

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Biologie



Klára Bílá

Evoluční mechanismy středoevropských zástupců rodu *Dactylorhiza*

Evolutionary forces of Central European taxa of the genus *Dactylorhiza*

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Tomáš Urfus, Ph.D.

Konzultant: RNDr. Jan Ponert, Ph.D.

Praha, 2023

Ráda bych poděkovala mému školiteli Mgr. Tomášovi Urfusovi, Ph.D. za pomoc při psaní práce a také RNDr. Janu Ponertovi, Ph.D. za konzultaci ohledně tématu práce.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 30. 04. 2023

Podpis:

Obsah

1. Úvod.....	1
2. Fylogeneze	2
3. Polyploidie	4
4. Transpozony.....	7
5. Rod <i>Dactylorhiza</i>	8
5.1. <i>Dactylorhiza viridis</i> (L.) R. M. Bateman, Pridgeon & M. W. Chase.....	9
5.2. <i>Dactylorhiza iberica</i> (Bieb. Ex Willd.) Soó	10
5.3. <i>Dactylorhiza sambucina</i> (L.) Soó.....	10
5.4. <i>Dactylorhiza romana</i> (Seb.) Soó	11
5.5. <i>Dactylorhiza umbrosa</i> (Kar. & Kir.) Nevski.....	12
5.6. <i>Dactylorhiza incarnata</i> (L.) Soó	12
5.7. <i>Dactylorhiza ochroleuca</i> (Wust. Ex Boll) Averyanov	14
5.8. <i>Dactylorhiza maculata</i> (L.) Soó	14
5.9. <i>Dactylorhiza foliosa</i> (Soland. Ex Lowe) Soó.....	15
5.10. <i>Dactylorhiza fuchsii</i> (Druce) Soó	16
5.11. <i>Dactylorhiza carpatica</i> (Batoušek & C. A. J. Kreutz) P. Delforge.....	17
6. Opylování.....	18
7. Mykorhiza	21
8. Ochrana orchidejí.....	22
10. Použitá literatura	24

Abstrakt

Rod *Dactylorhiza* (prstnatec), který zahrnuje zelené terestrické orchideje, patří mezi taxonomicky nejkomplikovanější skupiny evropské flóry. Základní druhy mezi sebou často hybridizují a existuje celá řada obtížně identifikovatelných kříženců a hybridogenních linií. Zásadními rodičovskými druhy většiny hybridů a hybridogenních taxonů jsou *D. incarnata*, *D. maculata* a *D. fuchsii*, které současně reprezentují odvozenější linie rodu. Sesterským rodem prstnateců je rod *Gymnadenia*, který sdílí s prstnatci některé společné znaky. *Dactylorhiza viridis*, dříve řazená do rodu *Coeloglossum*, představuje první oddělující se druh. Centrum diverzity se pravděpodobně nachází ve Středomoří, odkud se prstnatce po skončení doby ledové rozšířily zpět do střední Evropy. Hlavním evolučním mechanismem je polyploidizace, která spolu s hybridizací vede ke vzniku alopolyloidních linií. Unikátní znak orchidejí (včetně rodu *Dactylorhiza*) představuje částečná endoreduplikace, při níž dochází k somatické endopolyploidizaci pouze určité části genomu. Pro mikroevoluci prstnateců má také značný význam způsob opylování. Šálivé květy rodu *Dactylorhiza* opylují hlavně nezkušení čmeláci, ale lze se u nich setkat také s opylováním brouky nebo mravenci. V posledních dekádách jsou zástupci tohoto rodu ohroženi zejména úbytkem lokalit. Avšak dosud nebylo zhodnoceno, zda může vzácnější taxony rodu *Dactylorhiza* ohrožovat také mezidruhovú hybridizace, respektive introgrese.

Klíčová slova: *Dactylorhiza*, polyploidie, hybridizace, fylogeneze, opylování, mykorhiza

Abstract

Genus *Dactylorhiza*, comprising green terrestrial orchids, belongs to of the most taxonomically complex groups of European flora. Basic species often hybridise between each other and there is a lot of taxonomically challenging hybrids and hybridogenous lineages. Essential parental species of majority of hybrids and hybridogenous lineages are *D. incarnata*, *D. maculata* and *D. fuchsii*. Sister genus of *Dactylorhiza* is *Gymnadenia* which shares some similar features with *Dactylorhiza* species. *Dactylorhiza viridis*, formerly classified into the genus *Coeloglossum*, is the earliest diverged species. Diversity centre probably takes place in the Mediterranean Basin from where *Dactylorhiza* species migrated back to the Central Europe in postglacial. Major force of the genus evolution is polyploidisation which together with hybridisation leads to establishment of allopolyploid lineages. Unique feature of many orchids (including genus *Dactylorhiza*) is partial endoreduplication, which somatic endopolyploidisation of certain part of genome takes place. Pollination type is also important for *Dactylorhiza* microevolution. Deceptive flowers of *Dactylorhiza* genus are mainly pollinated by naive bumblebees but even beetles or ants can be pollinators. Majority of *Dactylorhiza* species are threatened by habitat loss during last decades. But a potential threat of interspecific hybridization or even introgression has not been assessed yet.

Key words: *Dactylorhiza*, polyploidy, hybridisation, phylogeny, pollination, mycorrhiza

1. Úvod

Orchidaceae patří mezi druhově nejbohatší a nejdiverzifikovanější čeledi cévnatých rostlin. Největší počet druhů roste v tropech, avšak centra diverzity se liší u konkrétních fylogenetických skupin. Vyskytují se u nich různé opylovací strategie, které souvisí s unikátní stavbou jejich květu. Stejně jako u řady jiných rostlin u nich hraje významnou roli polyploidizace a její varianty. U některých rodů je častá mezidruhov a nebo dokonce mezirodová hybridizace, příkladem je rod *Dactylorhiza*.

Do rodu *Dactylorhiza* patří vytrvalé terestrické rostliny, které český název prstnatec získaly podle prstovitého tvaru hlíz. Tyto orchideje kvetou nejčastěji růžovými nebo fialovými květy a tvoří často skvrnité listy. Preferují slunné a vlhké lokality. Areál jejich rozšíření zahrnuje Evropu, Asii, Afriku a Severní Ameriku. Díky časté hybridizaci mezi základními druhy dochází ke vzniku hybridních zón, což vede k problémům v taxonomickém zařazení mnoha druhů.

V předkládané bakalářské práci bych ráda zodpověděla, kde jsou centra diverzity rodu *Dactylorhiza* a jaký význam v tomto ohledu hraje střední Evropa, jakou roli hraje u rodu *Dactylorhiza* polyploidní speciace a s jakými opylovacími syndromy se lze u zástupců tohoto rodu setkat. Tato práce se záměrně nezaměřuje na hybridogenní druhy, jelikož toto téma paralelně zpracovává ve své práci V. Petrák.

2. Fylogeneze

Subtribus Orchidinae, kam patří i rod *Dactylorhiza*, je z hlediska výskytu druhů dominantní v Eurasii a řada jeho zástupců se vyznačuje výraznou fenotypovou plasticitou (Bateman & al., 2018). Podle nejnovějších výzkumů jde o monofyletický klad sestávající z 6 druhů, nicméně nejméně dva rody, které sem patří, nejsou monofyletické (*Platanthera*, *Galearis*). Monofyletické rody představují *Gymnadenia* a *Dactylorhiza* (Bateman & al., 2018).

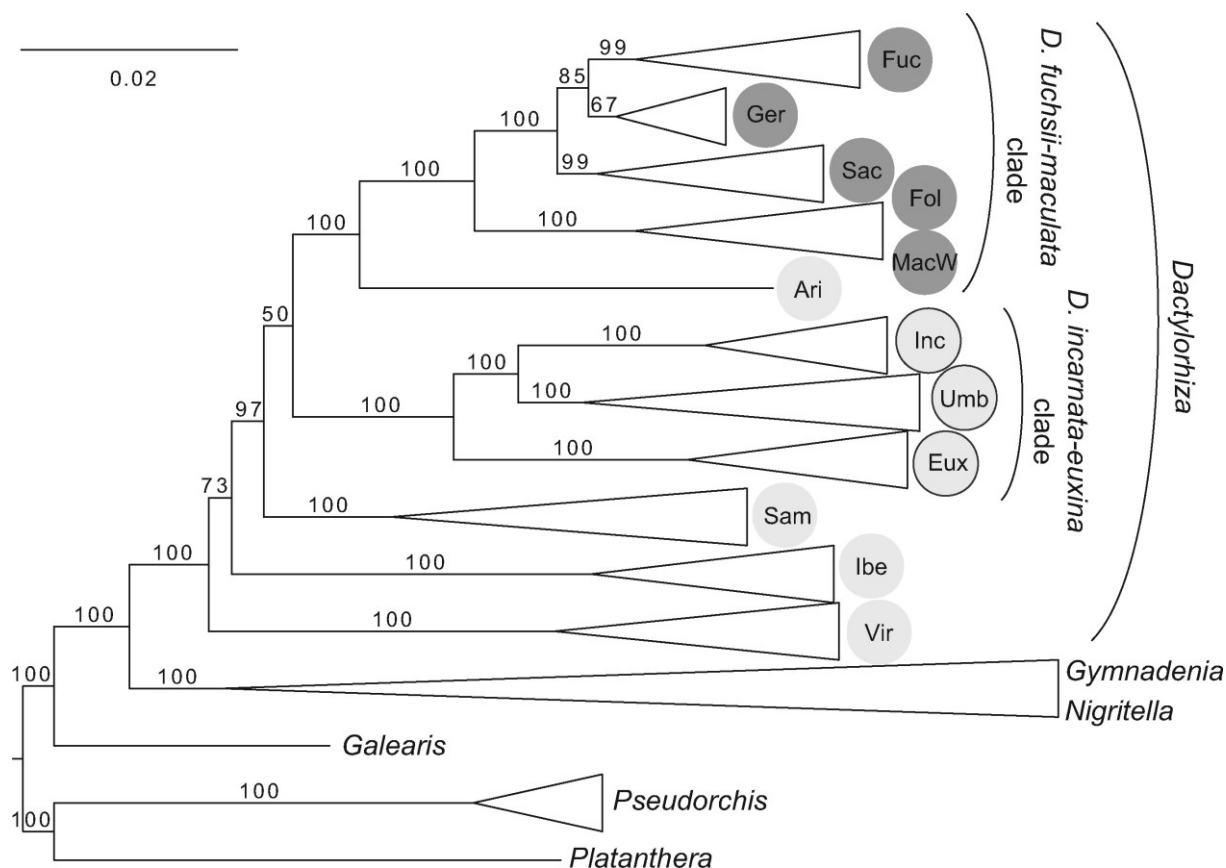
Bateman (2003) se domníval, že sesterským rodem *Dactylorhiza* by mohl být rod *Platanthera* nebo *Hemipilia*. Posléze se však Bateman & Rudall (2018) a Bateman & al. (2006) shodují na tom, že sesterským taxonem prstnaticů je rod *Gymnadenia* (Obr. 1). *Gymnadenia* sdílí s prstnatci podobný tvar hlíz, které připomínají prstovité výběžky a také stejné základní chromozomové číslo, $n = 20$. U rodu *Gymnadenia* se také vyskytují stejní houboví symbionti (*Tulasnellaceae*) (Jacquemyn & al., 2012). Zástupci kladu *Dactylorhiza-Gymnadenia* sdílí tendenci k autoployploidii i aloployploidii a vytvářejí alespoň primární hybridy. Tuto hypotézu také potvrzuje mezirodová kříženci označovaní jako *Dactylogymnadenia*. Část autorů se však domnívá, že pouze odvozenější druhy (mimo *D. viridis* a *D. iberica*) rodu *Dactylorhiza* jsou sesterské rodu *Gymnadenia*. Klad *Dactylorhiza-Gymnadenia* je sesterský kládě *Platanthera-Galearis*, mezi těmito kládě leží rod *Pseudorchis* (Obr. 2). Do rodu *Gymnadenia* je v dnešní době zařazován rod *Nigritella* (Bateman & al., 2018).

Rod *Dactylorhiza* zahrnuje podle nejnovějších výzkumů i bývalý druh *Coeloglossum viride* (L.) Hartm., nyní nazývaný *Dactylorhiza viridis* (L.) R. M. Bateman, Pridgeon & M. W. Chase (Bateman & Rudall, 2018). Tuto hypotézu potvrzuje fakt, že se *D. viridis* kříží s jinými prstnatci, jako například s *D. sambucina* (L.) Soó. Autoři různých studií se shodují, že *D. viridis* je první druh, který se v rámci rodu *Dactylorhiza* oddělil (Bateman & al., 2018). Sesterským druhem *D. viridis* je *Dactylorhiza iberica* (Bieb. Ex Willd.) Soó (Bateman & Rudall, 2018). Tato rostlina je květem podobná *D. viridis* a také nejspíš může hybridizovat s ostatními druhy prstnaticů. *Dactylorhiza viridis* a *D. iberica* mají podobný počet listů a unikátní haplotypy. Tyto dva taxony tak představují první dva oddělující se druhy (Bateman & al., 2018) (Obr. 1).

