

**BIOLOGICKÁ FAKULTA JIHOČESKÉ UNIVERZITY
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH**



Náklady na reprodukci a tvorbu nektaru u vstavačovitých

Bakalářská diplomová práce

Vypracoval: **Luboš Čepa**

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

2007

Čepa, L. (2007): Náklady na reprodukci a tvorbu nektaru u vstavačovitých [Costs of reproduction and nectar production in orchids. Bc. Thesis, in Czech] – 38 p., Faculty of Biological Sciences, The University of South Bohemia, České Budějovice, Czech republic.

Annotation: This thesis focused on the costs of sexual reproduction and nectar production in four nectariferous and four nectarless terrestrial orchids. The results showed that high capsule production negatively influenced the number of flowers, the number of leaves and total leaf area of most species in the following year. The significant interaction between high capsule production and the presence of nectar showed higher costs in nectarless orchids, expressed in decreased length of stem and length of inflorescence in the following season. In highly pollinated plants, the seed mass decreased from the bottom towards the top of the inflorescence as a function of the available number of ovules. However, the seed quality was independent of the capsule position within inflorescence.

Prohlašuji, že jsem uvedenou práci vypracoval samostatně, pouze s použitím uvedené literatury.

.....
Luboš Čepa

V Českých Budějovicích 8. května 2007

Poděkování:

Především bych chtěl poděkovat své školitelce doktorce RNDr. Janě Jersákové, Ph.D., která mi poskytla možnost pracovat na tomto velmi zajímavém tématu a obohatila mě o cenné informace. Také bych rád poděkoval Prof. J. Lepšovi za pomoc při zpracování dat. Velký dík také patří Mgr. Ivě Schödelbaurové za ochotu a cenné praktické rady, které mi poskytla.

Největší díky patří mým rodičům za podporu, ať už při čemkoliv, a trpělivost, kterou se mnou mají.

Obsah

1. Úvod	3
2. Metodika	6
2.1. <i>Charakteristika studovaných druhů</i>	6
2.2. <i>Popis lokalit studovaných druhů</i>	9
2.3. <i>Uspořádání pokusů v terénu</i>	10
2.4. <i>Sledování vitality semen</i>	11
2.5. <i>Statistické zpracování dat</i>	12
3. Výsledky	14
3.1. <i>Vliv produkce semeníků a přítomnosti nektaru na chování rostlin</i>	14
3.2. <i>Vliv produkce semeníků a přítomnosti nektaru na kvantitu a kvalitu semen</i>	21
4. Diskuse	23
4.1. <i>Vliv produkce semeníků a přítomnosti nektaru na chování rostlin</i>	23
4.2. <i>Vliv produkce semeníků a přítomnosti nektaru na kvantitu a kvalitu semen</i>	26
5. Závěr	26
5.1. <i>Vliv produkce semeníků a přítomnosti nektaru na chování rostlin</i>	26
5.2. <i>Vliv produkce semeníků a přítomnosti nektaru na kvantitu a kvalitu semen</i>	27
6. Literatura	27

1. Úvod

Orchidaceae s přibližně 20 000 druhy jsou považovány za jednu z největších čeledí rostlinné říše (Dressler 1993). V porovnání s ostatními kvetoucími rostlinami jsou orchideje poměrně mladou skupinou. První fosilní pozůstatky se objevují až v průběhu třetihor (Beck 1976; Crane, Friis & Pederson 1995; van der Cingel 1995). Nejrozmanitější zastoupení mají v tropických pásech všech světadílů a jejich druhová četnost klesá od rovníku k pólům. V České republice můžeme nalézt něco přes 50 druhů orchidejí (Jatiová & Šmiták 1996). Nacházíme u nich širokou škálu životních strategií, jako je na příklad úzké soužití s mykorrhizními houbami nebo reprodukční závislost na složitých vztazích s opylovači. Orchideje jsou buď terestrické, nebo epifytické. Přestože jsou kosmopolitně rozšířené, jsou epifytické druhy omezeny na tropické a subtropické prostředí (Dressler 1981). Většina orchidejí má nápadné zásobní orgány. Hlízy a oddenky jsou běžné u terestrických orchidejí, zatímco zásobními orgány epifytických druhů jsou ztlustlé báze stonků zvané pahlízy (Dressler 1981; Arditti 1992). Výzkumem zaměřeným na proces opylování u orchidejí se zabývali již botanici devatenáctého století. Ti popisovali strukturu květů a návštěvy hmyzu, ale skutečný mechanismus opylování poprvé uspokojivě objevil a publikoval až Charles Darwin (1862). Způsob opylování u orchidejí je často chybně interpretován jako výsledek souběžného vývoje orchideje a opylovače (van der Pijl & Dodson 1966; Dressler 1968). Tento společný vývoj zvaný koevoluce je patrně vzácný (Szentensi 2002), neboť většina vývoje je jednostranná ze strany orchidejí bez evolučních změn opylovače (Williams 1982). Orchideje často zneužívají existujícího vztahu rostlina-opylovač a dosahují opylení prostřednictvím podvodu, to jest absence odměny v květu pro opylovače (Jersáková et al. 2006). Přibližně 1/3 orchidejí se spoléhá na podvádění opylovačů (van der Pijl & Dodson 1966; Dressler 1981; Ackerman 1986). Orchideje lákají opylovače k návštěvě květů pomocí signálů, na které opylovači reagují při hledání potravy, sexuálního partnera, domnělého nepřítele, míst pro kladení vajíček či úkrytu (Jersáková et al. 2006). Na základě chování opylovačů orchideje odměňují nebo klamou své návštěvníky pomocí zrakových, čichových nebo hmatových signálů (Dykyjová 2003).

Šálivá, neboli deceptivní strategie však vede k nízké reprodukční úspěšnosti (Neiland & Wilcock 1998, Tremblay et al. 2005). Absence odměny vede k nízké návštěvnosti orchidejových květů, což má za následek nižší tvorbu semeníků u šálivých druhů než u druhů s nektarem (Jersáková et al. 2006). Například průměrný počet semeníků zjištěný u evropských

druhů s nektarem byl 63,1 %, zatímco u druhů bez nektaru dosáhl pouze 27,7 % (Neiland & Wilcock 1998). Johnson & Bond (1997) našli nápadně podobné hodnoty v Jižní Africe: 64,8 % u druhů s nektarem a 25,2 % u druhů bez nektaru. Za hlavní příčinu nízké produkce semeníků je považována limitace opylovači (Calvo 1993; Tremblay et al. 2005), neboť ruční opylování rostlin obvykle zvýšilo počet vytvořených semeníků ve srovnání s kontrolními rostlinami (Ackerman & Montalvo 1990; Primack & Hall 1990). Nicméně limitace zdroji může hrát také důležitou roli, protože nepřirozeně velké množství plodů může redukovat budoucí růst a plodnost rostlin (Zimmerman & Aide 1989; Snow & Whigham 1989).

Hypotéza o limitaci zdroji předpokládá, že sexuální reprodukce (produkce květů a plodů) je limitována primárně zdroji (Lloyd 1980; Stephenson 1981; Calvo & Horvitz 1990; Calvo 1993; Mattila & Kuitunen 2000). Dostupné zdroje pro vývoj semen mohou být omezeny jak během sezóny, tak mezi sezónami (Meléndez-Ackerman et al. 2000). Zvýšený počet semeníků může ovlivnit budoucí růst rostliny, či pravděpodobnost jejího kvetení, reprodukce nebo přežívání (Lovett-Doust & Lovett-Doust 1988; Snow & Whigham 1989; Ackerman & Montalvo 1990; Bartareau 1995). Není to však striktní pravidlo, protože druhy jako *Cypripedium acaule* vykazují příznaky limitace zdroji pouze po několika letech pravidelné tvorby semeníků (Primack & Stacy 1998). Naopak některé druhy orchidejí, například *Spiranthes spiralis*, nevykazují pouze náklady za plození, ale také za kvetení (Willems & Dorland 2000).

Rostliny nevydávají energii jen při tvorbě květů a semeníků, ale také při produkci nektaru. Květní nektar se vylučuje v sekrečních žlázkách umístěných na korunních plátcích, nejčastěji na pysku, nebo u více diferencovaných druhů v trubkovitých ostruhách, do nichž se volně vylučuje například u rodu *Platanthera* a *Gymnadenia* (Dykyjová 2003). Vydátná produkce nektaru v průběhu kvetení může spotřebovat významnou část fotosyntetických asimilátů rostliny. Odhad výloh na vytváření nektaru z denního množství produktů fotosyntézy se různí od 3,3 % u krátkověkých květů až po 37 % u dlouhověkých květů (Southwick 1984; Harder & Barrett 1992). Pyke (1991) byl první, kdo ukázal, že náklady na tvorbu nektaru se přímo promítají do růstu a budoucí reprodukce rostlin. Vedlejším důkazem pro nákladnost nektaru je jeho častá zpětná absorpce rostlinou po opylení, pravděpodobně z důvodu přerozdělení uhlovodanů ke tvorbě semen (Burquez & Corbet 1991; Koopowitz & Marchant 1998; Luyt & Johnson 2002; Stpiczynska, 2003). Jestliže je produkce nektaru u orchidejí energeticky náročná (Pyke 1991), pak zdroje na tvorbu semen mohou být více omezeny u druhů s nektarem než u druhů bez nektaru (Meléndez-Ackerman et al. 2000).

Experimenty, ve kterých jsou náhodně vybraní jedinci manipulováni k vyšší nebo nižší tvorbě semeníků, se ukázaly být významným nástrojem k výzkumu nákladů na sexuální reprodukci (Calvo 1993). Účelem této diplomové práce bylo zjistit, zda existují odlišnosti v nákladech na pohlavní rozmnožování mezi orchidejemi s nektarem a bez nektaru. Používal jsem ruční opylování ke zvýšení množství plodů a odstraňování květů k zabránění produkce tobolek u 4 druhů bez nektaru a 4 druhů s nektarem. Vlivy těchto zákroků jsem testoval na kvalitě semen a budoucím růstu rostlin. Získaná data jsem vzájemně porovnával a hledal jsem možné vztahy mezi jednotlivými druhy a jejich ekologickými strategiemi.

Cíle práce

Tato práce se zabývá osmi druhy terestrických orchidejí. Byly vybrány čtyři druhy s nektarem a čtyři druhy bez nektaru. Přítomnost nebo nepřítomnost nektaru ovlivňuje množství energie vynaložené na rozmnožování. Následkem je různě velká míra zátěže spojená s tvorbou semeníků.

Cílem práce je zodpovědět následující otázky:

1. Otestovat vliv produkce semeníků a přítomnosti nektaru na chování rostlin (biometrické parametry, pravděpodobnost kvetení a přežívání)?
2. Zjistit, zda má vysoká produkce semeníků a přítomnost nektaru vliv na kvalitu a kvantitu semen?

