

Jihočeská universita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta

Problematika převodu hybridů vybraných rodů orchidejí
z aseptické kultury in vitro do nesterilního prostředí

bakalářská práce

Michal Kelíšek st.

vedoucí práce

Ing. Zuzana Balounová, Ph.D.

konzultant

Ing. Bohumil Vondruš

České Budějovice 2013

Prohlášení

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

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně pod vedením Ing. Zuzany Balounové, Ph.D., pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

V Českých Budějovicích

Podpis:

Poděkování

Rád bych poděkoval především svému školiteli Ing. Zuzaně Balounové Ph.D. za odborné vedení mé práce, cenné rady a podnětné připomínky. Můj dík patří i Ing. Bohumilu Vondrušovi za rady a konzultace, které mi věnoval během experimentu, ale hlavně za nezištné poskytnutí většiny materiálu nezbytného k této práci. Musím poděkovat také Mgr. Simoně Polákové za pomoc při statistickém zhodnocení výsledků. Děkuji též Radce Kelíškové, Lucii Kelíškové a Michalu Kelíškovi ml. za rozličnou pomoc při práci.

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE
(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Michal KELÍŠEK
Osobní číslo: Z10608
Studijní program: B4106 Zemědělská specializace
Studijní obor: Biologie a ochrana zájmových organismů
Název tématu: Problematika převodu hybridů vybraných rodů orchidejí z aseptické kultury in vitro do nesterilního prostředí
Zadávající katedra: Katedra biologických disciplin

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Cíl práce: Nalezení optimálních podmínek pro převod mladých orchidejí z kultury in vitro.
Metodický postup:

1. Zpracovat literární přehled (dosud publikované údaje)
2. Provést vlastní experimentální převody hybridů rodu *Phalaenopsis*, *Paphiopedilum* a *Cattleya*.
3. Nalézt optimální podmínky transferu s ohledem na určující faktory (substrát, teplota, vlhkost, světlo) včetně ochrany před invazí chorob a škůdců.
4. Vyhodnotit získaná data statistickými metodami.
5. Vypracovat metodiku pro převody mladých orchidejí vybraných taxonů.


Umožňuje se přehledně
zpracovat a představit
výsledky práce.

Rozsah grafických prací: 10
Rozsah pracovní zprávy: 30
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná
Seznam odborné literatury:

Dykyjová, D. (2003): Ekologie středoevropských orchidejí, Kopp, České Budějovice
Faltys, V. (1993): Přehled vyhynulých, neznámých a ohrožených taxonů cévnatých rostlin na území Východních Čech, Český ústav ochrany přírody, Pardubice
Hejný S., Slavík B. (1988): Květena České republiky, Academia, Praha.
Holub, J., Procházka, F. (2000): Red List of vascular plants of the Czech - 2000, Preslia, Praha.
Chytrý, M. (2001): Katalog biotopů ČR, AOPK Praha.
Kubát, K., Hrouda, L., Chrtek, J., jun., Kaplan, Z., Kirschner, J., Štěpánek, J., [eds.]. (2002): Klíč ke květeně České republiky. Academia, Praha
Jatiová, M., Šmiták, J. (1996): Rozšíření a ochrana orchidejí na Moravě a ve Slezsku, AOPK Praha, středisko Brno
Krčán, K., Kopecký, K. (1959): Květena okolí Nového Města n. Metují, Preslia 31, Praha
Procházka, F. (1977): Orchideje Východočeského kraje, část III. - Práce a studie. Příroda, Pardubice
Smoczyk, M., Jakubská, A. (2004): Romieszczenie storczykowatych Orchidaceae w polskiej części Gór Orlickich i Pogórza Orlickiego, Przyroda Sudetów
Wells, T.C.E. (1981): Population ecology of terrestrial orchids. In: Syngae, H. (ed.), The biological aspects of rare plant conservation, J. Wiley & Sons Ltd.
DVD Botanická zahrada a arboretum Mendelovy univerzity v Brně: Sběrka orchidejí

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Zuzana Balounová, Ph.D.
Katedra biologických disciplin

Datum zadání bakalářské práce: 14. ledna 2012
Termín odevzdání bakalářské práce: 15. dubna 2013


Ing. Karel Suchý, Ph.D.
proděkan pověřený vedením ZF

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Svatojanská 15
370 05 České Budějovice


doc. RNDr. Ing. Josef Rajchard, Ph.D.
vedoucí katedry

Obsah

1. Úvod	7
2. Literární přehled	8
2.1. Taxonomické zařazení zkoumaných taxonů.....	8
2.2. Morfologie	11
2.3. Rozšíření.....	13
2.4. Mykorrhiza	14
2.5. Kultivace	15
2.6. Rozmnožování.....	17
2.7. Hybridizace	18
3. Metodika	19
3.1. Převod orchidejí z kultury <i>in vitro</i>	19
3.1.1. Rostlinný materiál.....	19
3.1.2. Práce s rostlinným materiálem	19
3.1.3. Podmínky pěstování	22
3.2. Vliv hnojení na nárůst biomasy	22
3.2.1. Rostlinný materiál.....	22
3.2.2. Práce s rostlinným materiálem	22
3.2.3. Podmínky pěstování	26
4. Výsledky	27
4.1. Převod z kultury <i>in vitro</i>	27
4.2. Vliv hnojení na nárůst biomasy	29
5. Diskuse	32
6. Závěr	34
7. Seznam použité literatury	35

Souhrn

V této práci byly provedeny pokusy se třemi taxony orchidejí. V první části se mělo zjistit, zda má ošetření rostlin manganistanem draselným (KMnO₄) vliv na mortalitu při převodu z kultury *in vitro* do nesterilního prostředí běžné kultivace. Všechny tři taxony byly rozděleny na dvě části a jen jedna z nich vždy ošetřena a druhá nikoli. Během pokusu se zaznamenávaly úhyny v jednotlivých skupinách. V druhé části se zkoumalo u dvou taxonů, zda má hnojení vliv na nárůst biomasy. Metoda spočívala opět v rozdělení skupin na dvě části a hnojení pouze jedné z nich. Zvážením rostlin na začátku a na konci experimentu byla získána potřebná data. Výsledky naznačují, že ošetření rostlin při převodu nemá vliv na pozdější mortalitu. V druhé části se podařilo prokázat závislost hnojení na nárůst biomasy pouze u jednoho ze dvou taxonů.

Klíčová slova: Orchideje, *in vitro*, biomasa, mortalita, experiment, hnojení

Abstract

In this paper experiments were made with three taxa of orchids. The first part was to find out whether the treatment of plants with potassium permanganate (KMnO₄) has any impact on mortality during the transfer from *in vitro* culture to the unsterile environment of routine cultivation. All three taxa were divided into two parts and only one part was always treated while the other not. The deaths in individual groups were recorded during the experiment. In the second part the effect of fertilization on the biomass growth was investigated on two taxa. The method was again based on the division of the taxa into two parts and the fertilization of only one part. Necessary data were obtained by the weighing of plants at the beginning and end of the experiment. The results of the first experiment indicate that treatment of plants during the transfer has no impact on the subsequent mortality. In the second part, the dependence of fertilization on the biomass growth has been successfully proven in only one of the two taxa.

Key words: Orchids, *in vitro*, biomass, mortality, experiment, fertilization

1. Úvod

Poslední dobou zaznamenává pěstování orchidejí obrovský vzestup jak mezi odborníky, tak mezi amatéry. Tento celosvětový trend spolu s likvidací přirozených biotopů orchidejí s sebou bohužel přináší i jejich ohrožení. Převážně z těchto důvodů se orchideje staly celosvětově chráněnou čeledí (CITES I, II). Protiváhou nelegálního drancování přírodních stanovišť se ve stále větší míře stávají specializované zahradnické firmy a botanické zahrady, jež svojí produkcí rostlin v umělých podmínkách úspěšně snižují ceny botanických druhů a jejich hybridizací zajišťují rostliny snadno pěstovatelné v bytových podmínkách.

Tato práce je zaměřena na ověření vlivu ošetření manganistanem draselným (KMnO_4) na mortalitu rostlin při převodu z kultury *in vitro* do nesterilního prostředí a v druhé fázi na zjištění závislosti nárůstu biomasy na hnojení.

2. Literární přehled

2.1. Taxonomické zařazení zkoumaných taxonů

Bletilla striata ???