Autoři studií se však neshodují v tom, který druh se oddělil jako třetí. Bateman & Rudall (2018) si myslí, že to byla *D. incarnata* (L.) Soó, ale Brandrud & al. (2020) ovšem řadí *D. incarnata* ke kládě *D. maculata/D. fuchsii*. Brandrud & al. (2020) také tvrdí, že třetím odděleným druhem byla *D. sambucina*. Bateman & al. (2018) dokonce uvádí, že sesterským druhem *D. sambucina* je *Orchis mascula*.

Tuto hypotézu podporuje fakt, že obě rostliny mají nahoru zahnutou ostruhu a *D. sambucina* může hybridizovat s rodem *Orchis*. *Dactylorhiza viridis*, *D. incarnata* a *D. maculata* vykazují společný původ podle sekvenování RADseq. *Dactylorhiza maculata* nejspíše tvoří sesterský taxon *D. fuchsii* (Brandrud & al., 2020). Molekulární studie rovněž naznačují, že k divergenci rodu *Dactylorhiza* pravděpodobně došlo, když se tento rod oddělil od rodu *Gymnadenia* (Inda & al., 2012). Část dnešních druhů prstnatců vznikla v jižní Evropě a časem se postupně rozšířily do svých nynějších lokalit (Chase & al., 2007).

Velký počet druhů krytosemenných rostlin vznikl opakovanou nezávislou polyploidizací (Soltis & al., 2004), i polyploidní taxony se vyvinuly v několika opakovaných oddělených událostech (Hedrén & al., 2007). Evropská květena zaznamenala fáze kontrakce a expanze v důsledku pleistocenního zalednění. Diverzita a relativní stáří polyploidních taxonů koreluje s postglaciální historií (Hewitt, 1996). Některé hybridogenní taxony vznikly až v postglaciálním období, například z vyhynulého diploidního předka dnešní *D. maculata*. V severozápadní Evropě se v dnešní době vyskytují mladší polyploidní taxony než v jižní Evropě, jelikož refugium pro prstnatce během glaciálu představovala jižní Evropa a zejména Balkán (Hedrén & al., 2007).



Obr. 1: Fylogenetický strom (RADseq) diploidních zástupců rodu *Dactylorhiza*, autotetraploidní *D. maculata* a příbuzných rodů. Zdroj: Brandrud & al. (2020).

3. Polyploidie

Polyploidie je stav, kdy má jedinec více než dvě sady chromozomů. Má za následek zvětšení chromozomového čísla (Vilcherrez-Atoche & al., 2022). Vyskytuje se často u rostlin, méně často u živočichů. Na rozdíl od ostatních organismů však polyploidizace u rostlin hraje zásadní roli (Heslop-Harrison & al., 2022). Přes 70 % krytosemenných rostlin prošlo během evoluce polyploidizací (Vilcherrez-Atoche & al., 2022). Obecně způsobuje větší velikost buněk, rychlejší růst a toleranci vůči stresu. Může mít také za následek zvětšení buněk a semen nebo plodů. Polyploidie má tak vliv na evoluci, ekologii a fyziologii, jelikož způsobuje změny fenotypu. Polyploidi mají tendenci mít větší areál rozšíření než jejich diploidní předci (Beest & al., 2012). Polyploidie může vést k novým kombinacím genů i reprodukční izolaci. Může mít také vliv na toleranci vůči abiotickému stresu, polyploidní jedinci mohou lépe reagovat na zasolení v půdě a také na vysokou i nízkou teplotu (Tossi & al., 2022). Pozitivně také ovlivňuje rezistenci k biotickým stresorům, například bakteriím, houbám nebo hlísticím (Tossi & al., 2022). Polyploidi však mohou mít problém se segregací chromozomů a mohou vytvářet neredukované gamety (Vilcherrez-Atoche & al., 2022).

Ploidii organismu lze určit zejména pomocí karyologických metod počítání chromozomů a průtokové cytometrie (Barow & Jovtchev, 2007). Podle způsobu vzniku se polyploidní organismy dělí na autopolyploidní (znásobení sady chromozomů pocházející od jediného druhu) a alopolyploidní (sady chromozomů od různých rodičů, tj. hybridizace kombinovaná polyploidizací) (Chen, 2010).

Specifický případ polyploidie je endopolyploidie některých somatických buněk, vzniká replikací jaderného genomu bez buněčného dělení (Edgar & al., 2014). Je výsledkem buď tzv. endocyklu nebo endomitózy (Leitch & Dodsworth, 2017). Při endocyklu neprobíhá rozdělení chromatid a endomitóza je mitóza bez rozpadu jádra. Obsah DNA v buněčném jádře koresponduje s počtem cyklů endoreduplikace (Hřibová & al., 2016). Endopolyploidie je u rostlin běžná (Leitch & Dodsworth, 2017) a některé studie uvádějí se s ní lze setkat až u 90 % druhů krytosemenných rostlin (Joubes & Chevalier, 2000). Konkrétně u orchidejí je endopolyploidie extrémně častá (Fukai & al., 2002). Výskyt endopolyploidie ovlivňuje typ pletiva, vývojové stádium nebo taxonomická příslušnost, mohou na ni mít vliv také abiotické podmínky jako množství živin nebo světla (Maluszynska & al., 2013). Může se vyskytovat ve všech typech buněk kromě buněk embrya a meristémů (Barow & Jovtchev, 2007). Diferencované somatické buňky jsou často endopolyploidní, tyto buňky se nedělí (Hřibová & al., 2016). Může mít za následek zvýšení metabolické aktivity (De Veylder & al., 2011). Ke vzniku endopolyploidních buněk dochází při působení UV-B záření, jelikož stres způsobuje snížení počtu buněk, což je kompenzováno zvýšenou opravou DNA a rychlejším endocyklem (Tossi & al., 2022).

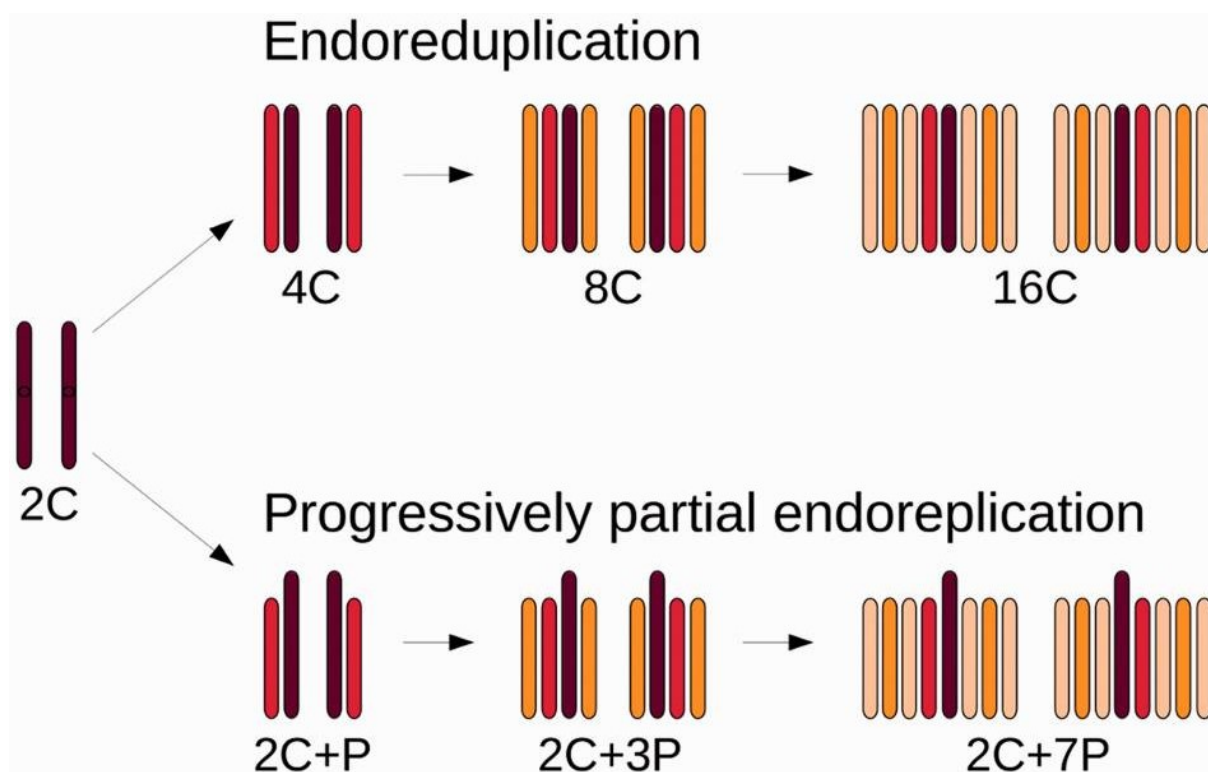
Pro čeleď Orchidaceae je jedinečná částečná endoreduplikace (Trávníček & al., 2019), kdy společně koexistují buňky s různým obsahem DNA v pletivu. Začíná už v G1 fázi, po které následuje modifikovaná S fáze, kdy se některé části genomu nereplikují (Hřibová & al., 2016). Genom částečně endoreduplikovaných rostlin lze rozdělit na část, která endoreduplikaci nepodléhá, a na část, která jí podléhá (Chumová & al., 2021) (Obr. 2). V jádře tak existuje jedna kopie genomu, která není endoreduplikovaná, a různý počet endoreduplikovaných částí (Brown & al., 2017). Existuje vztah mezi obsahem GC bází a stupněm částečné endoreduplikace, změna „klasické“ endoreduplikace na částečnou je asociována se změnou obsahu GC bází (Trávníček & al., 2019). Stejně jako běžná endoreduplikace doprovází diferenciaci rostlinných orgánů. V pletivech se liší podíl jednotlivých cytotypů (Fritsche & al., 2021). Rostliny s částečnou endoreduplikací mají menší genom, než se původně očekávalo (Hřibová & al., 2016).

Částečná endoreduplikace ovlivňuje velikost buňky, rezistenci k herbivorii (Mesa & al., 2019) a také adaptaci vůči změnám klimatu (Pacey & al., 2020).

Charakter endoreduplikace se liší v rámci jednotlivých orchidejí. U Orchidoideae se vyskytuje pouze jeden typ endopolyploidie a endopolyploidní „pattern“ je nejvíce stabilní v rámci druhu (Trávníček & al., 2015). Řada druhů orchidejí dokonce částečnou endoreduplikaci vůbec nevykazuje. Největší míru endopolyploidie lze najít v somatických buňkách, které se také nejvíce od původního stupně ploidie odlišují (Trávníček & al., 2015). Existuje dokonce rozdíl v míře endopolyploidizace na vrcholu a na bázi protokormu (Fritsche & al., 2021). V některých typech pletiv (tepaly, báze a špičky listů) dokonce chybí i jádra v G1 fázi (Trávníček & al., 2015). Částečná endoreduplikace však představuje problém při určování velikosti genomu, proto se při analýze průtokovou cytometrií používají mladé semeníky, které endopolyploidní buňky neobsahují (Trávníček & al., 2015). Částečná endoreduplikace se často objevuje i u prstnaticů, a i v tomto rodu komplikuje výskyt endopolyploidie studium jejich polyploidní evoluce (Taraška & al., 2021)

Autopolyploidie je druh polyploidie, kdy dojde ke znásobení sady chromozomů pocházející od jediného druhu, ke zvětšení genomu tak dochází pomocí duplikace (Ramsey & Schemske, 1998). Vyvolává metabolické změny, které způsobují změnu ekologických interakcí (Tossi & al., 2022). Alopolyplodie se vyskytuje napříč různými rostlinnými liniemi, alopolyploidní jedinec má 4 sady chromozomů pocházejících od dvou odlišných druhů. Autopolyploidie a alopolyplodie vznikají speciálně na změnu klimatu (Levin, 2019). Polyploidie může měnit strukturu kořenů, což má za následek nižší možnost napadení parazity a změnu schopnosti přijímat živiny (Tossi & al., 2022). U prstnaticů se alopolyplodie nezávisle vyvinula několikrát v evoluci, vyskytuje se častěji než autopolyploidie. Tetraploidie v rámci rodu *Dactylorhiza* mají 40 párů chromozomů.

Ke vzniku alopolyploidních cytotypů rodu *Dactylorhiza* dochází nejspíše díky neredukovaným gametám. Nejprve vzniká triploidní hybrid, poté se jeho neredukované gamety sloučí s normálními gametami, díky čemuž vzniká alotetraploid (Hedrén & al., 2001). Triploidie vznikají buď z neredukovaných gamet diploidních jedinců nebo hybridizací mezi jedinci s různou ploidií (Taraška & al., 2021). Vyskytují se pouze s jiným cytotypem a sami tvoří nejvzácnější cytotyp. Triploidní jedinci bývají často sterilní nebo mají sníženou plodnost (De Hert & al., 2012). Naproti tomu však existuje autonomní alotriploidní druh *D. insularis*, který patří do sekce *Sambucinae* (Pedersen, 2006).