2. Metodika

2.1. Charakteristika studovaných druhů:

Použité zdroje: Buttler 2000; Procházka & Velíšek 1983; Vlčko et al. 2003; Ježek 2003; Holub & Procházka 2000; Kubát & kol. 2002.

Druhy bez nektaru:

1. *Orchis morio* L. - vstavač kukačka

Vytrvalá rostlina 8-40 cm vysoká. Hlízy jsou nedělené, ± kulovité, kořeny nečetné, krátké a silné. Lodyha je přímá, světle zelená, jemně rýhovaná, na bázi s bílými špičatými šupinami. V horní části bezlistá a často fialová. Listy jsou nahloučené v dolní části lodyhy, kde tvoří přízemní listovou růžici. Nejčastější počet listů v přízemní růžici se pohybuje mezi 4-7. Květenství bývá složeno ze 7-25 květů. Barva květů je převážně tmavě nebo světle nachová, případně růžová nebo vzácně i bílá. Zajímavostí u tohoto druhu je fakt, že vytváří již v podzimních měsících nadzemní listové růžice, které přezimují. Příčinu tohoto pro naše orchideje neobvyklého jevu lze hledat ve středomořském původu druhu. Druh je v Červeném seznamu zařazen do kategorie silně ohrožených taxonů (C2).

2. *Dactylorhiza majalis* (Reichenb.) – prstnatec májový

Vytrvalá, poměrně robustní rostlina, vysoká 10-50(-70) cm. Hlízy jsou zploštělé, zprvu laločnaté, později trojdílné až dlanitě laločnaté, kořeny četné, silné a dlouhé. Lodyha je silná, ± dutá, při bázi může mít až 1,3 cm v průměru. Pod květenstvím je rýhovaná a často načervenalá. Listy jsou buď zelené nebo po celé ploše výrazně hnědočerveně skvrnité. Husté relativně krátké květenství sestává z 20-35 růžově fialových až nachových květů. Druh je v Červeném seznamu zařazen do kategorie ohrožených taxonů (C3).

3. *Dactylorhiza fuchsii* (Druce) Soó – prstnatec Fuchsův

Rostliny (10) 15-60 (80) cm vysoké, vytrvalé. Hlízy jsou zploštělé, dělené ve (2) 3-4 prstovité úkrojky. Kořeny jsou nečetné, dosti silné, krátké nebo na vlhčích stanovištích dlouhé. Lodyha je přímá, poměrně tenká a plná. Pod květenstvím slabě rýhovaná a někdy

slabě hnědočerveně naběhlá. Listy jsou často s tmavými skvrnami. Květenství má kuželovité až válcovité tvary. Květy bývají bělavé až tmavě růžové, zřídka nachové. Druh je v Červeném seznamu zařazen do kategorie druhů vyžadujících pozornost (C4).

4. *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soó – prstnatec pleťový

Vytrvalá rostlina, (20) 30-60 (90) cm vysoká. Hlízy jsou zploštělé a dělené ve vejčité až vřetenovité úkrojky, na silně mokřích stanovištích jsou obvykle velmi dlouhé. Lodyha bývá silná, dutá, slabě rýhovaná, celá listnatá, na bázi šupinatá, nahoře někdy nafialovělá. Listy jsou úzce kopinaté, beze skvrn a obvykle jich rostlina nese mezi 4-7. Vzhledem k výšce rostliny je květenství poměrně krátké (8-15cm). Je však husté, složené z 25-50 drobných květů, vyrůstající z paždí nápadně velkých kopinatých listenů. Květy mají pleťově růžovou barvu, mohou být tmavší nebo světlejší, vzácně dokonce bílé. Druh je v Červeném seznamu zařazen do kategorie silně ohrožených taxonů (C2).

Druhy s nektarem:

1. *Gymnadenia conopsea* (L.) R. Br. subsp. *conopsea* – pětiprstka žežulník pravá

Rostlina je vytrvalá a dosahuje 20-60 (-100) cm výšky. Hlízy jsou ploché, dvoudílné až prstovitě dělené. Kořeny jsou krátké a silné. Lodyha je vzpřímená, štíhlá, oblá, někdy slabě hranatá. Na bázi jsou 1-2 kožovité šupiny. Listy jsou světle zelené a neskvřité. Květenství jsou řídká, válcovitá a mnohokvětá. Květy jsou menší, světlé až fialově nachové, masově červené, růžové nebo zřídka i čistě bílé. Rostliny většinou silně voní, ale není to pravidlem. Nápadné jsou ostruhy, které jsou tenké a 1,5 až 2x delší než semeník. Druh je v Červeném seznamu zařazen do kategorie ohrožených taxonů (C3). Dále v textu již pouze jako *Gymnadenia conopsea*.

2. *Gymnadenia densiflora* (Wahlenb.) A. Dietrich – pětiprstka žežulník hustokvětá

Robustní a velmi proměnlivá orchidej, která dosahuje výšky až 1m. V zemi přežívá dvěma hluboce rozeklanými hlízkami. Na lodyze se v dolní části vyvíjí několik sblížených, protáhle kopinatých, velkých lesklých a neskvřitých listů. V horní polovině lodyhy vyrůstají jen malé lístky, podobné objímavým listenům. Květenství je husté a až 30cm

dlouhé. Sestává se z velkého množství květů (až 150). Květy jsou vonné. Mají růžovou, purpurově červenou nebo vzácně čistě bílou barvu. Ostruha dosahuje délky okolo 2cm. Pomůckou v determinaci, o jaký druh rodu *Gymnadenia* jde, může být její pozdější doba květu a silná příjemná karafiátová vůně. *G. densiflora* rozkvétá od druhé poloviny června do začátku srpna. Naproti tomu výše zmíněná *G. conopsea* kvete dříve, a to od května do června. Druh je v Červeném seznamu zařazen do kategorie kriticky ohrožených taxonů (C1).

3. *Platanthera bifolia* (L.) L. C. Richard – vemeník dvoulistý

Jedná se o vytrvalou, 30-55 cm vysokou, zelenou rostlinu. Hlízy jsou dvě, vejčité až podlouhlé, na konci zúžené v kořenovitý výběžek. Kořeny jsou nečetné, dosti silné a krátké. Lodyha je přímá, světle zelená, dutá, ± rýhovaná. Na bázi se dvěma kopinatými hnědými šupinami. Rostlina má nejčastěji 2, vzácně 3 listy, které se nacházejí při bázi lodyhy a jsou ± vstřícné. Květenství je řídké a sestává se z 15-35 květů. Nápadné jsou bílé až nazelenalé 4 cm dlouhé ostruhy, které jsou poloprůsvitné a obsahují nektar. Květy jsou bílé a silně aromatické. Druh je v Červeném seznamu zařazen do kategorie ohrožených taxonů (C3).

4. *Platanthera chlorantha* Custer ex Reichenb. – vemeník zelenavý

Vytrvalá 20-65 cm vysoká rostlina, která je velmi podobná druhu *Platanthera bifolia*. Hlízy jsou 2 a mají podlouhle vřetenovitý tvar. Kořeny jsou krátké a tenčí než u *P. bifolia*. Lodyha je vzpřímená, rýhovaná, světle zelená a dutá. Při bázi má dvě hnědavé kopinaté šupiny. Listy jsou ± vstřícné, umístěné těsně nad bázi lodyhy v počtu 2-3(-4). Květy jsou nažloutlé nebo zelenavě bílé a tvoří velmi podobná květenství jako *P. bifolia*. Za květu nejnápadnějším a nejjednodušším determinačním znakem je vzájemné postavení brylek na sloupku uvnitř květu. U druhu *P. bifolia* jsou brylky rovnoběžné, zatímco u *P. chlorantha* jsou šikmé a tvoří pomyslnou stříšku. Druh je v Červeném seznamu zařazen do kategorie ohrožených taxonů (C3).

2.2. Popis lokalit studovaných druhů

Přírodní rezervace Dubno

k.ú.: Zlích, Okres: Náchod

Lokalita se nachází v Královéhradeckém kraji v blízkosti České Skalice. Předmětem ochrany je stará lužní doubrava a na ni navazující slatinné louky v okolí Zličského rybníka. Na území PR Dubno se vyskytuje celkem šest druhů orchidejí. Na slatinných loukách je nejpočetněji zastoupena *Dactylorhiza incarnata* (cca několik tisíc). *Gymnadenia densiflora* má rovněž velice početnou a stoupající populaci (cca stovky). Díky početnosti a velké hustotě jedinců na malé ploše bylo PR Dubno vhodnou lokalitou k provedení pokusů.

Přírodní památka Děkanec

k.ú.: Kamenný Újezd:, Okres: České Budějovice

Lokalitu najdeme v Jihočeském kraji asi 3,2 km jižně od obce Kamenný Újezd. Předmětem ochrany jsou zde vlhká a rašelinná luční společenstva s výskytem řady ohrožených druhů rostlin a živočichů. Na této lokalitě jsem se zaměřil na druh *Dactylorhiza majalis*, který se zde vyskytuje hlavně v bezkolencových a v ostřicovomechových porostech.

Netolice

k.ú.:Netolice, Okres: Prachatice

Lokalita se nachází asi 2 kilometry jižně od Netolic. Zaměřil jsem se zde na druh *Platanthera bifolia*, který zde roste v lesním komplexu rozkládajícím se mezi několika rybníky. Centrum rozšíření je umístěno ve smíšeném lese s převahou dubu zimního na rozloze asi 0,6 hektaru.

Olešnice v Orlických horách

k.ú.: Olešnice v Orlických horách, Okres: Rychnov nad Kněžnou

Lokalita se nachází v údolí Olešenky nedaleko Olešnice v Orlických horách. Jedná se o luční svah s mezofilními ovsíkovými loukami, které se mozaikovitě prolínají s vlhkými

prameništi. Právě v těchto mezofilních částech se hojně vyskytuje mnou sledovaný druh *Gymnadenia conopsea* subsp. *conopsea*. Z dalších významných druhů zde roste *Carex pulicaris*, *Carex davalliana*, *Arnica montana*, *Dactylorhiza majalis*, *Drosera rotundifolia* atd.

Olšina v Orlických horách

k.ú.: Deštné v Orlických horách, Okres: Rychnov nad Kněžnou

Lokalita leží v údolí Koutského potoka v blízkosti Zaječího mlýna. Je tvořena prameništěm, které navazuje na silně podmáčenou olšinu, jež postupně přechází ve smrkový les. Na tomto místě jsem se zaměřil na druh *Dactylorhiza fuchsii*.

PP Na Stráži

k.ú.: Brloh pod Kletí, Okres: Český Krumlov

Strmá stráň v údolí Křemžského potoka, asi 0,5 km jihovýchodně od středu obce Brloh. Lokalita je tvořena starými ovsíkovými pastvinami a roste zde početná populace druhu *Orchis morio*.

