dvoulistého (*Platanthera bifolia*) na území CHKO BK. Převzato z Jongepier a Pechanec, 2006.

2.1.5 *Orchis militaris* (L.) – vstavač vojenský

Orchis militaris vyhledává osluněné travnaté či křovinaté stráně, sušší louky i slatiny. Roste na bazických na živiny bohatých humózních půdách (Procházka, 1983).

Houboví symbionti pojící se s *Orchis militaris*:

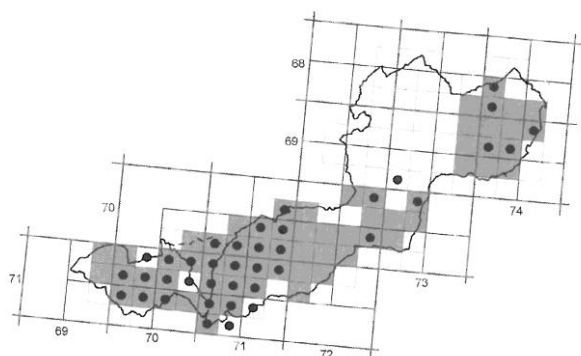
Orchis militaris se pojí s houbami z čeledi Tulasnellaceae a Ceratobasidiaceae (Jacquemyn *et al.*, 2010). S rody *Epulorhiza*, *Tulasnella*, *Tetracladium*, *Tuber* (Illyés *et al.*, 2010) *Coprinopsis*, *Cadophora*, *Fusarium* (Illyés *et al.*, 2012).

Stanoviště výskytu (Jersáková a Kindlmann, 2004)

- Širokolisté suché trávníky (T3.4) – *Bromion erecti* (*Brachypodio pinnati-Molinietum arundinaceae*, *Potentillo albae-Brachypodietum pinnati*)
- Úzkolisté suché trávníky (T3.3) – *Bromion erecti* (*Astragalo austriaci-Brachypodietum pinnati*), *Festucion valesiaceae* (*Verbasco austriaci-Inuletum ensifoliae*)
- Suché bylinné lemy (T4.1) – *Geranion sanguinei*
- Vápnitá slatiniště (R2.1) – *Caricion davallianae*
- Střídavé vlhké bezkolencové louky (T1.9) – *Molinion caeruleae*
- Bazofilní teplomilné doubravy perialpidské (L6.1) – *Quercion pubescenti-petraeae*

Rozšíření druhu v CHKO BK (obr. 6)

Orchis militaris se vykytuje na loukách a pastvinách, roztroušeně po celém území CHKO (Jongepier a Jongepierová, 2006).



Vysvětlivky k mapě:

- výskyt před rokem 1990
- výskyt před rokem 1990, pochybný
- výskyt od roku 1990
- výskyt od roku 1990, pochybný

Obr. 6 Rozšíření vstavače vojenského (*Orchis militaris*) na území CHKO BK. Převzato z Jongepier a Pechanec, 2006.

2.1.6 *Neotinea ustulata* (L.) – vstavač osmahlý

V České republice rozlišujeme 2 poddruhy, které mají podobnou morfologii a rozlišují se především dobou květu (Jersáková, 2003). Jedná se o *Neotinea ustulata* subsp. *ustulata* – vstavač osmahlý pravý a *Neotinea ustulata* subsp. *aestivalis* – vstavač osmahlý letní.

V mé práci zmíním pouze *Neotinea ustulata* subsp. *aestivalis*, který z obou taxonů v Bílých Karpatech dominuje a kterým jsem se zabýval. Druh roste na slunných až polostinných stanovištích, na suchých loukách, pastvinách, lesních lemech, křovinatých stráních či aluviích řek. Vyhledává půdy převážně hlubší, jílovité i písčité, neutrální až zásadité, převážně však na vápník bohatší půdy (Procházka, 2010).

Houboví symbionti pojící se s *Neotinea ustulata*:

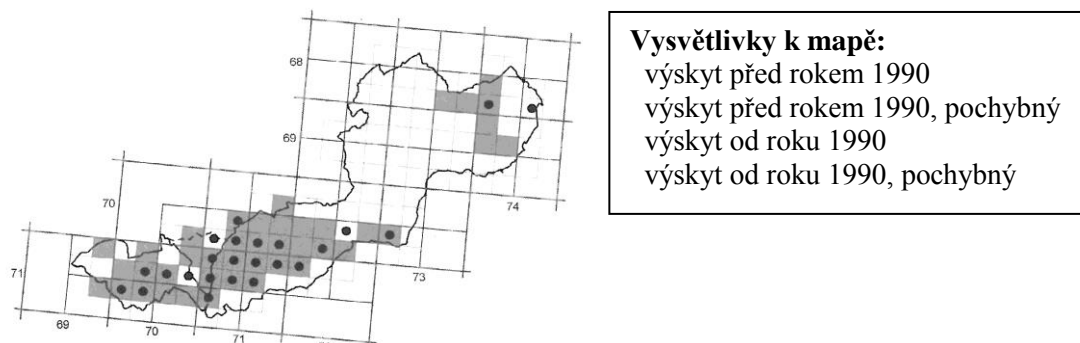
Druh *Neotinea ustulata* se pojí s mykorrhizními houbami rodu *Ceratobasidium* (Tali *et al.*, 2004).

Stanoviště výskytu (Jersáková a Kindlmann, 2004)

- Poháňkové pastviny (T1.3) – *Cynosurion* (*Anthoxantho odorati*-*Agrostietum capillaris*)
- Podhorské a horské smilkové trávníky (T2.3) – *Violion caninae* (*Thymo-Festucetum ovinae*)
- Širokolisté suché trávníky (T3.4) – *Bromion erecti* (*Brachypodio pinnati-Molinietum arundinaceae*)
- Úzkolisté suché trávníky (T3.3) – *Festucion valesiaca*
- Nízké xerofilní křoviny (K4) – *Prunion spinosae* (*Prunetum fruticosae*)
- Bazifilní teplomilné doubravy perialpidské (L6.1) – *Quercion pubescenti-petraeae* (*Pruno mahaleb-Quercetum pubescentis*)

Rozšíření druhu v CHKO BK (obr. 7)

Roztroušeně roste převážně v jihozápadní části, zřídka i v severovýchodní části CHKO (Jongepier a Jongepierová, 2006).



Obr. 7 Rozšíření vstavače osmahlého letního (*Orchis ustulata* subsp. *aestivalis*) na území CHKO BK. Převzato z Jongepier a Pechanec, 2006.

2.1.7 *Orchis mascula* (L.) – vstavač mužský

V České republice rozlišujeme 2 poddruhy:

Orchis mascula subsp. *mascula* – vstavač mužský pravý

Orchis mascula subsp. *speciosa* – vstavač mužský znamenáný

V této práci zmíním pouze *Orchis mascula* subsp. *speciosa*, který se jako jediný z obou taxonů v Bílých Karpatech vyskytuje a kterým jsem se zabýval. *Orchis mascula* subsp. *speciosa* vyhledává převážně křovinaté stráně, louky, pastviny či světlé lesy a jejich lemy. Roste na půdách suchých až vlhkých, na živiny chudých, často nevápnitých půdách (Procházka, 2010).

Houboví symbionti pojíjí se s *Orchis mascula*:

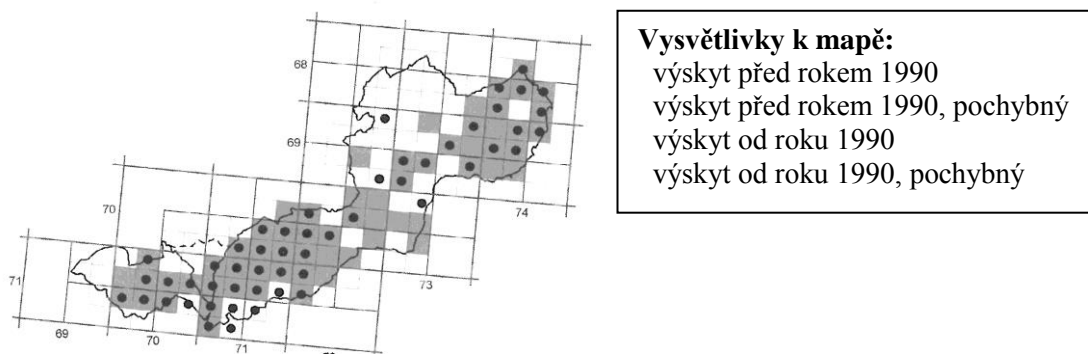
Orchis mascula tvoří OM s houbami ze skupiny Tulasnellaceae a druhem *Thanatephorus orchidicola* (Jacquemyn *et al.*, 2009).

Stanoviště výskytu (Jersáková a Kindlmann, 2004)

- Mezofilní ovsíkové louky (T1.1) – *Arrhenatherion* (*Arrhenatheretum elatioris*, *Trifolio-Festucetum rubrae*)
- Poháňkové pastviny (T1.3) – *Cynosurion* (*Anthoxantho odorati-Agrostietum capillaris*)
- Širokolisté suché trávníky (T3.4) – *Bromion erecti* (*Brachypodio pinnati-Molinietum arundinaceae*)
- Dubohabřiny polonské (L3.3) – *Carpinion* (*Tilio-Carpinetum*)

Rozšíření druhu v CHKO BK (obr. 8)

Orchis mascula subsp. *speciosa* se vyskytuje roztroušeně na pastvinách a loukách po celém území CHKO (Jongepier a Jongepierová, 2006).



Obr. 8 Rozšíření vstavače mužského znamenáného (*Orchis mascula* subsp. *speciosa*) na území CHKO BK. Převzato z Jongepier a Pechanec, 2006.

2.1.8 *Neottia ovata* (L.) R. BR. – bradáček vejčitý

Je to druh bez vyhraněné vazby na určitá společenstva. Nalezneme jej jak na lučních, tak lesních biotopech, výslunných i stinných stanovištích.

Roste na vlhkých, humózních, na živiny bohatých, slabě kyselých až silně zásaditých, lehkých i těžších půdách (Procházka, 2010).

Houboví symbionti pojící se s *Neottia ovata*:

Neottia ovata se pojí s houbami ze skupiny rhizoctonia (Rasmussen *et al.*, 1991), konkrétně s čeledí Sebacinaceae ze skupiny B, ale byly nalezeny i Tulasnellaceae a některé ektomykorhizní čeledě hub (Kotlínek, 2010).

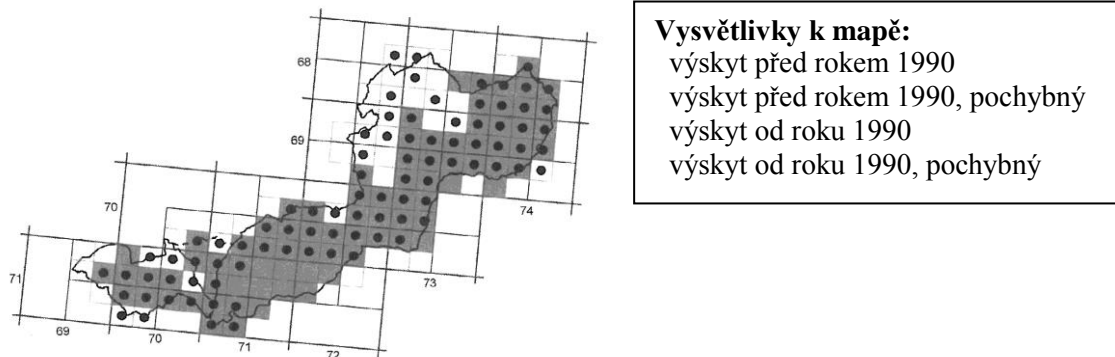
Stanoviště výskytu (Jersáková a Kindlmann, 2004)

- Mezofilní ovsíkové louky (T1.1) – *Arrhenatherion* (*Trifolio-Festucetum rubrae*)
- Horské trojštětové louky (T1.2) – *Polygono-Trisetion* (*Geranio-Trisetetum*)
- Vlhké pcháčové louky (T1.5) – *Calthion palustris* (*Calthenion*)
- Střídavě vlhké bezkolencové louky (T1.9) – *Molinion caeruleae*
- Podhorské a horské smilkové trávníky (T2.3) – *Violion caninae* (*Hyperico-Polygaletum*)
- Širokolisté suché trávníky (T3.4) – *Bromion erecti* (*Scabioso ochroleucae-Brachypodietum pinnati*, *Brachypodio pinnati-Molinietum arundinaceae*)