Říše: **Rostliny** (*Plantae*)

Oddělení: (*Magnoliofyta*)

Třída: Jednoděložné (*Liliopsida*)

Řád: Vstavačokvěté (*Orchidales*)

Čeleď: Vstavačovité (*Orchidaceae*)

Podčeleď: *Epidendroideae*

Tribus: *Arethuseae*

Subtribus: *Arethusinae*

Druh: *Bletilla striata*

(Procházka, Velišek, 1983; Dušek, Křístek, 1986)

Druh: *Bletilla striata* pochází z Japonska a Číny. Jde o terestrickou orchidej. Z podzemních pahlíz na jaře vyráží květní stvol zároveň s listy. Květy jsou růžové až růžovofialové, 5 cm velké a může jich být i osm. Tři až čtyři listy jsou kopinaté, podélně zvrásněné, až 45 cm dlouhé. Existují také formy s bílými květy nebo pestrobarevnými listy. Na podzim listy opadají a do jara rostliny prožívají období klidu (Dušek, Křístek, 1986).



Zdroj: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bletilla_striata1.jpg

***Phalaenopsis amabilis* ???**

Říše: **Rostliny (*Plantae*)**

Oddělení: (*Magnoliophyta*)

Třída: Jednoděložné (*Liliopsida*)

Řád: Vstavačokvěté (*Orchidales*)

Čeleď: Vstavačovité (*Orchidaceae*)

Podčeleď: *Epidendroideae*

Tribus: *Vandaeae*

Subtribus: *Sarcanthinae*

Druh: *Phalaenopsis amabilis*

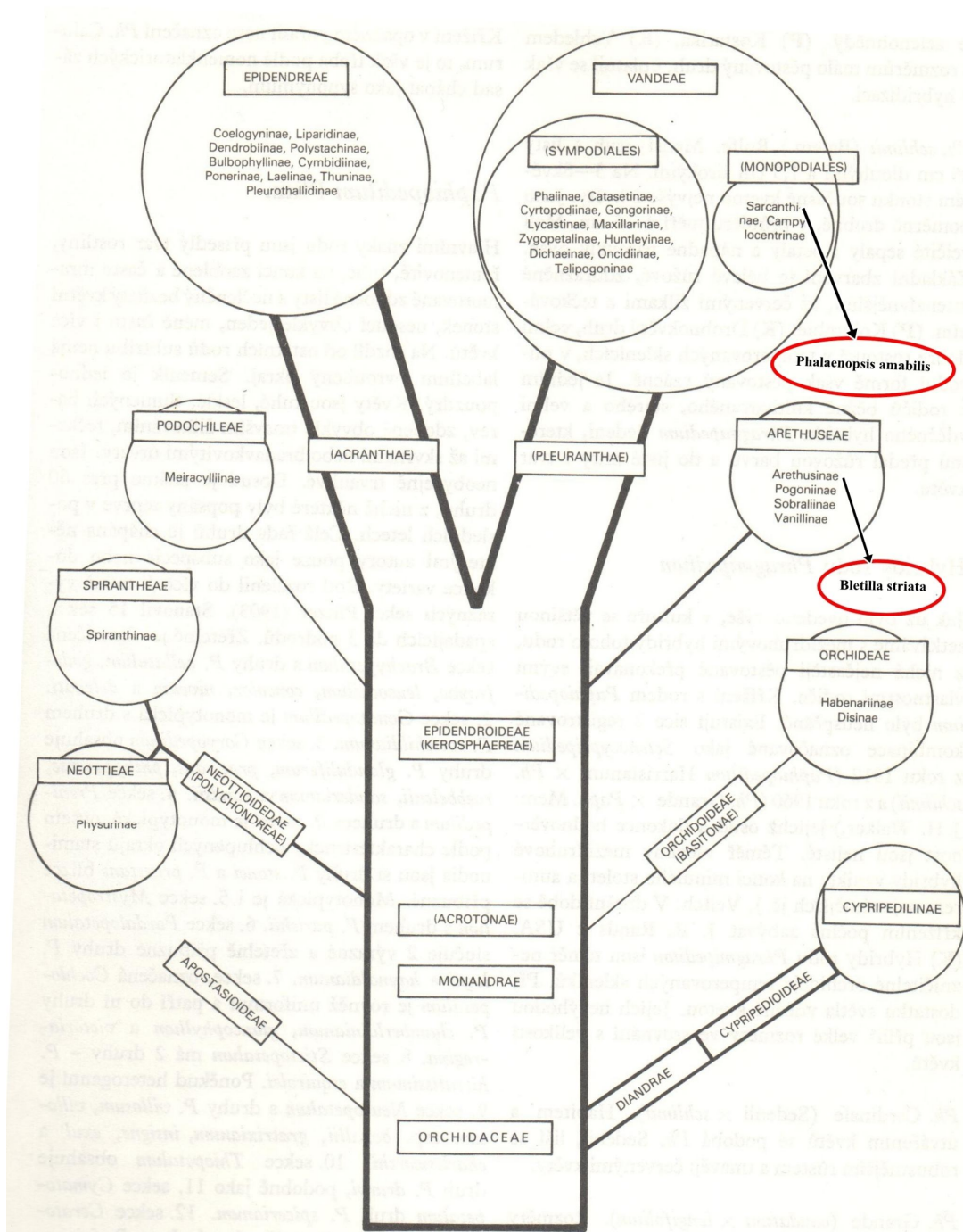
(Procházka, Velíšek, 1983)

Druh: ***Phalaenopsis amabilis*** pochází z Indonésie, severní Austrálie a Nové Guineje. Je to monopodiální epifytická orchidej. Masité zelené listy rostou protilehle nahloučené na krátkém stonku. Jejich rozměry mohou dosahovat až 12 cm šířky a 30 cm délky. Květní stvol vyrůstá z boku stonku a může nést až 20 bílých, 8 cm velkých květů. Pysk je uvnitř žlutavý, červeně zdobený. Střední lalok pysku vybíhá ve dva bičíkovité výběžky. Silné kořeny kryté velamenem kopírují podložku (Dušek, Křístek, 1986).



Zdroj: <http://www.orchidsonline.com.au/node/1140>

Obr.1: Schéma členění čeledi Orchidaceae



Dušek, Křístek (1986) 1 upraveno

Schéma zobrazuje rozčlenění na systematické skupiny, v hrubých rysech vyjadřuje směr vývoje a zachycuje příbuzenské vztahy jednotlivých systematických jednotek. Podčeledi a triby jsou v obdélnících, nižší taxony – subtriby v kruzích (Dušek, Křístek, 1986).

2.2. Morfologie

Stavba těla orchidejí vychází ze základů třídy jednoděložných. Protože však osazují většinou odlišné niky s jinými ekologickými podmínkami, mají značné množství modifikací (Dušek, Křístek, 1986).

Utváření stonku, který nese vegetační i reprodukční orgány je rozhodující pro celý habitus rostliny. Podle něj se růst orchidejí dělí na monopodiální a sympodiální. Větší část orchidejí roste sympodiálně. Jejich stonek roste po povrchu substrátu nebo pod jeho povrchem. Jedná se vlastně o rhizom s různě dlouhými internodii. Z koncového pupene vyrůstá letorost, který vytváří pahlízu a listy. Vyrůstají z něj také nové kořeny a květenství. Po vyžráním letorostu a určité době klidového stavu pokračuje růst z bočního pupene, který se vyvine vedle hlavního. U monopodiálních orchidejí má koncový pupen neomezený růst. Vytváří se stonek s opět různě dlouhými internodii. Na něm vyrůstají ve dvou protilehlých řadách listy. Někdy se tyto řady mohou stáčet do šroubovice. Ze stonku rostou květy a květenství (Dušek, Křístek, 1986).

Pahlízy (pseudobulby) jsou orgány, které nesou listy a slouží rostlině především jako zásobárna vody. Tvar pahlíz je velmi rozmanitý. Od kulovitých (*Trias*), vejčitých (*Bulbophyllum*), vřetenovitých (*Dendrobium*), válcovitých (*Dendrobium*) až po rákosovité (*Epidendrum*). Jindy jsou jen slabě naznačené (*Restrepia*). Dále mohou být hladké, různě podélně rýhované, na průřezu kruhové, elipsovité i čtyřhranné. Jejich velikost se může pohybovat od 2 milimetrů až do 3 metrů (Ježek, 2003).

Listy jsou celokrajné, na bázi většinou s pochvou. Tvary jsou opět velmi rozmanité a často velice odlišné. Mohou být téměř kruhové, elipsovité, kopinaté, řemenovité i válcovité – ty většinou suplují funkci slabě vyvinuté pahlízy. Žilnatina bývá většinou souběžná, jen málokdy síťkovaná. Různé druhy mají stavbu listů přizpůsobenou různým vegetačním podmínkám. Druhy rostoucí ve vlhku a zástínu mají listy měkčí s tenkou kutikulou. U druhů rostoucích na suchých osluněných místech se vyvinuly listy tuhé ztlustlé se silnou kutikulou. Některé druhy jsou sezónně opadavé, u jiných dochází k redukci listů až k jejich úplnému vymizení (*Chiloschista*). Naprostá většina listů disponuje různými odstíny zelené barvy. I zde jsou však výjimky

a pestré barevnosti listů způsobují anthokyanové skvrny, stříbřité šupinky nebo nerovnoměrně rozložený chlorofyl (Dušek, Křístek, 1986).