Kyselov – Lipno

k.ú.: Kyselov, Okres: Český Krumlov

Rozvolněný smrkový porost na pravém břehu Lipna v blízkosti silnice s hojným výskytem *Cirsium heterophyllum*. Na lokalitě roste bohatá populace *Platanthera chlorantha* a můžeme zde také najít vzácný druh orchideje *Malaxis monophyllos*.

2.3. Uspořádání pokusů v terénu

Na výše popsaných lokalitách bylo náhodně vybráno 60 jedinců sledovaného druhu. Jedinými omezujícími faktory při výběru sledovaného jedince byly soliternost a fertilita. Soliternost kvůli nutnosti přesně odlišit sledovaného jedince v další vegetační sezoně. Vzdálenost od jiného jedince tak musela být alespoň 5cm. Nutnost výběru fertálních rostlin vyplývá

z počátečního nastavení pokusu: protože jsem se snažil ověřit vliv reprodukční zátěže, musel jsem zvolit jako výchozí fertilní skupinu.

Jednotliví jedinci byli v terénu zaměřováni pomocí dvou pevných bodů v podobě plastové trubky. Trubky byly zatlučeny kladivem do země a byly opatřeny železným hřebíkem pro jednodušší vyhledávání pomocí minohledačky v další sezóně. Do těchto dvou bodů jsem poté umísťoval pásma a odměřoval jsem jednotlivé vzdálenosti od orchideje k bodům. Vznikly tak souřadnice, podle kterých je znovu vyhledání jedince velice přesné.

Těchto 60 jedinců bylo podrobena biometrickým měřením. Zaměřil jsem se na sledování celkové výšky (cm), délky květenství (cm), počtu květů, počtu listů a celkové listové plochy (Σ šířka listu*délka listu; cm^2). Dále jsem sledoval stav rostlin (kvetoucí, sterilní a nenalezená) v následující sezóně. Kategorie nenalezená zahrnuje rostliny, které byly dormantní neboli zůstaly po zásahu v zemi v podobě spících hlíz. Do této skupiny mohou rovněž patřit rostliny, které odumřely. V mé práci nejsem schopen rozlišit, zda jsou rostliny mrtvé nebo dormantní, protože orchideje občas přecházejí do dormantního stavu, ve kterém mohou být i několik let. U první poloviny (30 rostlin) jsem uměle opyloval všechny květy, abych dosáhl 100% reprodukční úspěšnosti. Květy jsem opyloval přenášením brylek pomocí párátko na bliznu. Druhou polovinu rostlin jsem ponechal bez opylení. Abych zabránil hmyzu v opylení odstranil jsem rostlinám poupata. V následujícím roce jsem rostliny vyhledal pomocí souřadnic a zopakoval jsem měření biometrických parametrů, abych získal data ke statistickému hodnocení.

2.4. Sledování vitality semen

Vážení semen

Odebíral jsem 6 semeníků z 10 rostlin, vždy po dvou semenících z dolní části, dva ze střední a dva z horní části květenství. Tobolky se semeny byly usušeny, a poté byla vyjmutá semena vážena na laboratorní váze. Semena byla následně podrobena tetrazoliovému testu.

Tetrazoliový test

Pro testování vitality semen u šesti modelových druhů byla použita metoda tetrazoliového barvení modifikovaná pro semena terestrických orchidejí podle metodiky van Waes & Debergh (1986). Pro každou rostlinu jsem vytvořil směsný vzorek semen ze dvou semeníků, zvláště pro dolní, střední a horní část květenství. Semena byla máčena v roztoku chlorového

vápna $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ pro zvýšení propustnosti osemení. Délky máčení semen v roztoku chlorového vápna, které jsem použil byly stejné jako v metodické příručce od van Waes & Debergh (1986): *Dactylorhiza incarnata* (10 hodin), *Dactylorhiza fuchsii* (8 hodin), *Dactylorhiza majalis* (6 hodin), *Orchis morio* (2 hodiny), *Gymnadenia densiflora* (3 hodiny), *Platanthera bifolia* (10 hodin). Po vyjmutí z roztoku chlorového vápna byla semena promývána 24 hodin v destilované vodě a postoupena tetrazoliovému testu vitality. Semena byla ponořena do 1% roztoku tetrazolia a 1% Tweenu (poměr 2:1) a inkubována při 30°C po dobu 24 hodin. Následně byla promyta destilovanou vodou a po jejich obarvení vyhodnocena pod stereoskopickým mikroskopem. Tetrazoliová sůl je v živých buňkách účinkem iontů vodíku redukována na červené barvivo, které zbarví živé embryo do karmínově ruda. Mrtvá embryo zůstanou neobarvena. Metoda bohužel není jednoznačná a mezi oběma extrémy jsou četné barevné přechody.

2.5. Statistické zpracování dat

Vyhodnocení vlivu produkce semeníků na chování rostlin jednotlivých druhů

Pro otestování vlivu produkce semeníků na biometrické parametry v následujícím roce byla použita analýza variance s opakovaným měřením. Jako závislé proměnné byly použity naměřené biometrické hodnoty v roce t a v roce $t+1$, jako kategoriální proměnná byla použita míra opylení (100%; 0%). Tento test byl použit k vyhodnocení vlivu zátěže spojené s produkcí semeníků na délku stvolu, délku květenství, počet květů, počet listů a celkovou listovou plochu. Test testuje nulovou hypotézu, že biometrika rostlin v následujícím roce se nemění vlivem produkce semeníků.

Vliv produkce semeníků na pravděpodobnost kvetení rostlin v následujícím roce byl otestován pro jednotlivé druhy pomocí kontingenčních tabulek (chí-kvadrát test).

Analýza nákladů na reprodukci za přítomnosti nektaru

K otestování kombinovaného vlivu přítomnosti nektaru a produkce semeníků na biometrické parametry orchidejí byla použita hierarchická Anova. Data byla před analyzováním zlogaritmována. Testovány byly tyto efekty: zásah (tj. míra opylení rostliny; faktor s pevným efektem), kód druhu (faktor s náhodným efektem), nektar (přítomnost nebo nepřítomnost nektaru; faktor s pevným efektem), kód druhu hierarchicky vložený do nektaru (faktor s náhodným efektem), vzájemné interakce zásah*kód druhu (faktor s náhodným efektem) a

zásah*nektar (faktor s pevným efektem). Kombinovaný vliv vysoké produkce semeníků a přítomnosti nektaru na pravděpodobnost kvetení byl vyhodnocen opět pomocí hierarchické Anovy (modul Generalized Linear Models v programu Statistica), kde jsem zadal pravděpodobnost kvetení jako binomiální vysvětlovanou proměnnou. Statistické zpracování vlivu produkce semeníků na procentuální zastoupení dormantních (nenalezených) rostlin nebylo možné provést kvůli velice nízkému počtu dormantních rostlin v jednotlivých porovnávaných skupinách.

Vliv produkce semeníků a přítomnosti nektaru na kvantitu semen

K vyhodnocení změny množství semen v tobolkách ve třech úrovních květenství byla použita analýza variance. Při testování se za závislou proměnnou dosazovala váha semen v tobolce a za kategoriální proměnnou pozice semeníků (dolní, střední a horní pozice v květenství), která byla hierarchicky vložena do faktoru rostlina. Pro zjištění vzájemných odlišností průměrných hmotností semen ve třech úrovních květenství byl použit Tukeyho test.

Vliv produkce semeníků a přítomnosti nektaru na kvalitu semen

Semena byla rozdělena do tří kategorií podle kvality, tj. stupně obarvení (A – vynikající, karmínově rudá, B – dobrá, růžová, C – špatná, neobarvená). Kategorie A a B byly sečteny a vyděleny celkovým počtem semen. Bylo tak zjištěno procentuální zastoupení vitálních semen v jednotlivých úrovních květenství. Pro vyhodnocení změny kvality semen v rámci květenství byla použita jednocestná ANOVA.

Pro statistické výpočty byl použit softwarový balík Statistica 6.0 for Windows (StatSoft Inc. 2001), k vizualizaci dat byl použit program SigmaPlot 9.0.

3. Výsledky

3.1. Vliv produkce semeníků a přítomnosti nektaru na chování rostlin

Po dvouletém sledování osmi planě rostoucích druhů orchidejí jsem nashromáždil dostatečné množství dat z pokusů zaměřených na zjištění míry vlivu reprodukční zátěže na biometrické parametry, abych mohl sestavit obrázky (obr. 1a-e), které znázorňují odlišnosti v reakcích rostlin na vysokou a nulovou produkci semeníků. Získaná data jsem dále statisticky analyzoval pomocí hierarchické ANOVY (tab. 1). Z obrázků 1a-e je patrné, že reprodukční zatížení způsobené produkcí semeníků se projevilo u různých druhů orchidejí různým způsobem. Biometrickou charakteristikou, u které se negativně projevila vysoká produkce semeníků, je celkový počet květů (obr. 1a). Většina druhů bez nektaru reagovala statisticky vysoce průkazným snížením počtu květů v následující roce oproti skupině bez zásahu, výjimkou byl pouze druh *Dactylorhiza fuchsii*. Mezi druhy s nektarem, u kterých se projevilo průkazné snížení počtu květů ve skupině rostlin s vysokou produkcí semeníků, patří *Gymnadenia densiflora*. V celkové analýze změny počtu květů u všech pozorovaných druhů byl dokázán průkazný vliv produkce semeníků na tento sledovaný parametr (tab. 1). U většiny druhů se projevil vliv zátěže na změnu celkového počtu listů v následující sezóně. Druhy s nektarem reagovaly při vysoké tvorbě semeníků častějším úbytkem celkového počtu listů v následujícím roce než druhy bez nektaru (viz. obr 1b). V celkové analýze vlivu vysoké produkce semeníků na počet listů u všech sledovaných druhů orchidejí bylo dosaženo statisticky průkazného výsledku, který potvrdil, že orchideje reagují na vysokou reprodukční zátěž snížením počtu listů v následujícím roce (tab. 1). Výsledek testování vlivu produkce semeníků na celkovou listovou plochu u všech zkoumaných druhů (tab. 1) byl rovněž průkazný a můžeme ho porovnat s daty v obrázku 1c. Z tohoto obrázku je patrné, že většina rostlin, jak s nektarem tak bez nektaru, zmenšila nebo došlo k průkazně menšímu zvětšení listové plochy v následující sezóně ve skupině s vysokou tvorbou semeníků. Ze všech sledovaných druhů vybočuje svým chováním druh *Dactylorhiza fuchsii*, u kterého se neprojevil ani v jednom případě vliv reprodukce na biometrické parametry. Druhy jako *Dactylorhiza majalis*, *Orchis morio* a *Gymnadenia densiflora* reagovaly negativně na reprodukční zatížení u všech sledovaných charakteristik (počet květů, počet listů, celková listová plocha, délka stvolu a délka květenství).