- Údolní jasanovo-olšové luhy (L2.2) – *Alnion incanae* (*Alnenion-incanae*: *Pruno-Fraxinetum*, *Stellario-Alnetum glutinosae*, *Carici remotae-Fraxinetum*)
- Tvrdé luhy nížinných řek (L2.3) – *Alnion incanae* (*Ulmenion*: *Quercu-Ulmetum*, *Fraxino pannonicae-Ulmetum*)
- Dubohabřiny hercynské, karpatské a polonské (L3.1 – L3.3) – *Carpinion* (*Melampyro nemorosi-Carpinetum*, *Carici pilosae-Carpinetum*, *Tilio-Carpinetum*)
- Luční pěnovcová prameniště (R1.1) – *Caricion davallianae*
- Vápnitá slatiniště (R2.1) – *Caricion davallianae*
- Mezofilní bylinné lemy (T4.2) – *Trifolion medii*

Rozšíření druhu v CHKO BK (obr. 9)

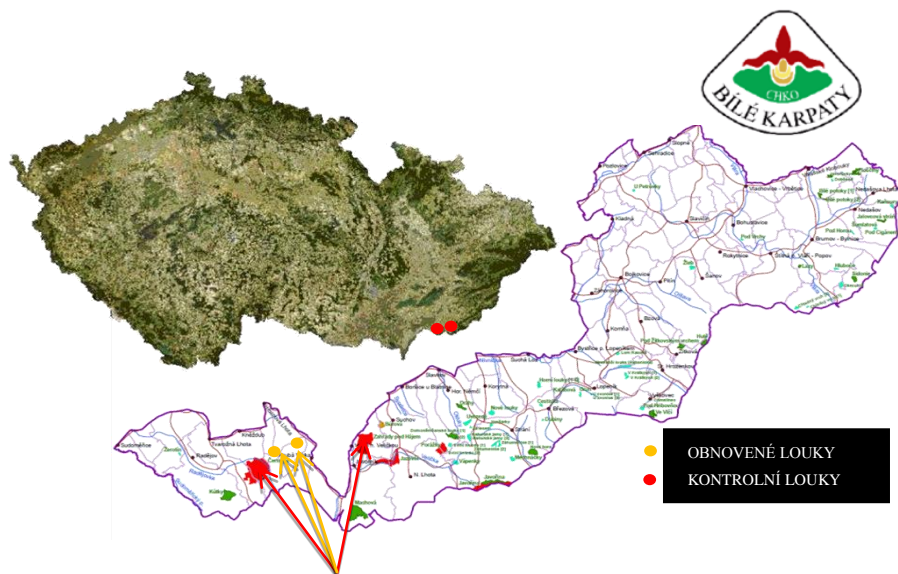
Neottia ovata je často se vyskytující druh, převážně na vlhkých loukách a křovinách, po celém území CHKO (Jongepier a Jongepierová, 2006).



Obr. 9 Rozšíření bradáčku vejčitého (*Neottia ovata*) na území CHKO BK. Převzato z Jongepier a Pechanec, 2006.

2.2 Charakteristika pokusných lokalit

Pro pokus byly vybrány plochy v jihovýchodní části CHKO Bílé Karpaty (obr. 10); v katastrálních územích obcí Malá Vrbka (7 obnovených a 2 kontrolní louky), Hrubá Vrbka (5 obnovených luk) a Velká nad Veličkou (2 kontrolní louky). Jednotlivé plochy charakterizují v následujících podkapitolách.



Obr. 10 Mapa zobrazující rozmístění cílových lokalit. Převzato z ARC DATA PRAHA <http://www.arcdata.cz/digitalAssets>, upraveno.

2.2.1 Obnovené louky

Pro zjištění klíčivosti osmi druhů z čeledi vstavačovitých (Orchidaceae) bylo vybráno 12 obnovených luk. Obnovené louky jsou komplexy uměle zatravněných ploch různého stáří, půdních vlastností a složení vegetace. Dříve byly tyto louky extenzivně zemědělsky využívány, především k pěstování obilnin. Po roce 2000 byly tyto louky díky CHKO Bílé Karpaty uměle zatravněny regionálními směsmi travin a bylin. Louky jsou jednou za rok sečeny, vždy koncem června.

2.2.1.1 Malá Vrbka – Vojšické louky

Na katastru obce Malá Vrbka (Vojšické louky) bylo vybráno 6 obnovených ploch různého stáří a 1 zemědělsky zatravněná plocha (tab. I). Zemědělsky zatravněná plocha je výsledkem zatravnění komerční směsí neznámého složení a původu. V záznamech se uvádí stáří plochy přibližně 13 let, ale bude pravděpodobně starší, podrobné informace o ploše však nejsou k dispozici.

Jednotlivé transepty jsou zaznačeny pomocí dvou bodů na mapě (obr. 11). Dva body na mapě pak vyznačují směr vytyčení transektu.



Obr. 11. Rozmístění výzkumných ploch na Vojšických loukách (www.mapy.cz).

Tab. I. Stáří ploch na obnovených loukách u Malé Vrbky

Plocha	Stáří
1	~ 13 let
2	9 let
3	9 let
4	2 roky
5	2 roky
6	9 let
7	10 let

2.2.1.2 Hrubá Vrbka

Další obnovené louky se nacházejí na katastrálním území obce Hrubá Vrbka (obr. 12). Zde bylo vybráno 5 výzkumných ploch. Všechny plochy jsou zasety regionální směsí, stáří luk (Tab. II).



Obr. 12. Rozmístění výzkumných ploch na loukách u Hrubé Vrbky (www.mapy.cz).

Tab. II Stáří ploch na obnovených loukách u Hrubé Vrbky.

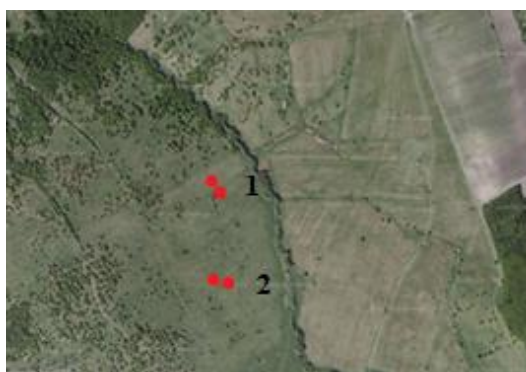
Plocha	Stáří
8	2 roky
9	4 roky
10	4 roky
11	2 roky
12	6 let

2.2.2 Kontrolní louky

Jako kontrolní plochy byly vybrány dvě na čeled' vstavačovitých velmi bohaté lokality – národní přírodní rezervace Čertoryje a národní přírodní rezervace Zahrady pod Hájem. Plochy byly využity pro kontrolu klíčivosti semen.

2.2.2.1 Národní přírodní rezervace Čertoryje

Zde byly vytyčeny dva výzkumné transektů (obr. 13). Popis jednotlivých transektů uvádím v kapitole „Založení terénního pokusu“.



Obr. 13 Rozmístění výzkumných ploch na loukách NPR Čertoryje (www.mapy.cz).

Jedná se o rozsáhlé komplexy květnatých bělokarpatských luk se značným zastoupením mokřadů a svahových pramenišť. Nachází se na katastrálním území tří obcí: Hrubé Vrbky, Tvarožné Lhoty a Kněždubu. Nadmořská výška se pohybuje v rozmezí 350–445 m. Je to jedno z nejcennějších území v chráněné krajinné oblasti Bílé Karpaty s významnou krajinářskou hodnotou.

Rezervace se nachází na hranici dvou fytogeografických oblastí: termofytika (fytochorion Bílé Karpaty – stepní) a mezofytika (fytochorion Bílé Karpaty – lesní). Z botanického hlediska patří k nejbohatším v České republice, můžeme zde nalézt více jak 500 taxonů cévnatých rostlin. Ze zájmových druhů z čeledi Orchidaceae se zde vyskytuje více než 20 druhů. Pro zajímavost zmiňuji, že mnou zkoumaný rudohlávek jehlancovitý (*Anacamptis pyramidalis*) zde tvoří nejbohatší lokalitu v České republice. K dalším poměrně hojným druhům patří vstavač vojenský (*Orchis militaris*), vstavač mužský (*Orchis mascula*), vstavač bledý (*Orchis pallens*), bradáček vejčitý (*Neottia ovata*), pětiprstka žežulník (*Gymnadenia conopsea*), vemeník dvoulistý (*Platanthera bifolia*) a hlavinka horská (*Traunsteinera globosa*). Z méně běžných, ale také významných druhů se zde vyskytují malé populace tořiče

čmelákovitého Holubyho (*Ophrys holosericea* subsp. *holubyana*), tořiče včelonosného (*Ophrys apifera*), vemeničku zelenenavého (*Coeloglossum viride*) a vemeníku zelenavého (*Platanthera chlorantha*), ze vstavačů pak vstavač osmahlý (*Neotinea ustulata*) a vstavač kukačka (*Anacamptis morio*). Navíc se zde vyskytují na mokřady vázané druhy, např. prstnatec pleťový (*Dactylorhiza incarnata*), prstnatec májový (*Dactylorhiza majalis*), kruštík bahenní (*Epipactis palustris*) a pětiprstka hustokvětá (*Gymnadenia densiflora*). V zástinu lesních lemů či křovin nalezneme okrotici bílou (*Cephalanthera damasonium*), okrotici dlouholistou (*Cephalanthera longifolia*), hlístník hnízdák (*Neottia nidus-avis*) a kruštík modrofialový (*Epipactis purpurata*) (Mackovčín *et al.* 2002).

2.2.2.2 Národní přírodní rezervace Zahrady pod Hájem

Na této lokalitě byly vytyčeny dva výzkumné transekty (obr. 14).



Obr. 14. Rozmístění výzkumných ploch na loukách NPR Zahrady pod Hájem (www.mapy.cz).

Rezervace se vyznačuje pestrou mozaikou bělokarpatských luk na slínovitých půdách, ale především pro rezervaci typickými, extenzivně obhospodařovanými ovocnými sady a menšími poli. Rezervace se nachází na katastrálním území obce Velká nad Veličkou. Rozmezí nadmořských výšek se pohybuje mezi 310–490 m.

V rezervaci byla zaznamenána celá řada ohrožených taxonů cévnatých rostlin, především z čeledi Orchidaceae včetně tořiče čmelákovitého Holubyho (*Ophrys holosericea* subsp. *holubyana*), který zde tvoří jednu z nejbohatších populací v České republice. Z dalších významných zástupců z této čeledi zde rostou tořič včelonosný (*Ophrys apifera*), rudohlávek jehlancovitý (*Anacamptis pyramidalis*), pětiprstka hustokvětá (*Gymnadenia densiflora*), pětiprstka žežulník (*Gymnadenia conopsea*), vstavač vojenský (*Orchis militaris*), vstavač mužský

(*Orchis mascula*), vstavač bledý (*Orchis pallens*), vstavač nachový (*Orchis purpurea*), vstavač osmahlý (*Neotinea ustulata*), hlavinka horská (*Traunsteinera globosa*), vemeníček zelený (*Coeloglossum viride*) a vemeník dvoulistý (*Platanthera bifolia*). Na podmáčených místech se může také vyskytovat prstnatec pleťový (*Dactylorhiza incarnata*) (Mackovčín *et al.* 2002).

2.3 Sběr semen

Pro vysévací pokus byla použita semena z lokálních populací, která byla sesbírána na konci léta v letech 2010 a 2011 (Tab. III). Po sběru se květenství jednotlivých rostlin rozdělilo na 3 části: spodní část tobolek, střední část a horní část tobolek. Bylo to z důvodu rozdílné kvality semen v různých částech květenství. Jednotlivé tobolky se semeny byly poté zabaleny do malých sáčků z filtračního papíru a nechány volně sušit při pokojové teplotě asi 48 hodin. Po dosušení a následného vysypání semen ze všech částí suchých tobolek jsem semena prohlédl pod binolupou a určil kvalitu semen (u každého druhu se určila kvalita u dvou vzorků, podíl semen s embryi se pak zprůměroval). Kvalitu semen jsem rozdělil do 3 kategorií: semena s plně vyvinutým embryem (Tab. III), abortované semena (se špatně vyvinutým embryem), prázdné testy (semena bez přítomnosti embrya), z nichž jsem poté udělal směsný vzorek z kvalitních částí květenství jednoho druhu. Semena byla poté vysazena pomocí rámečků na diapozitivy (viz níže).