Obr. 2: Schéma endoreduplikace a částečné endoreduplikace. Nově replikované chromatidy jsou červené, druhý cyklus replikace reprezentují oranžové chromatidy a světle oranžové vyjadřují třetí cyklus replikace. Zdroj: Hřibová & al. (2016)

4. Transpozony

Polyploidizace představuje velmi častou (skokovou) změnu velikosti genomu, nicméně hlavním mechanismem změny velikosti genomu je kumulace transponovatelných elementů neboli transpozonů (Grover & Wendel, 2010). Mimochodem i polyploidizace často zahrnuje amplifikaci transponovatelných elementů a repetitivních sekvencí (Heslop-Harrison & al., 2022). Transpozony mimo jiné ovlivňují míru genové exprese (Ramakrishnan & al., 2022). Skládají se hlavně z repetitivních sekvencí a v rámci genomu bývají agregované (Ramakrishnan & al., 2022). Mobilizace transponovatelných elementů se může u různých populací a evolučních stádií lišit. Transponovatelné elementy se nejvíce šíří nárazovými událostmi spojenými s disturbancemi, po kterých pak následuje umlčování (methylocí). Jejich akumulace může způsobovat změnu obsahu GC bází (Trávníček & al., 2019). Počet transponovatelných elementů může být výrazně odlišný i v rámci blízké příbuzných druhů (Willing & al., 2015). V genomech rostlin jsou časté LTR retroelementy a MITE elementy (Ramakrishnan & al., 2022).

K variabilitě genomu orchidejí a jeho celkové velikosti přispívají nejvíce LTR retrotranspozony (Chumová & al., 2021), které mohou i u živočichů tvořit značnou část genomu TE. U neopolyploidů indukují inkompatibilitu a epigenetickou nerovnováhu (Paun & al., 2007). Přes 45 % genomu alotetraploida (*D. majalis*) tvoří LTR retrotranspozony. *Dactylorhiza incarnata* má větší zastoupení LTR retrotranspozonů než *D. fuchsii*, zřejmě způsobují největší rozdíl ve velikost jejich genomů (Eriksson & al., 2022). *Dactylorhiza fuchsii* a *D. incarnata* se také liší v zastoupení repeticí odvozené od neautonomního elementu MITE. Zastoupení MITE je variabilní u alotetraploidů, skoro u všech se nachází v subtelocentrické oblasti. *Dactylorhiza majalis* a *D. traunsteineri* se v zastoupení MITE příliš neliší (Eriksson & al., 2022). TE tedy úzce souvisí s hybridizací a vznikem alotetraploidů a při polyploidizaci se jejich počet mění.

5. Rod *Dactylorhiza*

Dactylorhiza neboli prstnatec, zahrnuje vytrvalé zelené byliny patřící do čeledi Orchidaceae, tribu Orchideae a subtribu Orchidinae. České i latinské rodové jméno je odvozeno od tvaru podzemních hlíz, které jsou laločnatě dělené a nápadně tak připomínají prsty (dactylos = prst, rhiza = kořen). Tyto terestrické orchideje rostou v oblastech, kde je málo stromů, slunečno a vlhko, avšak specifické preference se liší na úrovni taxonu. Většina druhů je diploidní nebo tetraploidní. Evropské druhy prstnaticů lze rozdělit do šesti skupin (Devos & al., 2003). Hlavní areál jejich výskytu zahrnuje Evropu, Mediterán a Asii (Shipunov & al., 2004), avšak rostou i v Severní Americe. Řada druhů roste v ČR, ale jejich největší diverzita je v Mediteránu (Pillon & al., 2006).

Ještě v druhé polovině dvacátého století byl tento rod řazen do rodu *Orchis* (Dostál, 1954), avšak od vstavačů se liší tvarem hlíz, rozestoupením listů po lodyze, vazbou na vlhčí stanoviště, výskytem houbového symbionta v celé hlíze (Jacquemyn & al., 2012) a také počtem chromozomů. Pro vstavače není také tak typická hybridizace nebo jejich hybridy nejsou plodné (nebo velmi málo) (Procházka, 1983). Podíl mykotrofie prstnaticů může být různý u určitých druhů, ale obecně je menší než u rodu *Orchis*. Maďaraský botanik R. Soó zařadil prstnatce do samostatného rodu (Molnár, 2004).

Rostliny mají středně velké šálivé květy (kromě *D. viridis*) nejčastěji růžové nebo červené barvy, které jsou uspořádané do květenství klas. Středně velký květ má neúplnou přilbu a pysk je často rozdělen na tři části a dozadu z něj vybíhá relativně krátká ostruha. Brylky, což jsou útvary vzniklé slepením pylových zrn, jsou nerozpadavé a stopkaté. Vyskytuje se u nich květní resupinace a plodem je tobolka (Procházka, 1983).

Dost často se u prstnatců vyskytují květní abnormality (pelorické květy). V období dormance mají rostliny pouze jednu hlízu, v době vegetace vytvářejí 2 nebo více hlíz. Bazální listy jsou velmi malé, zakrnělé v šupiny a až nad nimi se vytvářejí klasické listy, které mohou mít podlouhlý až kopinatý tvar a jsou často skvrnité. Prstnatce vytvářejí listy brzy na jaře a listy vydrží až do podzimu (Jacquemyn & al., 2012). Jedná se o entomogamní rostliny, které mohou být opylovány různými druhy hmyzu. Velmi malá semena jsou rozšiřována větrem. Stejně jako u ostatních orchidejí ze semene klíčí mykoheterotrofní útvar protokorm.

Protokormy se brzy vyvíjejí a doba ontogeneze je kratší oproti vstavačům. Semena prstnatců velmi dobře klíčí. Je u nich časté vegetativní rozmnožování, díky čemuž tvoří rostliny v přírodě skupiny. Vegetativní množení lze indukovat odstraněním květu, kdy rostlina vytvoří místo jedné hlízy dvě (Procházka, 1983). Tyto orchideje jsou napadány rzemi rodu *Puccinia*. Například v Turecku se prstnatce používají k výrobě salepu a léčbě místních nemocí, což bohužel přispívá k jejich úbytku. Všichni zástupci jsou pod ochranou mezinárodní úmluvy CITES a v dnešní době dochází k úbytku většiny těchto rostlin kvůli vymizení jejich přirozených stanovišť (Slavík & Štěpánková, 2010).

Prstnatce patří k taxonomicky nejkomplicovanějším rostlinám. Jednotlivé druhy se často a snadno kříží mezi sebou a existuje celá řada obtížně identifikovatelných hybridů. Jednotlivé populace vykazují velkou variabilitu. Mezi mechanismy vzniku nových druhů patří polyploidizace a hybridizace, které jsou hnací silou jejich evoluce. Vyznačuje se retikulární evolucí, kdy linie vzniká splynutím dvou předků a tento vztah lze popsat spíše sítí než pomocí fylogenetického stromu (Brandrud & al., 2020). Rod *Dactylorhiza* je unikátní v existenci hybridních zón (Cozzolino & Widmer, 2005), kde jsou typicky jen ranné generace hybridů, které však mají nízkou fertilitu. V dnešní době proto probíhá intenzivní výzkum za účelem taxonomického zařazení mnoha populací.

5.1. *Dactylorhiza viridis* (L.) R. M. Bateman, Pridgeon & M. W. Chase

Tento druh patřil ještě nedávno do monotypického rodu vemeníček (*Coeloglossum*). Nejnovější studie na základě výsledků molekulární analýzy však prokázaly, že patří do rodu *Dactylorhiza*. Je rozšířen od Evropy až po Himálaj v převážně mírném pásu. Roste na loukách a pastvinách vlhkých i vysychavých v pásmu od hor po pahorkatiny (Procházka, 1983).

Morfologicky je značně variabilní. Květy jsou malé a v porovnání s ostatními prstnatci poněkud nevýrazné. Květy jsou nejčastěji zelené, ale mohou mít i sytější načervenalé zbarvení.

Největší listy se nachází na bázi lodyhy. V horských lokalitách mají tyto rostliny sytější barvu květů a kratší ostruhu. Oproti ostatním druhům rodu *Dactylorhiza* dosahuje menší velikosti a jeho vnější kruh okvěti tvoří úplnou přílbu (Slavík & Štěpánková, 2010). Je zajímavostí, že tento druh jako jediný z rodu *Dactylorhiza* poskytuje nektar, a to na bázi pysku a v ostruže. Jedná se diploidní taxon, ačkoli *D. viridis* z Británie je nejspíše tetraploidní (Bateman & Rudall, 2018). Má také unikátní počet plastidových haplotypů (Pillon & al., 2007).

V ČR dříve tento druh rostl roztroušeně na horách, ale dnes je velmi vzácný. Hodně lokalit od 60. let minulého století zaniklo, a proto se dnes *D. viridis* řadí mezi silně ohrožené taxony (Slavík & Štěpánková, 2010).

5.2. *Dactylorhiza iberica* (Bieb. Ex Willd.) Soó

Areál rozšíření zahrnuje Řecko, Kypr, Turecko a Kavkaz. Roste na vlhkých půdách a bažinách horských lokalit jihozápadní Asie (Tutin & al., 1980). O tomto druhu není dostatek informací (Bateman & Rudall, 2018). S *D. viridis* tvoří primitivní druhy rodu *Dactylorhiza*.

Jedná se o štíhlejší rostlinu, která tvarem připomíná *D. viridis* (Bateman & Rudall, 2018). Listy mají kopinatý nebo čárkovitý tvar, jsou bez skvrn. Vnější květ okvěti tvoří neúplnou přílbu. Centrální lalok pysku je malý a úzký. Květy jsou růžové s tmavší kresbou uprostřed. Tento druh je charakteristický četnými trichomy, které pokrývají pysk (Bateman & Rudall, 2018). Pravděpodobně není příliš morfologicky variabilní. Jedná se o diploidní taxon (Hedrén & al., 2007).

5.3. *Dactylorhiza sambucina* (L.) Soó

Roste nesouvisle od Skandinávie až po oblast mediteránu, chybí na mnoha evropských ostrovech. Vyskytuje se vždy na kyselých půdách a nesnáší zastínění, roste na sušších loukách a pastvinách, stráních nebo světlých dubohabřinách. Výskyt v České republice zahrnuje hlavně podhorské a horské oblasti. Můžeme se s ním setkat na Šumavě, v Krušných horách nebo v Orlických horách. Nejčastěji však roste na východní části Moravy. V České republice se vyskytuje pouze jeden poddruh této orchideje.

Je to nejmenší zástupce všech druhů českých prstnatic, dosahuje výšky pouze 10–20 centimetrů. Má charakteristický větvenitý tvar podzemních hlíz a dutou lodyhu. Květy se vyskytují ve dvou barevných variantách, tedy ve žluté a nachové v různých odstínech, vzácně se vyskytují dvoubarevné květy. Kvete nejdříve z českých druhů prstnatic (Procházka, 1983).

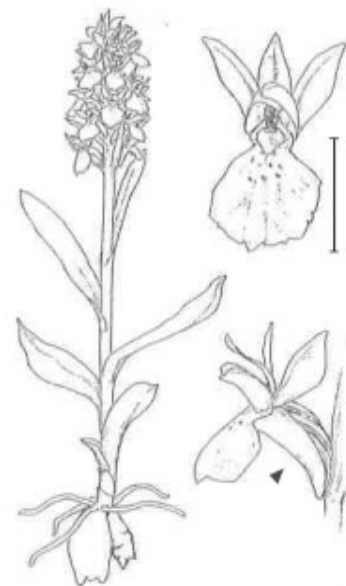
Květy tvoří květenství klas. Listy špičatého až obvejčitého tvaru nemají skvrny a jsou nejširší nad jednou polovinou délky. Tento druh má zelené brylky. Trojlaločný pysk s malými laloky je nepravidelně zubatý a ostruha je válcovitá. Existuje skupina diploidních a triploidních taxonů okolo *D. sambucina* (Devos & al., 2003). Do sekce *Sambucinae* (Pedersen, 2006) patří například *D. romana* a *D. insularis*.

V dnešní době se jedná o silně ohrožený taxon z důvodu změny hospodaření na lučních plochách. Na hodně místech v ČR vyhynul. Je možná jeho záchrana v chráněných oblastech (Procházka, 1983). Existuje hybrid *Dactylorhiza ×ruperti*, který vznikl křížením *D. sambucina* a *D. majalis*, jinak však málo hybridizuje s jinými druhy (*Anacamptis morio*, *D. viridis*). Literatura uvádí, že je diploidní, avšak podle Bernardos & al. (2004) existují i triploidní jedinci. Má vysokou genetickou diverzitu a v populacích se vyskytuje nedostatek heterozygotů (Pedersen, 2006).