Výsledek kombinovaného vlivu vysoké produkce semeníků a přítomnosti nektaru vyjadřuje statisticky průkazná interakce zásah*nektar (tab. 1), jejíž vliv se projevil na délce stvolu a délce květenství (viz. tabulka 1). U těchto dvou parametrů se projevil větší vliv produkce semeníků u orchidejí bez nektaru než u druhů s nektarem.

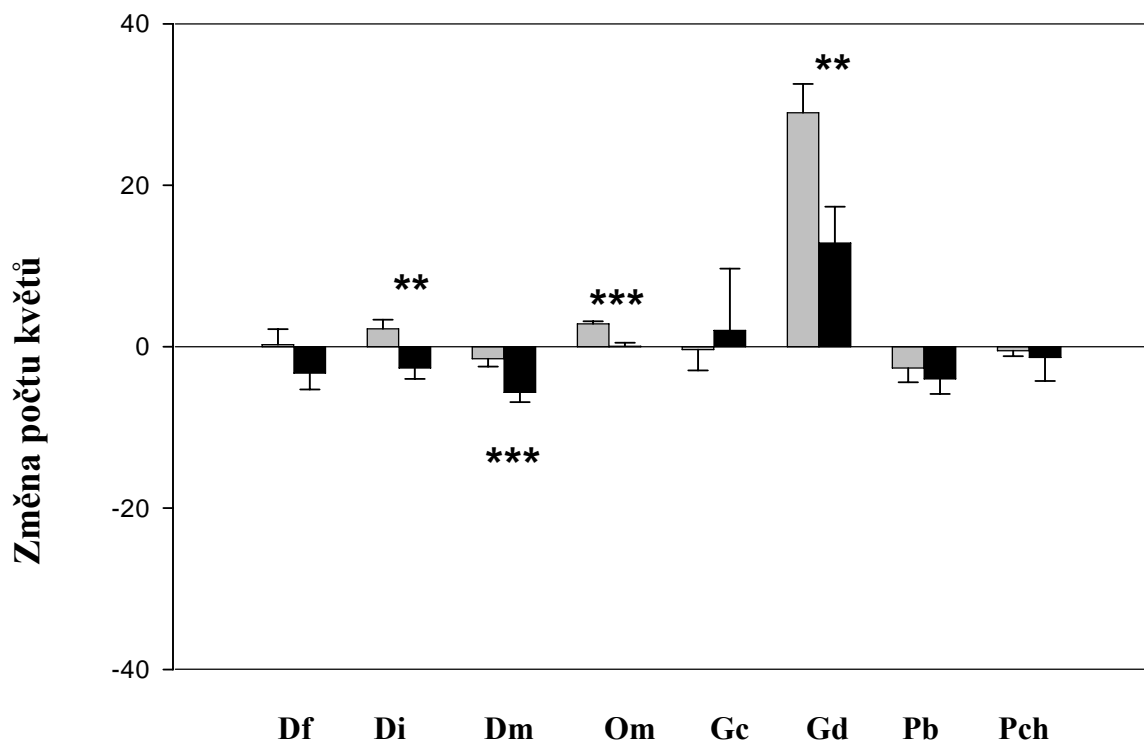
Z nashromážděných dat o pravděpodobnosti kvetení sledovaných rostlin v následujícím roce jsem sestavil obrázek, z kterého můžeme vidět, jak velké procento rostlin kvetlo ve skupině s malou a vysokou reprodukční zátěží. Vysoká produkce semeníků měla statisticky průkazný negativní vliv na procentuální zastoupení kvetoucích rostlin v následujícím roce (obr. 2, tab. 2), tj. u většiny druhů bylo průkazně více kvetoucích jedinců ve skupině bez tvorby semeníků (tab. 2). Z tohoto trendu vybočují druhy *Gymnadenia densiflora* a *Platanthera bifolia*, protože měly podobná množství kvetoucích jedinců ve skupině s vysokou a nízkou produkcí semeníků, a neprojevil se tak u nich vliv reprodukční zátěže na pravděpodobnost kvetení. Výjimkou je druh *Dactylorhiza majalis*, u kterého se neprojevil průkazný rozdíl mezi skupinami se semeníky a bez semeníků, přesto bylo u tohoto druhu více kvetoucích rostlin ve skupině s nulovou zátěží (tab. 2: $P = 0,07$).

Ke znázornění pravděpodobnosti výskytu dormantních (nenalezených) rostlin ve skupinách zkoumaných orchidejí jsem zvolil grafické vynesení procentuálního zastoupení dormantních jedinců z celkového počtu rostlin (obr. 3). Mezi druhy, u kterých byla pravděpodobnost výskytu dormantních rostlin podobná u skupin s maximální a minimální tvorbou semeníků, patří *Dactylorhiza fuchsii*, *D. majalis*, *Gymnadenia conopsea*, *Platanthera bifolia* a *P. chlorantha*. Druhy *D. incarnata* a *Orchis morio* neměly žádného dormantního jedince ve skupině bez vlivu produkce semeníků. Ojedinělý výsledek jsem zaznamenal u druhu *G. densiflora*, který neměl ani v jedné z obou skupin dormantního jedince, a mohu tedy předpokládat, že u tohoto druhu není vliv reprodukční zátěže na pravděpodobnost výskytu dormantních rostlin v následující vegetační sezóně.

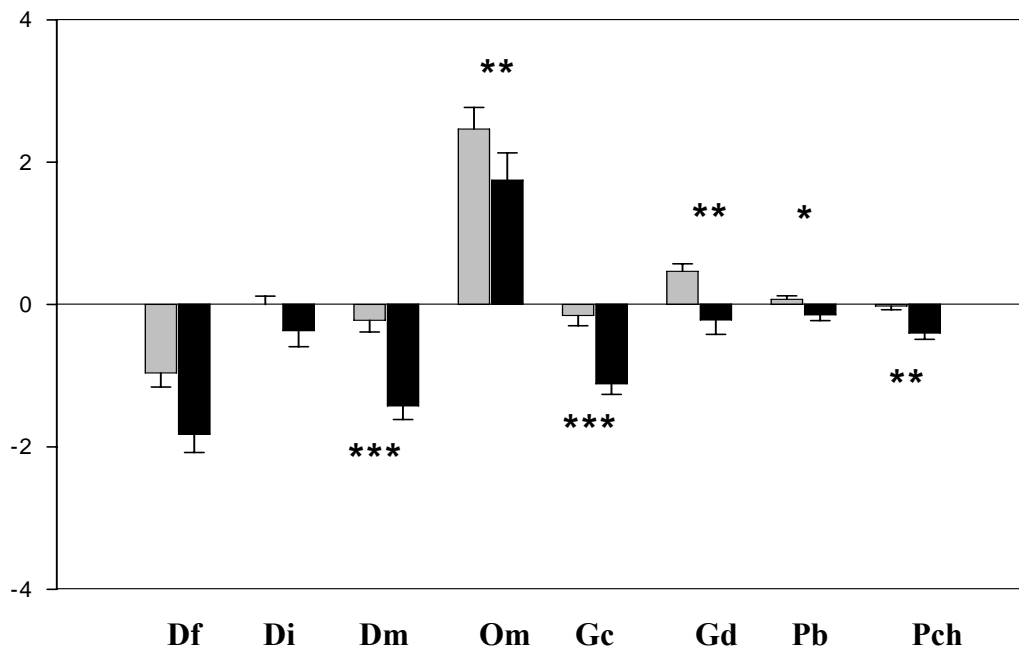
Pro stanovení vlivu produkce semeníků, přítomnosti nektaru a příslušnosti k určitému druhu na pravděpodobnost kvetení jsem data analyzoval pomocí hiarchické ANOVY (tab. 2). Nejdůležitějším řádkem je interakce zásah*nektar, která vyšla statisticky průkazně. Z tohoto výsledku vyplývá, že se projevil rozdíl v reakci na zásah mezi skupinou orchidejí s nektarem a bez nektaru. Tento rozdíl spočívá ve větší pravděpodobnosti kvetení orchidejí bez nektaru, které nebyly zatíženy produkcí semeníků. Obdoba tohoto výsledku je znázorněna na obrázku 2, který znázorňuje procentuální zastoupení kvetoucích rostlin u každého druhu a pro každou skupinu s odlišnou mírou vlivu produkce semeníků. Analýza interakce zásah*kód druhu (tab.

2) nebyla průkazná a mohu tedy říct, že produkce semeníků měla stejný vliv na všechny sledované druhy.

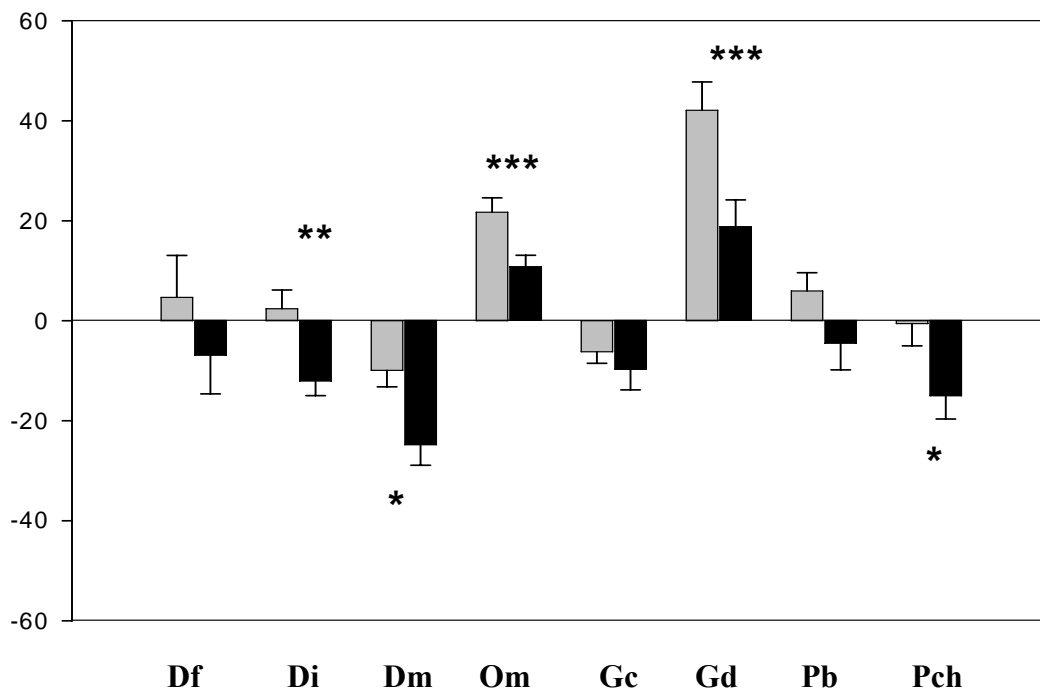
Obr. 1 a-e. Změny biometrických parametrů naměřených před zásahem v roce t a po zásahu v roce $t+1$. Šedé sloupce značí skupinu rostlin s nulovou produkcí semeníků, černé sloupce značí skupinu rostlin s vysokou produkcí semeníků. Chybové úsečky znázorňují střední chybu odhadu, symboly hvězdiček udávají statisticky průkaznou interakci změn biometrických parametrů v čase vlivem zásahu (Analýza variance s opakovanými měřeními; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$). Kódy druhů: **Df** – *Dactylorhiza fuchsii*, **Di** – *Dactylorhiza incarnata*, **Om** – *Orchis morio*, **Dm** – *Dactylorhiza majalis*, **Gc** – *Gymnadenia conopsea*, **Gd** – *Gymnadenia densiflora*, **Pb** – *Platanthera bifolia*, **Pch** – *Platanthera chlorantha*.