Kořeny orchidejí rostoucích terestricky mají stavbu podobnou jako ostatní rostliny. Kořeny epifytních a litofytních orchidejí mají stavbu odlišnou. Vnitřní část je tvořena válcem vodivých pletiv, který má po obvodu vrstvu zvanou endodermis. Vnější vrstvu tvoří epidermis, velamen a zevní kůra. Epidermální buňky jsou při styku kořene s podložkou schopny prorůst kolmo na osu kořene a přilnout pevně k povrchu. Velamen dává kořenům charakteristickou bílou barvu, protože je tvořeno vrstvou tlustostěnných buněk, naplněných vzduchem. Tato vrstva za sucha odráží sluneční paprsky a chrání vnitřek před přehřátím a vysycháním. Za deště je naopak schopna nasáknout vodou a prodloužit tak dobu jejího využití. Tento typ kořenů nemá vlášení a jeho funkci zajišťuje špička kořene nekrytá velamenem. Další zvláštností kořenů epifytických orchidejí je, že obsahují chlorofyl a určitou měrou se podílejí na fotosyntéze. Existují dokonce orchideje, které vůbec nemají listy a jejich funkci plně přebírají kořeny (rody *Chiloschista*, *Polyrhiza*, *Taeniophyllum*). Růst kořenů podléhá určité periodicitě, stejně jako růst letorostů. Životnost kořenů není dlouhá a po zetlení přispívají k výživě rostliny (Dušek, Křístek, 1986).

Květy orchidejí jsou zygomorfni, tedy souměrné podle svislé osy. Jsou složeny z pěti trojčetných kruhů. Tři lístky vnějšího kruhu poskytují květu ochranu před rozvitím. Z počátku obsahují chlorofyl a při rozkvětu se zabarvují. Vnitřní kruh má také tři lístky, z nichž jsou dva shodné tvarem i barvou, třetí je tvarově a většinou i barevně odlišen od ostatních. Nazývá se pysk – labelum. Má úlohu přistávací plochy a lákadla pro opylovače. Je běžnou orchidejářskou praxí označovat vnější kruh jako sepaly, vnitřní jako petaly a oba dohromady jako tepaly. Toto zažité označení není správné, neboť je vyhrazeno pro okvětní lístky dvouděložných. Přesto se používá pro lepší srozumitelnost a zjednodušení při popisování květů různých druhů, a to i v cizojazyčné odborné literatuře. U zbývajících tří kruhů došlo u orchidejí k podstatným změnám. U dvou kruhů patřících samčím pohlavním orgánům došlo k redukci na jednu (*Monandrae*) nebo dvě (*Diandrae*) plodné tyčinky. Čnělky a blizny tvoří pátý kruh. U čeledi *Diandrae* jsou blizny plně vyvinuté a horní bývá větší než dvě spodní. U podčeledi *Monandrae* je horní blizna úplně nebo částečně změněna v útvar zvaný rostellum. Ten odděluje prašníky od blizny a zabraňuje u většiny orchidejí samoopylení. Srostlé nitky tyčinek a čnělky pestíků tvoří sloupek (kolumna). U primitivních orchidejí jsou sloupky dva – čnělkový a tyčinkový. U ostatních orchidejí

splývají v gynostemium, na jehož konci jsou pohlavní orgány (Dušek, Křístek, 1986). Pyl je u většiny orchidejí slepen látkou viscinem do tuhých tělísek různého tvaru. Ta se přilepí na opylovače, který je přenesen na jiný květ (Ježek, 2003).

Květenství některých orchidejí vyrůstají buď z vrcholu letorostu nebo z jejich blízkosti, u jiných rostou od báze pahlíz. U monopodiálních orchidejí vyrůstá květenství ze strany stonku. Květenství mohou mít podle druhu a stáří rostliny jeden až několik set květů. Základním typem květenství je hrozen, některé je větvené a vzniká lata. Na barvě květů se podílí flavony, flavonoly, anthokyany a chlorofyl. Jejich kombinací vznikají různé barvy (Dušek, Křístek, 1986). Rozkvétání začíná vždy od báze květenství ke konci. Květy vyrůstají v úžlabí listovitých nebo šupinovitých, zpravidla zelených listenů. Jsou buď krátce stopkaté nebo častěji přisedlé na dlouhých semenících (Procházka, Velíšek, 1983).

Semeník je u orchidejí vždy spodní, tří nebo šestiboký. Tvoří ho tři plodolisty. Semena jsou velmi drobná a až na výjimky nemají endosperm. Bývá jich velké množství. Zajímavým jevem je stočení semeníku o 180° kolem podélné osy těsně před rozkvetem. Pysk, který je v poupěti původně nahoře, se tím dostane do spodní části květu. Tento jev se nazývá resupinace a objevuje se u naprosté většiny druhů (Dušek, Křístek, 1986). U některých druhů k resupinaci nedochází a pysk zůstává v horní části květu. Častější však je, že se semeník zkroutí o celých 360° a pysk je opět nahoře. Řídký je případ, kdy se semeník pouze obloukovitě prohne a jeho horní část – pysk se tak dostane do dolní polohy. K tomu dochází například u střevíčníku (Procházka, Velíšek, 1983).

2.3. Rozšíření

Orchideje jsou druhou nejpočetnější čeledí rostlin. Najdeme je ve všech zeměpisných šířkách, kde se vyskytují cévnaté rostliny. (Dušek, Křístek, 1986) Jejich fylogenetický původ spadá do počátku terciéru, kdy byly asijský a americký kontinent spojeny. Dokazuje to mnoho společných znaků, které mají orchideje na obou kontinentech. Z tropické oblasti asijsko-amerického prakontinentu se šířily do mírných pásem obou polokoulí. Poté se jejich fylogenetický vývoj ubíral samostatnou cestou. Tímto způsobem vznikly tisíce druhů, jejichž rozšíření se dělí do 9 oblastí: 3 zóny tropické Ameriky, Asie a Afriky, 3 zóny mírného pásma těchto kontinentů na severní polokouli a 3 zóny mírného pásma na jižní polokouli. Počet druhů žijících v přírodě se

odhaduje na 25 až 35 tisíc (Nash, La Croix (eds.), 2005) Orchideje rostou v nížinách i velehorách, v místech s extrémním suchem i vláhou, na zemi, pod zemí, na stromech i na skalách. To svědčí o obrovské biologické plasticitě těchto rostlin (Dušek, Křístek, 1986).

2.4. Mykorhiza

Mykorhizou se označuje soužití určitých druhů hub a vyšších cévnatých rostlin. Tento způsob symbiózy byl zjištěn již ve fosíliích předchůdců suchozemských rostlin z doby před téměř 500 miliony lety. I dnes je tento jev velmi častý a využívá jej většina suchozemských rostlin (Průša, 2005).

Mykorhizu lze rozlišit na dva základní typy. Při ektomykorhize prorůstají vlákna hub – hyfy jen do mezibuněčných prostor kořenů cévnatých rostlin. Naopak endomykorhiza se vyznačuje prorůstáním houbových hyf do nitra buněk (Průša, 2005).

Orchideová mykorhiza je jedním z několika typů endomykorhizy. Hyfy prorůstají epidermis kořenů a osidlují hostitelské buňky parenchymu (Průša, 2005). Při úplném rozvoji lze v primární kůře kořenu rozlišit až tři zóny. V první nejbližší k povrchu kořenu dochází k prorůstání buněk aniž by docházelo k výraznému větvení hyf. Druhou zónou směrem ke středu je vrstva stravovacích buněk, kde houbové hyfy vytváří jakási klubíčka – pelotony. Nejbližší středu bývá pak vrstva zásobních buněk, do kterých už houba neprorůstá (Gryndler et al., 2004). Výzkum ukázal, že houba není nikdy v přímém kontaktu s cytoplazmou rostlinné buňky. Obklopuje ji vychlípená cytoplazmatická membrána hostitelských buněk, nazývaná perifungální membrána (Hadley et al., 1971, Nieuwdorp, 1972, Peterson et al., 1998). Po určité době houbová klubíčka degradují a jsou buňkami „strávena“. Tento proces je složitý a není zatím ještě zcela objasněn. Nebylo například zjištěno, jestli je degradace klubíčka způsobena rostlinou nebo zda je sama houba takto naprogramována (Průša 2005).