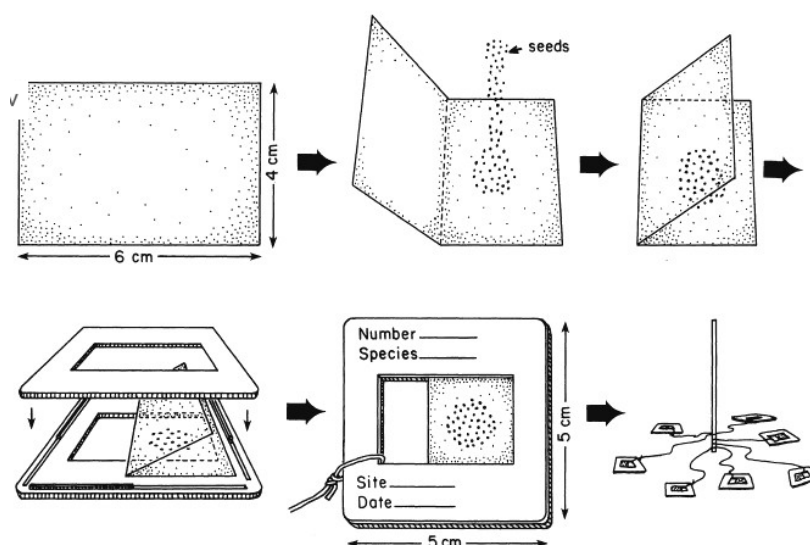
Tab. III Sběr semen.

Druh	Rok sběru	Měsíc sběru	Podíl semen s embryem
<i>Anacamptis pyramidalis</i>	2010	2. polovina července	70,3 %
<i>Gymnadenia conopsea</i>	2010	2. polovina července	67,9 %
<i>Platanthera bifolia</i>	2010	1. polovina srpna	62,2 %
<i>Orchis militaris</i>	2010	2. polovina července	58,3 %
<i>Traunsteinera globosa</i>	2011	2. polovina července	28,4 %
<i>Neottia ovata</i>	2011	2. polovina července	68,4 %
<i>Neotinea ustulata</i>	2011	2. polovina srpna	73,4 %
<i>Orchis mascula</i>	2011	1. polovina července	26,3 %

2.4 Výsev semen pomocí rámečků na diapozitivy

Pro zjištění klíčivosti orchidejí byla použita metoda vytvořená Rasmussen a Whighamem (1993, obr. 15). Při této metodě se semena orchidejí vkládají do jemné síťoviny typu uhelon o velikosti ok 42 µm (Silk & Progress Ltd, Brněnec).

Sítovina tak umožňuje vstup mykorhizním houbám i různým půdním mikroorganismům, aniž by semena vypadla.



Obr. 15. Diarámečková metoda. Převzato z Rasmussen a Whigham, 1993.

Každý diarámeček obsahoval dva druhy orchidejí, které byly umístěny samostatně v sítkách naproti sobě (obr. 16). Tento postup umožnil snížit počet rámečků potřebných k výsevu, navíc semena obou druhů jsou pak vystavena velmi podobnému půdnímu prostředí i společenstvu mikroorganismů. Počet semen vkládaných do sítěk se nejdříve nakalibroval pomocí malé lopatičky (průměrné množství semen jsem nejprve zjistil na deseti zkušebních sítkách, u kterých jsem spočítal přesný počet všech semen). Vysévané druhy, průměrné počty semen vkládaných do rámečků, celkové počty vysetých rámečků, rok zasetí a varianty zasetých druhů uvádím v Tab. IV.



Obr. 16 Diarámeček s vloženými semeny.

Diarámeček se semeny se následně svisle vložil do půdy (do hloubky okolo 5 cm). Semena byla tak v hloubce v rozmezí 3–5 cm. Pro snadné vyhledání a následné vytažení se každý rámeček přivázal rybářským vlasem a společně s několika dalšími rámečky ukotvil pomocí závlačky k zemi.

Tab. IV. Průměrné počty semen vkládaných do sítěk, počet vyšetých rámečků a varianty jednotlivých druhů orchidejí.

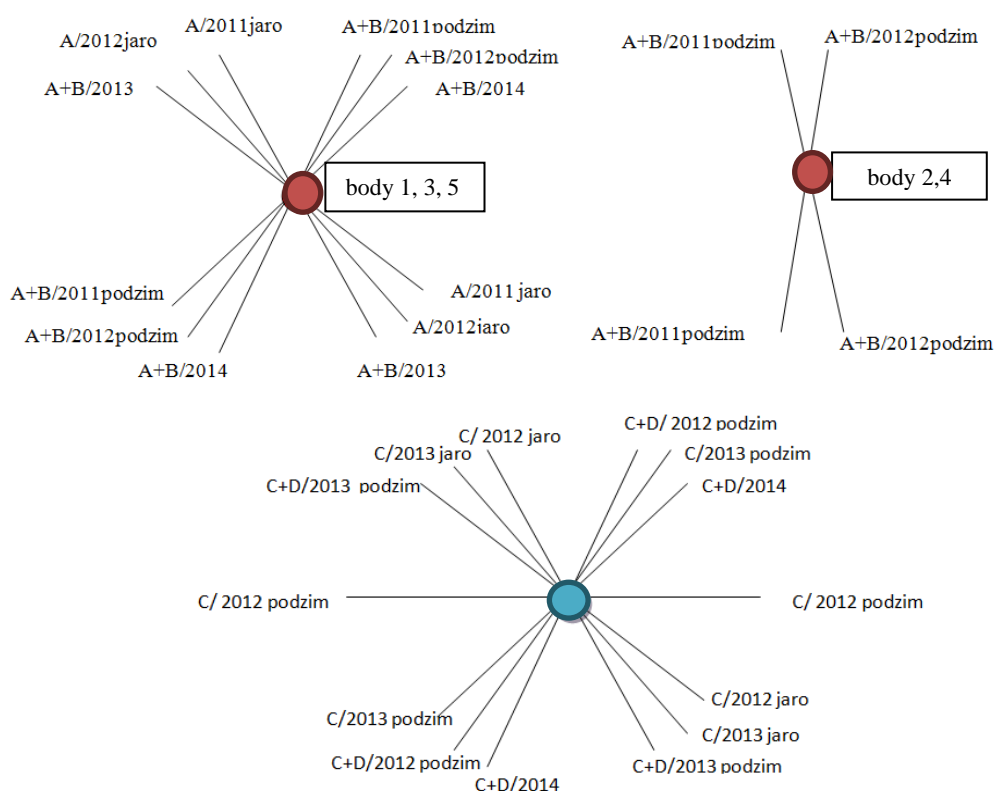
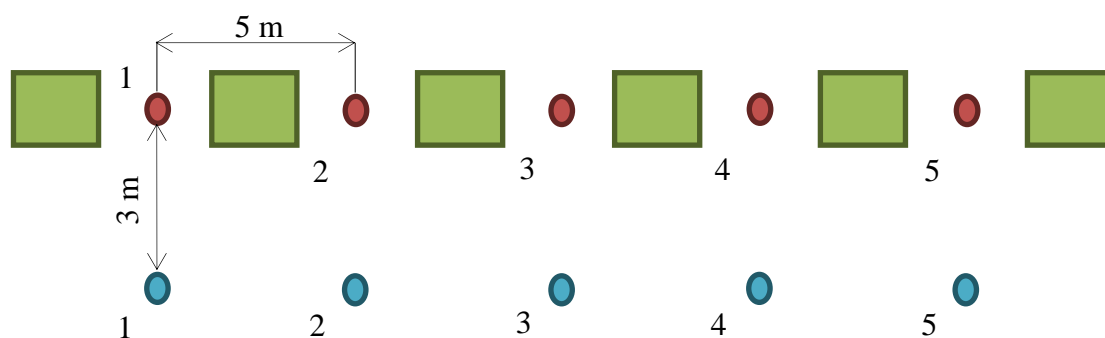
Druh	Průměrné počty	Počet vyšetých	Rok	Varianta
	semen \pm SD	rámečků	zasetí	
<i>Anacamptis pyramidalis</i>	316 \pm 27,7	704	2010	A
<i>Gymnadenia conopsea</i>	326 \pm 18,8	704	2010	
<i>Platanthera bifolia</i>	311 \pm 25,7	512	2010	B
<i>Orchis militaris</i>	332 \pm 16,3	512	2010	
<i>Neottia ovata</i>	314 \pm 22,5	592	2011	C
<i>Neotinea ustulata</i>	322 \pm 18,9	592	2011	
<i>Traunsteinera globosa</i>	309 \pm 22,0	192	2011	D
<i>Orchis mascula</i>	318 \pm 30,6	192	2011	

2.5 Založení terénního pokusu

Na každé lokalitě byly vytyčeny dva transekty s vysazenými rámečky. Oba transekty se liší dobou zasetí a výběrem ploch. První transekt obsahoval rámečky s variantami A+B (červené body) a rámečky se semeny v něm byly umístěny na začátku listopadu roku 2010. Pro sázení bylo vybráno 12 obnovených luk a 4 kontrolní louky. Transekt je umístěn mezi jinými výzkumnými plochami (obr. 17), kde se prováděl výzkum vlivu poloparazitických rostlin (*Rhinanthus* sp.) na druhové složení vegetace (Nekvapilová, 2012).

Druhý transekt obsahoval rámečky s variantami C+D (modré body, obr. 17) a rámečky se semeny zde byly umístěny v půlce října roku 2011. Pro sázení bylo vybráno 6 obnovených luk (plochy č. 2, 4, 7, 8, 10, 12 viz obr. 11 a obr. 12) a 2 kontrolní louky (plochy 1, 3 viz obr. 13 a obr. 14). Transekt byl vzdálen od prvního transektu 3 metry (obr. 17). Vzdálenost mezi jednotlivými body u obou variant transektů byla 5 metrů.

Rámečky se semeny byly vytahovány vždy v jarním období (v půlce dubna) a na podzim (na konci října – začátkem listopadu), od roku 2011. Vytahování rámečků je naplánováno až do roku 2014 (detailní schéma umístění rámečků je znázorněno na obr. 17). V rámci bakalářské práce jsou zahrnuty rámečky vytažené v letech 2011 a 2012. Jedná se o 886 vytažených rámečků u variant A a B, u variant C a D bylo vytaženo 320 rámečků. Menší počet vytažených rámečků u varianty C a D je z důvodu menšího počtu zasazených rámečků.



● **Varianta A** (*Anacamptis pyramidalis* + *Gymnadenia conopsea*) **Varianta B** (*Platanthera bifolia* + *Orchis militaris*)
● **Varianta C** (*Traunsteinera globosa* + *Neottia ovata*) **Varianta D** (*Neotinea ustulata* + *Orchis mascula*)

Obr. 17 Schéma sázení rámečků.

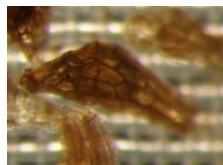
2.6 Hodnocení klíčivosti

Po vytažení z půdy byly rámečky očištěny od zbytků hlíny a klíčivost semen ve všech síťkách byla vyhodnocena pod binolupou.

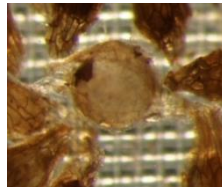
Hodnotily se 4 kategorie:

- Neklíčící semeno – semeno se zdravým embryem, nejevíci žádné známky naklíčení (obr. 18).

- Klíčící semeno – semeno kulovitěho tvaru, u většiny případů s protrhlou testou. Semeno v této fázi nemykorhizní (obr. 19).
- Protokorm – mykorhizní stav semene, typický hruškovitý tvar (obr. 20).
- Mrtvé semeno – shnilá semena, prázdné testy (obr. 21).