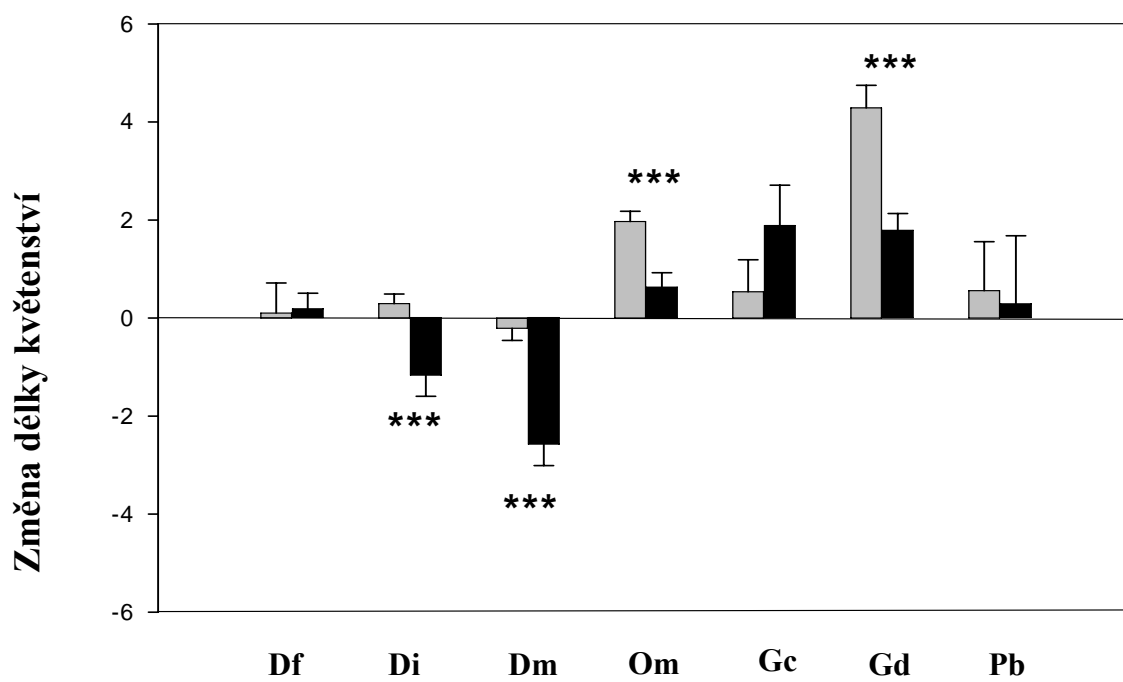
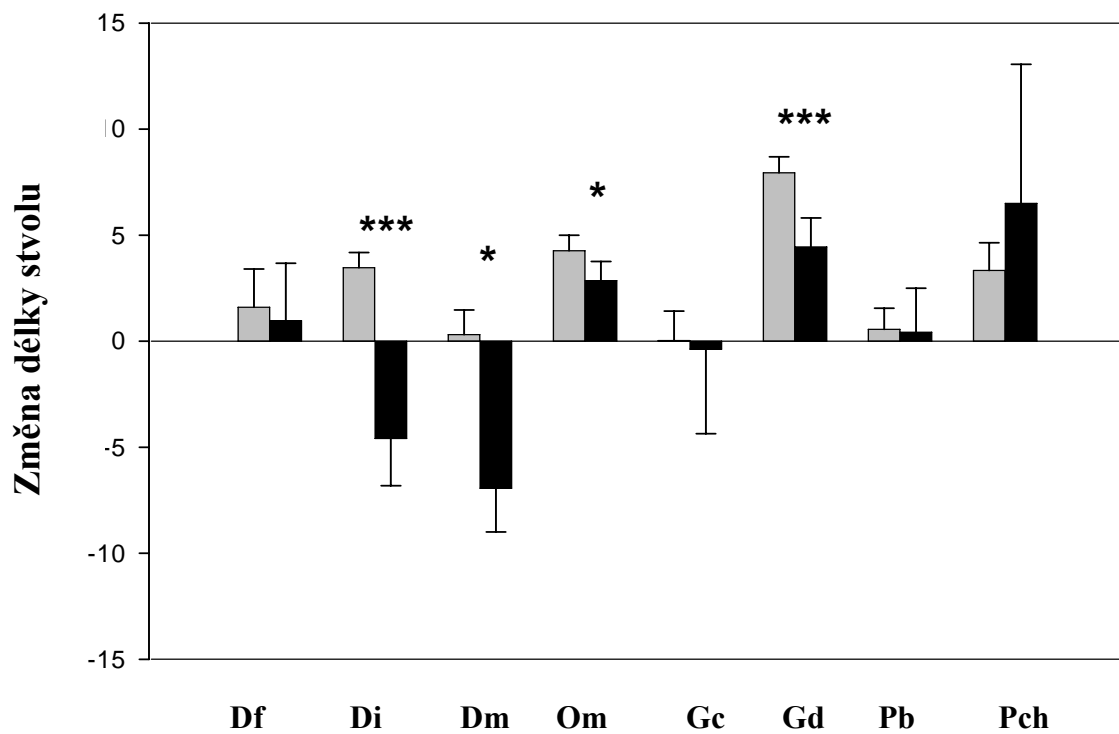


Změna celkové ho počtu listů



Změna celkové listové plochy

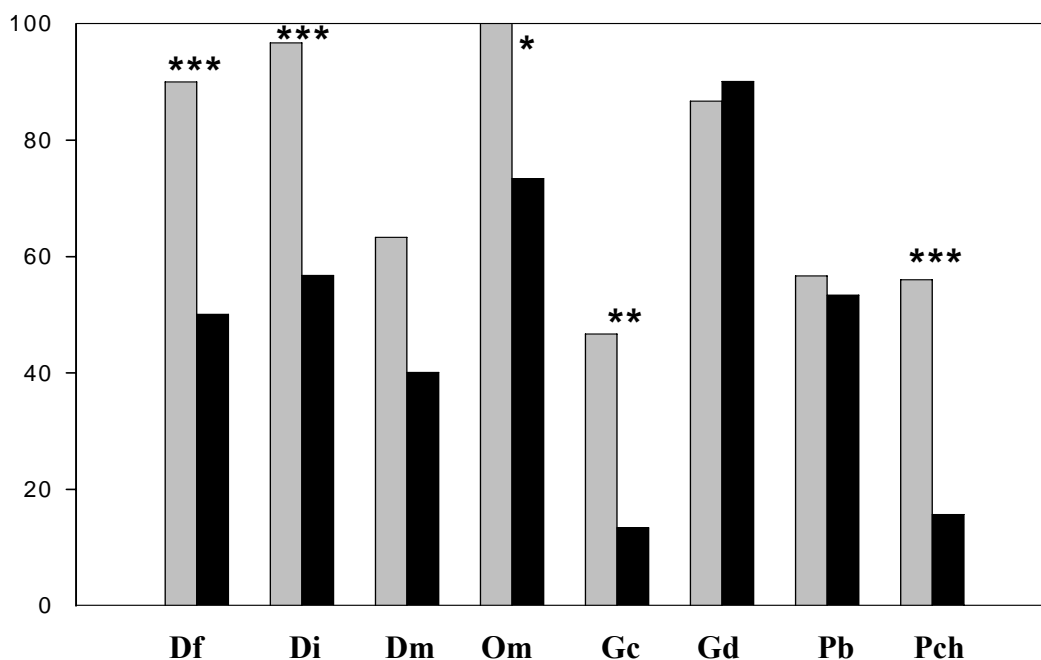




Tabulka 1. Výsledná tabulka hierarchické ANOVY, ve které byly testovány vlivy přítomnosti nektaru a zátěže spojené s produkcí semeníků (100% a 0% opylení) na biometrické parametry (**DK** – délka květenství, **DS** – délka stvolu, **PL** – počet listů, **P** – celková listová plocha, **PK** – počet květů). Ve sloupcích jsou uvedeny hodnoty F-statistiky při daných počtech stupňů volnosti (dolní index), hvězdičky udávají dosažené hladiny významnosti: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

Biometrické charakteristiky					
	DK	DS	PL	P	PK
zásah	$F_{1,254} = 3,52$	$F_{1,268} = 5,24$	$F_{1,489} = 44,58^{**}$	$F_{1,489} = 92,33^{**}$	$F_{1,266} = 11,45^*$
kód druhu	$F_{3,254} = 3,21$	$F_{3,268} = 3,06$	$F_{3,489} = 3,56$	$F_{3,489} = 16,59$	$F_{3,266} = 4,17$
nektar	$F_{1,254} = 2,54$	$F_{1,268} = 1,07$	$F_{1,489} = 0,06$	$F_{1,489} = 0,28$	$F_{1,266} = 0,02$
kód druhu (nektar)	$F_{2,3} = 0,80$	$F_{2,3} = 0,94$	$F_{2,3} = 0,84$	$F_{2,3} = 0,97$	$F_{2,3} = 0,85$
zásah*kód druhu	$F_{3,254} = 2,54$	$F_{3,268} = 3,41^*$	$F_{3,489} = 1,36$	$F_{3,489} = 0,39$	$F_{3,266} = 0,78$
zásah*nektar	$F_{1,254} = 6,64^*$	$F_{1,268} = 7,6^{**}$	$F_{1,489} = 0,16$	$F_{1,489} = 0,18$	$F_{1,266} = 3,26$