Zajímavé je, že symbiotická houba se často chová u jiných druhů rostlin jako silný patogen. Například v kořenech prstnatce *Dactylorhiza purpurella* byla nalezena houba *Rhizoctonia solani*, jež je rozšířeným patogenem rostlin čeledi *Solanaceae* (Downie, 1957). O orchidejích bylo zjištěno, že v hlízách a zelených částech rostlin se vyskytují chemické látky fungicidní povahy. Ty mají zřejmě regulovat růst a chování houby (Průša 2005).

Podle závislosti na soužití s houbou v průběhu ontogenetického vývoje lze orchideje rozdělit do tří základních skupin:

1. Nezelené na mykorrhize plně závislé orchideje

Sem se řadí například hlístník hnízdák (*Neottia nidus-avis*). Tyto rostliny ztratily schopnost asimilace a jsou zcela závislé na příjmu uhlíkatých látek od houby.

2. Zelené orchideje, které jsou po celou dobu ontogenetického vývoje závislé na mykorrhize

Kromě fotosyntézy část potřebných látek musí získat prostřednictvím houby. Do této skupiny náleží většina orchidejí mírného pásma.

3. Zelené orchideje závislé na mykorrhize pouze v raných stádiích vývoje

Po vytvoření zelených asimilujících orgánů se závislost ztrácí. Do této skupiny patří například střevočnick pantoflíček (*Cypripedium calceolus*) (Průša, 2005). Přesto, jak ukázala pozorování, bývá většina těchto orchidejí mykorrhizními houbami kolonizována (Hadey, Williamson, 1972, Bermudes, Benzing, 1989, Pereira et al., 2003). Také se zjistilo, že epifytické druhy mají kořeny kolonizovány méně než terestrické (Hadley, Williamson, 1972).

Houba zásobuje rostlinu fosforem, dusíkem, sacharidy a vodou. Tento proces je jednosměrný až do doby, kdy se u rostliny vyvinou asimilační orgány. Potom může část uhlíkatých látek poskytovat i rostlina houbě. Houba stimuluje pomocí růstových hormonů – auxinů přenos monosacharidů ze zelených částí do kořenů, kde jsou stravovány. O tom svědčí i skutečnost, že většina mykorrhizních hub se dá buď těžko nebo vůbec kultivovat bez rostliny. Z těchto skutečností vyplývá, že soužití obou organismů je pravděpodobně oboustranně výhodné (Průša, 2005).

Poslední dobou se k rozpoznání a určení hub používá analýza DNA. Touto metodou bylo rozpoznáno a zařazeno mnoho hub, jež se podílejí na orchidejové mykorrhize (Průša, 2005).

2.5. Kultivace

Předpokladem kultivace orchidejí v umělých podmínkách je zajištění jejich základních ekologických nároků. Protože mohou být značně odlišné, je třeba je znát podle druhu a místa výskytu. Jediná podmínka, kterou se ještě dnes nedaří zajistit, je výskyt symbiotických hub v substrátu. Na ní je i v dospělosti závislých mnoho druhů

terestrických orchidejí mírného pásma, a proto není možné je trvale udržet v umělých podmínkách. Dalšími hlavními faktory jsou světlo, teplota, vlhkost a výživa. Podle teploty se druhy rozdělují na teplomilné, temperované a chladnomilné. Teplomilné druhy rostou v tropických deštných lesích a podobných formacích, kde je poměrně stálá teplota během celého roku. Tyto druhy neprožívají žádné výrazné období vegetačního klidu a držíme je při teplotě 21–29 °C ve dne a 18–21 °C v noci. Temperované prostory jsou vhodné pro druhy z vyšších poloh tropů nebo z oblastí vzdálenějších od rovníku. Tyto rostliny vyžadují větší rozdíly mezi dnem a nocí, ale i sezónní rozdíly. V létě je dobré udržovat denní teploty 18–24 °C a noční 16–18 °C, v zimě pak denní 16–21 °C a noční 13–16 °C. Prodělávají určité období klidu, jinak nedojde k indukci květů. Studenomilné orchideje potřebují v létě denní teploty 16–21 °C a noční 13 °C, v zimě pak denní 13–16 °C a noční 10 °C. Zajistit takové teploty v létě a zároveň dostatek světla je možno jen ve speciálním pěstebním zařízení, vybaveném chladicí technikou (Dušek, Křístek, 1986).

Podle nároku na světlo lze druhy rozdělit na extrémně stínomilné, vyžadující silné stínění, druhy vyžadující mírné stínění a heliofilní druhy. Pro pěstování je tedy třeba vědět v jakém biotopu se konkrétní druh v přírodě vyskytuje. Nejsnáze se dostatek světla zajišťuje ve skleníku, který se může různými způsoby stínit. V případě nedostatku světla se používají speciální výbojky s vhodným světelným spektrem (Dušek, Křístek, 1986).

Správná vlhkost se zajišťuje zaléváním, mlžením a větráním. Nejvhodnější je používat čistou dešťovou vodu (Ježek, 2003).

Výživa orchidejí se zajišťuje hnojením minerálními i organickými hnojivami. Orchideje umí využít minerální látky velmi efektivně, a proto je nutné hnojit opatrně a úsporně. Dnes je k dispozici mnoho průmyslově vyráběných hnojiv speciálně vyvinutých tak, aby svým složením vyhovovaly právě orchidejím. Při hnojení na list se používají ještě menší koncentrace než při zálivce. Je třeba také respektovat stadia vývoje rostliny a vegetační fáze v jakých se nacházejí – růst, vegetační klid, indukce květů atd. (Dušek, Křístek, 1986) Výživu také částečně zajišťuje kultivační substrát, a to zejména u terestrických orchidejí. U nich může být složení velmi rozdílné podle geologických a ekologických podmínek výskytu druhu. U epifytních orchidejí je třeba dbát zejména na to, aby byl substrát vzdušný a trvanlivý. Velmi časté a nejpřirozenější je pěstování botanických druhů na plátech kůry, korku a různých větvích. Pro hybridy se často používají plastové průhledné nádoby s velkými odtokovými otvory, naplněné

směsí hrubě či jemně drcené kůry, rašeliníku, polystyrénu, dřevěného uhlí apod. Vždy je důležitá dobrá drenáž, protože orchideje nesnáší trvale zamokřené kořeny. Pro druhy, jejichž květenství prorůstá substrátem kolmo k zemi (pozitivní geotropie) se používají také latkové či plastové závěsné košíky (Ježek, 2003).

2.6. Rozmnožování

Orchideje se dají rozmnožovat generativně a vegetativně. Generativní rozmnožování poskytuje velké množství rostlin, jejichž dospívání do květoschopné velikosti však trvá poměrně dlouhou dobu (podle druhu 2 – 15 let). Přirozený výsev nepřináší uspokojivé výsledky, protože semena nemají zásobní látky (endosperm) a vývoj klíčících rostlin je závislý na přítomnosti specifických druhů hub. Ty se někdy mohou nacházet na kořenech matečných rostlin a jejich okolí (Dušek, Křístek, 1986). Houby klíčícím rostlinám poskytují některé látky nezbytné pro jejich počáteční výživu. Jde zejména o cukry a zřejmě i některé vitaminy a hormony. Na základě těchto poznatků byla na počátku 20. let 19. stol. vyvinuta metoda aseptických výsevů *in vitro* (ve skle) (Ježek, 2003). Principem této metody je nahrazení látek, které poskytují houby, chemickými látkami. Semena se nejprve sterilizují lihem a chlorovým vápnem, a poté se propláchnou sterilní destilovanou vodou. Další práce se musí provádět v aseptickém prostředí. Semena se stejnoměrně nanášejí na sterilní živný substrát, tvořený anorganickými a organickými látkami zpevněnými agarem, do transfúzních lahví. Všechny nádoby, nástroje a pomůcky musí být sterilizovány. Uzavřené lahve se umístí v prostorách, kde se udržuje správná teplota a osvětlení. Při dosažení určité velikosti, kdy mají vyvinuté kořeny a listy, se rostliny z lahví vyjmou, zbaví se opláchnutím zbytků média a přesadí se do substrátu pro orchideje. Generativní způsob je využíván také při křížení (Matoušková, 2011).

Vegetativním rozmnožováním lze získat malý počet rostlin stejného genotypu a fenotypu. Tímto způsobem lze dobře množit sympodiální orchideje dělením větších trsů. Takto získané rostliny jsou brzy schopny dalšího kvetení. Monopodiální rostliny s dlouhým stonkem se dají nařízkovat na několik částí s kořeny a listy. Rostliny s velmi krátkým stonkem (*Phalaenopsis*) ale takto rozřezat nelze. Některé druhy vytvářejí mladé rostliny na odkvetlém květním stonku (*Phalaenopsis*) nebo na horních partiích pahlíz (*Dendrobium*) (Dušek, Křístek, 1986).