Obr. 3: *Dactylorhiza viridis*

Zdroj: Király & al. (2011)



Obr. 4: *Dactylorhiza sambucina*

Zdroj: Király & al. (2011)

5.4. *Dactylorhiza romana* (Seb.) Soó

Tento taxon se vyskytuje ve Středomoří a na Kavkaze. Preferuje lesní stanoviště s kamenitou půdou a vysokým obsahem organických látek (Altundag & al., 2012).

Listy mají čárkovitý až kopinatý tvar. Květy jsou většinou žluté a někdy červené, pysk nemá žádnou kresbu. Kvete od dubna do června. Patří do skupiny *D. sambucina*, je diploidní. Existuje velký rozdíl mezi populacemi *D. romana* a *D. sambucina* (Pedersen, 2006).

Rozemleté hlízy válcovitého tvaru se používají k výrobě salepu (Altundag & al., 2012), což má za následek snižování počtu jedinců tohoto druhu. *Dactylorhiza romana* má dva poddruhy (*D. georgica* a *D. romana*), které se liší anatomii a preferencí nadmořské výšky (Altundag & al., 2012).

5.5. *Dactylorhiza umbrosa* (Kar. & Kir.) Nevski

Roste ve střední Asii, na Altaji a v Turecku (Bussman & al., 2020). Biotopy tvoří louky a prameniště horských řek (Komarov, 1935).

Listy nejsou nikdy skvrnité, mají kopinatý až čárkovitý tvar. Kvete od května do června. Tvoří hustá květenství s mnoha purpurovými až růžovými květy (Bussman & at., 2020). Ostruha je více či méně zahnutá. Zaoblený pysk, který je u báze světlejší, tvoří málokdy tři laloky. Jedná se o variabilní taxon. Používá se k výrobě salepu a má údajné léčebné účinky (Bussman & al., 2020).

5.6. *Dactylorhiza incarnata* (L.) Soó

Ze všech českých druhů má *D. incarnata* největší celosvětové rozšíření. Tento druh je rozšířen skoro v celé Evropě, jeden poddruh zasahuje až k Bajkalu, je vzácný ve Středomoří. Vyskytuje se v jižních Čechách, nejčastěji roste v Polábí a na jižní Moravě. Tento druh prstnatce lze nalézt v místech s vysokou hladinou podzemní vody zejména v nížinných oblastech. Typickými biotopy pro něj jsou slatiny, bažiny, mokré louky a okraje vodních toků. Roste na slunných lokalitách. Tato rostlina roste i na místech zasažených antropogenní činností. V České republice existují tři poddruhy. Pouze vzácně se vyskytuje ve vyšších polohách.

Jedná se o málo geneticky variabilní taxon (Brandrud & al., 2020), pravděpodobně ztratil genetickou variabilitu během rekolonizace z jižních refugií (Pedersen, 2006). Vykazuje například různou preferenci k odlišnému pH. Kvete od května do začátku července. České druhové jméno je odvozeno od pleťově zbarvených květů, květy však mohou mít tmavší i světlejší barvu. Květenství jsou krátká, malé květy vyrůstají z paždí listenů. Pysk je tečkovaný nebo čárkovaný a brylky mají modrozelenou barvu. Prstovité hlízy jsou prodloužené v dlouhé laloky, což je adaptace na mokrou půdu. Listy jsou kopinaté a většinou nejsou skvrnité.

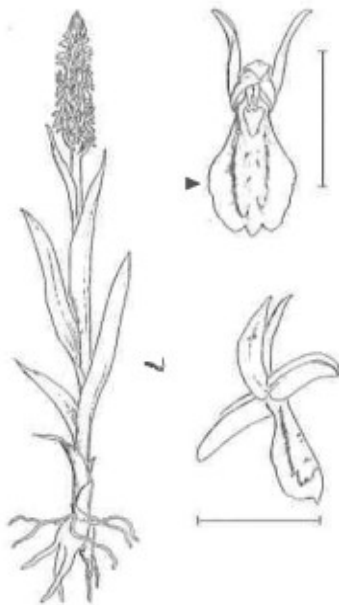
Lodyha je pod květenstvím smáčknutelná (Kaplan & al., 2021). Sumbembayev & al. (2021) tvrdí, že vlhkost stanoviště ovlivňuje délku dorzálního listu vnějšího kruhu okvětí a ostruhy.

Míra přežívání *D. incarnata* v České republice je větší než 60 % (Štípková & Kindlmann, 2021), což znamená, že se v posledních dekádách počet jedinců tohoto druhu zvýšil. Je kvůli svému rozšíření silně ohrožený, protože jeho přirozená stanoviště zanikají. Bažinné lokality naneštěstí mizí nejen v kulturní krajině, ale i v přírodních rezervacích. Jedná se o diploidní rostlinu, která tvoří parentální taxon polyploidních hybridů. Nejčastěji se kříží s *D. maculata*. Vykazuje příbuznost a recentní genový tok s *D. fuchsii*. *Dactylorhiza incarnata* je diploidní a skoro vždy tvoří otcovský taxon hybridů (Chase & al., 2007).

Dactylorhiza incarnata subsp. *incarnata* je robustní rostlina s lupenitým tvarem listů a růžové nebo světlé květy. Roste na slatinách a vlhkých loukách. Vyskytuje se zejména v Polábí a na jižní Moravě (Slavík & Štěpánková, 2010).

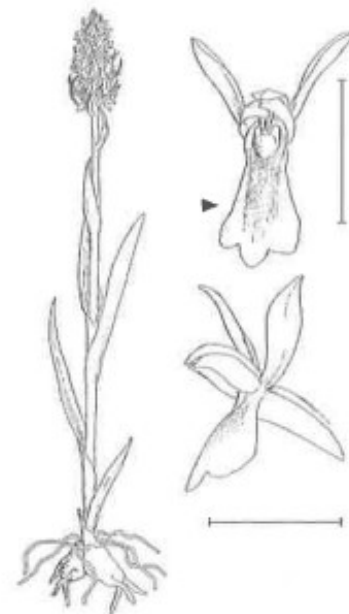
Dactylorhiza incarnata subsp. *pulchella* má většinou purpurové nebo světle růžové květy a lupenité listy. Jedná se o štíhlou rostlinu rostoucí na slatinách a rašeliništích na Dokesku. Vyskytuje se na rašeliništích a slatiništích (Kaplan & al., 2021).

Dactylorhiza incarnata subsp. *cruenta* se vyskytuje v Alpách a Západních Karpatech. Tento poddruh je charakteristický fialově naběhlými listy (Tutin & al., 1980).



Obr. 5: *Dactylorhiza incarnata*

Zdroj: Király & al. (2011)



Obr. 6: *Dactylorhiza ochroleuca*

Zdroj: Király & al. (2011)

5.7. *Dactylorhiza ochroleuca* (Wust. Ex Boll) Averyanov

Vyskytuje se ve střední Evropě, Anglii, Skandinávii a Pobaltí. Tento taxon byl dokonce nalezen i na Slovensku. Je omezen na vápnitá stanoviště (Vallius & al., 2004), preferuje spíše zastíněná místa (Hedrén & Nordström, 2009). Jsou pro něj charakteristické druhově bohaté lokality zásobované chudou minerální vodou, vyskytuje se společně s *Cladium mariscus* (Sarasan & al., 2021).

Vyznačuje se žlutými květy, které jsou naprosto bez pigmentace. Nedostatek antokyanů je nejspíš způsoben recesivní alelou (Hedrén & Nordström, 2009). Střední lalok pysku je zřetelně delší. Kvete od května až do července (Sarasan & al., 2021).

Řada autorů tento taxon uvádí jako poddruh *D. incarnata*, není dodnes jasné jeho taxonomické zařazení. Patří ke kriticky ohroženým druhům (Sarasan & al., 2021).

5.8. *Dactylorhiza maculata* (L.) Soó

Vyskytuje se v západní, východní i střední Evropě, ale chybí v její severovýchodní části. Roste na slunných místech vlhkých nebo mokřých lokalit s málo živinami, zejména na rašelinistiších, slatiništiích a vřesovištiích. Preferuje hlavně stanoviště s kyselou půdou. V České republice se s jistotou vyskytuje jen na Českolipsku, ale není dostatečně znám celý areál jeho rozšíření.

Jedná se o variabilní taxon (Brandrud & al., 2020). Květy, které mají světlou až fialovou barvu, tvoří hustá květenství. Střední lalok pysku je buď větší nebo menší než ostatní laloky. Kvete od června do července. Hnědočervené více či méně skvrnité listy jsou kopinaté až zašpičatělé. Lodyha není smáčkutelná a brylky mají žlutozelenou barvu. Populace tohoto druhu mohou být značně početné (Jacquemyn & al., 2016). Fenotyp není pravděpodobně ovlivněn typem prostředí a díky tomu vznikají jedinečné populace (Sumbembayev & al., 2021). Menší rostliny vykazují z nevysvětlitelného důvodu větší množství antokyanu (Bateman, 2021). *Dactylorhiza maculata* je autotetraploid, což platí pro všechny poddruhy (Eccarius, 2016). Studie však tvrdí, že někteří další aloploidní taxony vznikly křížením jejího diploidního předka. Všechny poddruhy jsou také autotetraploidní. Nejspíše tvoří klád s *D. fuchsii* (Brandrud & al., 2020).

Řadí se mezi kriticky ohrožené druhy. V České republice existuje několik poddruhů. Rozšíření tohoto taxonu se od roku 1948 příliš nezměnilo. Někteří autoři si myslí, že *D. maculata* je pouze poddruh. Bateman (2021) naproti tomu popisuje sekci *Maculatae* a tvrdí, že *D. maculata* je vlastně klád.

Míra přežívání *D. maculata* v České republice je menší než 40 % (Štípková & Kindlmann, 2021). Vykazuje farmakologické vlastnosti, její extrakt obsahující flavonoidy má antimikrobiální účinky (Sukhikh & al., 2021)

Dactylorhiza maculata subsp. *maculata* je velmi variabilní v morfologii, a dokonce i v době kvetení. Není známé jeho celkové rozšíření, vyskytuje se na Českolipsku a nejspíše i v Krušných horách a Krkonoších (Kaplan & al., 2021).

Dactylorhiza maculata subsp. *transsilvanica* má bílé až nažloutlé květy a neskvrnitě listy. Vyskytuje se pravděpodobně v Bílých Karpatech a Beskydech na vlhkých loukách a slatinách (Slavík & Štěpánková, 2010).

Dactylorhiza maculata subsp. *elodes* roste na kyselých půdách a je značně variabilní. Vyskytuje se v Alpách, v Německu a na Slovensku. Výskyt v ČR není dostatečně znám, roste na rašeliništích a vřesovištích (Kaplan & al., 2021).

Dactylorhiza maculata subsp. *averyanovii* je nově popsán taxon v ČR, není však jasné, jestli se nejedná o jiný poddruh (Kaplan & al., 2021).

5.9. *Dactylorhiza foliosa* (Soland. Ex Lowe) Soó

Tento prstnatec je endemit ostrova Madeira, chybí však na dalších ostrovech Makaronésie. Roste na polootevřených stanovištích, podél cest a vodních kanálů a ve vavřínovém lese (Hedrén, 2022). Vyskytuje se i ve vyšších nadmořských výškách (Delforge, 2001).

Rostlina má čárkovité a obvykle neskvrnitě listy. Květy mají růžovou až purpurovou barvu a noví jedinci vznikají dělením hlízy. Ostruha je úzká a pysk nemá výraznou kresbu. Kvetě od května do července. Patří do komplexu *D. maculata*, ale je na rozdíl od ní diploidní (Delforge, 2001), nejspíše byla izolována po delší dobu. Podle molekulární analýzy je geneticky nejbližší západní populaci *D. maculata* subsp. *maculata* (Brandrud & al., 2020). Podle Bateman & al. (2018) je tento druh oddělen od ostatních druhů rodu *Dactylorhiza*, podle Chase & al. (2015) je geneticky neodlišitelná od *D. maculata*. Podle Batemana (2021) se jedná o nejvíce oddělený druh v kladu *D. maculata* kvůli jeho odlišné morfologii.

Většina autorů souhlasí, že se jedná o samostatný druh. Na základě molekulárních dat je tento taxon dlouhodobě udržitelný, avšak je potřeba chránit vavřínový les a udržovat stabilně velkou populaci (Hedrén, 2022).

5.10. *Dactylorhiza fuchsii* (Druce) Soó

Tento prstnatec získal své jméno podle německého botanika Fuchse (Procházka, 1983). Areál jeho výskytu zahrnuje hlavně Evropu, svým výskytem zasahuje až do Mongolska a na Sibiř. Vyskytuje se hlavně v hornatých oblastech na především vápnatých lokalitách, které nejsou dotčené zemědělskou činností. Roste na loukách a v otevřených lesech. Typickými lokalitami jsou okraje opadavých a smíšených lesů vyšších poloh (Sumbembayev & al., 2021).