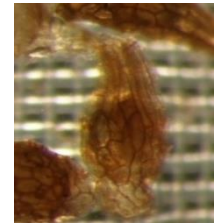
Obr. 18 Neklíčící semeno



Obr. 19 Klíčící semeno



Obr. 20 Protokorm



Obr. 21 Mrtvé semeno

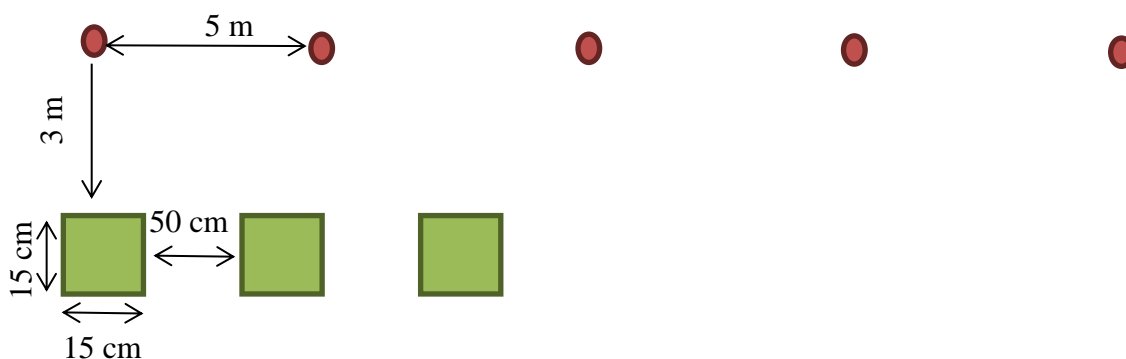
2.7 Volný výsev semen

Pro využití zbylých semen byl proveden volný výsev. Zbylá semena tří druhů (AP, GC, NU) se volně zaseto do šesti obnovených luk u Malé Vrbky a Hrubé Vrbky (Tab. V). Semena byla zaseto v půlce října roku 2011, před zasetím byla semena uložena v lednici při 4°C po dobu asi dvou měsíců od sběru semen. Semena byla v lednici uložena ve vzduchotěsných plastových nádobách. Doba zasetí trvala jeden den.

Jednotlivé plošky byly odměřeny od bodů základního transektu ve vzdálenosti 1,5 m (obr. 22). Semena každého druhu se zvažila na analytických vahách, jejichž součet se rozdělil do všech bodů jednotlivých lokalit. Každý druh pak měl svůj vlastní čtverec o rozměru 15 cm x 15 cm, celkem tedy bylo na každé z ploch vyměřeno 15 plošek, kde se semena vysela. Pro lepší styk semen s půdou bylo nutné jednotlivé plošky před zasetím pokosit a mírně pohrbat kvůli odstranění staré biomasy.

Tab. V. Volný výsev semen

Komplex	Plochy	Stáří ploch
Malá Vrbka – Vojšické louky	2	9
	4	2
	7	10
Hrubá Vrbka	8	2
	9	4
	12	6



Obr. 22 Schéma zasazení zbylých semen.

2.8 Mapování výskytu orchidejí v okolí obnovených luk

V letech 2010 a 2011, bylo zmapováno okolí zkoumaných ploch. Cílem mapování bylo zjistit potenciální dostupnost semen cílových druhů (AP, GC, OMi, OMa, NU, NO, PB, TG) v okolí obnovených luk. Bylo mapováno okolí obnovených luk u Malé Vrbky a Hrubé Vrbky, hranici mapování vyobrazují na obr. 27. Plochy v NPR Čertoryje a NPR Zahrady pod Hájem mapovány nebyly z důvodu běžného výskytu cílových druhů.

2.9 Statistické zpracování dat

Pro analýzu klíčivosti semen byl použit podíl klíčících semen z celkového počtu zasazených semen. Analyzována byla pouze semena druhů AP, GC, PB a OMi zasazená v roce 2010 a vyjmutá po jednom roce z důvodu celkově největšího podílu klíčících semen v rámečcích. Semena druhů zasazených v roce 2011 statisticky analyzována nebyla z důvodu jejich nulové klíčivosti. Data byla analyzována pomocí lineárního modelu se smíšenými efekty (LME). Byl testován vliv *druhu* orchideje a *obsazenosti* lokality (tj. obnovené louky vs. recentně obsazené lokality) a jejich interakce jako faktory s pevnými efekty. Struktura dat byla zohledněna pomocí hierarchicky uspořádaného faktoru s náhodným efektem (1|komplex/plocha/druh), tj. plocha s transekty byla hierarchicky vložena do lučního komplexu a druh byl vnořen v ploše, neboť v rámci plochy bylo vysazeno více rámečků se semeny téhož druhu. Statistické analýzy byly provedeny v programu R, verze 2.14 (R Development Core Team, 2006) za použití knihovny nlme, verze 3.1 (Pinheiro a kol., 2011).

3. VÝSLEDKY

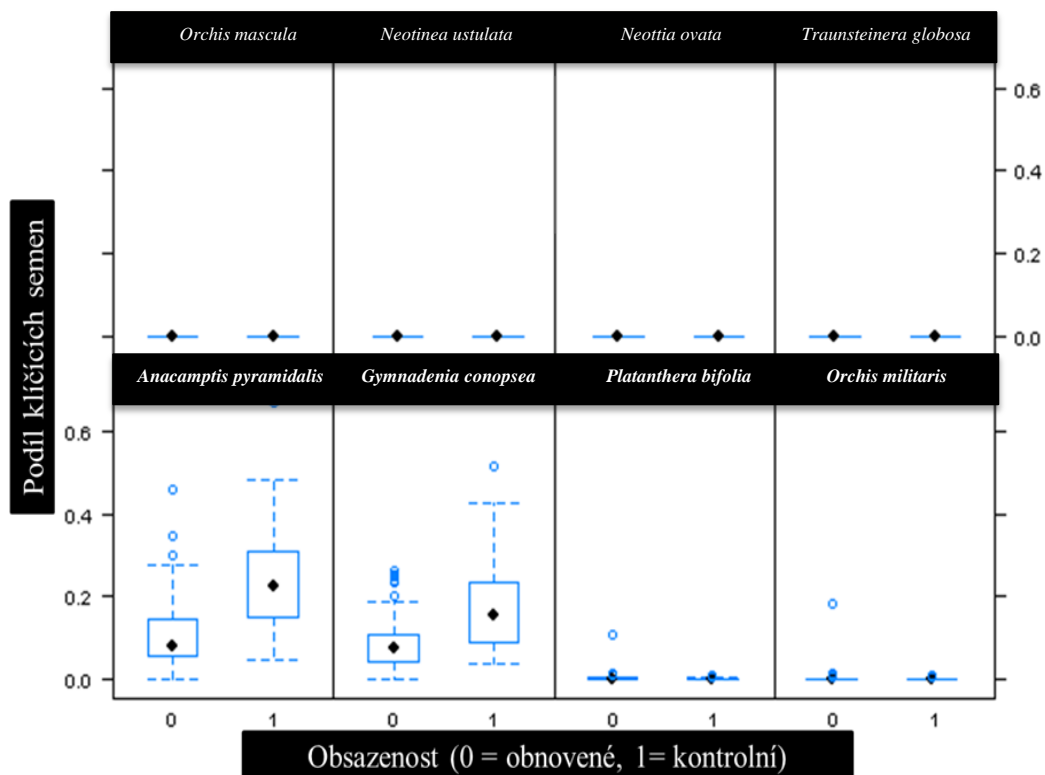
3.1 Průběh klíčivosti

V průběhu 3 let (2010–2012) bylo analyzováno celkem 1206 rámečků (588 805 semen). U varianty A (AP+GC) se jednalo o 536 rámečků, varianty B (PB+OMi) 350 rámečků, varianty C (NO + NU) 240 rámečků a varianty D (TG + OMa) 80 rámečků. Potvrdilo se, že počáteční stádium klíčení (nabobtnalé embryo s rhizoidy) se může objevit i na obnovených loukách, stejně jako na loukách kontrolních. Nicméně pokročilejší stádium klíčení – protokorm – byl nalezen pouze na dvouleté obnovené louce u Hrubé Vrbky v počtu jednoho kusu.

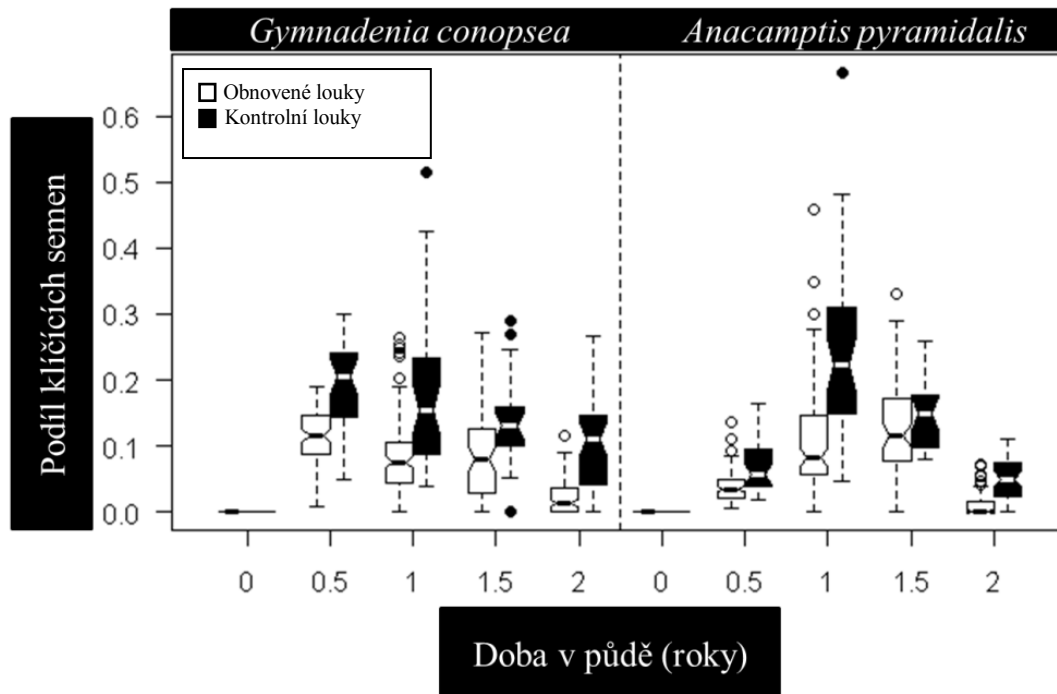
3.1.1 Klíčení na obnovených a recentních plochách

Druhy zasazené v roce 2010 (AP, GC, PB, OMi) se lišily v podílu klíčících semen (LME, $F_{3,42} = 78,1$, $P < 0,0001$), kdy výrazně větší klíčivost byla zaznamenána pouze u AP a GC (obr. 23). Rozdíl v podílu klíčících semen (obr. 24) mezi obnovenými a recentními plochami nebyl průkazný (LME, $F_{1, 2} = 11,5$, $P = 0,0771$). Průkazná však byla interakce obsazenosti plochy a druhu orchideje (LME, $F_{3, 42} = 11,5$, $P < 0,0001$) díky větší klíčivosti AP a GC na recentně obsazených lokalitách (obr. 23). Při porovnání dvou obnovených komplexů luk, byla zaznamenána mírně větší klíčivost na plochách u Malé Vrbky (obr. 25).

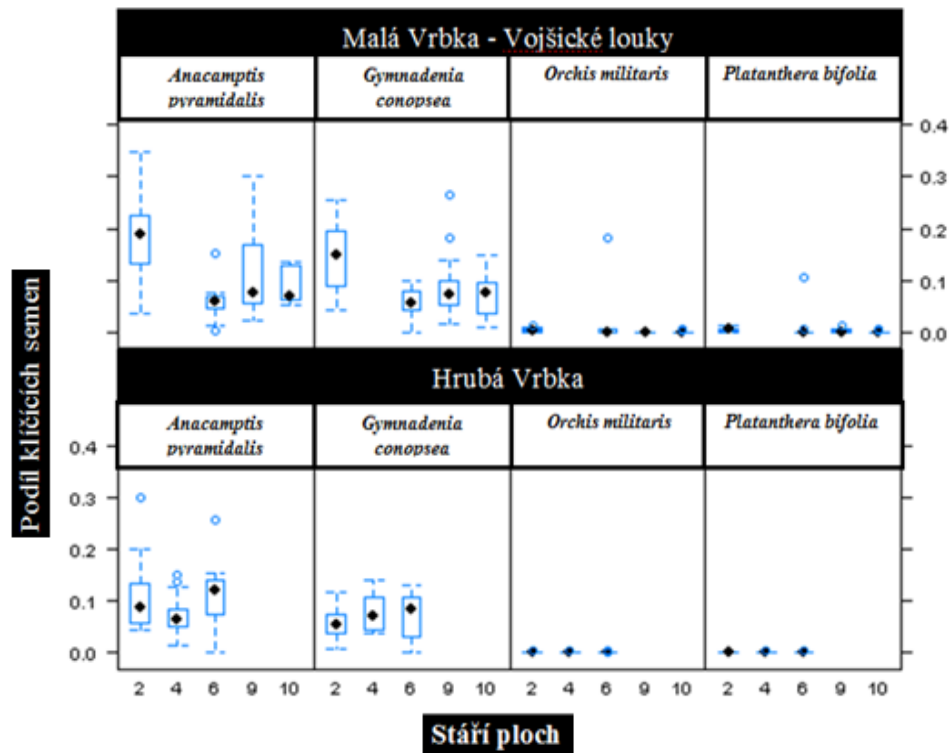
Druhy zasazené v roce 2011 (OMa, NU, TG, NO) neklíčily na žádné ploše bez ohledu na to, zda je recentně obsazená dospělci nebo se jedná o obnovený komplex luk (obr. 23).