Další velmi efektivní způsob je tzv. explantátová kultura. Jde v podstatě o klonování pomocí dělivých pletiv – meristému. Jedná se o metodu, kdy se z vybraného jedince určitých požadovaných vlastností odebere dělivé pletivo, které se dále kultivuje v živném roztoku a ovlivňuje hormonálními látkami. Pletivo se začne exponenciálně nediferencovaně množit. Aby se nevytvářely kořenové a vrcholové pupeny, je třeba nádobami pomalu otáčet. Když shluk buněk doroste do vhodné velikosti, může se znovu rozřezat na menší díly a znovu kultivovat stejným způsobem. Toto lze opakovat v podstatě neomezeně dlouho. Po dosažení požadovaného množství materiálu se tento přenese do kultury in vitro jako při výsevu. Buňky se začnou diferencovat a vytvoří se růstové a kořenové pupeny. Další postup je stejný jako při výsevu. Touto metodou lze v poměrně krátké době získat velké množství totožných rostlin požadovaných vlastností (Ježek, 2003).

2.7. Hybridizace

Orchideje jsou vývojově velmi mladou čeledí, a proto vykazují velkou genetickou nestabilitu. Z tohoto důvodu mohou vznikat životaschopní a plodní kříženci nejen v rámci téhož rodu, ale i při mezirodovém křížení. Křížit se mohou i rody velmi odlišné tělesné stavby – např. sympodiální orchideje s monopodiálními. Naopak křížení vývojově nejstarších a morfologicky podobných rodů jako *Phragmipedium* a *Paphiopedilum* nepřináší žádné výsledky. Při křížení je velmi důležité, která rostlina vystupuje v roli matky a která v roli otce. Znaky matky jsou většinou dominující a při otočení pohlaví vznikají většinou rostliny s jinými vlastnostmi. Pro výběr zajímavých a zároveň snadno pěstovatelných rostlin je třeba křížence dopěstovat do květů. Vhodní jedinci se poté klonují pomocí explantátové kultury (Ježek 2003). Genetická nestálost je také příčinou velkého množství mutací a variet, které mohou být využity při šlechtění. Primární kříženci jsou dále využíváni při šlechtění a vznikají tak multihybridy (Dušek, Křístek, 1986). Díky známému anglickému botanikovi F. K. Sanderovi jsou od r. 1869 všechny uměle vypěstované hybridy registrovány v seznamu Sander's List of Orchid Hybrids, který je stále doplňován. U každého křížence je zaznamenán název obou rodičovských rostlin a jméno šlechtitele. Nedostatkem je, že není uvedeno pohlaví rodičovských rostlin. Současný počet umělých hybridů s malým počtem přírodních kříženců se odhaduje na 25 tisíc (Ježek, 2003).

3. Metodika

3.1. Převod orchidejí z kultury *in vitro*

3.1.1. Rostlinný materiál

- | | |
|--|------------|
| 1. <i>Phalaenopsis amabilis</i> | - výsev |
| 2. <i>Brassolaeliocattleya</i> (dále <i>Blc.</i>) Green Emerald “STACK“ | - meriklon |
| 3. <i>Bletilla striata</i> | - výsev |
- meriklon – viz. kapitola 2.6. Rozmnožování
- Blc.* – tří rodový hybrid – *Brassavola x Laelia x Cattleya*

3.1.2. Práce s rostlinným materiálem

Pokus probíhal v období od 26.4.2012 do 25.6.2012. Rostlinný materiál byl získán z pěstírny Explantex Vondruš, od každého ze 3 taxonů jedna láhev, obsahující sterilní kulturu. Před pokusem byly dne 21.4.2012 lahve s rostlinami umístěny do polostínu v prostoru teplého skleníku, kde měl proběhnout experiment. Teploty se zde pohybovaly od 20 °C v noci do 25 °C ve dne. Láhve s rostlinami byly v tomto prostoru ponechány 2 dny, aby se aklimatizovaly na nové prostředí. Další den (23.4.2012) byly uvolněny zátky láhví, aby se rostliny dostaly do styku s nesterilním vzduchem. Čtvrtý den byly rostliny z láhví postupně vyňaty a opláchnuty od zbytků média vlažnou vodou (Vondruš, 2012, *in verb*). V této fázi byly vyřazeny extrémně malé a nevyvinuté rostliny. Takto vznikly 3 pokusné skupiny:

- | | |
|--------------------------------------|--------------|
| 1. <i>Phalaenopsis amabilis</i> | - 30 rostlin |
| 2. <i>Blc.</i> Green Emerald “STACK“ | - 24 rostlin |
| 3. <i>Bletilla striata</i> | - 20 rostlin |

Každá skupina byla rozdělena na dvě části stejné počtem, srovnatelné velikosti, z nichž pouze jedna byla opláchnuta 0,01% roztokem manganistanu draselného (KMnO₄). Potom byly rostliny odděleně po skupinách uloženy v polostínu skleníku na papírové ubrousky navlhčené dešťovou vodou a přikryty stejným materiálem. Takto byly ponechány do druhého dne. Byl jim tak poskytnut čas k zesílení pokožky a zároveň byly chráněny před vyschnutím. Další den (26.4.2012) byly rostliny po skupinách opatrně přesazeny do dvou příručních skleniček (obr.1) s orchidejovým substrátem (fy LUKSHAITER). V jednom byly umístěny skupiny rostlin ošetřené manganistanem draselným (obr.2) a v druhém neošetřené rostliny (obr.3). Skleničky se zavlažily teplou

(20°C) dešťovou vodou z ručního postřikovače. Potom byly opět umístěny vedle sebe do polostínu skleníku, aby byly pro rostliny zajištěny stejné teplotní i světelné podmínky.

Během experimentu, který probíhal od 26.4.2012 po dobu 60 dní do 25.6.2012, byly rostliny 2x denně roseny odstátou dešťovou vodou. Od 5.5.2012 byly všechny rostliny pravidelně v pětidenních intervalech hnojeny hnojivem Orchimix (fy Explantex). Jednou (17.6.2012) byly všechny rostliny ošetřeny 0,5% přípravkem Chinosol (výskyt bakteriózy). Denně byly zaznamenávány denní a noční teploty digitálním teploměrem TM986H (přesnost 0.1 °C) a následně zpracovány v grafu č.1, viz kapitola 3.1.3. Podmínky pěstování. Průběžně byly odstraňovány odumřelé listy a uhynulé rostliny. Úhyny byly zaneseny do tabulek č.2, 3 a 4, podle skupin a data zpracována v programu Statistica pomocí kontingenčních tabulek (viz kapitola 4. Výsledky)

Obr.1: Skleníčky s převedenými rostlinami



Foto: M. Kelíšek (28.4.2012)

Obr. 2: Rostliny ošetřené manganistanem draselným



Foto: M. Kelíšek (28.4.2012)

Obr. 3: Rostliny neošetřené

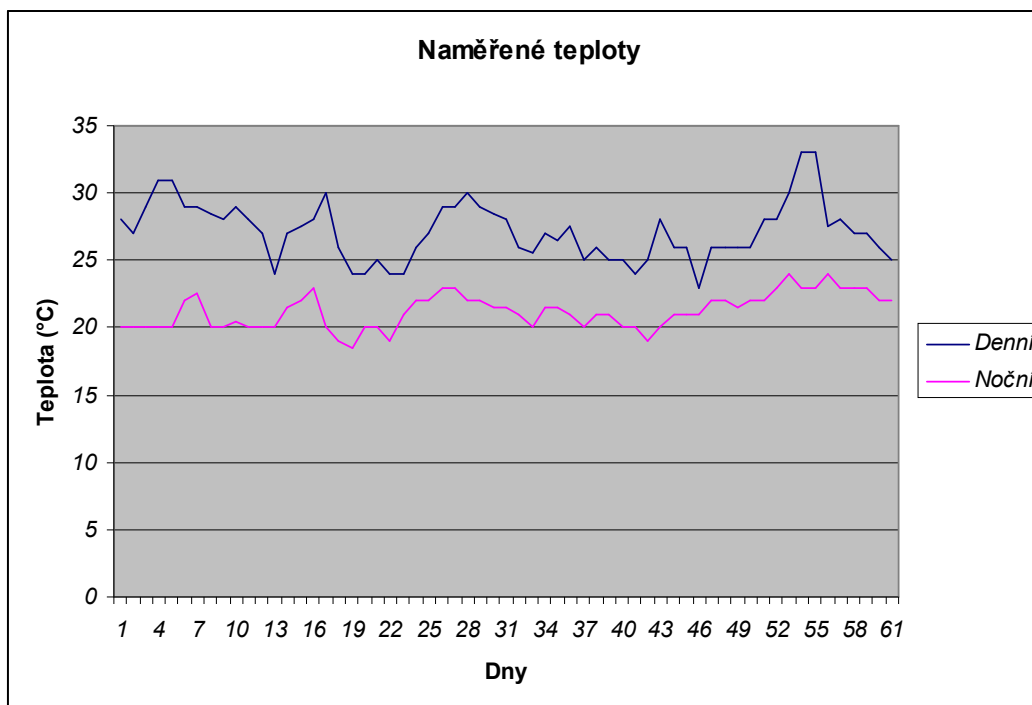


Foto: M. Kelíšek (28.4.2012)

Fotografie byly pořízeny fotoaparátem Panasonic DMC-FZ50.