Kvete od května do začátku srpna. Je podobný prstnatci plamatému a jedná se o vysokou rostlinu s často skvrnitými, oválnými listy. Světle růžové nebo světle fialové květy tvoří kuželovitý klas. Pysk je hluboce dělený na tři části, z nichž prostřední je nejdelší. Má šedo zelené brylky. Lodyha je nesmáčkutelná. Celkově je tento druh velmi variabilní. Světlo má přímý vliv na délku středního laloku pysku a laterálních lístků vnějšího druhu okvěti (Sumbembayev & al., 2021). Podle některých studií tvoří klád s *D. maculata* (Brandrud & al., 2020). Jedná se o jeden z našich nejhojnějších prstnatců, ale přesto je chráněný, protože v nižších polohách prakticky zmizel. Dospělé rostliny jsou slabě mykotrofní a snadno se přesazují. Existují tři poddruhy v České republice. Autoři studií se zcela neshodují v tom, jestli je tento taxon druh nebo poddruh (*D. maculata* subsp. *fuchsii*). Vylučuje ze všech taxonů největší množství látek, tedy velmi málo nektaru a vůně, v ostruže (Naczka & al., 2018). Různé ekotypy se liší v preferenci pH a vlhkosti. Literatura uvádí, že tato rostlina je diploidní, avšak podle Batamana (2021) existují i tetraploidní cytotypy. Taraška & al. (2021) prokázal, že se současně mohou vyskytovat diploidní, triploidní i tetraploidní rostliny. *Dactylorhiza fuchsii* je jedním z parentálních taxonů alotetraploidů (*D. majalis*, *D. traunsteineri*). Má nejmenší genom z českých druhů prstnatců (Eriksson & al., 2022).

Dactylorhiza fuchsii subsp. *sooana* roste v Bílých Karpatech. Květy s nachovou kresbou na pysku mají světlou barvu. Listy mají vždy tmavé skvrny, vyskytuje se na okrajích lesů a loukách (Kaplan & al., 2021).

Dactylorhiza fuchsii subsp. *fuchsii* je charakteristická růžovými květy s výraznější kresbou. Lokality tvoří louky a světliny. V ČR se jedná o nejrozšířenější poddruh, roztroušeně roste na mnoha lokalitách (Slavík & Štěpánková, 2010).

Dactylorhiza fuchsii subsp. *psychrophila* (*D. f.* subsp. *sudetica*) se vyskytuje v Krkonoších a na Hrubém Jeseníku.

Roste při horní hranici lesa a nad ní, vrchol postranních laloků pysku je ohnutý nahoru. Lokality této orchideje s řídkým květenstvím se soustředí na podmáčené louky (Kaplan & al., 2021).



Obr. 5: *Dactylorhiza maculata*

Zdroj: Király & al. (2011)



Obr. 6: *Dactylorhiza fuchsii*

Zdroj: Király & al. (2011)

5.11. *Dactylorhiza carpatica* (Batoušek & C. A. J. Kreutz) P. Delforge

Tento druh prstnatce je rozšířen pouze na jedné lokalitě v Bílých Karpatech, jedná se o stenoendemita. Biopem jsou slatiny a prameniště (Kaplan & al., 2021).

Rovnoměrně skvrnitě listy mají úzce kopinatý tvar. Lodyha není smáčknutelná. Růžové květy tvoří velmi chudé květenství. Prostřední lalok pysku je delší než postranní laloky.

Tento taxon je občas uváděný jako poddruh *D. traunsteineri* nebo *D. fuchsii*. Není známá jeho ploidie, ale je možné, že se jedná o hybridogenní taxon.

Druhy prstnatců jsou řazené podle fylogeneze od primitivních druhů. Výše uvedené základní druhy daly prostřednictvím hybridizace vzniknout řadě hybridogenních taxonů, které jsou svými areály a ekologií více či méně závislé na rodičích. Patří sem *D. majalis*, *D. traunsteineri* nebo *D. bohémica*, často hodnocené na druhové úrovni. Jejich charakteristiky jsou shrnuty V. Petrákem (2023).

6. Opylování

Všichni zástupci rodu *Dactylorhiza* (kromě *D. viridis*) mají šálivé květy, tedy květy, které neposkytují opylovači žádnou odměnu. Krátký čas strávený opylovačem na květu spolu s jeho stavbou by podle literatury měly zabraňovat samoopylení, avšak k autogamii i tak dochází a rostliny vzniklé samoopylením mohou být stejně reprodukčně úspěšné jako cizosprašné rostliny (Lammi & at., 2003). Existuje hypotéza, že hmyz nerozliší květ s odměnou a květ bez odměny, pokud je šálivý květ podobný květu poskytujícímu odměnu. Prstnatce tak tvoří květy podobné rostlinám poskytujícím odměnu, a proto je důležitá velikost ostruhy a celkový vzhled pysku. Rostliny lákají hmyz vůní a kresbou na pysku (honey-guide). Komplexní struktura květu orchidejí vede k tomu, že opylovačem může být specifická skupina hmyzu nebo pouze jeden druh. Ačkoli jsou květy šálivé, rostliny mohou produkovat malé množství nektaru nebo vůně pomocí malých kanálků v epidermis na vstupu do ostruhy a v ostruže (Naczka & al., 2018).

Opylování orchidejí je složitý proces, možná dokonce nejsložitější v rámci symbióz mezi hmyzem a rostlinami. Struktura květu prstnatce je podobná vstavači, okvětní lístky tvoří neúplnou přílbu. Prstnatce mají květ snadno přístupný hmyzu (Claessens and Kleynen 2013) a hmyz se v květu musí sklonit dopředu. Brylky se nalepí na hlavu opylovače a dojde k jejich dehydrataci a sehnutí, proto dochází k nalepení na bliznu a opylení (Claessens and Kleynen 2013). Pysk je pokrytý výrůstky, kterých se opylovač může přidržovat. Trichomy po celé délce ostruhy, které jsou přítomné u všech druhů (Naczka & al., 2018), fungují jako stimuly pro opylovače. Délka a celkový vzhled ostruhy koreluje s typem opylovače.

Prstnatce kvetou poměrně brzy, což vede k častějším návštěvám opylovačů, protože nedochází k tak velké konkurenci s jinými druhy rostlin. Orchideje s šálivými květy opylují hlavně mladí a nezkušení opylovači. Jsou navštěvovány relativně velkou skupinou opylovačů, a to především čmeláky. Čmeláci se však po několika pokusech druhům bez nektaru vyhýbají (Nilsson, 1992). Dostupná data však ukazují, že prstnatce jsou adaptovány také na opylování včelami (Ostrowiecka & al., 2019). V květech prstnatců byly nalezeny různé druhy hmyzu, například brouci, blanokřídlí nebo dvoukřídlí. Tento hmyz však květy může málokdy opylovat nebo přenést brylky, některé druhy hmyzu mohou v květech pouze odpočívat (Ostrowiecka & al., 2019). Existuje hypotéza, že k opylení stačí pouze jedna návštěva opylovače z důvodu přítomnosti brylek, jelikož opylení probíhá stylem „všechno nebo nic“ (Lammi & at., 2003).

Úspěšnost opylení často závisí na náhodě (Mattila & Kuitunen, 2000). U druhů s šálivými květy má návštěvnost opylovačů zásadní vliv na počet plodů (Ackerman & Montalvo, 1999). Počet přenesených brylek zvyšuje reprodukční úspěch rostliny, rostliny s větším květenstvím produkují větší množství plodů (Mattila & Kuitunen, 2000). Druh opylovače se může lišit v rámci konkrétních druhů (Harris, 2017), (Claessens & Seifert, 2018).

U druhu *D. sambucina* probíhá negativní selekce podmíněná frekvencí opylovačů (Gigord & al., 2001), což je v přírodě vzácný fenomén. Preference opylovačů ovlivňuje dominantní barva rostlin, které rostou v danou dobu na daném místě. Vzácnější forma v rámci polymorfismu *D. sambucina* je tak více populární u opylovačů, reprodukční úspěch tedy negativně koreluje s frekvencí formy. Tímto způsobem jsou v populaci udržovány červená i žlutá forma druhu *D. sambucina*. Pozitivní selekce závislá na frekvenci by vedla k monomorfismu. Lze předpokládat, že stálost obou forem souvisí s vrozenými barevnými preferencemi čmeláků. Tento taxon opylují čmeláci a také jejich královny, které se snaží po hibernaci najít potravu, dále i včely a pačmeláci. U jedinců *D. sambucina*, kteří vznikli samoopylením, se vyskytuje nižší počet plodů (Nilsson, 1980)

Dactylorhiza majalis roste v blízkosti mnoha entomofilních rostlin, což vede k častějšímu opylování. Není prokázána korelace mezi délkou ostruhy a množstvím přenesených brylek na opylovače. Ostruhy na květech v horní části rostliny jsou kratší, což souvisí s typem opylovače. Ačkoli *D. majalis* navštěvují příslušníci řádů *Diptera*, *Coleoptera* nebo *Hymenoptera*, hlavním opylovačem je *Apis mellifera* (Ostrowiecka & al., 2019), jelikož dosáhne sosákem až do ostruhy a současně se na ní nalepí brylky. Včela nejspíše tvoří nejčastějšího opylovače, jelikož je to široce rozšířený generalista. Jak již bylo zmíněno, i u tohoto druhu jsou důležitými opylovači čmeláci. Cca polovinu opylovačů tvoří řád *Diptera*, zejména pestřenky. Brouci tento druh prstnatce neopylují, jen na květech odpočívají. Vzácně květy navštěvují motýli, kteří ale nejsou schopni přenést brylky vzhledem k délce ostruhy (Ostrowiecka & al., 2019).

Z blízkosti rostlin poskytujících nektar profituje také *D. maculata*, což poskytuje větší šanci výskytu potenciálních opylovačů. Na základě pozorování Harris (2017) v Británii opyluje druh *D. maculata* kroužilka *Empis tessellata*. Tento druh dvoukřídlého hmyzu navštěvuje květy z důvodu získávání potravy a také lovu kořisti (Parmenter, 1995). *D. maculata* opylují také další tři druhy rodu *Empis*.

Harris (2018) také zjistila, že tento taxon opyluje další zástupce dvoukřídlého hmyzu, *Scatophaga stercoraria*. Tato moucha navštěvuje velké množství mnoha nepříbuzných rostlin, mimo jiné i jiných orchidejí. Existuje mnoho dalších potenciálních opylovačů *D. maculata*, například čmeláci, kteří však přenášejí pouze jednu brylku. V ostruze tohoto druhu byly také nalezeny uvězněné drobné druhy dvoukřídlého hmyzu (Harris, 2017).

V květech *D. fuchsii* byl nalezen zástupci řádů *Coleoptera*, *Diptera*, *Hymenoptera* a *Heteroptera*. Zdaleka ne všechny skupiny hmyzu jsou však podle studie schopné přenést brylky. Dvoukřídlí v květech pouze sedí a přenos pylu včelami také nebyl zaznamenán. Aby došlo k opylení, musí být daný opylovač středně velký. Tuto podmínku nejspíše splňuje tesařík *Alosterna tabacicolor*, který je nejčastějším opylovačem *D. fuchsii* podle studie prováděné v severovýchodním Polsku (Gutowski, 1990). Brouci jsou sice málo efektivními opylovači, ale existuje hypotéza, že byli prvními opylovači krytosemenných rostlin (Bao & al., 2019). Vůně prstnatce možná připomíná vůni samičky tesaříka, jelikož přilepené brylky měli hlavně samci. Vymizení tohoto druhu tesaříka kvůli destrukci lokalit by tak mohlo v budoucnu *D. fuchsii* uškodit (Gutowski, 1990).

Prstnatec *D. viridis*, který láká opylovače hlavně vůní, poskytuje nektar na bázi pylu a v ostruze. Ačkoli tento druh opylují hlavně brouci a blanokřídlí, je někdy opylován také mravenci. Opylovačem v italských Dolomitech je konkrétně druh *Formica exsecta* (Claessens & Seifert, 2018). Kvůli tomu, že mravenci kradou nektar a mohou odstrašit jiný hmyz, představují u velice málo druhů rostlin opylovače. U *D. viridis*, který roste v blízkosti mravenčích hnízd, však byl přenos brylek na jiný květ zaznamenán. Výsledkem opylování může být geitonogamie, což je přenos pylu na jiný květ stejné rostliny. Vzhledem k výskytu *D. viridis* na horách, kde je málo opylovačů, se opylování mravenci jeví jako dobrá strategie (Claessens & Seifert, 2018).

Charakteristickými opylovači *D. foliosa* jsou pestřenka *Eristalis tenax* a čmelák *Bombus maderensis* (Fernandes & al., 2005). Mezi další návštěvníky květů orchideje patří různé druhy včel, motýli a další druh pestřenky. Tyto druhy hmyzu však navštěvují květy ostatních druhů orchidejí na Madeiře (Fernandes & al., 2005).