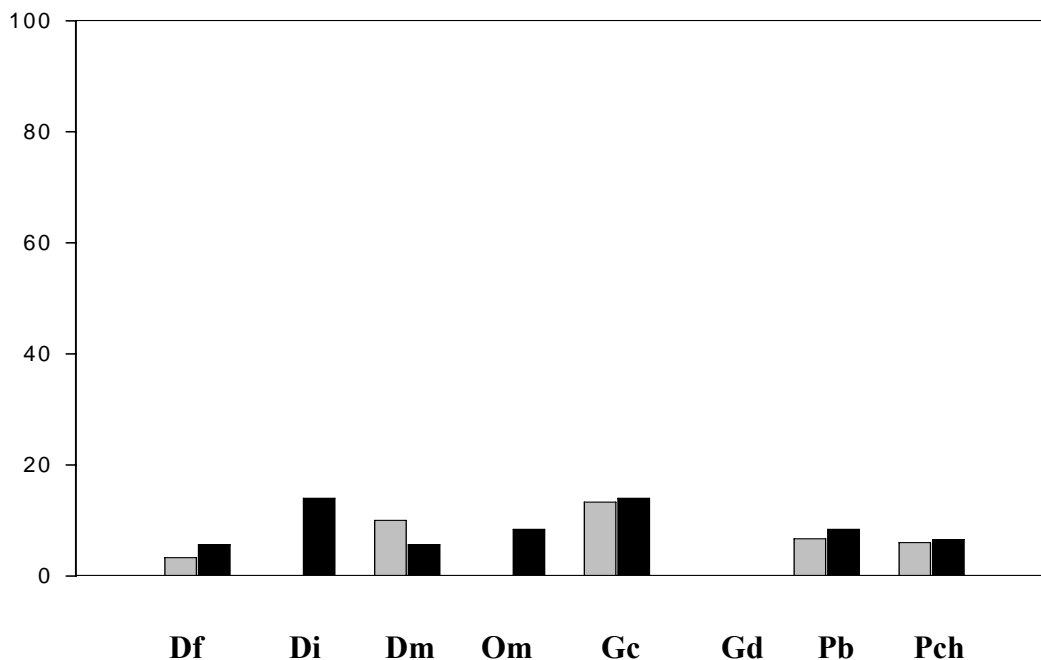
Obrázek 2. Vliv produkce semeníků na procentuální zastoupení kvetoucích rostlin v roce $t+1$ z celkového počtu experimentálních rostlin v roce t . Šedé sloupce značí skupinu rostlin s nulovou produkcí semeníků, černé sloupce značí skupinu rostlin s vysokou produkcí semeníků. Symboly hvězdiček udávají statistickou průkaznost chí-kvadrát testu (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$). Kódy druhů: **Df** – *Dactylorhiza fuchsii*, **Di** – *Dactylorhiza incarnata*, **Om** – *Orchis morio*, **Dm** – *Dactylorhiza majalis*, **Gc** – *Gymnadenia conopsea*, **Gd** – *Gymnadenia densiflora*, **Pb** – *Platanthera bifolia*, **Pch** – *Platanthera chlorantha*.



Tabulka 2. Výsledná tabulka hierarchické ANOVY testující vliv zásahu, druhu a nektaru na pravděpodobnost kvetení v následujícím roce. **DF** – počet stupňů volnosti, **P** – dosažená hladina významnosti.

Rozdělení: BINOMINAL, Link function: LOGIT				
Effect	DF	Log-Likelihood	Chi-kvadrát	P
zásah	1	-371,57	41,54	0,00
kód druhu	3	-322,77	97,60	0,00
nektar	1	-306,05	33,44	0,00
kód druhu (nektar)	3	-300,29	11,50	0,01
zásah*kód druhu	3	-299,67	1,24	0,74
zásah*nektar	1	-297,26	4,82	0,03

Obrázek 3. Vliv produkce semeníků na procentuální zastoupení dormantních (nenalezených) rostlin v roce $t+1$ z celkového počtu experimentálních rostlin v roce t . Šedé sloupce značí skupinu rostlin s nulovou produkcí semeníků, černé sloupce značí skupinu rostlin s vysokou produkcí semeníků. Kódy druhů: **Df** – *Dactylorhiza fuchsii*, **Di** – *Dactylorhiza incarnata*, **Om** – *Orchis morio*, **Dm** – *Dactylorhiza majalis*, **Gc** – *Gymnadenia conopsea*, **Gd** – *Gymnadenia densiflora*, **Pb** – *Platanthera bifolia*, **Pch** – *Platanthera chlorantha*.



3.2. Vliv vysoké produkce semeníků na kvantitu a kvalitu semen

Provedl jsem analýzu množství semen obsažených v tobolkách u rostlin, které měly všechny květy opyleny. U takto opylených jedinců jsem se pak zaměřil na rozbor semeníků, které se nacházely v různých úrovních květenství (dolní, střední a horní). Ze zjištěných výsledků (tab. 3) vyplývá jednotný trend, který se projevil jak u druhů s nektarem tak bez nektaru. Tímto trendem je statisticky průkazný postupný pokles množství semen uložených v tobolkách směrem nahoru v květenství.

Tabulka 3. Výsledná tabulka hierarchické ANOVY, ve které byl testován vliv pozice na množství semen v tobolkách (mg). Ve sloupcích jsou uvedeny hodnoty **F**-statistiky při daných počtech stupňů volnosti (dolní index), hvězdičky udávají dosažené hladiny významnosti: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; **P1-P2-P3** - průměrné množství semen v dolní-střední-horní pozici v květenství \pm s.e. (střední chyba průměru); horní indexy (a, b, c) udávají výsledky Tukeyho testu a značí vzájemnou odlišnost množství semen na různých pozicích.

Změna množství semen v květenství					
Druhy s nektarem	proměnné	F	P1 \pm SE	P2 \pm SE	P3 \pm SE
<i>Gymnadenia densiflora</i>	rostlina	F_{9,30}=5,41***			
	pozice(rostlina)	F _{20,9} =0,01	2,82\pm0,21^a	1,64\pm0,21^b	1,21\pm0,21^b
<i>Platanthera bifolia</i>	rostlina	F_{9,30}=14,47***			
	pozice(rostlina)	F _{20,9} =0,01	9,50\pm0,59^a	7,65\pm0,59^a	4,09\pm0,59^b
Druhy bez nektaru					
<i>Orchis morio</i>	rostlina	F_{9,30}=18,64***			
	pozice(rostlina)	F _{20,9} =0,01	7,92\pm0,61^a	7,30\pm0,61^{ab}	5,61\pm0,61^b
<i>Dactylorhiza incarnata</i>	rostlina	F_{9,30}=11,80***			
	pozice(rostlina)	F _{20,9} =0,02	9,06\pm1,06^a	6,46\pm1,06^{ab}	4,32\pm1,06^b
<i>Dactylorhiza majalis</i>	rostlina	F_{9,30}=5,45***			
	pozice(rostlina)	F _{20,9} =0,03	7,15\pm0,64^a	7,77\pm0,64^a	5,83\pm0,64^b
<i>Dactylorhiza fuchsii</i>	rostlina	F_{9,30}=2,53*			
	pozice(rostlina)	F _{20,9} =0,01	7,57\pm0,38^a	5,75\pm0,38^b	2,48\pm0,38^c

Otestování vitality semen obsažených v tobolkách, jejíž výsledky jsou shrnuté v tabulce 4, ukazuje, že se u testovaných druhů (bez nektaru i s nektarem) neprojevil vliv pozice semeníků (dolní, střední a horní) v květenství na procento vitálních semen v tobolkách. U semen se tedy neprojevuje trend postupného snižování jejich kvality vzhledem ke snižujícímu se množství semen od báze k vrcholu květenství.

Tabulka 4. Výsledná tabulka jednocestné ANOVY, ve které byl testován vliv pozice na kvalitu semen v tobolkách. **DF** – počet stupňů volnosti; **MS** – průměr čtverců; **F** – hodnoty testu; **P** – dosažená hladina významnosti; **P1-P2-P3** – podíl vitálních semen v dolní-střední-horní pozici v květenství ± s.e. (střední chyba průměru)

Vitalita semen v tobolkách							
Druhy s nektarem	DF	MS	F	P	P1 ± SE	P2 ± SE	P3 ± SE
<i>Gymnadenia densiflora</i>	2	0,01	0,07	0,94	0,64±0,10	0,61±0,10	0,59±0,10
<i>Platanthera bifolia</i>	2	0,01	0,01	0,99	0,36±0,08	0,35±0,08	0,35±0,08
Druhy bez nektaru							
<i>Orchis morio</i>	2	0,01	0,28	0,76	0,36±0,05	0,33±0,05	0,38±0,05
<i>Dactylorhiza incarnata</i>	2	0,01	0,12	0,88	0,55±0,06	0,57±0,06	0,53±0,06
<i>Dactylorhiza majalis</i>	2	0,04	0,99	0,40	0,42±0,09	0,51±0,09	0,59±0,09
<i>Dactylorhiza fuchsii</i>	2	0,01	0,05	0,95	0,37±0,03	0,38±0,03	0,38±0,03

4. Diskuse

Pravděpodobnost kvetení vstavačovitých závisí určitou měrou na povětrnostních podmínkách během celého roku, obzvláště však na množství srážek během růstové sezóny (Wells 1981). Rovněž to také závisí na celkové listové ploše a na kvalitě a kvantitě nahromaděných asimilátů v hlízách v předešlém roce (Wells & Cox 1989; Kindlmann & Balounová 1996). Tyto faktory se následně podílejí na vytváření nové hlízy, ve které se hromadí energie pro další růst v nové vegetační sezóně. Velikost hlízy tak odráží množství nahromaděných sacharidů, které rostlina uskladnila. Na tvorbě biomasy nových hlíz se také podílí mykotrofní symbióza a přesun živin z nadzemních výhonů, které na konci vegetační sezóny odumírají (Øien & Pedersen 2005). Tento jev byl objeven při sledování zvyšujícího se objemu nových hlíz i po skončení růstu rostlin. K závěru, že hlíznaté orchideje přemísťují živiny z odumírajících částí rostlin do hlíz, dospěl také Whigham (1984). Rovněž byla prokázána spojitost v chování hlíznatých orchidejí související s velikostí hlízy vytvořené v předešlém roce, ze které rostlina čerpala energii. Kvetoucí jedinci měli vždy větší hlízy než ti, co byli sterilní. Ve studiu druhu *Ophrys apifera* Wells & Cox (1989) naznačili, že musí být dosaženo určitého množství sacharidových rezerv, aby mohla rostlina vykvést. Mezi další faktory, které by mohly ovlivňovat pravděpodobnost kvetení orchidejí v následujícím roce, patří celkový počet listů, protože Wells *et al.* (1998) prokázal, že pravděpodobnost kvetení se zvyšuje se zvyšujícím se celkovým počtem listů. Autorka Brzosko (2003), která po dobu několika let sledovala chování populací *Platanthera bifolia* v polském národním parku Biebrza, došla k závěru, že kvetoucí jedinci *P. bifolia* měli větší listovou plochu než nekvetoucí rostliny a velikost listové plochy signifikantně vzrůstala před kvetením.