3.1.3. Podmínky pěstování

Graf č.1: Průběh teplot v období 26.4. – 25.6. 2012



V tomto období nebyl skleník od 15. dne přitápen. Do této doby spínal termostat topení při poklesu na 20 °C. Poté byla teplota na jih orientovaného skleníku regulována pouze větráním a stíněním. V noci pak byla zaznamenána nejnižší teplota 18 °C 19. den. Naopak nejvyšší denní teplota 33 °C byla naměřena 54. a 55. den, kdy venkovní teploty dosahovaly 35 °C.

3.2. Vliv hnojení na nárůst biomasy

3.2.1. Rostlinný materiál

1. *Phalaenopsis amabilis* – 18 rostlin
2. *Blc. Green emerald "STACK"* – 22 rostlin

3.2.2. Práce s rostlinným materiálem

Obě výše uvedené skupiny rostlin byly opatrně vyňaty ze skleniček a co nejšetrněji zbaveny veškerého zbylého substrátu. Zároveň byly odstraněny odumřelé části kořenů a listů. Každá skupina byla opět rozdělena na dvě části (stejný počet a podobné velikosti) rostlin. Jako kultivační nádoby byly použity čtyři plastové misky naplněné čistou, hrubě drcenou borovou kůrou, před použitím přelitou vroucí vodou. Rostliny byly postupně zváženy na elektronické váze KERN (přesnost 0.1g) (obr.4 a 5)

a umístěny do misek. Jejich hmotnost a poloha byla zaznamenána do pracovního sešitu, aby později nedošlo k jejich záměně. V průběhu experimentu, který trval 135 dnů (od 1.7.2012 do 12.11.2012), byly rostliny v miskách označených číslem 1 (obr.6 a 8) přihnojovány (hnojivem Orchimix v poměru 2 ml na 1litr dešťové vody) v pětidenních intervalech. Misky s číslem 2 (obr.7 a 9) byly zavlažovány dešťovou vodou bez hnojiv. Celkem dvakrát (při výskytu bakteriózy) byly rostliny ve všech miskách ošetřeny přípravkem Chinosol (0.5% roztok). Byly také zaznamenávány noční i denní teploty (graf č.2 v kapitole 3.2.3. Podmínky pěstování). Nakonec byly postupně všechny rostliny ze substrátu vyjmuty, očištěny a znovu zváženy na elektronické váze. Hmotnosti byly k příslušným rostlinám zaznamenány do pracovního sešitu. Naměřené hodnoty byly zaneseny do tabulky č.5 a tabulky č.6 (viz kapitola 4. Výsledky). Obě skupiny (hnojené, nehnojené) v tabulce č.5 byly statisticky porovnány T- testem v programu Statistica a přírůstky vyjádřeny krabicovým grafem č.3 (viz kapitola 4. Výsledky). Data v tabulce č.6 neměla normální rozdělení, proto byly obě skupiny (hnojené, nehnojené) v programu Statistica porovnány neparametrickým Mann-Whitney testem a přírůstky vyjádřeny krabicovým grafem č.4 (viz kapitola 4. Výsledky). Celkem třikrát během pokusu byly měřeny parametry závlivkové vody (tabulka č.1 v kapitole 3.2.3. Podmínky pěstování).

Obr. 4: Vážení *Phalaenopsis amabilis*



Foto: M. Kelíšek st. (30.6.2012)

Obr. 5: Vážení *Blc.* Green emerald "STACK"



Foto: M. Kelíšek st. (30.6.2012)

Obr. 6: Hnojené rostliny *Phalaenopsis amabilis*



Foto: M. Kelíšek st.(10.9.2012)

Obr. 7: Nehnojené rostliny *Phalaenopsis amabilis*



Foto: M. Kelíšek st.(10.9.2012)

Obr. 8: Hnojené rostliny *Blc. Green emerald* “STACK“



Foto: M. Kelíšek st. (10.9.2012)

Obr. 9: Nehnojené rostliny *Blc.* Green emerald “STACK“



Zde je patrné nažloutlejší zbarvení nehnojených rostlin

Foto: M. Kelíšek st.(10.9.2012)

Fotografie byly pořízeny fotoaparátem Olympus FE-4050

3.2.3. Podmínky pěstování

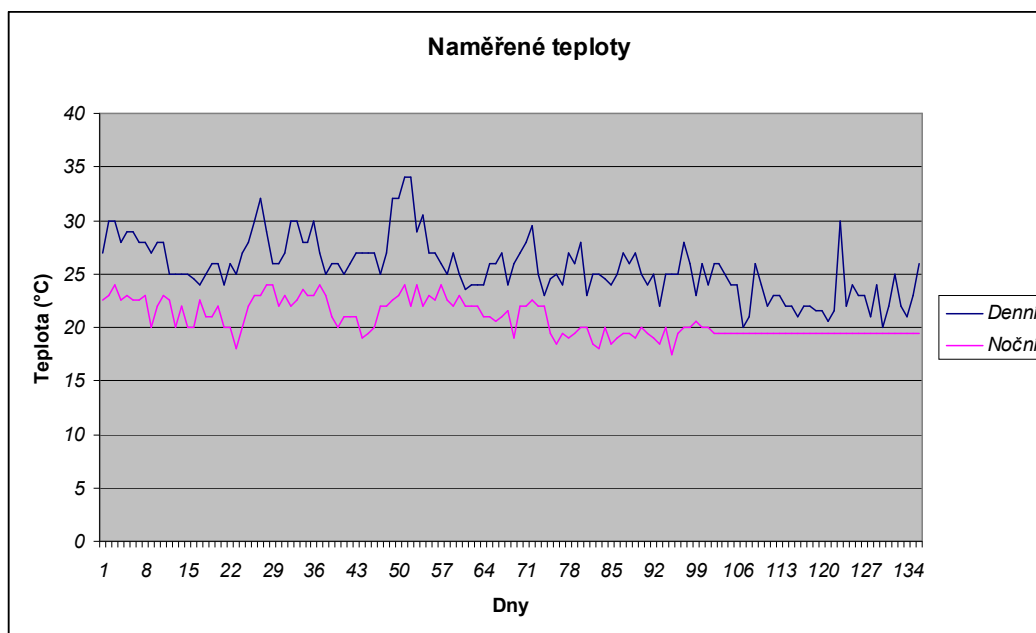
Tabulka č. 1

Výsledky měření závlivkové vody

Měření	Teplota (°C)	pH	Vodivost (μS)	Obsah O ₂ (mg/l)
1	22,7	5,09	15,9	7,95
2	21,8	4,61	22,7	8,19
3	18,5	4,65	45,5	7,24

Závlivková dešťová voda nebyla nijak chemicky upravována. Před zaléváním byla skladována nejméně 12 hodin v prostoru skleníku za účelem vyrovnání teplot. Místo sběru vody leží 7 km západně od Plzně.

Graf č.2: Průběh teplot v období 1.7. – 12.11.2012



Regulace teplot stejná jako u předchozího měření. Nejvyšší denní teplota byla 34 °C 53. den a nejnižší denní 17,5 °C 95. den. Od 100. dne byla spodní teplota 19,5 °C hlídána termostatem.

4. Výsledky

4.1. Převod z kultury *in vitro*

Tabulka č.2: Mortalita rostlin *Phalaenopsis amabilis*

v období 26.4. – 25.6. 2012

ošetřeno	26.4. (ks)	25.6. (ks)	úhyn (ks)	úhyn (%)
ano	15	12	3	20
ne	15	14	1	6,66
celkem	30	26	4	13,3

V této skupině došlo k úhynu 3 ošetřených rostlin a pouze 1 neošetřené rostliny.