Opylování přímo souvisí s hybridizací, jelikož opylovač navštěvuje orchideje kvetoucí ve stejné oblasti, které se spolu mohou křížit. Existuje hypotéza, že větší vzdálenost letu opylovače přispívá k většímu mezidruhovému křížení. Větší počet brylek může vést k větší reprodukční úspěšnosti. U hybridů se může vyskytovat větší počet opylovačů (Lammi & at., 2003).

7. Mykorrhiza

Kormě opylování závisí dokončení životního cyklu orchidejí na mykorrhize (Swarts & Dixon, 2009). Zejména terestrické orchideje jsou ze začátku svého vývoje závislé na houbovém symbiontu, mykorrhizní houby poskytují živiny pro klíčící semeno (Smith & Read, 2008). Orchidaceae mají zvláštní typ endomykorrhizy, kdy smotek hyf tvoří speciální strukturu zvanou peloton. Ta je obalená perifungální membránou vytvořenou rostlinou. Houba se tak vlastně nachází v apoplastu. Degradací pelotonu rostlina získává živiny. Všechny orchideje jsou ze začátku svého vývoje mykoheterotrofní.

V 80 % asociují orchideje s více než jedním druhem houby (Jacquemyn & al., 2012), jelikož více houbových symbiontů nejspíše poskytuje více živin. Zejména v kořenech nebo také na koncích hlíz prstnateců se vyskytuje několik houbových symbiontů příbuzných rodu *Tulasnella* (Jacquemyn & al., 2012). Čeleď *Tulasnellaceae*, *Sebacinaceae* a *Ceratobasidiaceae* jsou vzdáleně příbuzné a společně tvoří komplex nazývaný *Rhizoctonia* (Taylor & al., 2002). Přítomnost tohoto komplexu zřejmě představuje ancestrální znak, jelikož se vyskytuje již u bazální linie orchidejí *Apostasioideae* (Pellegrino & Bellusci, 2009). *Dactylorhiza sambucina* asociuje s třemi typy houbových symbiontů, a to s vřecovýtrusnými i stopkovýtrusnými zástupci (Pellegrino & Bellusci, 2009). Nejvíce symbiontů má *D. majalis*, vyskytuje se u ní rod *Ceratobasidium*. Naproti tomu má nejméně symbiontů má *D. fuchsii* (Jacquemyn & al., 2012).

8. Ochrana orchidejí

Cca 12,5 % druhům rostlin bezprostředně hrozí vymření (Swarts & Nixon, 2009). Orchideje obecně ohrožuje lidská činnost, zejména ve formě zemědělství, rozvoje měst a zahradnictví (Swarts & Nixon, 2009). Před rokem 1948 se na českých loukách hospodařilo tradičně, zatímco po roce 1948 nastal rychlý nárůst používání chemických hnojiv a všeobecná intenzifikace zemědělství (Štípková & Kindlmann, 2021). Důsledkem těchto změn bylo vymizení velkého množství orchidejí. Zejména vlhkomilné druhy prstnaticů začaly ustupovat po vysoušení mokřadů v 60. letech 20. století. Některé rostliny jsou dokonce považované za již vyhynulé (*D. curvifolia*). Terestrické orchideje jsou také vystaveny riziku v důsledku klimatických změn. Hlavní důvody vymírání představují ztráta habitatů nebo jejich fragmentace (Fischer & Stocklin, 1997).

9. Závěr

Z předložené rešerše vyplývá, že centrum diverzity pro rod *Dactylorhiza* představuje Středomoří a do střední Evropy se prstnatce dostali během rekolonizace z jihoevropských refugií. Polyploidizace hraje v rodu zásadní roli, což se odráží i na častém výskytu tetraploidního cytotypu. Většina známých alotetraploidních cytotypů vznikla prostřednictvím neredukovaných gamet mezi *D. incarnata*, *D. maculata* a *D. fuchsii*. O genovém toku mezi ploidiemi svědčí i opakovaně zaznamenaný triploidní cytotyp. Ačkoli hlavními opylovači jsou čmeláci, můžeme se u prstnatců setkat také s opylováním brouky, dvoukřídlými nebo dokonce i mravenci. Opylovací mechanismy v některých případech odráží také fylogenetické vztahy v rámci rodu (např. květy produkující nektar u *D. viridis*).

Přestože jsou zástupci rodu *Dactylorhiza* rozhodně nepřehlédnutelnou součástí evropské květeny, lze se v literárních zdrojích setkat s překvapivě zásadními nesrovnalostmi nebo dokonce mezerami. Zásadní roli v tom pravděpodobně hrají nejasné hranice mezi druhy a řada více či méně ustálených alopolyloidních linií. Taxonomické nejasnosti se posléze odrážejí i na rozporuplných informacích o areálech a dalších vlastnostech druhů (včetně těch základních). Taxonomická identita rostlin je také komplikována různými druhovými koncepty některých autorů. Různé skupiny botaniků totiž mají odlišný systém klasifikace druhů nebo poddruhů. Bateman (2021) popisuje celou sekci *Maculatae* okolo *D. maculata*, Taraška & al. (2021) uvádí *D. fuchsii* pouze jako poddruh *D. maculata*. Obtížnost určení taxonů rodu *Dactylorhiza* posléze může představovat komplikaci i ve velmi praktických otázkách jako je ochrana přírody.

Během magisterského studia botaniky se budu věnovat experimentálnímu křížení základních druhů prstnatců (*D. fuchsii*/*D. maculata* a *D. incarnata*). Vzešlá semena budu posléze kultivovat *in vitro* a pomocí průtokové cytometrie budu určovat velikost genomu jejich potomstva (protokormů). Tímto způsobem bude experimentálně stanovena frekvence hybridizace a její symetrie (s ohledem na rodičovské kombinace). Na základě výskytu neredukovaných gamet bude také kvantifikován potenciál zahrnutých druhů pro další polyploidizaci.

10. Použitá literatura

ACKERMAN, James D. a Arlee M. MONTALVO. Short and Long-Term Limitations to Fruit Production in a Tropical Orchid. *Ecology* [online]. 1990, **71**(1), 263-272 [cit. 2023-03-20]. ISSN 00129658. Doi:10.2307/1940265

ADAMS, Keith L a Jonathan F WENDEL. Polyploidy and genome evolution in plants. *Current Opinion in Plant Biology* [online]. 2005, **8**(2), 135-141 [cit. 2023-03-05]. ISSN 13695266. Doi:10.1016/j.pbi.2005.01.001

ALTUNDAG, Ernaz, Ece SEVGI, Ömer KARA, Orhan SEVGI, H. Barış TECIMEN, İlyas BOLAT. Comparative morphological, anatomical and habitat studies on *Dactylorhiza romana* (Seb.) Soó subsp. *romana* and *Dactylorhiza romana* (seb.) Soó subsp. *georgica* (Klinge) Soó ex Renz & Taub. (Orchidaceae) in Turkey. *Pakistan Journal of Botany* [online]. 2012, **44**, 143-152 [cit. 2023-03-05]. ISSN 0556-3321.

ANDERS NILSSON, L. Orchid pollination biology. *Trends in Ecology & Evolution* [online]. 1992, **7**(8), 255-259 [cit. 2023-03-26]. ISSN 01695347. Doi:10.1016/0169-5347(92)90170-G

BAO, Tong, Bo WANG, Jianguo LI a David DILCHER. Pollination of Cretaceous flowers. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 2019, **116**(49), 24707-24711 [cit. 2023-04-27]. ISSN 0027-8424. Doi:10.1073/pnas.1916186116

BATEMAN, Richard M, Gábor SRAMKÓ a Ovidiu PAUN. Integrating restriction site-associated DNA sequencing (RAD-seq) with morphological cladistic analysis clarifies evolutionary relationships among major species groups of bee orchids. *Annals of Botany* [online]. 2018, **121**(1), 85-105 [cit. 2023-03-06]. ISSN 0305-7364. Doi:10.1093/aob/mcx129

BATEMAN, Richard M. a Paula J. RUDALL. Clarified relationship between *Dactylorhiza viridis* and *Dactylorhiza iberica* renders obsolete the former genus *Coeloglossum* (Orchidaceae: Orchidinae). *Kew Bulletin* [online]. 2018, **73**(1) [cit. 2023-03-05]. ISSN 0075-5974. Doi:10.1007/s12225-017-9728-z

BATEMAN, Richard M. Challenges of applying monophyly in the phylogenetic shallows: taxonomic reappraisal of the *Dactylorhiza maculata* group. *Kew Bulletin* [online]. 2021, **76**(4), 675-704 [cit. 2023-03-26]. ISSN 0075-5974. Doi:10.1007/s12225-021-09971-2

BATEMAN, Richard M., Alexander R. M. MURPHY, Peter M. HOLLINGSWORTH, Michelle L. HART, Ian DENHOLM a Paula J. RUDALL. Molecular and morphological phylogenetics of the digitate-tubered clade within subtribe Orchidinae s.s. (Orchidaceae: Orchidoideae). *Kew Bulletin* [online]. 2018, **73**(4) [cit. 2023-03-10]. ISSN 0075-5974. Doi:10.1007/s12225-018-9782-1

BATEMAN, Richard M., Paula J. RUDALL a Karen E. JAMES. Phylogenetic context, generic affinities and evolutionary origin of the enigmatic Balkan orchid *Gymnadenia frivaldii* Hampe ex Griseb. *TAXON* [online]. 2006, **55**(1), 107-118 [cit. 2023-03-05]. ISSN 0040-0262. Doi:10.2307/25065532

BATEMAN, RICHARD M., PETER M. HOLLINGSWORTH, JILLIAN PRESTON, LUO YI-BO, ALEC M. PRIDGEON a MARK W. CHASE. Molecular phylogenetics and evolution of Orchidinae and selected *Habenariinae* (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* [online]. 2003, **142**(1), 1-40 [cit. 2023-03-13]. ISSN 1095-8339. Doi:10.1046/j.1095-8339.2003.00157.x

BERNARDOS, SONIA, DANIEL TYTECA, Not Available NOT AVAILABLE a FRANCISCO AMICH. Cytotaxonomic study of some taxa of the subtribe Orchidinae (Orchidoideae, Orchidaceae) from the Iberian Peninsula. *Israel Journal of Plant Sciences* [online]. 2004, **52**(2), 161-170 [cit. 2023-04-13]. ISSN 0792-9978. Doi:10.1560/YD43-0MFC-ANN9-PYN0

BRANDRUD, Marie K, Juliane BAAR, Maria T LORENZO, et al. Phylogenomic Relationships of Diploids and the Origins of Allotetraploids in *Dactylorhiza* (Orchidaceae). *Systematic Biology* [online]. 2020, **69**(1), 91-109 [cit. 2023-03-05]. ISSN 1063-5157. Doi:10.1093/sysbio/syz035

BROWN, Spencer C., Mickaël BOURGE, Nicolas MAUNOURY, et al. DNA Remodeling by Strict Partial Endoreplication in Orchids, an Original Process in the Plant Kingdom. *Genome Biology and Evolution* [online]. 2017, **9**(4), 1051-1071 [cit. 2023-04-09]. ISSN 1759-6653. Doi:10.1093/gbe/evx063

BUSSMANN, Rainer W., Ketevan BATSATSASHVILI a Zaal KIKVIDZE. *Dactylorhiza umbrosa* (Kar. & Kir.) Nevski *Dactylorhiza* sp. Orchidaceae. In: BATSATSASHVILI, Ketevan, Zaal KIKVIDZE a Rainer W. BUSSMANN, ed. *Ethnobotany of the Mountain Regions of Central Asia and Altai* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2020,

2020-08-13, s. 247-252 [cit. 2023-04-09]. Ethnobotany of Mountain Regions. ISBN 978-3-030-28946-1. Doi:10.1007/978-3-030-28947-8_45

CLAESSENS, Jean a Bernhard SEIFERT. Ant pollination of *Dactylorhiza viridis* [online]. 2018, 82, 154-158 [cit. 2023-03-06].

CLAESSENS, Jean a KLEYNEN, Jacques. (2013). The pollination of European orchids Part 1: Introduction and the genera *Orchis* and *Dactylorhiza*. *Journal of the Hardy Orchid Society* [online]. 10. 83-89 [cit. 2023-03-06].

COZZOLINO, Salvatore a Alex WIDMER. Orchid diversity: an evolutionary consequence of deception? *Trends in Ecology & Evolution* [online]. 2005, **20**(9), 487-494 [cit. 2023-04-07]. ISSN 01695347. Doi:10.1016/j.tree.2005.06.004

DE HERT, Koen, Hans JACQUEMYN, Sabine VAN GLABEKE, Isabel ROLDÁN-RUIZ, Katrien VANDEPITTE, Leen LEUS a Olivier HONNAY. Reproductive isolation and hybridization in sympatric populations of three *Dactylorhiza* species (Orchidaceae) with different ploidy levels. *Annals of Botany* [online]. 2012, **109**(4), 709-720 [cit. 2023-03-05]. ISSN 1095-8290. Doi:10.1093/aob/mcr305

DE VEYLDER, Lieven, John C. LARKIN a Arp SCHNITTGER. Molecular control and function of endoreplication in development and physiology. *Trends in Plant Science* [online]. 2011, **16**(11), 624-634 [cit. 2023-04-25]. ISSN 13601385. Doi:10.1016/j.tplants.2011.07.001

DELFORGE, Pierre. *Guide des orchidées d'Europe, d'Afrique du Nord et du Proche-Orient*. Lausanne: Delachaux et Niestlé. 1994.