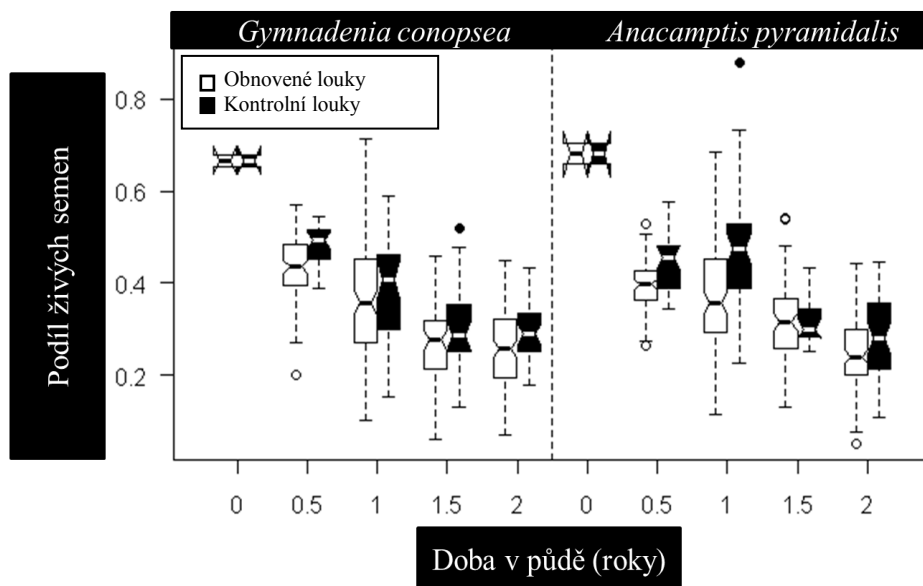
Obr. 23 Box and Whisker diagram znázorňující podíl klíčících semen všech zkoumaných druhů po roce v půdě závislosti na obsazenosti ploch.



Obr. 24 Box and Whisker, diagram znázorňující podíl klíčících semen u *Gymnadenia conopsea* a *Anacamptis pyramidalis* na kontrolních a obnovených loukách v závislosti na době v půdě.



Obr. 25 Podíl klíčících semen u druhů vysazených v roce 2010 na dvou komplexech obnovených luk u Malé Vrbky a Hrubé Vrbky. Graf znázorňuje klíčení po jednom roce v půdě.



Obr. 26 Box and Whisker, diagram znázorňující podíl živých semen (tj. klíčící a neklíčící semena) u *Gymnadenia conopsea* a *Anacamptis pyramidalis* na kontrolních a obnovených loukách v závislosti na době v půdě.

Druhy vysazené v roce 2010 a kultivované 2 roky v půdě.

Druhy vysazené v roce 2010 (AP, GC, PB ,OMi) v závislosti na stáří ploch na 2 komplexech obnovených ploch (Malá Vrbka – Vojšické louky a Hrubá Vrbka) a kontrolní ploch v NPR Čertoryje a NPR Zahrady pod Hájem uvádím v Tab. VI.

Tab. VI. Druhy vysazené v roce 2010 a kultivované 2 roky v půdě.

Komplex	Malá Vrbka – Vojšické louky							Hrubá Vrbka					Kontrolní plochy			
Plocha	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Věk plochy (rok)	13	9	9	2	2	9	10	2	4	4	2	6				
Období nejvyššího dosaženého klíčení (počet let)																
<i>Anacamptis pyramidalis</i>	0,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1	1	1	1
<i>Gymnadenia conopsea</i>	0,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	0,5	1	0,5	1
<i>Orchis militaris</i>	1	1	0,5	1	0,5	0,5	1	1	1	1	1	1	0,5	1	0,5	1
<i>Platanthera bifolia</i>	2	2	0,5	2	0,5	0,5	2	2	2	2	2	2	0,5	2	0,5	2
Maximální dosažená klíčivost (%)																
<i>Anacamptis pyramidalis</i>	7,7	12,8	12,5	8,8	12,9	9,6	13,2	13,1	11,9	5,0	12,6	12,0	15,6	15,8	11,7	11,0
mortalita v době max. klíčivosti	65,2	67,9	72,1	69,5	70,5	69,9	67,4	69,4	72,1	78,1	66,0	69,7	64,4	51,7	69,6	73,8
klíčivost (%) po 2 letech	0,05	0,05	0,13	2,3	0,2	1,9	0,21	1,5	1,4	0,9	1,4	1,5	4,17	5,7	4,9	0,75
mortalita (%) po 2 letech	82,6	82,6	75,7	74,8	79,3	78,3	80,1	77,6	78,2	75,2	74,9	75,6	75,3	72,8	73,6	77,4
<i>Gymnadenia conopsea</i>	8,2	14,9	14,7	8,0	12,4	10,1	12,9	13,0	10,0	5,2	11,7	12,0	16,7	16,6	11,7	11,4
mortalita v době max. klíčivosti	57,5	68,7	70,3	70,0	70,8	65,2	67,2	69,7	70,8	77,8	66,7	69,7	65,3	68,1	70,3	73,9
klíčivost (%) po 2 letech	0,09	1,4	0,1	2,3	0,2	1,9	0,2	0,4	0,6	0,9	1,4	1,6	4,3	6,0	4,8	0,7
mortalita (%) po 2 letech	82,7	79,6	75,3	74,9	79,2	78,1	80,7	82,4	74,1	75,3	75,4	75,9	75,0	72,7	73,3	77,6
<i>Orchis militaris</i>	3,4	2,8	6,5	3,7	5,4	3,4	3,7	3,5	2,9	3,2	3,1	3,2	7,8	6,9	8,6	6,8
mortalita v době max. klíčivosti	73,2	70,8	60,8	67,8	61,0	60,1	67,8	69,8	69,3	67,8	68,8	72,1	58,3	58,8	56,5	66,9
klíčivost (%) po 2 letech	0,05	0,05	0,1	2,2	0,2	1,8	0,1	0,1	0,2	0,9	1,3	1,4	4,2	5,6	4,7	2,2
mortalita (%) po 2 letech	82,9	82,9	75,6	74,8	79,4	78,4	80,8	75,2	81,4	75,4	75,1	75,8	75,5	72,8	73,3	77,6
<i>Platanthera bifolia</i>	0,5	1,3	7,0	2,2	7,1	7,6	0,2	0,4	0,2	0,9	1,3	1,4	8,2	3,6	6,3	3,72
mortalita v době max. klíčivosti	82,7	80,1	59,8	74,7	60,9	60,4	80,4	80,4	80,4	75,2	76,1	76,1	58,1	58,1	56,7	77,2
klíčivost (%) po 2 letech	0,5	1,3	0,11	2,2	0,5	1,9	0,2	0,4	0,2	0,9	1,3	1,4	4,2	3,6	4,7	3,72
mortalita (%) po 2 letech	82,7	80,1	75,8	74,7	79,8	78,0	80,4	80,4	80,4	75,2	76,1	76,1	75,4	58,1	73,3	77,2

Druhy vysazené v roce 2011 a kultivované 1 rok v půdě:

Druh *Neotinea ustulata* neklíčila na žádné z ploch bez ohledu na typ plochy (obnovená či kontrolní). Byla však zjištěna poměrně nízká mortalita semen, která dosahovala na obnovených loukách průměrné hodnoty 52,9 % či 48,7 % v případě kontrolních ploch.

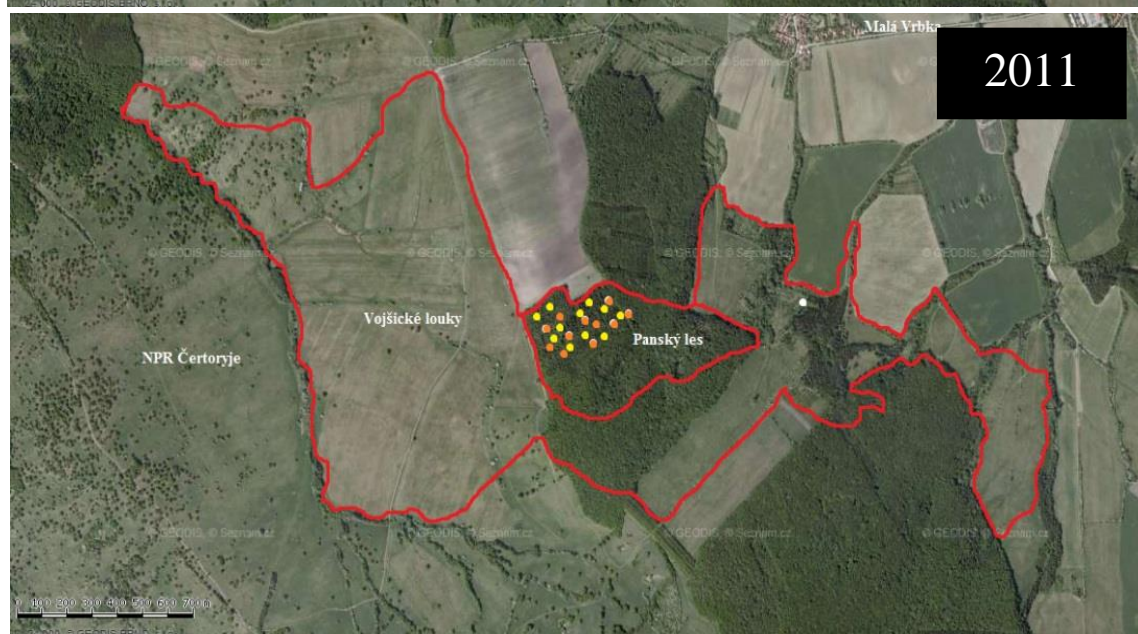
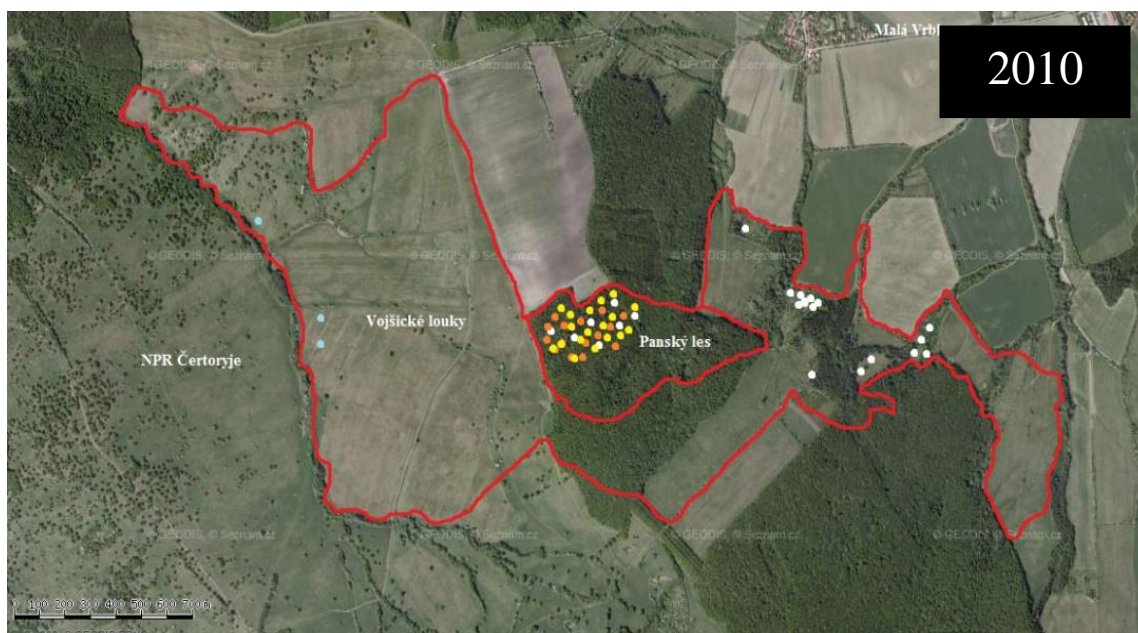
Druh *Neottia ovata* opět neklíčil na žádné z ploch bez ohledu na charakter plochy. Průměrná mortalita semen po roce v půdě byla stejně vysoká jak na kontrolních, tak i obnovených loukách (80,3 %).