Tabulka č.3: Mortalita rostlin *Blc. Green Emerald* “STACK“
v období 26.4. – 25.6. 2012

ošetřeno	26.4. (ks)	25.6. (ks)	úhyn (ks)	úhyn (%)
ano	12	12	0	0
ne	12	11	1	8,33
celkem	24	23	1	4,16

U této skupiny byl zaznamenán úhyn pouze 1 neošetřené rostliny.

Tabulka č.4: Mortalita rostlin *Bletilla striata*
v období 26.4. – 25.6. 2012

ošetřeno	26.4. (ks)	25.6. (ks)	úhyn (ks)	úhyn (%)
ano	10	10	0	0
ne	10	10	0	0
celkem	20	20	0	0

U této skupiny nedošlo k žádnému úhynu u ošetřených ani neošetřených rostlin.

Ani u jedné skupiny se statisticky neprokázal vliv ošetření rostlin manganistanem draselným před výsadbou na mortalitu po převodu do nesterilního prostředí. V průběhu pokusu uhynulo ve všech skupinách dohromady celkem 5 rostlin, z toho 3 ošetřené a 2 neošetřené.

4.2. Vliv hnojení na nárůst biomasy

Tabulka č.5: Přírůstek hmotnosti u rostlin *Phalaenopsis amabilis*

v období 1.7. – 12.11. 2012

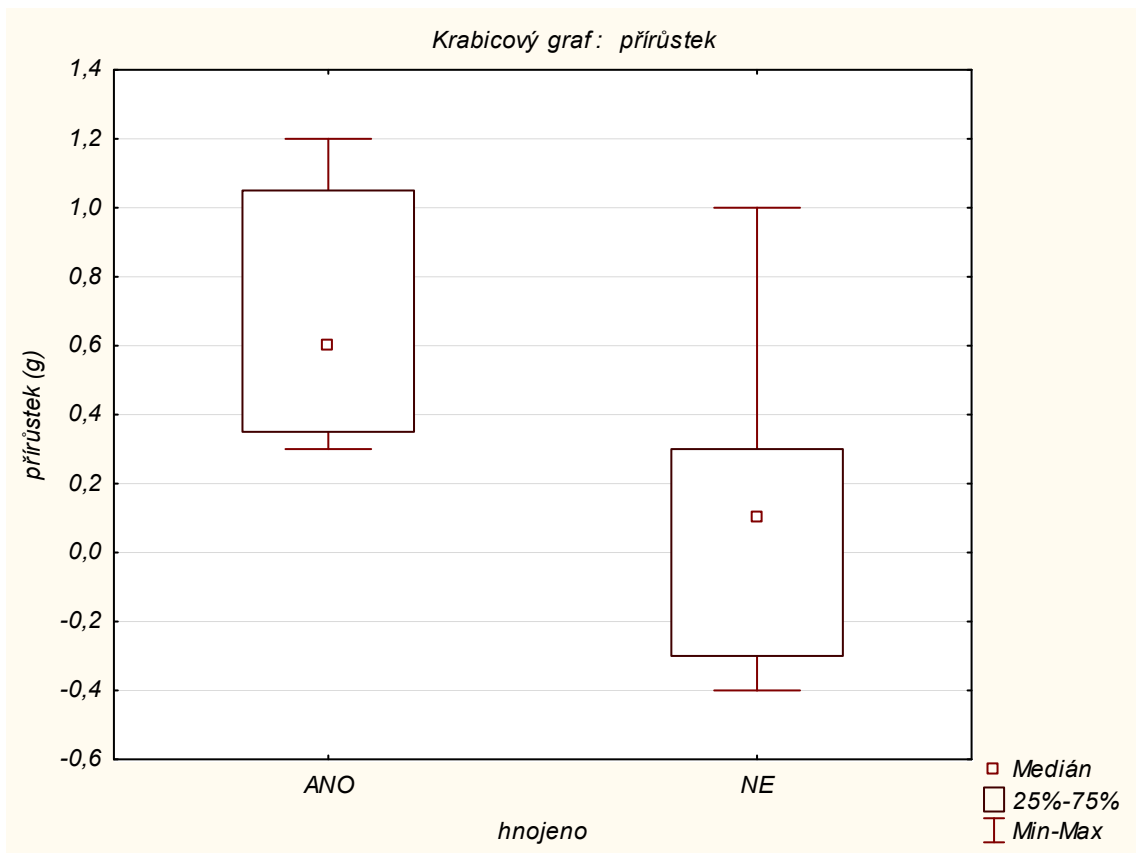
hnojeno	hmot 1 (g)	hmot 2 (g)	přírůstek (g)
ano	1,8	2,8	1,0
ano	2,7	3,1	0,4
ano	0,7	úhyn	
ano	0,6	0,9	0,3
ano	1,3	1,7	0,4
ano	2,3	2,6	0,3
ano	1,4	2,6	1,2
ano	1,3	2,4	1,1
ano	1,7	2,5	0,8
ne	1	úhyn	
ne	5,5	5,7	0,2
ne	0,9	1,2	0,3
ne	0,8	úhyn	
ne	2,8	2,5	-0,3
ne	1,0	1,1	0,1
ne	3,6	4,6	1
ne	1,1	0,9	-0,2
ne	1,6	1,2	-0,4

Tato skupina vykazovala statisticky vyšší nárůst biomasy u hnojené části rostlin.

Průměrný přírůstek hnojených rostlin činil 0,69g a u nehnojených méně než 0,08g.

U hnojené části došlo k úhynu 1 rostliny a u nehnojené 2 rostlin. Úhyny byly vyčleněny ze statistického hodnocení.

Graf č. 3: Přírůstky *Phalaenopsis amabilis* x same



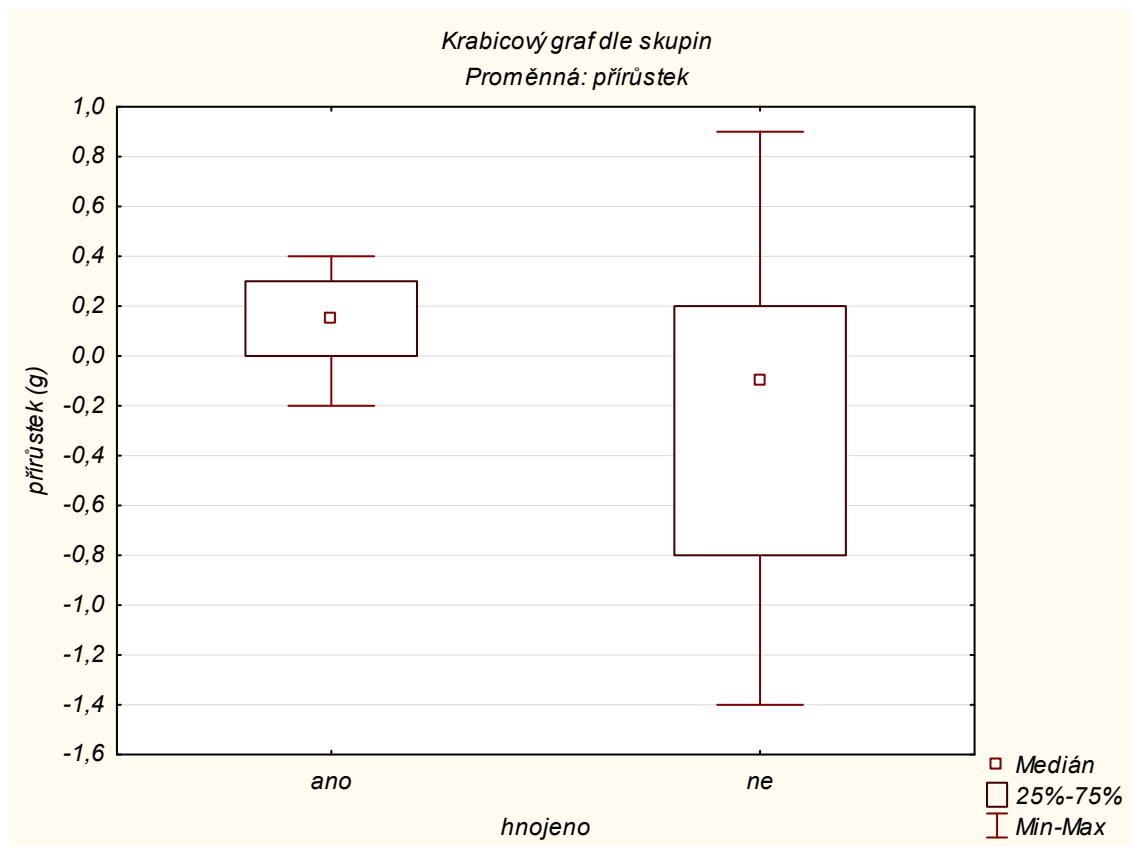
Na vodorovné ose x jsou skupiny hnojené a nehnojené. Svislá osa y znázorňuje přírůstky obou skupin v gramech. U hnojených rostlin byl největší přírůstek 1,2 g a nejmenší 0,3 g. U nehnojených byl největší přírůstek 1 g a největší úbytek hmotnosti 0,4 g.