Jedním z významných faktorů ovlivňujících chování rostlin, včetně vstavačovitých, je tvorba semeníků (Calvo & Horvitz 1990; Calvo 1993; Mattila & Kuitunen 2000). Reprodukční zátěž, tak do jisté míry může určovat budoucí stav rostliny (kvetoucí, sterilní a dormantní) nebo její rozměry (počet květů, počet listů, celkovou listovou plochu, délku stvolu a délku květenství).

4.1. Vliv produkce semeníků a přítomnosti nektaru na chování rostlin

Kvetení a plození v daném roce ovlivňuje budoucí růst a reprodukci u terestrických orchidejí, protože zdroje využitě pro současnou reprodukci nejsou dostupné pro budoucí reprodukování rostliny (Snow & Whigham 1989; Primack & Hall 1990). Abych byl schopen stanovit vliv

produkce semeníků na chování rostlin, musel jsem pokus nastavit od začátku tak, abych měl jednu skupinu rostlin bez produkce semeníků a druhou s maximálním počtem semeníků. K tomuto účelů jsem použil poznatky badatelů, kteří při studiu druhu *Orchis morio* odhalili, že je možné stanovit míru reprodukční zátěže při porovnání skupin s malou (0-10%) a velkou mírou opylení (90-100%) (Jersáková & Kindlmann 2003). Mezi druhy, které reagovaly na reprodukční zátěž všemi sledovanými parametry (počet květů, počet listů, celková listová plocha, délka stvolu a délka květenství) průkazným rozdílem mezi skupinami s nulovou a maximální produkcí semeníků patří: *Orchis morio*, *Dactylorhiza majalis* a *Gymnadenia densiflora* (viz. obr. 1a-e). Průkazný vliv vysoké produkce semeníků na biometrické parametry jsem zaznamenal u změny celkového počtu listů, celkové listové plochy a počtu květů (viz. tab. 1). Z druhů bez nektaru, které většinou reagovaly nejvíce na vysokou reprodukční zátěž, vybočil druh *Dactylorhiza fuchsii*, který nereagoval průkaznou změnou ani v jednom sledovaném biometrickém parametru. Tento výsledek je zvláštní, protože příbuzné druhy *Dactylorhiza majalis* a *D. incarnata* reagovaly velice silně na reprodukční zátěž. Možným vysvětlením tohoto chování může být fakt, že u některých druhů orchidejí se projeví reprodukční zátěž až po několikaletém soustavném produkování vysokého počtu semeníků. Tuto domněnku podporuje studie autorů Primack & Stacy (1998) na druhu *Cypripedium acaule*. Ti sledovali po dobu jedenácti let tři planě rostoucí populace *C. acaule* a dospěli k závěru, že pouze víceleté opakovaní uměle vyvolaného produkování semeníků může odhalit vliv reprodukce na chování orchidejí. Mezi druhy, které reagovaly průkaznou změnou pouze v několika parametrech, patří *Gymnadenia conopsea*, *Platanthera bifolia* a *P. chlorantha*. U těchto druhů se projevil vliv zátěže snížením počtu listů ve skupině rostlin s vysokou produkcí semeníků a u druhu *P. chlorantha* došlo navíc ke snížení celkové listové plochy. Tento výsledek je částečně v souladu s prací Brzosko (2003), jejíž výsledky ukázaly, že kvetení jedinců *P. bifolia* mělo za následek pokles velikosti listů v následujícím roce. Tento negativní efekt kvetení na budoucí velikost listové plochy byl ale nalezen pouze u jedinců, kteří kvetli poprvé ve svém životním cyklu. K odlišným výsledkům oproti mé práci dospěla u jedinců kvetoucích ve dvou nebo více následujících letech, u kterých nedošlo k vyjádření ceny reprodukce v podobě snížení listové plochy. Fakt, že některé druhy reagují průkaznou změnou pouze u parametrů týkajících se listových charakteristik (počet listů a celková listová plocha) možná naznačuje, že orchideje nejprve reagují na reprodukční zatížení snížením rozměrů listových parametrů.

Na základě dosažených výsledků se mi nepodařilo potvrdit předpoklad, že produkce nektaru je pro rostlinu energeticky náročná a tudíž druhy s nektarem by měly být znevýhodněny jeho

produkcí oproti druhům bez nektaru tak, jak to předpokládá Pyke (1991). Dalším faktem podporujícím energetické zatížení orchidejí způsobené syntézou nektaru je jeho zpětné vstřebávání ze stárnoucích květů, které umožňuje znovu využít energii uloženou v nektaru pro jiné účely (Luyt & Johnson 2002; Stpiczynska 2003). Tomuto předpokladu oponují studie badatelů Harder & Barrett (1992). Ti ve své práci připouštějí energetickou náročnost produkce nektaru pouze u rostlin, které jsou opylovány ptáky, a proto vytvářejí podstatně větší množství nektaru než druhy opylované hmyzem, pro které je jeho produkce zřejmě energeticky zanedbatelná.

Poznatky literární rešerše autorů Neiland & Wilcock (1998), kteří upozornili na fakt, že průměrná produkce semeníků u orchidejí bez nektaru je přibližně 2x menší než u orchidejí s nektarem mě vedla k domněnce, že druhy bez nektaru mohou reagovat na uměle vyvolanou reprodukční zátěž způsobenou vytvořením vysokého počtu semeníků více než druhy s nektarem. Možný kombinovaný vliv přítomnosti nektaru a maximální produkce semeníků se mi podařilo prokázat pouze u délky stvolu a délky květenství (viz. tab. 1). U orchidejí bez nektaru tak došlo k většímu zmenšení nebo menšímu nárůstu těchto dvou parametrů než u druhů s nektarem (obr. 1d, e).

Vliv reprodukční zátěže na pravděpodobnost kvetení v následující sezóně ukazuje tabulka 2. Z ní můžeme vyčíst, že z druhů s nektarem reagovaly průkazným snížením pravděpodobnosti kvetení pouze druhy *Gymnadenia conopsea* a *Platanthera chlorantha*. U zbývajících druhů s nektarem, *G. densiflora* a *P. bifolia*, se neprojevil průkazný vliv produkce semeníků na pravděpodobnost kvetení v následující sezóně. Ke stejnému výsledku dospěli Mattila & Kuitunen (2000). Ti ve své práci rovněž nepozorovali vliv reprodukční zátěže na pravděpodobnost kvetení u druhu *P. bifolia*. Naproti tomu došlo ke snížení pravděpodobnosti kvetení v podstatě u všech druhů bez nektaru, průkazně pro druhy *Dactylorhiza fuchsii*, *D. incarnata* a *Orchis morio*. Ke snížení pravděpodobnosti došlo i u druhu *D. majalis*, ale výsledek testu nebyl průkazný ($P = 0,071$). Jednoznačného prokázání vlivu reprodukce na pravděpodobnost kvetení u druhu *D. majalis* by možná mohlo být dosaženo po více než jednoročním maximálním zatížení rostlin (viz. výše popsany pokus na druhu *Cypripedium acaule*). Výsledky zjištěné pro druhy se šálivými květy jsou v rozporu s prací Jersákové & Kindlmann (2003), kteří nepozorovali náklady na reprodukci u druhu *Orchis morio* v podobě snížení pravděpodobnosti kvetení v následující sezóně. Oproti tomu se shodují s pracemi zabývajícími se náklady na reprodukci vyjádřenými pravděpodobností kvetení u orchidejí, protože všechny uvedené studie zaznamenaly snížení pravděpodobnosti kvetení u sledovaných druhů ve skupině s vysokou produkcí semeníků (*Tipularia discolor*, Snow &

Whigham 1989; *Tolumnia variegata*, Calvo 1993; *Listera ovata*, Brzosko 2002; *Tipularia discolor* a *Liparis lilifolia*, Whigham & O'Neill 1991; *Dendrobium monophyllum*, Bartareau 1995).

4.2 Vliv přítomnosti nektaru a vysoké produkce semeníků na kvalitu a kvantitu semen

U všech druhů došlo k postupnému poklesu množství semen od spodní části květenství směrem k vrcholu. Postupný pokles kvantity semen směrem k horní části květenství je možné vysvětlit postupným zmenšováním tobolek, a tedy i množství vajíček, které by mohly být potenciálně opyleny. Tuto domněnku podporuje práce zabývající se studiem druhu *Dactylorhiza maculata*, která rovněž našla spojitost v postupném zmenšování květních orgánů a počtu vajíček v tobolkách směrem k vrcholu květenství (Vallius 2000). Stejný výsledek zaznamenaly i další práce (*Spiranthes spiralis*, Willems et al. 2001; *Myrosmodes cochleare*, Bery & Calvo 1991).

Při porovnání množství vitálních semen v jednotlivých částech květenství jsem nezjistil žádné průkazné odchylky ve vitalitě v dolní, střední a horní části květenství. Jestliže měla rostlina nízkou nebo vysokou vitalitu semen, tak se tento fakt projevil ve všech tobolkách v různých úrovních květenství přibližně stejným procentem vitálních a abortovaných semen. Tyto výsledky naznačují, že během jednoročního maximálního zatížení nedochází k limitaci zdrojů nutných pro tvorbu kvalitních semeníků. Vliv pozice semeníku v květenství na vitalitu semen zatím nebyl dostatečně prostudován, protože většina autorů se zabývá rozbořem vlivu pozice semeníku v květenství na množství semen. Tato práce je první, která přináší údaje tohoto druhu.

5. Závěr

5.1. Vliv produkce semeníků a přítomnosti nektaru na chování rostlin

Různé druhy orchidejí reagovaly na vysokou produkci semeníků různě. Průkazný negativní vliv vysoké produkce semeníků na biometrické parametry byl zjištěn u počtu květů, počtu listů a celkové listové plochy.

Kombinovaný vliv vysoké produkce semeníků a přítomnosti nektaru se průkazně projevil negativní změnou délky stvolu a délky květenství u druhů bez nektaru.

Vysoká produkce semeníků měla statisticky průkazný negativní vliv na procentuální zastoupení kvetoucích rostlin v následujícím roce, zvláště u druhů bez nektaru.

U druhu *Dactylorhiza fuchsii* se neprojevil vliv vysoké produkce semeníků na biometrické parametry, avšak průkazně snížil pravděpodobnost kvetení v následujícím roce. Naopak u druhů (*D. majalis*, *Gymnadenia densiflora* a *Platanthera bifolia*), které reagovaly na produkci semeníků změnou biometrických parametrů, se neprojevil vliv reprodukční zátěže na pravděpodobnost kvetení v následující sezóně.