DEVOS, N., D. TYTECA, O. RASPÉ, R. A. WESSELINGH a A.-L. JACQUEMART. Patterns of chloroplast diversity among western European *Dactylorhiza* species (Orchidaceae). *Plant Systematics and Evolution* [online]. 2003, **243**(1-2), 85-97 [cit. 2023-03-20]. ISSN 0378-2697. Doi: 10.1007/s00606-003-0068-0

DOLEŽEL, Jaroslav, Johann GREILHUBER a Jan SUDA, ed. *Flow Cytometry with Plant Cells* [online]. Wiley, 2007 [cit. 2023-03-06]. ISBN 9783527314874. Doi:10.1002/9783527610921

DOSTÁL, Josef. *Klíč k úplné květeně ČSR*. Ilustrovala Vlasta VODIČKOVÁ. Praha: Nakladatelství Československé akademie věd, 1954. Věda všem (ČSAV).

ECCARIUS, Wolfgang. *Die Orchideengattung Dactylorhiza: Phylogenie, Taxonomie, Morphologie, Biologie, Verbreitung, Ökologie und Hybridisation*. Bürgel: publikováno autorem, 2016.

EDGAR, Bruce A., Norman ZIELKE a Crisanto GUTIERREZ. Endocycles: a recurrent evolutionary innovation for post-mitotic cell growth. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* [online]. 2014, **15**(3), 197-210 [cit. 2023-03-05]. ISSN 1471-0072. Doi:10.1038/nrm3756

ERIKSSON, Mimmi C, Terezie MANDÁKOVÁ, Jamie MCCANN, et al. Repeat Dynamics across Timescales: A Perspective from Sibling Allotetraploid Marsh Orchids (*Dactylorhiza majalis* s.l.). *Molecular Biology and Evolution* [online]. 2022, **39**(8) [cit. 2023-03-06]. ISSN 0737-4038. Doi:10.1093/molbev/msac167

FERNANDES, Francisco, Miguel Â PINHEIRO DE CARVALHO a Antonio AGUIAR. Pollination of Madeiran Indigenous Orchids [online]. 2005, 25-36 [cit. 2023-03-12].

FISCHER, Markus a Jurg STOCKLIN. Local Extinctions of Plants in Remnants of Extensively Used Calcareous Grasslands 1950-1985. Extinciones Locales de Plantas en Remanentes de Pastizales Calcareos de Uso extensivo entre 1950 y 1985. *Conservation Biology* [online]. 1997, **11**(3), 727-737 [cit. 2023-04-27]. ISSN 0888-8892. Doi:10.1046/j.1523-1739.1997.96082.x

FRITSCHÉ, Yohan, Thiago Sanches ORNELLAS, Valdir Marcos STEFENON a Miguel Pedro GUERRA. Ploidy mosaics: does endopolyploidy in explants affect the cytogenetic stability of orchids regenerated from PLBs? *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* [online]. 2022, **149**(3), 697-713 [cit. 2023-03-05]. ISSN 0167-6857. Doi:10.1007/s11240-022-02238-z

FUKAI, Seiichi, Atsushi HASEGAWA a Masanori GOI. Polysomaty in *Cymbidium*. *HortScience* [online]. 2002, **37**(7), 1088-1091 [cit. 2023-03-05]. ISSN 0018-5345. Doi:10.21273/HORTSCI.37.7.1088

GIGORD, Luc D. B., Mark R. MACNAIR a Ann SMITHSON. Negative frequency-dependent selection maintains a dramatic flower color polymorphism in the rewardless orchid *Dactylorhiza sambucina* (L.) Soó. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 2001, **98**(11), 6253-6255 [cit. 2023-03-05]. ISSN 0027-8424. Doi:10.1073/pnas.111162598

GREILHUBER, Johann a Ilia J. LEITCH. Genome Size and the Phenotype. In: GREILHUBER, Johann, Jaroslav DOLEZEL a Jonathan F. WENDEL, ed. *Plant Genome*

Diversity Volume 2 [online]. Vienna: Springer Vienna, 2013, 2013-8-23, s. 323-344 [cit. 2023-03-06]. ISBN 978-3-7091-1159-8. Doi:10.1007/978-3-7091-1160-4_20

GROVER, Corrinne E. a Jonathan F. WENDEL. Recent Insights into Mechanisms of Genome Size Change in Plants. *Journal of Botany* [online]. 2010, **2010**, 1-8 [cit. 2023-04-09]. ISSN 2090-0120. Doi:10.1155/2010/382732

GUO, Yan-Ping, Xiao-Yuan TONG, Lan-Wei WANG a Claus VOGL. A population genetic model to infer allotetraploid speciation and long-term evolution applied to two yarrow species. *New Phytologist* [online]. 2013, **199**(2), 609-621 [cit. 2023-03-06]. ISSN 0028-646X. Doi:10.1111/nph.12262

GUTOWSKI, Jerzy M. Pollination of the orchid *Dactylorhiza fuchsii* by longhorn beetles in primeval forests of Northeastern Poland. *Biological Conservation* [online]. 1990, **51**(4), 287-297 [cit. 2023-03-05]. ISSN 00063207. Doi:10.1016/0006-3207(90)90114-5

HARRIS, Elisabeth A. First record of *Empis (Euempis) tessellata* (Fabricius) as a pollinator of *Dactylorhiza maculata* (Asparagales, Orchidaceae) in Britain [online]. 2017 [cit. 2023-03-20].

HARRIS, Elisabeth A. First record of *Scathophaga stercoraria* (Linnaeus) (Diptera, Scathophagidae) as a pollinator of a British mainland population of *Dactylorhiza maculata* (Asparagales, Orchidaceae), a review of the [online]. 2018 [cit. 2023-03-20].

HEDRÉN, Mikael a Sofie NORDSTRÖM. Polymorphic populations of *Dactylorhiza incarnata* s.l. (Orchidaceae) on the Baltic island of Gotland: morphology, habitat preference and genetic differentiation. *Annals of Botany* [online]. 2009, **104**(3), 527-542 [cit. 2023-03-05]. ISSN 1095-8290. Doi:10.1093/aob/mcp102

HEDRÉN, Mikael, Michael F. FAY a Mark W. CHASE. Amplified fragment length polymorphisms (AFLP) reveal details of polyploid evolution in *Dactylorhiza* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* [online]. 2001, **88**(10), 1868-1880 [cit. 2023-04-14]. ISSN 00029122. Doi:10.2307/3558363

HEDRÉN, Mikael, Sofie NORDSTRÖM, Helena A. Persson HOVMALM, Henrik A Erenlund PEDERSEN a Sven HANSSON. Patterns of polyploid evolution in Greek marsh orchids (*Dactylorhiza*; Orchidaceae) as revealed by allozymes, AFLPs, and plastid DNA data. *American Journal of Botany* [online]. 2007, **94**(7), 1205-1218 [cit. 2023-03-05]. ISSN 00029122. Doi:10.3732/ajb.94.7.1205

- HEDRÉN, Mikael. Spatial genetic structure in the Madeiran endemic *Dactylorhiza foliosa* (Orchidaceae). *Plant Systematics and Evolution* [online]. 2022, **308**(4) [cit. 2023-03-11]. ISSN 0378-2697. Doi:10.1007/s00606-022-01822-2
- HESLOP-HARRISON, J S (Pat), Trude SCHWARZACHER a Qing LIU. Polyploidy: its consequences and enabling role in plant diversification and evolution. *Annals of Botany* [online]. 2023, **131**(1), 1-10 [cit. 2023-03-22]. ISSN 0305-7364. Doi:10.1093/aob/mcac132
- HEWITT, G. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological Journal of the Linnean Society* [online]. 1996, **58**(3), 247-276 [cit. 2023-03-06]. ISSN 00244066. Doi:10.1006/bijl.1996.0035
- HŘIBOVÁ, Eva, Kateřina HOLUŠOVÁ, Pavel TRÁVNÍČEK, et al. The Enigma of Progressively Partial Endoreplication: New Insights Provided by Flow Cytometry and Next-Generation Sequencing. *Genome Biology and Evolution* [online]. 2016, **8**(6), 1996-2005 [cit. 2023-03-26]. ISSN 1759-6653. Doi:10.1093/gbe/evw141
- CHASE, Mark, Michael FAY, Richard BATEMAN, Mikael HEDRÉN a Yohan PILLON. Allotetraploid evolution in *Dactylorhiza* (Orchidaceae). *Lankesteriana* [online]. 2015, **7**(1-2) [cit. 2023-03-05]. ISSN 2215-2067. Doi:10.15517/lank.v7i1-2.19498
- CHEN, Z. Jeffrey. Molecular mechanisms of polyploidy and hybrid vigor. *Trends in Plant Science* [online]. 2010, **15**(2), 57-71 [cit. 2023-04-25]. ISSN 13601385. Doi:10.1016/j.tplants.2009.12.003
- CHUMOVÁ, Zuzana, Eliška ZÁVESKÁ, Petra HLOUŠKOVÁ, Jan PONERT, Philipp-André SCHMIDT, Martin ČERTNER, Terezie MANDÁKOVÁ a Pavel TRÁVNÍČEK. Repeat proliferation and partial endoreplication jointly shape the patterns of genome size evolution in orchids. *The Plant Journal* [online]. 2021, **107**(2), 511-524 [cit. 2023-03-21]. ISSN 0960-7412. Doi:10.1111/tpj.15306
- INDA, Luis A., Manuel PIMENTEL a Mark W. CHASE. Phylogenetics of tribe Orchideae (Orchidaceae: Orchidoideae) based on combined DNA matrices. *Annals of Botany* [online]. 2012, **110**(1), 71-90 [cit. 2023-03-06]. ISSN 0305-7364. Doi:10.1093/aob/mcs083
- JACQUEMYN, Hans, Agnieszka DEJA, Koen DE HERT, Bruno CACHAPA BAILAROTE, Bart LIEVENS a Mari MOORA. Variation in Mycorrhizal Associations with *Tulasnelloid*

- Fungi among Populations of Five *Dactylorhiza* Species. *PLoS ONE* [online]. 2012, 7(8) [cit. 2023-04-07]. ISSN 1932-6203. Doi:10.1371/journal.pone.0042212
- JOUBÉS, Jérôme a Christian CHEVALIER. *Plant Molecular Biology* [online]. 43(5/6), 735-745 [cit. 2023-04-09]. ISSN 01674412. Doi:10.1023/A:1006446417196
- KAPLAN, Zdeněk, Jiří DANIHELKA, Jindřich CHRTEK, et al. *Klíč ke květeně České republiky*. Druhé, aktualizované a zcela přepracované vydání. Ilustrovala Anna SKOUMALOVÁ-HADAČOVÁ, ilustrovala Eva SMRČINOVÁ. Praha: Academia, 2021. ISBN 978-80-200-2660-6.
- KIRÁLY, Gergely, Viktor VIRÓK a Attila V. MOLNÁR. *Új magyar fűvészkönyv: Magyarország hajtásos növényei: Ábrák*. Jósvafő: Aggteleki Nemzeti Park Igazgatóság, 2011. ISBN 978-963-88 1 58-0-4.
- KOMAROV, Vladimir L. *Flora of the U.S.S.R. Volume 4: Liliiflorae, Microspermae*. Leningrad: Akademia Nauk, 1935.
- LAMMI, Antti VALLIUS, Elisa, VAUHKONEN, Terhi, KUITUNEN a Markku. Outcrossing, hybridization, pollen quantity, and the evolution of deceptive pollination in *Dactylorhiza incarnata*. *Annales Botanici Fennici* [online]. 2003, 40(5) [cit. 2023-03-06].
- LEVIN, Donald A. Plant speciation in the age of climate change. *Annals of Botany* [online]. 2019, 124(5), 769-775 [cit. 2023-03-22]. ISSN 0305-7364. Doi:10.1093/aob/mcz108
- MALUSZYNSKA, Jolanta, Bozena KOLANO a Hanna SAS-NOWOSIELSKA. Endopolyploidy in Plants. In: GREILHUBER, Johann, Jaroslav DOLEZEL a Jonathan F. WENDEL, ed. *Plant Genome Diversity Volume 2* [online]. Vienna: Springer Vienna, 2013, 2013-8-23, s. 99-119 [cit. 2023-03-20]. ISBN 978-3-7091-1159-8. Doi:10.1007/978-3-7091-1160-4_7
- MATTILA, Elisa a Markku T. KUITUNEN. Nutrient versus pollination limitation in *Platanthera bifolia* and *Dactylorhiza incarnata* (Orchidaceae). *Oikos* [online]. 2000, 89(2), 360-366 [cit. 2023-03-26]. ISSN 00301299. Doi:10.1034/j.1600-0706.2000.890217.x
- MCCLINTOCK, Barbara. The Significance of Responses of the Genome to Challenge. *Science* [online]. 1984, 226(4676), 792-801 [cit. 2023-03-06]. ISSN 0036-8075. Doi:10.1126/science.15739260
- MOLNÁR, Attila V. Soó Rezső (1903–1980). *Kitaibelia* [online]. 2004, 9, 3-18 [cit. 2023-05-02].