Tabulka č.6: Přírůstek hmotnosti u rostlin *Ble. Green Emerald* “STACK“
v období 1.7. – 12.11. 2012

hnojeno	hmot 1 (g)	hmot 2 (g)	přírůstek (g)
ano	2,5	2,7	0,2
ano	1,5	1,7	0,2
ano	0,9	úhyn	
ano	0,8	1,1	0,3
ano	0,6	0,6	0,0
ano	0,9	0,7	-0,2
ano	1,9	2,3	0,4
ano	1,2	1,3	0,1
ano	1,1	0,9	-0,2
ano	1,2	1,3	0,1
ano	1,3	1,6	0,3
ne	0,9	0,9	0,0
ne	1,4	1,5	0,1
ne	0,9	0,8	-0,1
ne	2,4	1,1	-1,3
ne	1,2	0,4	-0,8
ne	2,0	2,9	0,9
ne	1,7	1,9	0,2
ne	2,5	2,7	0,2
ne	1,1	0,9	-0,2
ne	1,6	0,2	-1,4
ne	1,4	1,2	-0,2

U této skupiny nebyl statisticky prokázán vliv hnojení na nárůst biomasy, i když celkový přírůstek biomasy u hnojených rostlin byl 1,2 g a u nehnojených rostlin byl naopak zaznamenán úbytek biomasy o 2,6 g. Jedna hnojená rostlina, která během pokusu uhynula byla vyřazena ze statistického hodnocení.

Graf č.4: Přírůstky *Blc. Green Emerald* “STACK“



Na vodorovné ose x jsou skupiny hnojené a nehnojené. Svislá osa y znázorňuje přírůstky obou skupin v gramech. U hnojených rostlin byl největší přírůstek hmotnosti 0,4 g a úbytek 0,2 g. U nehnojených byl největší přírůstek 0,9 g a největší úbytek hmotnosti 1,4 g.

5. Diskuse

Při hodnocení výsledků první části experimentu (převod *z in vitro* do nesterilního prostředí), kdy byl úhyn v ošetřených i neošetřených skupinách téměř stejný a poměrně malý se nabízí závěr, že na chemickém ošetření nezáleží. Přesto, že různí autoři (Matoušková, 2011, Dušek, Křístek, 1986) doporučují jak dezinfekci substrátu, tak rostlin, je třeba posuzovat i ostatní faktory spolupůsobící v této době na rostliny. Především je nutné všechny rostliny zbavit zbytků živného média (agaru), neboť ty jsou rychle kolonizovány plísněmi. Dále zde kromě optimální teploty bude hrát podstatnou roli i vlhkost vzduchu. Postup, při kterém se opláchnuté rostliny na 1 den uloží na vlhké papírové ubrousky a zakryjí stejným materiálem se velmi osvědčil

(Vondruš, 2012, in verb). Během této doby dochází k zesílení pokožky rostlin, která se tím stává odolnější vůči patogenům. Ty se zcela jistě nacházely i ve skleníku, kde experiment probíhal. Přestože po přesazení už nebyly rostliny chemicky ošetřovány, k prvnímu úhynu došlo až 31. den po vysazení do nesterilního prostředí.

V druhé části experimentu byl u druhu *Phalaenopsis amabilis* prokázán kladný vliv hnojení na přírůstek rostlin. U hybridu *Blc. Green emerald* "STACK" je výsledek statisticky neprůkazný, i když i zde byl vliv patrný na sice nízkém přírůstku u hnojených, a naopak na záporném přírůstku (myšlen průměrný) u nehnojených rostlin. V obou případech byl tedy u hnojených rostlin přírůstek kladný, zatímco u nehnojených téměř nulový nebo došlo ke ztrátě hmotnosti. To, že rozdíly v přírůstcích nebyly více výrazné, lze přičíst vlastnosti epifytních orchidejí, ke kterým oba taxony patří. Tato skupina má velmi nízké nároky na minerální látky díky úspornému a pomalému metabolismu (Dušek, Křístek, 1986, Ježek, 2003). Také je třeba vzít v úvahu, že rostliny pochází z první části experimentu, kde byly všechny pravidelně hnojeny a jistý objem zásobních látek si přinesly do této druhé části. Částečná výživa pomocí mykorhizy (Průša, 2005) je nepravděpodobná, neboť všechny rostliny původně pocházejí z asymbiotické kultury *in vitro* a substrát byl dezinfikován vařící vodou.

Vysoké teploty (nad 30°C) naměřené některé dny, způsobují útlum fotosyntézy, a tedy i růstu rostlin, ale nejsou pro ně kritické. Protože jim byly vystaveny všechny pozorované skupiny, neměly by mít na rozdíl v přírůstcích žádný vliv.

Zálivková voda nebyla chemicky upravována, takže pravděpodobně obsahovala nízký obsah některých rozpuštěných látek. Opět ale byla používána pro všechny skupiny, takže by to nemělo výsledky ovlivnit.

6. Závěr

Cílem práce bylo ověřit úspěšnost převodu mladých rostlin orchidejí z kultury *in vitro* do nesterilního prostředí v závislosti na chemickém ošetření před výsadbou. Druhým úkolem bylo zjistit vliv hnojení na nárůst biomasy u mladých rostlin orchidejí.

1. U žádného z vybraných taxonů nebyl prokázán vliv chemického ošetření na mortalitu rostlin po převodu.

Phalaenopsis amabilis – úhyn ošetřených – 3 ks

– úhyn neošetřených – 1 ks

Blc.Green Emerald “STACK“ – úhyn ošetřených – 0 ks

– úhyn neošetřených – 1 ks

Bletilla striata – obě skupiny bez úhynu

2. U taxonu *Phalaenopsis amabilis* byl prokázán kladný vliv hnojiva na nárůst biomasy

Průměrný přírůstek – hnojené – 0,69 g

m – nehnojené – 0,08 g

U druhého vliv hnojení statisticky prokázán nebyl

Celkový přírůstek u hnojených – 1,2 g

Celkový úbytek u nehnojených – 2,6 g

3. U obou sledovaných taxonů byla zjištěna při absenci hnojení stagnace či ztráta hmotnosti.

7. Seznam použité literatury

Bermudes, D., Benzing D. H. (1989): Fungi in neotropical epiphyte roots, *BioSystems* 23: 65 – 73.

Downie, D. G. (1957): *Corticium solani* – an orchid endophyte, *Nature* 179: 160.

Dušek, J., Křístek, J. (1986): *Orchideje*, Academia, Praha

Gryndler, M., Hřelová, H., Jansa, J., Vosádka, M. (2004): Mykorhizní symbioza, O soužití hub s kořeny rostlin, Academia, Praha

Hadley, G., Williamson, B. (1971): Analysis of the post-infection growth stimulus in orchid mycorrhiza, *New Phytologist* 70: 445 – 455.

Hadley, G., Williamson, B. (1972): Features of mycorrhizal infection in some Malayan orchids, *New phytologist* 71: 1111 – 1118.

Ježek, Z. (2003): *Encyklopedie orchidejí*, Rebo Productions CZ, s.r.o., Dobřejovice

Matoušková, J. (2011): DVD *Sbírka orchidejí*, Botanická zahrada a arboretum Mendelovy university v Brně

Nash, N., Croix, I., Banks, DP., Bryant, G., Jennings, C., Jones, D., Johnson, S., Kullmann, F., Light, MS., Parson, R., Perkins, A., Tanaka, Y. (2007): *Orchideje*, Computer Press, a.s., Brno

Nieuwdorp, P. J. (1972): Some observations with light and electron microscope on the endotropic mycorrhiza of orchids, *Acta Botanica Neerlandica* 21: 128 – 144.

Pereira, O. L., Rollemberg, CH. L., Borges, A. C., Matsuoka, K., Kasuya, M. C. M. (2003): *Epulorhiza epifytica* sp. nov. isolated from mycorrhizal roots of epiphytic orchids in Brazil, *Mycosciense* 44: 153 - 155.

Peterson, R. L., Uetake, Y., Zelmer, C. (1998): Fungal symbioses with orchid protocorns, *Symbiosis* 25: 29 – 55.

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

Průša, D. (2005): *Orchideje České republiky*, Computer Press, a.s., Brno

Vondruš, B. (2012): *in verb.* Explantex