Druhy *Traunsteinera globosa* a *Orchis mascula* neklíčily na žádné z ploch. Průměrná mortalita byla u každého druhu větší než 95 %.

3.2 Mapování orchidejí

Pro zjištění zdrojů semen v blízkosti zkoumaných ploch bylo v průběhu let 2010 a 2011 zmapováno území v okolí obnovených luk (obr. 27). Z celkového počtu 8 druhů byly zaznamenány 4 druhy a to OMa, PB, NO a AP. Populace nalezených orchidejí nebyly vysoké, každý jednotlivý bod na mapě (obr. 27) značí jednoho jedince.

Vzdálenost jednotlivých druhů k obnoveným plochám byla nejbližší u jedinců druhů NO, PB a OMa v lokalitě Panský les a to 75 m od nejbližší zkoumané plochy (plocha 4). Velmi zajímavý byl nález 3 kvetoucích jedinců druhu AP na obnovených loukách u Malé Vrbky (Vojšické louky). Rostliny se nachází asi 150 m od nejbližších jedinců v NPR Čertoryje a asi 350 m od nejbližších zkoumaných ploch (plocha 7).



Obr. 27 Legenda mapovaných druhů mezi lety 2010-2011 (www.mapy.cz).

- *Orchis mascula* ● *Platanthera bifolia*
- *Neottia ovata* ● *Anacamptis pyramidalis*

4. DISKUZE

Ve své práci jsem se zabýval klíčivostí osmi druhů vstavačovitých rostlin na obnovených a kontrolních loukách v CHKO Bílé Karpaty. Semena byla v půdě po dobu 2 let (AP, GC, PB, OMi) a 1 roku (TG, NU, NO, OMa). Z celkových osmi druhů klíčily výrazněji 2 druhy (AP a GC), méně klíčily PB a OMi, nebo nevyklíčily vůbec TG, NU, OMa, NO. Potvrdilo se, že počáteční stádium klíčení (nabobtnalé embryo s rhizoidy) se může objevit i na obnovených loukách, stejně jako na loukách kontrolních. Nicméně pokročilejší stádium klíčení – protokorm – byl nalezen pouze na dvouleté obnovené louce u Hrubé Vrbky a to v počtu jednoho kusu.

4.1 Průběh klíčivosti u jednotlivých druhů

Studie zabývající se problematikou klíčivosti orchidejí se obvykle orientují na výzkum klíčivosti na plochách s dospělci zkoumaných druhů (typické biotopy vstavačovitých). Při srovnávání údajů z odborné literatury s mými výsledky se budu tedy věnovat pouze plochám kontrolním (NPR Čertoryje a NPR Zahrady pod Hájem), jelikož odpovídají charakteru ploch studovaných v odborné literatuře.

Druhy vysazené v roce 2010 a kultivované 2 roky v půdě

Druh *Anacamptis pyramidalis* dosáhl nejvyšší klíčivosti na kontrolních plochách po roce v půdě, kde byla průměrná klíčivost 13,5 %. Zároveň byla zaznamenána přítomnost jednoho protokormu na 2leté ploše po 1,5 roce od vložení do půdy. Schopnost klíčit u *A. pyramidalis* prozatím nikdo nezkoumal. Jsou však studie podobného druhu (*A. morio*), který zkoumali Jacquemyn *et al.* (2012). V jejich pokusu klíčil *A. morio* po 2 letech v půdě s v průměru 23 % přítomností protokormů, v blízkosti dospělých jedinců. Zatímco klíčivost na identických plochách bez přítomnosti dospělých jedinců byla velmi nízká (0,08 %).

Druh *Gymnadenia conopsea* dosáhl nejvyšší průměrné klíčivosti 14,1 % semen na kontrolních plochách po 0,5–1 roce v půdě. Podobný pokus provedli také Jacquemyn *et al.* (2012), kteří zkoumali stejný druh v blízkosti dospělých jedinců, semena jim klíčila s 56 % úspěšností po 2 letech v půdě včetně stádia protokormu. Zároveň zaznamenali nižší 50 % klíčivost na plochách bez dospělých jedinců.

Druh *Orchis militaris* dosáhl nejvyšší průměrné klíčivosti 7,5 % semen na kontrolních plochách v rozmezí let 0,5–1 roku. Klíčivosti tohoto druhu dosud nebyla věnována dostatečná pozornost, avšak jsou k dispozici studie příbuzného druhu *O.*

mascula, který zkoumali Jacquemyn *et al.* (2012). Druh dosahoval po 2 letech v půdě nejvyšší klíčivosti 23 % včetně přítomnosti protokormů.

Druh *Platanthera bifolia* dosáhl na kontrolních loukách nejvyšší průměrné klíčivosti 5,5 % po půl roce v půdě. Studie o klíčivosti tohoto druhu nejsou k dispozici. Známa je studie příbuzného druhu *P. clavellata* (Zettler *et al.*, 1998), jehož klíčivost při experimentu dosáhla 16,2 % po roce v půdě, v blízkosti dospělých jedinců, včetně mykorhizního stavu semene – protokormu. U semen bez dospělých jedinců dosáhla klíčivost 10,2 %.

Druhy vysazené v roce 2011 a kultivované 1 rok v půdě

Druh *Neotinea ustulata* měl nulovou klíčivost. Stav semen byl po roce v půdě poměrně dobrý (úmrtnost živých semen byla 48,7 %). Při příštím vyhodnocování semen se tak dá očekávat určitá míra klíčivosti. Autoři, kteří prováděli výzkum klíčivosti tohoto druhu v přírodních podmínkách, uvádějí, že doba klíčení může dosahovat až 16 let k vytvoření prvních nadzemních orgánů (Davies *et al.*, 1983).

Druhy *Traunsteinera globosa* a *Orchis mascula* měly nulovou klíčivost. Tento výsledek je zřejmě způsoben špatnou manipulací, ke které došlo již při sběru samotných semen. Semena byla posbírána příliš brzy, což se projevilo na jejich kvalitě. Semena byla značně abortována a podíl kvalitních semen se zdravými embryi tvořil pouze 30 %. Po roce v půdě se to projevilo průměrnou mortalitou větší než 95 %. U těchto druhů tedy nelze očekávat nález klíčení při dalším vytažení diarámečků se semeny z půdy.

Druh *Neottia ovata* po roce v půdě měl taky nulovou klíčivost i přes poměrně dobrou kvalitu semen při vkládání do půdy (68,4 % semen se zdravým embryem). Mortalita semen po roce v půdě byla 80,3 %, při příštím odběru se tak nedá předpokládat téměř žádná klíčivost.

Z literatury víme, že klíčivost semen může být ovlivněna mnoha faktory. Například abiotické faktory (pH, vlhkost, teplota, obsah organických látek) či biotické faktory (nepřítomnost mykorhizních hub, mezidruhová kompetice, patogeny) (Rasmussen, 1995; Diez, 2007). Na kontrolních lokalitách v NPR Zahrady pod Hájem a NPR Čertoryje byly rámečky umístěny v obdobných transektech jako na obnovených loukách – nebylo tak možné zajistit blízkost dospělých zkoumaných druhů u všech diarámečků. Přítomnost dospělých velmi zvyšuje pravděpodobnost

dosažení stádia mykorhizního protokormu díky přítomnosti vhodných mykorhizních hub v půdě (Jacquemyn *et al.*, 2012).

Dalšími faktory nezdaru může být samotná manipulace se semeny (doba sběru, uskladnění semen, doba zasetí do půdy). Po narámečkování se semena vysela na konci října a začátkem listopadu. Semena byla tedy skladována po dobu asi 4 měsíců. Pro srovnání s dalšími autory, kteří se zabývali klíčivostí orchidejí pomocí diarámečkové metody, lze vyčíst patrný rozdíl v manipulaci se semeny. Odlišná je doba mezi sběrem semen a doba vložení rámečků do půdy. Někteří autoři vysadili všechny rámečky do 4 dnů od sebrání semen (McKendrick, 2002), 7 dnů (Jacquemyn *et al.*, 2012), 4 týdnů (Batty, 2001) některým autorům to však trvalo i 2 měsíce (Diez, 2007).

Závěrem lze říci, že druhy *Anacamptis pyramidalis*, *Gymnadenia conopsea*, *Platanthera bifolia*, *Orchis militaris*, *Traunsteinera globosa*, *Orchis mascula* a *Neottia ovata* nedošly do stádia protokormu kvůli celkově vysoké mortalitě semen, či sázením do mikrostanovišť bez přítomnosti mykorhizní houby. Druh *Neotinea ustulata* je vzhledem k údajům z literatury druhem dlouhodobě klíčícím, dá se tak předpokládat jeho další klíčení při příštím odběru rámečků.

4.2 Klíčivost na obnovených a kontrolních loukách

Rozdíly v klíčivosti byly zaznamenány také mezi obnovenými a kontrolními loukami. Na kontrolních loukách (NPR Čertoryje a NPR Zahrady pod Hájem) klíčily lépe druhy zasazené v roce 2010 (AP, GC, PB, OMi), kdy výrazně větší klíčivost byla zaznamenána u AP a GC (obr. 23). Druhy zasazené v roce 2011 (OMa, TG, NU, NO) neklíčily na žádné z obnovených či kontrolních ploch. Semena zároveň odumíraly rychleji na všech plochách obnovených luk, zatímco na kontrolních loukách byla mortalita pomalejší (obr. 26).

Rozdíly v klíčivosti mezi různě starými plochami v rámci obnovených luk nebyly výrazné. Na obnovených loukách nebyla nalezena plocha, kde by všechny zkoumané druhy klíčily lépe. Obecně se dá však říci, že druhy lépe klíčí na starších plochách (9 a 10 let od zasetí), či na plochách velmi mladých (2 roky). Plocha, kde byl nalezen jeden protokorm (dvouletá plocha u Hrubé Vrbky) se výrazně nelišila v naměřených hodnotách v porovnání s ostatními plochami. Nebyl také zjištěn žádný trend, že by mortalita semen klesala se stářím plochy, a tak se blížila stavu na

kontrolních loukách. Zdá se tedy, že stáří ploch výrazně neovlivňuje klíčení orchidejových semen.

Poměrně malá klíčivost může být způsobena například půdními vlastnostmi na obnovených loukách. Obnovené louky byly v minulých 50 letech rozorány a využívány pro pěstování zemědělských plodin. Od devadesátých let se však mnohá pole opět zatravnila, a to s využitím samovolné sukcese či umělého zatravnění regionální směsí bylin. Obnova druhově bohatých lučních porostů na rozoraných půdách je dlouhodobý proces. Tento proces není však vždy tak účinný. Jedním z klíčových faktorů pro růst rostlin je dostatečné množství dostupných živin v půdě, jejichž hodnoty jsou však často tak vysoké, že může docházet k mezidruhovým kompetičním vztahům, především vytlačování konkurenčně silnějších a rychlejších druhů – plevelů (Jongepierová *et al.*, 2008).

Znalosti půdních vlastností na obnovených loukách jsou důležité pro další vývoj klíčení semen. Rozbory půdy prováděla na obnovených loukách například Nekvapilová (2012), která zjišťovala pH, obsah fosforu, dusíku a organických látek.