- Mycorrhizal Symbiosis* [online]. Elsevier, 2008 [cit. 2023-04-07]. ISBN 9780123705266. Doi:10.1016/B978-0-12-370526-6.X5001-6
- NACZK, Aleksandra M, Agnieszka K KOWALKOWSKA, Natalia WIŚNIEWSKA, Łukasz P HALIŃSKI, Małgorzata KAPUSTA a Małgorzata CZERWICKA. Floral anatomy, ultrastructure and chemical analysis in *Dactylorhiza incarnata/maculata* complex (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* [online]. 2018, **187**(3), 512-536 [cit. 2023-03-05]. ISSN 0024-4074. Doi:10.1093/botlinnean/boy027
- NILSSON, Anders L. The pollination ecology *Dactylorhiza sambucina* (Orchidaceae). *Botaniska Notiser* [online], 1980, 133(3), 367-386 [cit. 2023-04-27].
- OSTROWIECKA, Beata, Izabela TAŁAŁAJ, Emilia BRZOSKO, et al. Pollinators and visitors of the generalized food-deceptive orchid *Dactylorhiza majalis* in North-Eastern Poland. *Biologia* [online]. 2019, **74**(10), 1247-1257 [cit. 2023-03-05]. ISSN 0006-3088. Doi:10.2478/s11756-019-00285-0
- PAUN, O., R. M. BATEMAN, M. F. FAY, M. HEDREN, L. CIVEYREL a M. W. CHASE. Stable Epigenetic Effects Impact Adaptation in Allopolyploid Orchids (*Dactylorhiza*: Orchidaceae). *Molecular Biology and Evolution* [online]. 2010, **27**(11), 2465-2473 [cit. 2023-03-06]. ISSN 0737-4038. Doi:10.1093/molbev/msq150
- PAUN, Ovidiu, Félix FOREST, Michael F. FAY a Mark W. CHASE. Hybrid speciation in angiosperms: parental divergence drives ploidy. *New Phytologist* [online]. 2009, **182**(2), 507-518 [cit. 2023-03-06]. ISSN 0028-646X. Doi:10.1111/j.1469-8137.2009.02767.x
- PEDERSEN, HENRIK Æ. Systematics and evolution of the *Dactylorhiza romana/sambucina* polyploid complex (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* [online]. 2006, **152**(4), 405-434 [cit. 2023-04-13]. ISSN 1095-8339. Doi:10.1111/j.1095-8339.2006.00573.x
- PELLEGRINO, Giuseppe a Francesca BELLUSCI. Molecular identification of mycorrhizal fungi in *Dactylorhiza sambucina* (Orchidaceae). *Biologia* [online]. 2009, **64**(5), 893-897 [cit. 2023-04-07]. ISSN 0006-3088. Doi:10.2478/s11756-009-0175-7
- PILLON, Yohan, Michael F. FAY, Alexey B. SHIPUNOV a Mark W. CHASE. Species diversity versus phylogenetic diversity: A practical study in the taxonomically difficult genus *Dactylorhiza* (Orchidaceae). *Biological Conservation* [online]. 2006, **129**(1), 4-13 [cit. 2023-05-02]. ISSN 00063207. Doi:10.1016/j.biocon.2005.06.036

PILLON, Yohan, Michael F. FAY, Mikael HEDRÉN, Richard M. BATEMAN, Dion S. DEVEY, Alexey B. SHIPUNOV, Michelle VAN DER BANK a Mark W. CHASE. Evolution and temporal diversification of western European polyploid species complexes in *Dactylorhiza* (Orchidaceae). *TAXON* [online]. 2007, **56**(4), 1185-1208 [cit. 2023-05-02]. ISSN 00400262. Doi:10.2307/25065911

PROCHÁZKA, František. *Orchideje naší přírody*. Praha: Academia, 1983. Živou přírodou.

RAMAKRISHNAN, Muthusamy, Lakkakula SATISH, Anket SHARMA, Kunnummal KURUNGARA VINOD, Abolghassem EMAMVERDIAN, Mingbing ZHOU a Qiang WEI. Transposable elements in plants: Recent advancements, tools and prospects. *Plant Molecular Biology Reporter* [online]. 2022, **40**(4), 628-645 [cit. 2023-03-22]. ISSN 0735-9640. Doi:10.1007/s11105-022-01342-w

RAMSEY, Justin a Douglas W. SCHEMSKE. PATHWAYS, MECHANISMS, AND RATES OF POLYPLOID FORMATION IN FLOWERING PLANTS. *Annual Review of Ecology and Systematics* [online]. 1998, **29**(1), 467-501 [cit. 2023-04-09]. ISSN 0066-4162. Doi:10.1146/annurev.ecolsys.29.1.467

RIESEBERG, Loren H. a John H. WILLIS. Plant Speciation. *Science* [online]. 2007, **317**(5840), 910-914 [cit. 2023-03-05]. ISSN 0036-8075. Doi:10.1126/science.1137729

SARASAN, Viswambharan, Tim PANKHURST, Kazutomo YOKOYA, Sridevy SRISKANDARAJAH a Faye MCDIARMID. Preventing Extinction of the Critically Endangered *Dactylorhiza incarnata* subsp. *ochroleuca* in Britain Using Symbiotic Seedlings for Reintroduction. *Microorganisms* [online]. 2021, **9**(7) [cit. 2023-03-26]. ISSN 2076-2607. Doi:10.3390/microorganisms9071421

SEGRAVES, Kari A. a Thomas J. ANNEBERG. Species interactions and plant polyploidy. *American Journal of Botany* [online]. 2016, **103**(7), 1326-1335 [cit. 2023-03-05]. ISSN 00029122. Doi:10.3732/ajb.1500529

SHIPUNOV, A. B., M. F. FAY, Y. PILLON, R. M. BATEMAN a M. W. CHASE. *Dactylorhiza* (Orchidaceae) in European Russia: combined molecular and morphological analysis. *American Journal of Botany* [online]. 2004, **91**(9), 1419-1426 [cit. 2023-03-20]. ISSN 0002-9122. Doi:10.3732/ajb.91.9.1419

SLAVÍK, Bohumil a Jitka ŠTĚPÁNKOVÁ, ed. *Květena České republiky*. Praha: Academia, 2010. ISBN 80-200-0256-1.

SONG, K, P LU, K TANG a T C OSBORN. Rapid genome change in synthetic polyploids of Brassica and its implications for polyploid evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 1995, **92**(17), 7719-7723 [cit. 2023-03-06]. ISSN 0027-8424. Doi:10.1073/pnas.92.17.7719

STÅHLBERG, David. Habitat differentiation, hybridization and gene flow patterns in mixed populations of diploid and autotetraploid *Dactylorhiza maculata* s.l. (Orchidaceae). *Evolutionary Ecology* [online]. 2009, **23**(2), 295-328 [cit. 2023-03-06]. ISSN 0269-7653. Doi:10.1007/s10682-007-9228-y

SUKHIKH, Stanislav, Svetlana NOSKOVA, Svetlana IVANOVA, Liubov SKRYPNIK, Artem PUNGIN, Elena ULRIKH, Evgeny CHUPAKHIN a Olga BABICH. Study of the Properties of In Vitro *Dactylorhiza maculata* (L.) Soó (Family Orchidaceae) Extracts. *Plants* [online]. 2021, **10**(7) [cit. 2023-04-07]. ISSN 2223-7747. Doi:10.3390/plants10071330

SUMBEMBAYEV, Aidar, SAULE ABUGALIEVA, ALEVTINA DANILOVA, EKATERINA MATVEYEVA a DARIUSZ SZLACHETKO. Flower morphometry of members of the genus *Dactylorhiza* Necker ex Nevski (Orchidaceae) from the Altai Mountains of Kazakhstan. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity* [online]. 2021, **22**(8) [cit. 2023-03-05]. ISSN 2085-4722. Doi:10.13057/biodiv/d220855

SWARTS, Nigel D. a Kingsley W. DIXON. Terrestrial orchid conservation in the age of extinction. *Annals of Botany* [online]. 2009, **104**(3), 543-556 [cit. 2023-04-07]. ISSN 1095-8290. Doi:10.1093/aob/mcp025

ŠTÍPKOVÁ, Zuzana a Pavel KINDLMANN. Orchid Extinction over the Last 150 Years in the Czech Republic. *Diversity* [online]. 2021, **13**(2) [cit. 2023-03-05]. ISSN 1424-2818. Doi:10.3390/d13020078

TARAŠKA, Vojtěch, Petr BATOUŠEK, Martin DUCHOSLAV, Eva M. TEMSCH, Hanna WEISS-SCHNEEWEISS a Bohumil TRÁVNÍČEK. Morphological variability, cytotype diversity, and cytogeography of populations traditionally called *Dactylorhiza fuchsii* in Central Europe. *Plant Systematics and Evolution* [online]. 2021, **307**(4) [cit. 2023-04-11]. ISSN 0378-2697. Doi:10.1007/s00606-021-01770-3

TAYLOR, D. L., T. D. BRUNS, J. R. LEAKE a D. J. READ. Mycorrhizal Specificity and Function in Myco-heterotrophic Plants. In: VAN DER HEIJDEN, Marcel G. A. a Ian R.

SANDERS, ed. *Mycorrhizal Ecology* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2003, 2002, s. 375-413 [cit. 2023-04-07]. Ecological Studies. ISBN 978-3-540-00204-8. Doi:10.1007/978-3-540-38364-2_15

TE BEEST, M., J. J. LE ROUX, D. M. RICHARDSON, A. K. BRYSTING, J. SUDA, M. KUBESOVA a P. PYSEK. The more the better? The role of polyploidy in facilitating plant invasions. *Annals of Botany* [online]. 2012, **109**(1), 19-45 [cit. 2023-04-25]. ISSN 0305-7364. Doi:10.1093/aob/mcr277

TOSSI, Vanesa E., Leandro J. MARTÍNEZ TOSAR, Leandro E. LAINO, et al. Impact of polyploidy on plant tolerance to abiotic and biotic stresses. *Frontiers in Plant Science* [online]. 2022, **13** [cit. 2023-04-07]. ISSN 1664-462X.: Doi:10.3389/fpls.2022.869423

TRÁVNÍČEK, Pavel, Jan PONERT, Tomáš URFUS, Jana JERSÁKOVÁ, Jan VRÁNA, Eva HŘIBOVÁ, Jaroslav DOLEŽEL a Jan SUDA. Challenges of flow-cytometric estimation of nuclear genome size in orchids, a plant group with both whole-genome and progressively partial endoreplication. *Cytometry Part A* [online]. 2015, **87**(10), 958-966 [cit. 2023-03-05]. ISSN 15524922. Doi:10.1002/cyto.a.22681

TRÁVNÍČEK, Pavel, Martin ČERTNER, Jan PONERT, Zuzana CHUMOVÁ, Jana JERSÁKOVÁ a Jan SUDA. Diversity in genome size and GC content shows adaptive potential in orchids and is closely linked to partial endoreplication, plant life-history traits and climatic conditions. *New Phytologist* [online]. 2019, **224**(4), 1642-1656 [cit. 2023-03-20]. ISSN 0028-646X. Doi:10.1111/nph.15996

TUTIN, T. G., V. H. HEYWOOD, N. A. BURGESS, D. M. MOORE, D. H. VALENTINE, S. M. WALTERS, D. A. WEBB. *Flora Europaea*. Cambridge: Cambridge University Press, 1980.

VALLIUS, E., V. SALONEN a T. KULL. Factors of divergence in co-occurring varieties of *Dactylorhiza incarnata* (Orchidaceae). *Plant Systematics and Evolution* [online]. 2004, **248**(1-4) [cit. 2023-04-09]. ISSN 0378-2697. Doi:10.1007/s00606-004-0192-5

VILCHERREZ-ATOCHÉ, Joe Abdul, Carla Midori IYAMA a Jean Carlos CARDOSO. Polyploidization in Orchids: From Cellular Changes to Breeding Applications. *Plants* [online]. 2022, **11**(4) [cit. 2023-04-09]. ISSN 2223-7747. Doi:10.3390/plants11040469

WILLING, Eva-Maria, Vimal RAWAT, Terezie MANDÁKOVÁ, et al. Genome expansion of *Arabis alpina* linked with retrotransposition and reduced symmetric DNA methylation. *Nature Plants* [online]. 2015, 1(2) [cit. 2023-03-21]. ISSN 2055-0278. Dostupné z: doi:10.1038/nplants.2014.23