5.2 Vliv produkce semeníků a přítomnosti nektaru na kvantitu a kvalitu semen

Pozoroval jsem postupné snižování množství semen v semenících, které pravděpodobně souvisí s postupným zmenšováním počtu vajíček směrem od báze k vrcholu květenství. Tento trend jsem pozoroval u všech sledovaných druhů orchidejí bez ohledu na přítomnost nektaru. Naproti tomu kvalita semen se v rámci květenství neměnila a tudíž při vysoké produkci semeníků v rámci jedné sezóny nedochází při tvorbě semen k limitaci zdroji. Tento trend byl opět nezávislý na přítomnosti nektaru.

6. Literatura

- Ackerman, J.D. (1986): Mechanisms and evolution of food-deceptive pollination systems in orchids. *Lindleyana* 1: 108-113.
- Ackerman, J.D. & Montalvo, A.M. (1990): Short- and long-term limitation to fruit production in a tropical orchid. *Ecology* 71: 263-272.
- Arditti, J. (1992): Fundamentals of orchid biology J. Wiley & Sons, New York.
- Bartareau, T. (1995): Pollination limitation, costs of capsule production and the capsule-to flower ratio in *Dendrobium monophyllum* F. Muell (Orchidaceae). *Australian Journal of Ecology* 20: 257-265.
- Beck, C.B. (1976): Origin and Early Evolution of Angiosperms. Columbia University Press, New York.
- Berry, P.E. & Calvo, R.N. (1991): Pollinator limitation and position dependent fruit set in the high Andean orchid *Myrosmodes cochleare* (Orchidaceae). *Plant Systematics and Evolution* 174: 93-101.
- Brzosko, E. (2002): Dynamics of *Listera ovata* populations on mineral islands in the Biebrza National Park – *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 3: 243-251.

- Brzosko, E. (2003): The dynamics of island populations of *Platanthera bifolia* in Biebrza National Park (NE Poland). – *Annales Botanici Fennici* 40: 243-253.
- Burquez, A. & Corbet, S.A. (1991): Do flowers reabsorb nectar? *Functional Ecology* 5: 369-379.
- Buttler, K.P. (2000): *Orchideje*. Ikar, Praha.
- Calvo, R. N. & Horvitz, C. C. (1990): Pollinator limitation, cost of reproduction, and fitness in plants: a transition-matrix demographic approach. *American Naturalist* 136: 499-516.
- Calvo, R. N. (1993): Evolutionary demography of orchids: intensity and frequency of pollination and the cost of fruiting. *Ecology* 74: 1033-1042.
- Crane, P.R., Friis, E.M. & Pederson, K.R. (1995): The origin and early diversification of angiosperms. *Nature* 374: 27-33.
- Darwin, C. (1862): *The various contrivances by which orchids are fertilized by insect*. London Ed. I. [Ed. II., 1890].
- Dressler, R.L. (1968): Pollination by euglossine bees. *Evolution* 22: 202-210.
- Dressler, R.L. (1981): *The Orchids: Natural History and Classification*. Harvard University Press, Massachusetts. "
- Dressler, R. (1993): *Phylogeny and classification of the orchid family*. Dioscorides Press, Cambridge, Massachusetts.
- Dykyjová, D. (2003): *Ekologie středoevropských orchidejí*. Kopp, České Budějovice.
- Harder L.D. & Barrett S.C.H. (1992): The energy cost of bee pollination for *Pontederia cordata* (Pontederiaceae). *Functional Ecology* 6: 1-7.
- Holub, J. & Procházka, F. (2000): Red list of vascular plants of the Czech Republic. *Preslia* 2-4: 187-230.
- Jatiová, M. & Šmiták, J. (1996): *Rozšíření a ochrana orchidejí na Moravě a ve Slezsku*, Agentura ochrany přírody a krajiny České republiky Praha, středisko Brno.
- Jersáková, J. (2003): *Reproductive success in terrestrial orchids. The role of floral display, pollinator limitation and cost of the reproduction in plant fitness*. PhD. Thesis. – 18 p., Faculty of Biological Sciences, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.
- Jersáková, J., Johnson, S.D., Kindlmann, P. (2006): Mechanisms and evolution of deceptive pollination in orchids. *Biology Reviews* 81: 219-235.
- Ježek, Z. (2003): *Encyklopedie orchidejí*. Rebo Productions CZ, Dobřejovice.
- Johnson, S.D. & Bond, W.J. (1997): Evidence for windspread pollen limitation of fruiting success in Cape wildflowers. *Oecologia* 109: 530-534.

- Kindlmann, P. & Balounová, Z. (1996): Energy partitioning in terrestrial orchids – a model for assessing their performance. *Ecological Modelling* 119: 167-176.
- Koopowitz, H. & Marchant, T.A. (1998): Postpollination nectar reabsorption in the African epiphyte *Aerangis verdickii* (*Orchidaceae*). *American Journal of Botany* 85: 508-512.
- Kubát, K., Hrouda, L., Chrtek, J., jun., Kaplan, Z., Kirschner, J., & Štěpánek, J., [eds.]. (2002): Klíč ke květeně České republiky. Academia, Praha.
- Lloyd, D.G. (1980): Sexual strategies in plants. I. An hypothesis of serial adjustment of maternal investment during one reproductive session. *New Phytologist* 86: 81-92.
- Lovett-Doust, J. & Lovett-Doust, L. (1988): Plant reproductive ecology: patterns and strategies. Oxford University Press, New York.
- Luyt, R. & Johnson, S.D. (2002): Nectar reabsorption in an epiphytic orchid and its consequences for reproductive success. *Biotropica* 34: 442-446.
- Mattila, E. & Kuitunen, M. T. (2000): Nutrient versus pollination limitation in *Platanthera bifolia* and *Dactylorhiza incarnata* (*Orchidaceae*). *Oikos* 89: 360-366.
- Melendez-Ackerman, E.J., Ackerman, J.D. & Rodriguez-Robles, J.A. (2000): Reproduction in an orchid can be resource-limited over its lifetime. *Biotropica* 32: 282-290.
- Neiland, M.R.M. & Wilcock, C.C. (1998): Fruit set, nectar reward, and rarity in the *Orchidaceae*. *American Journal of Botany* 85: 1657-1671.
- Øien, D. –I. & Pedersen, B. (2005): Seasonal pattern of dry matter allocation in *Dactylorhiza lapponica* (*Orchidaceae*) and the relation between tuber size and flowering. *Nordic Journal of Botany* 23: 441-451.
- Primack, R.B. & Hall, P. (1990): Cost of reproduction in the pink lady's slipper orchid: a four year experimental study. – *American Naturalist* 136: 638-656.
- Primack, R.B. & Stacy, E. (1998): Cost of reproduction in the pink lady's slipper orchid (*Cypripedium acaule*, *Orchidaceae*): an eleven-year experimental study of three populations. *American Journal of Botany* 85: 1672-1679.
- Procházka, F. & Velíšek, V. (1983): Orchideje naší přírody. Academia, Praha.
- Pyke, G.H. (1991): What does it cost a plant to produce floral nectar? *Nature* 350: 58-59.
- Snow, A.A. & Whigham, D.F. (1989): Costs of flower and fruit production in *Tipularia discolor* (*Orchidaceae*). *Ecology* 70: 1286-1293.
- Southwick E.E. (1984): Photosynthate allocation to floral nectar – a neglected energy investment. *Ecology* 65: 1775-1779.
- Stephenson, A.G. (1981): Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Annual Review of Ecology and Systematics* 12: 253-279.

- Stpiczynska, M. (2003): Floral longevity and nectar secretion of *Platanthera chlorantha* (Custer) Rchb. (*Orchidaceae*). *Annals of Botany* 92: 191-197.
- Szentensí, Á. (2002): Insect-plant relationships – chance and necessity. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 48: 55-71.
- Tremblay, R.L., Ackerman, J.D., Zimmerman, J.K., Calvo, R.N. (2005): Variation in sexual reproduction in orchids and its evolutionary consequences: a spasmodic journey to diversification. *Biological Journal of the Linnean Society* 84(1): 1-54.
- Vallius, E. (2000): Position-dependent reproductive success of flowers in *Dactylorhiza maculata* (*Orchidaceae*). *Functional Ecology* 14: 573-579.
- van der Cingel, N.A. (1995): An atlas of orchid pollination. European orchids. A. A. Belkema, Rotterdam, The Netherlands.
- van der Pijl, L. & Dodson, C.H. (1966): Orchid flowers: their pollination and evolution. Univ. Miami Press.
- van Waes, J.M. & Debergh, P.C. (1986): Adaptation of the tetrazolium method for testing the seed viability, and scanning electron microscopy study of some Western European orchids. *Physiology Plant* 66: 435-442.
- Vlčko, J., Dítě, D., Kolník, M. (2003): Vstavačovité Slovenska. Patria, Prievidza.
- Wells, T.C.E. (1981): Population ecology of terrestrial orchids. In: Synge, H. (ed.), *The biological aspects of rare plant conservation*, J. Wiley & Sons Ltd.
- Wells, T.C.E. & Cox, R. (1989): Predicting the probability of the bee orchid (*Ophrys apifera*) flowering or remaining vegetative from the size and number of leaves. *Modern Methods in orchid Conservation: The Role of Physiology, Ecology and Management*. [Pritchard, H.W. (ed.)]. Cambridge University Press, New York, pp. 127-139.
- Wells, T.C.E., Rothery, P., Cox, R., Bamford, S. (1998): Flowering dynamics of *Orchis morio* L. and *Herminium monorchis* (L.) R.Br at two sites in eastern England. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 126, 39-48.
- Whigham, D. F. (1984): Biomass and nutrient allocation of *Tipularia discolor* (*Orchidaceae*). *Oikos* 42: 303-313.
- Whigham, D.F., O'Neill, J. (1991): The dynamics of flowering and fruit production in two eastern North American orchids, *Tipularia discolor* and *Liparis lilifolia*. *Population ecology of terrestrial orchids*. [T.C.E. Wells & J.H. Willems, eds.]. SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands, pp. 89-101.
- Willems, J. H. (1982): Establishment and development of a population of *Orchis simia* Lamk. in the Netherlands, 1972 to 1981. *New Phytologist* 91: 757-765.

- Willems, J.H. & Dorland, E.(2000): Flowering frequency and plant performance and their relation to age in the perennial orchid *Spiranthes spiralis* (L.) Chevall. *Plant Biology* 2: 344-349.
- Willems, J.H., Balounová, Z. & Kindlmann, P. (2001): The effect of experimental shading on seed production and plant survival in the threatened species *Spiranthes spiralis* (*Orchidaceae*). *Lindleyana* 16: 31-37.
- Zimmerman, J.K. & Aide, T.M. (1989): Patterns of fruit production in a Neotropical orchid: pollinator vs. resource limitation. *American Journal of Botany* 76: 67-73.