

I/43 Bořitov – Svitávka: Technická pomoc k transferu prstnatce pleťového

Podrobný návod s formulací konkrétních metod a postupů transferu

číslo objednávky: 03PT-004713



Objednatel: Ředitelství silnic a dálnic České republiky
Závod Brno
Sídlo: Šumavská 33, 602 00 Brno
IČ: 65993390
DIČ: CZ65993390
Zastoupený:
k jednání ve věcech smluvních: Mgr. David Fiala, ředitel Závodu Brno
k jednání ve věcech technických: Mgr. Martin Cetl



Zhotovitel: Ekopontis, s.r.o.
Sídlo: Cejl 511/43, 602 00 Brno
IČ: 03866866
DIČ: CZ03866866
Zastoupený:
k jednání ve věcech smluvních: Barbora Janáčková, jednatelka
k jednání ve věcech technických: Mgr. et. Ing. Petr Švehlík



Vedoucí projektu: **Mgr. et Ing. Petr Švehlík**
Spolupracující osoby v projektu: Ing. Pavel Obrdlík, Ing. Renata Eremiášová,
Mgr. Vojtěch Dlapka, Mgr. Tadeáš Děd, Mgr. et Mgr.
Tomáš Havlík
Externí spolupráce: RNDr. Milan Baláž, Ph.D.

září 2021

IDENTIFIKAČNÍ ÚDAJE

Zhotovitel: Ekopontis, s.r.o.
Cejl 511/43, 602 00 Brno
IČ: 03866866
DIČ: CZ03866866
zastoupený: Barbora Janáčková

Objednatel: Ředitelství silnic a dálnic České republiky
Závod Brno
Šumavská 33, 602 00 Brno
IČ: 65993390
DIČ: CZ65993390
zastoupený: Mgr. David Fiala

Název projektu: I/43 Bořitov – Svitávka: Technická pomoc k transferu prstnatce pleťového

Název činnosti: Podrobný návod s formulací konkrétních metod a postupů transferu

Termín zpracování: září 2021

OBSAH

OBSAH	3
1 Úvod	4
2 Charakteristika prstnatce pleťového (<i>Dactylorhiza incarnata</i>)	5
3 Lokalita výskytu prstnatce pleťového (<i>Dactylorhiza incarnata</i>) v tělese staré dálnice.....	6
4 Lokality výskytu prstnatce pleťového (<i>Dactylorhiza incarnata</i>) v širším území	11
5 Možnosti kultivace orchidejí a relevantní metody transferu	16
6 Podrobný návod s formulací konkrétních metod a postupů transferu prstnatce pleťového (<i>Dactylorhiza incarnata</i>) z tělesa staré dálnice do území PP Čtvrtky za Bořím	21
7 Závěr	23
8 Použité zdroje	25

1 ÚVOD

Obsahem předložené studie je **podrobný návod s formulací konkrétních metod a postupů transferu prstnatce pleťového (*Dactylorhiza incarnata*) z tělesa staré dálnice na vhodné náhradní lokality** (dále také „podrobný návod“). Potřebu řešení transferu prstnatce pleťového z tělesa staré dálnice na vhodné náhradní lokality projekční přípravě stavby I/43 Bořitov – Svitávka ukládá podmínka č. 51 závazného stanoviska k ověření souladu EIA ze dne 20. 5. 2019 (č.j. MZP/2018/710/3226): „Zpracovat studii pro transfer prstnatce pleťového z tělesa Staré dálnice na vhodné náhradní lokality“. Tato studie byla zpracována v roce 2018 (Studie pro transfer prstnatce pleťového z tělesa Staré dálnice na vhodné náhradní lokality (HBH 2018a; dále také „Studie 2018“) v podobě přehledu možností, které jsou dle biologie druhu z hlediska řešené problematiky relevantní; nejedná se však o podrobný návod s formulací konkrétních metod a postupů, které budou voleny v případě transferu řešené populace prstnatce pleťového.

Na základě informací o aktuálním stavu lokality v tělese staré dálnice, získaných v rámci biologických průzkumů území stavby I/43 Bořitov – Svitávka i území uvažované náhradní lokality PP Čtvrtky za Bořím, vyvstala potřeba rychlé realizace některých Studií 2018 navržených kroků pro zlepšení stavu populace druhu v území, jejíž početnost vykazuje v posledních letech značně negativní trend. V případě zásadního oslabení až vymizení populace by mohl vyvstat problém s nemožností transfer provést. Z toho důvodu je společně se zpracováním tohoto podrobného návodu zadána rovněž realizace managementových opatření, které vytvoří předpoklad pro dosažení vitální populace druhu v území, a tedy pro úspěšné provedení transferu dle tohoto podrobného návodu.

Na zpracování tohoto podrobného návodu se kromě jednotlivých odborníků společnosti Ekopontis, s.r.o. podílel rovněž RNDr. Milan Baláž, Ph.D. z oddělení experimentální biologie rostlin Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity, který je jako jeden z našich předních odborníků na ekologii orchidejí a jejich kultivaci doporučován již Studií 2018.

Tento podrobný návod je zároveň podkladem pro hodnocení dle § 67 zákona č. 114/1992 Sb. stavby I/43 Bořitov – Svitávka a následnou inženýrskou činnost dle zákona č. 114/1992 Sb. Z uvedeného důvodu je podrobný návrh koncipován tak, aby při dalším nakládání v principu zcela nahradil Studii 2018. Z uvedeného vyplývá, že jsou zejména v úvodních, resp. obecných kapitolách a pasážích opakovány základní charakteristiky území, popisy ekologie druhu a teoretické možnosti transferů, které jsou obsaženy již ve Studii 2018. Na tyto pasáže pak navazuje zejména vlastní podrobný návod s formulací konkrétních metod a postupů, které budou voleny v případě transferu řešené populace prstnatce pleťového v tělese staré dálnice.