Na plochách u Malé Vrbky – Vojšické louky se pohybovalo pH půdy v průměru 6,7 (pH v H₂O) či 5,61 (pH v KCl). Na plochách u Hrubé Vrbky se pohybovalo pH v průměru 8,0 (pH v H₂O) či 7,16 (pH v KCl).

Množství totálního dusíku (čili veškerého dusíku obsaženého v půdě, tedy i sloučeniny, které nejsou rostlinám dostupné) na Vojšických loukách bylo v průměru 2,8 g/kg, na plochách u Hrubé Vrbky 2,7 g/kg. Množství fosforu v půdě se na Vojšických loukách pohybovalo v průměru 51,65 mg/kg a na plochách u Hrubé Vrbky v průměru 44,6 mg/kg. Bylo změřeno také množství organických látek v půdě – na Vojšických loukách v průměru 9,06 % a v případě ploch u Hrubé Vrbky 10,8 %.

Naměřená půdní data však neprokázala žádné souvislosti s mírou klíčivosti, a to jak mezi obnovenými plochami u Hrubé Vrbky, tak na plochách u Malé Vrbky. I na stejnoletých plochách byla zaznamenána vysoká variabilita dat půdních rozborů. Zdá se tedy, že půdní podmínky na obnovených loukách nemají výrazný vliv na schopnost klíčení orchidejových semen.

Také další autoři prováděli studie na podobně narušených plochách, jako jsou obnovené louky. Například De Hert *et al.* (2013) zkoumali klíčivost tří druhů vstavačovitých rostlin (*Dactylorhiza fuchsii*, *Dactylorhiza praetermissa*, *Herminium monorchis*) na obnovených dunách. Zjistili, že zkoumané druhy došly do fáze protokormu i na stanovištích bez výskytu dospělých jedinců.

4.3 Nález protokormu *Anacamptis pyramidalis*

Nález protokormu u druhu AP na 2leté ploše u Hrubé Vrbky může značit vhodné podmínky pro klíčení až do mykorhizního stavu semene. Zároveň vyklíčil pouze jeden protokorm, což nám dává velmi omezené informace. Důvodem malého počtu protokormů, může být i celkové rozšíření orchideoidních mykorhizních hub v krajině, které je značně nesouvislé (Diez *et al.*, 2007). Obecně se nejvyšší klíčivost očekává v blízkosti dospělých rostlin z důvodu přítomnosti rozrostlého mycelia mykorhizních hub, jak prokázala už řada studií například na *Orchis mascula* (Jacquemym *et al.*, 2012), *Goodyera pubescens* (Diez, 2007), *Corralorhiza trifida* (McKendrick *et al.* 2000). V kontextu s těmito studiemi by bylo vhodné pro příští sázení zohlednit velkou úmrtnost semen při prvním sazení a vkládat do půdy výrazně větší počet rámečků a sázet také do více míst.

4.4 Semenná banka

Při studiu semenných bank u orchidejí se většina studií zaměřuje na dobu, po jakou dokáží semena zůstat v půdě životaschopná. Van der Kinderen (1995) zjistil u druhů *Dactylorhiza maculata* a *Epipactis helleborine* maximální životaschopnost semen po 1,5 roce v půdě. *Dactylorhiza lapponica* dosahovala životaschopnosti semen maximálně 3 roky (Oien *et al.*, 2008). Dva západoaustralské druhy *Caladenia arenicola* a *Pterostylis sanguinea* dosahovaly maximální životaschopnosti semen do jednoho roku. Dlouhodobější životaschopnost semen byla zaznamenána například u *Corallorhiza trifida*, kdy většina semen vyklíčila po roce v půdě, avšak autoři zaznamenali životaschopnost semen i po 31 měsících od vložení do půdy (McKendrick *et al.*, 2000). Dlouhodobé semenné banky tvoří například *Liparis liliifolia*, *Tipularia discolor* či *Aplectrum hyemale*, u kterých byla zjištěna životaschopnost semen i po sedmi letech v půdě (Whigham *et al.*, 2006).

Valná většina mnou zkoumaných druhů měla vysokou úmrtnost semen (>75 %), již po dvou letech v půdě. Zdá se tak, že zkoumané druhy se řadí do krátkodobé semenné banky.

4.5 Mapování orchidejí

V letech 2010–2011 bylo zmapováno území kolem obnovených luk. Mezi lety 2010 a 2011 je patrný rozdíl v úbytku kvetoucích jedinců u všech mapovaných druhů (obr. 27), což může být zapříčiněno špatným vegetačním rokem. Staré opuštěné ovocné

sady s výskytem OMa zaznamenaly také velký úbytek kvetoucích jedinců, zde si myslím, že úbytek může být zapříčiněn značným zarůstáním ploch náletovými dřevinami.

4.6 Kolonizační potenciál semen

Z hlediska potencionálu kolonizace semen na obnovené louky, se zdá být nejvhodnějším zdrojem semen blízká NPR Čertoryje (obr. 27), která disponuje všemi 8 zkoumanými druhy (AP, GC, PB, OMi, OMa, TG, NO, NU). NPR Čertoryje těsně hraničí s obnovenými loukami a je oddělena potokem Radějovka.

V souvislosti s kolonizací semen je zajímavý nález AP při mapování orchidejí na obnovených plochách u Malé Vrbky (Vojšické louky), kde byli nalezeni 3 jedinci tohoto druhu (na plochách starých 10 let). Druh se nejspíše šíří z NPR Čertoryje, která je velmi blízko obnoveným loukám. Vzdálenost nalezených jedinců AP na obnovených loukách je asi 350 m od nejbližších rostlin v NPR Čertoryje (obr. 27).

Šířením semen do krajiny se zabývaly například Jersáková a Malinová (2007) a zjistily, že velká část semen se vysemeň v blízkosti mateřské rostliny a jen velmi malá část se roznese do krajiny. Tyto výzkumy jsou však nedostatečné a ve skutečnosti se o těchto vztazích ví velmi málo. Nález AP na obnovených loukách může naznačovat dobrý kolonizační potenciál z ploch bohaté na čeled' vstavačovité – NPR Čertoryje.

5. ZÁVĚR

Výsledky bakalářské práce, které jsou založené na sledování klíčivosti vstavačovitých rostlin na 12 obnovených loukách u Malé Vrbky a Hrubé Vrbky a na 4 kontrolních plochách v NPR Čertoryje a NPR Zahrady pod Hájem v CHKO Bílé Karpaty, naznačují, že mezi osmi cílovými druhy (*Anacamptis pyramidalis*, *Orchis militaris*, *Orchis mascula*, *Neotinea ustulata*, *Platanthera bifolia*, *Gymnadenia conopsea*, *Neottia ovata*, *Traunsteinera globosa*) jsou poměrně výrazné rozdíly v klíčivosti.

- Semena orchidejí u druhů *Anacamptis pyramidalis*, *Gymnadenia conopsea*, *Platanthera bifolia* a *Orchis militaris* došly do počátečního stádia klíčení (nabobtnalé embryo s rhizoidy). Mykorhizní stádium – protokorm – bylo zjištěno pouze u druhu *Anacamptis pyramidalis* (pouze jeden exemplář).

- Rozdíly v klíčivosti v závislosti na stáří ploch nebyly statisticky průkazné, obecně se však dá říci, že druhy lépe klíčí na plochách starších (9 a 10 let) a na plochách velmi mladých (2 roky).
- Větší klíčivost oproti ostatním druhům byla zjištěna pouze u *Anacamptis pyramidalis* a *Gymnadenia conopsea*.
- *Platanthera bifolia* a *Orchis militaris* klíčily jen velmi málo.
- *Orchis mascula*, *Traunsteinera globosa*, *Neottia ovata* neklíčily vůbec.
- U druhu *Neotinea ustulata* můžeme očekávat v dalším pozorování klíčivost, vzhledem k malé úmrtnosti semen.
- Výsledky dále naznačují, že *Anacamptis pyramidalis* a *Gymnadenia conopsea* klíčily na trvalých plochách lépe, a také si lépe udržovaly lepší životnost semen než na loukách obnovených.
- Bylo zmapováno území obnovených luk včetně blízkého okolí z důvodu možného výskytu zdroje semen, neboli kolonizačního potenciálu zkoumaných rostlin. Byly nalezeny 4 druhy *Orchis mascula*, *Platanthera bifolia*, *Neottia ovata* a *Anacamptis pyramidalis*.

Do budoucna bych se rád dál věnoval klíčivosti orchidejí na obnovených a recentních plochách. Zajímavá pak může být klíčivost v těsné blízkosti dospělých jedinců, jenž by mohl vyřešit otázku, proč se při mém pokusu nevyskytla semena v mykorhizním stavu – protokormu na kontrolních plochách.

6. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Arditti J., Ghani A. K. A. (2000): Tansley Review No. 110, Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications. – *New Phytologist* 145: 367-421.
- Baskin C. C., Baskin J. M. (1998): *Seed: Ecology, Biogeography, and evolution of dormancy and Germination*. – Academic Press, San Diego.
- Bateman R. M., Hollingsworth P. M., Preston J., Yi-Bo L., Pridgeon A. M., Chase M. W. (2003): Molecular phylogenetics and evolution of Orchidinae and selected Habenariinae (Orchidaceae). – *Botanical Journal of the Linnean Society* 142: 1-40.
- Batoušek P., Kežlínek Z. (2012): *Kruštíky České republiky*. – ČSOP Hořepník, Prostějov.
- Batty A. L., Dixon K. W., Brundrett M., Sivasithamparam K. (2001): Constraints to symbiotic germination of terrestrial orchid seed in a mediterranean bushland. – *New Phytologist* 152: 511-520.
- Batty A. L., Dixon K. W., Sivasithamparam K. (2000): Soil seed bank dynamics of terrestrial orchids. – *Lindleyana* 15: 227-236.
- Bekker R. M. (1998): *The Ecology of Soil Seed Banks in Grassland Ecosystems*. – Van Denderen, Groningen.
- Cameron D. D., Leake J. R., Read D. J. (2006): Mutualistic mycorrhiza in orchids: evidence from plant–fungus carbon and nitrogen transfers in the green-leaved terrestrial orchid *Goodyera repens*. – *New Phytologist* 171: 405-416.
- Cribb P. J., Kell S. P., Dixon K. W., Barrett R. L. (2003): Orchid conservation – a global perspective. Eds: KW Dixon, SP Kell, RL Barrett, PJ Cribb : In *Orchid conservation*. – Natural History Publication, Kota Kinabalu. Malaysia, 1-24.
- Davies P., Davies T., Huxley A. (1983): *Wild Orchids of Britain and Europe*.

– Chatto a Windus, The Hogarth Press, London, UK.

- De hert K., Jacquemyn H., Provoost S., Honnay O. (2013): Absence of Recruitment Limitation in Restored Dunen Slacks Suggests That Manual Seed Introduction Can Be a Successful Practice for Restoring Orchid Populations. – *Restoration Ecology* 21: 159–162.
- Dearnaley J. D. W., Martos F., Selosse M. A. (2012): Orchid Mycorrhizas: Molecular Ecology, Physiology, Evolution and Conservation Aspects. – *The Mycota* 9: 207-230.
- Delforge P. (2006): *Orchids of Europe, North Africa and the Middle East*. 3rd edition. – AC Black Publishers Ltd., London, England.
- Devey D. S., Bateman R. M., Fay M. F., Hawkins J. A. (2008): Friends or Relatives? Phylogenetics and Species Delimitation in the Controversial European Orchid Genus *Ophrys*. – *Annals of Botany* 101: 385-402.
- Diez M. J. (2007): Hierarchical patterns of symbiotic orchid germination linked to adult proximity and environmental gradients – *Journal of Ecology* 95: 159-170.
- Fenner M., Thompson K. (2005): *The ecology of seeds*. – Cambridge University Press, Cambridge.
- Gäumann E., Nuesch Ji., Rimpau R. H. (1960): Weitere Untersuchungen über die chemische Abwehrreaktionen der Orchideen. – *Phytopathologische Zeitschrift* 38: 274-308.
- Gebauer G., Meyer M. (2003): ^{15}N and ^{13}C natural abundance of autotrophic and mycoheterotrophic orchids provides insight into nitrogen and carbon gain from fungal association. – *New Phytologist* 160: 209-223.
- Gezgin Y., Eltem R. (2009): Diversity of endophytic fungi from various Aegean and Mediterranean orchids (saleps). – *Turkish Journal of Botany* 33: 439-445.

- Gryndler M., Baláz M., Hršelová H., Jansa J., Vosátka M. (2004): Mykorhizní symbióza: O soužití hub s kořeny rostlin. – Academia, Praha.
- Hu Z., Huang Q. (1994): Induction and accumulation of the antifungal protein in *Gastrodia elata*. – Acta Botanica Yunnanica 16: 169-177.
- Illyés Z., Eszéki E., Ouanphanivanh N., Garay T., Halász K., Geösel A., Lukács N., Bratek Z. (2006): Conservation methods of Hungarian native orchids and identification of symbiotic mycorrhizal fungi. – 1st ECCB, Eger. aug. 22-26. Book of Abstr.: 119.
- Illyés Z., Ouanphanivanh N., Rudnóy Sz., Orczán Á. K., Bratek Z. (2010): The most recent results on orchid mycorrhizal fungi in Hungary. – Acta Biologica Hungarica 61: 88-96.
- Illyés Z., Ouanphanivanh N., Zoltán., Rudnóy S., Bratek Z., (2012): Orchids in the Carpathian Basin and their Mycorrhizal Associations. – Journal of Applied Botany 83: 28-36.
- Jacquemyn H., Brys R., Lievens B., Wiegand T. (2012): Spatial variation in below-ground seed germination and divergent mycorrhizal associations correlate with spatial segregation of three co-occurring orchid species. – Journal of Ecology 100: 1328-1337.
- Jacquemyn H., Honnay O., Cammue B. P. A., Brys R., Lievens B. (2010): Low specificity and nested subset structure characterize mycorrhizal associations in five closely-related species of the genus *Orchis*. – Molecular Ecology 19: 4086-4095.
- Jacquemyn H., Brys R., Honnay O., Hutchings J. (2009): Biological Flora of the British Isles: *Orchis mascula* (L.) L. – Journal of Ecology 97: 360-377.

- Jersáková J. 2003. Biologie, ekologie a rozšíření vstavače osmahlého. – *Živa* 5: 207-209.
- Jersáková J., Kindlmann P. (2004): Zásady péče o orchidejová stanoviště. – KOPP, České Budějovice.
- Jersáková J., Malinová T. (2007): Spatial aspects of seed dispersal and seedling recruitment in orchids. – *New Phytologist* 176: 237-241.
- Jongepierová I. (ed.) (2008): Louky Bílých Karpat (Grasslands of the White Carpathian Mountains) – ZO ČSOP Bílé Karpaty, Veselí nad Moravou, 461.
- Jongepier J. W., Jongepierová I. (2006): Komentovaný seznam cévnatých rostlin Bílých Karpat. – ZO ČSOP Bílé Karpaty, Veselí nad Moravou. 108.
- Jongepier J. W., Pechanec V. (2006): Atlas rozšíření cévnatých rostlin CHKO Bílé Karpaty. – ZO ČSOP Bílé Karpaty, Veselí nad Moravou. 202.
- Joppa L. N., Roberts D. L., Pimm S. L., (2011): How many species of flowering plants? – *Proceedings of the Royal Society of London B*. 278: 554-559.
- Kew. 2013. The Orchid Family (Orchidaceae). – Dostupné na <http://www.kew.org/plants-fungi/for-gardeners/orchids/>. Staženo 27. 2. 2013.
- Kinderen van der G. (1995): A method for the study of field germinated seeds of terrestrial orchids. – *Lindleyana* 10: 68-73.
- Kotlínek M. (2012): Průběh klíčení a mykorrhizní asociace dvou druhů rodu *Neottia*. [Germination course and mycorrhizal association of two *Neottia* species. Mgr. Thesis, in Czech]. – 30p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.
- Kuča P., Májský J., Kopeček F., Jongepierová I. (1992): Chraněná krajinná oblast Biele/Bíle Karpaty – Ekológia, Bratislava.

- Leake J. R. (1994): The biology of myco-heterotrophic (saprophytic) plants. – *New Phytologist* 127: 171-216.
- Mackovčín P., Jatiová M. (2002): Zlínsko, Chráněná území ČR, svazek II. – Agentura ochrany přírody a krajiny ČR a EkoCentrum Brno, Brno, Praha.
- Marhold K., Jongepierová I., Krahulcová A. Kučera J. (2005): Morphological and karyological differentiation of *Gymnadenia densiflora* and *G. conopsea* in the Czech Republic and Slovakia. – *Preslia* 77(2): 159-176.
- Marchisio V. P., Berta G., Fontana V., Marzetti Mannina F. (1985): Endophytes of wild orchids native to Italy: their morphology, caryology, ultrastructure and cytochemical characterization. – *New Phytologist* 100: 623-641.
- McCormick M. K., Taylor D. L., Juhaszova K., Burnett R. K., Whigham D. F., O'Neill J. P. (2012): Limitations on orchid recruitment: not a simple picture. – *Molecular Ecology* 21: 1511–1523.
- McKendrick S. L., Leake J. R., Taylor D. L., Read D. J. (2000): Symbiotic germination and development of myco-heterotrophic plants in nature: ontogeny of *Corallorhiza trifida* and characterization of its mycorrhizal fungi. – *New Phytologist* 145: 523-537.
- McKendrick S. L., Leake J. R., Taylor D. L., Read D. J. (2002): Symbiotic germination and development of the myco-heterotrophic orchid *Neottia nidus-avis* in nature and its requirement for locally distributed *Sebacina* spp. – *New Phytologist* 154: 233-247.
- Mejstřík V. (1988): Mykorrhizní symbiózy. Studie ČSAV č. 7. – Academia, Praha.
- Molina R., Trappe J. M. (1982): Lack of mycorrhizal specificity by the ericaceous hosts *Arbutus menziesii* and *Arctostaphylos uva-ursi*. *New Phytologist* 90: 485-509.

- Nekvapilová E. (2012): Použití poloparazitů r. *Rhinanthus* v projektech obnovy květnatých luk. [Use of the hemiparasitic *Rhinanthus* for the restoration of flowering meadows. Bc. Thesis, in Czech] – 49 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.
- Oien D. I., O'Neill J. P., Whigham D. F., McCormick M. K. (2008). Germination ecology of the boreal-alpine terrestrial orchid *Dactylorhiza lapponica* (Orchidaceae). – *Annales Botanici Fennici* 45: 161-172.
- Otero J. T., Flanagan N. S., Herre E. A., Ackerman J. D., Bayman P. (2007): Widespread mycorrhizal specificity correlates to mycorrhizal function in the neotropical, epiphytic orchid *Ionopsis utricularioides* (Orchidaceae). – *American Journal of Botany* 94: 1944-1950.
- Pinheiro J., Bates D., DebRoy S., Sarkar D., the R Development Core Team. (2011): nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. – R package version 3.1-98.
- Prach K., Jongepierová I., Jírová A., Lencová K. (2009): Ekologie obnovy IV. Obnova travinných ekosystémů. – *Živa* 4: 165-168.
- Procházka F. (2010): Orchidaceae Juss. - vstavačovité (orchideje). Eds: Štěpánková J., Chrtek J., Kaplan Z.: Květena České republiky 8. – Academia, Praha. 430.
- Procházka F., Velíšek V. (1983): Orchideje naší přírody. – Academia, Praha.
- R development core team. (2006): *R: A language and environment for statistical computing. Foundation for Statistical Computing.* – Vienna, Austria. Website <http://www.R-project.org>.
- Raghavan V., Goh C. J. (1994): DNA synthesis and mRNA accumulation during germination of embryos of the orchid *Spathoglottis plicata*. – *Protoplasma* 183: 137-147.

- Rasmussen H. N., Rasmussen F. N. (2009): Orchid mycorrhiza: implications of amycophagous life style. – *Oikos* 118: 334-345.
- Rasmussen H. N. (1995): Terrestrial orchids, from seed to mycotrophic plant – Cambridge University Press, Great Britain.
- Rasmussen H. N., Andersen T. F., Johanin B. (1990): Temperature sensitivity of in vitro germination and seedling development of *Dactylorhiza majalis* (Orchidaceae) with and without a mycorrhizal fungus. – *Plant, Cell and Environment* 13: 171-177.
- Rasmussen H. N., Johansen B., Andersen T. F. (1991). Symbiotic in vitro culture of immature embryos and seeds from *Listera ovata*. – *Lindleyana* 6: 134-139.
- Rasmussen H. N., Whigham 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., Whigham D. F. (2002): Phenology of roots and mycorrhiza in orchid species differing in phototrophic strategy. *New Phytologist* 154: 797-807.
- Rasmussen H. N., Pedersen, H. (2011): *Cypripedium calceolus* germination in situ: seed longevity, and dormancy breakage by long incubation and cold winters. – *European Journal of Environmental Sciences* Vol. 1, No. 2, 69-70.
- Selosse M-A., Faccio A., Scappaticci G., Bonfante P. (2004): Chlorophyllous and achlorophyllous specimens of *Epipactis microphylla* (Neottieae, Orchidaceae) are associated with ectomycorrhizal septomycetes, including Truffles. – *Microbial Ecology* 47: 416-426.

- Selosse M-A., Setaro S., Glatard F., Richard F., Urcelay C., Weiss M. (2007): Sebacinaleae are common mycorrhizal associates of Ericaceae. – *New Phytologist* 174: 864-878.
- Selosse M-A., Weiß M., Jany J. L., Tillier A. (2002): Communities and populations of sebacinoideae basidiomycetes associated with the achlorophyllous orchid *Neottia nidus-avis* (L.) L. C. M. Rich. And neighbouring tree ectomycorrhizae. – *Molecular Ecology* 11: 1831-1844.
- Smith S. E., Read D. J. (2008): *Mycorrhizal Symbiosis*, Third Edition. – Academic press, New York, USA.
- Stark C., Babik W., Durka W. (2009): Fungi from the roots of the common terrestrial orchid *Gymnadenia conopsea*. *Mycological Research* 113: 952-959.
- Štěpánková J., Chrtěk J. jun. et Kaplan Z. [eds] (2010): *Květena České republiky*. 8 [Flora of the Czech Republic.] – Academia, Praha.
- Tali K., Foley M. J. Y., Kull T. (2004): *Orchis ustulata* L. – *Journal of Ecology* 92: 174-184.
- Thompson K. a Grime J. P. (1979): Seasonal variation in the seed banks of herbaceous species in ten contrasting habitats. – *The Journal of Ecology* 67: 893-921.
- Thompson K., Bakker J. P., Bekker R. M. (1997): *The Soil Seed Banks of North West Europe: methodology, density and longevity*. – Cambridge University Press, Cambridge.
- Wang B., Qui Y-L. (2006): Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. – *Mycorrhiza* 16: 299-363.

- Weiss M., Selosse M-A., Rexer K-H., Urbam A., Oberwinkler F. (2004): Sebaciniales: a hitherto overlooked cosm of heterobasidiomycetes with a broad mycorrhizal potential. – *Mycological Research* 108: 1003-1009.
- Weiss M., Sykorova Z., Garnica S., Riess K., Martos F., Krause C., Oberwinkler F., Bauer R., Redecker D. (2011): Sebaciniales Everywhere: Previously Overlooked Ubiquitous Fungal Endophytes – *Plos One* 6 (2).
- Whigham D. F., Willems J. H. (2003): Demographic studies and life-history strategies of temperate terrestrial orchids as a basis for conservation. K. W. Dixon, S. P. Kell, R. L. Barrett, P. J. Cribb (Eds.), *Orchid Conservation*, – Natural History Publications (Borneo), Kota Kinabulu, Sabah: 137-158.
- Whigham D. F., O'Neill J. P., Rasmussen H. N., Caldwell B. A., McCormick M. K. (2006): Seed longevity in terrestrial orchids – potential for persistent in situ seed banks. – *Biological Conservation* 129: 24-30.
- Zak B. (1974): Ectendomycorrhiza of Pacific madrone (*Arbutus menziesii*). – *Transactions of the British Mycological Society* 62: 202-204.
- Zelmer C. D., Currah R. S. (1997): Symbiotic germination of *Spiranthes lacera* (Orchidaceae) with a naturally occurring endophyte. – *Lindleyana* 12: 142-148.
- Zettler L. W., Hofer C. J. (1998): Propagation of the little club-spur orchid (*Platanthera clavellata*) by symbiotic seed germination and its ecological implications. – *Environmental and Experimental Botany* 39: 189-19.