S ohledem na definované cíle je podrobný návod členěn na následující základní části, spolu úzce související a vzájemně se prolínající:

- Charakteristika prstnatce pleťového (*Dactylorhiza incarnata*)
- Lokalita výskytu prstnatce pleťového (*Dactylorhiza incarnata*) v tělese staré dálnice
- Lokality výskytu prstnatce pleťového (*Dactylorhiza incarnata*) v širším území
- Možnosti kultivace orchidejí a relevantní metody transferu
- Podrobný návod s formulací konkrétních metod a postupů transferu prstnatce pleťového (*Dactylorhiza incarnata*) z tělesa staré dálnice do území PP Čtvrtky za Bořím

2 CHARAKTERISTIKA PRSTNATCE PLEŤOVÉHO (*DACTYLORHIZA INCARNATA*)

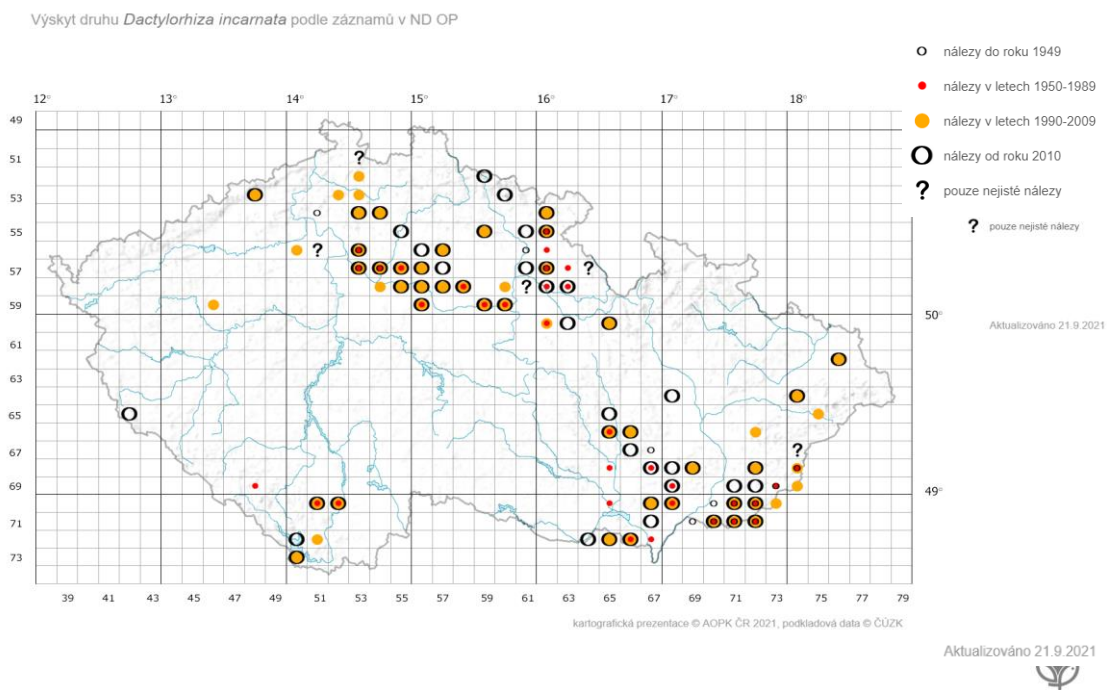
Prstnatec pleťový (*Dactylorhiza incarnata*) je vytrvalá bylina dosahující velikosti 30–60 cm. Má přímou lodyhu s podlouhle kopinatými listy světlezelené barvy, neskvřité. Listy jsou nejširší u báze, s lodyhou skoro souběžné, na konci kápoité. Květenství je dlouhé 5–12 cm, květy růžové nebo světle nachové. Plodem je tobolka.

Celkové rozšíření druhu je v západní, střední, východní a jihovýchodní Evropě a zasahuje až do Skandinávie a také do mírných oblastí Asie (západní Sibiř). U nás je druh poněkud více rozšířen jen na jižní Moravě a v Polabí, jinde vzácně, v některých oblastech chybí (Obrázek 1).

Jde o vlhkomilný druh, rostoucí většinou na slatiništích, vlhkých loukách či v řidších rákosinách na březích rybníků, velmi vzácně také ve vlhkých příkopech v pásnu od nížin do podhůří. Obecně tedy prstnatec pleťový vyžaduje vyšší hladinu podzemní vody a slunná stanoviště, většinou na úživných, především zásaditých půdách. Často se vyskytuje ve společenstvech svazů *Calthion* či *Molinion*. Kvete od května do června.

Druh je poměrně variabilní a u nás jsou nyní rozlišovány dva poddruhy: *Dactylorhiza incarnata* subsp. *incarnata* (prstnatec pleťový pravý), což je případ řešené populace v tělese staré dálnice, a *Dactylorhiza incarnata* subsp. *serotina* (prstnatec pleťový pozdní), který se vyskytuje v severozápadních Čechách.

Prstnatec pleťový je v ČR chráněn dle §§ 48 a 49 zákona 114/1992 Sb., o ochraně přírody a krajiny; dle vyhlášky č. 395/1992 Sb. je zařazen jako silně ohrožené druhy (SO). V Červeném seznamu ohrožených druhů České republiky – Cévnaté rostliny (Grulich & Chobot 2017) je prstnatec pleťový zařazen mezi ohrožené druhy (EN).

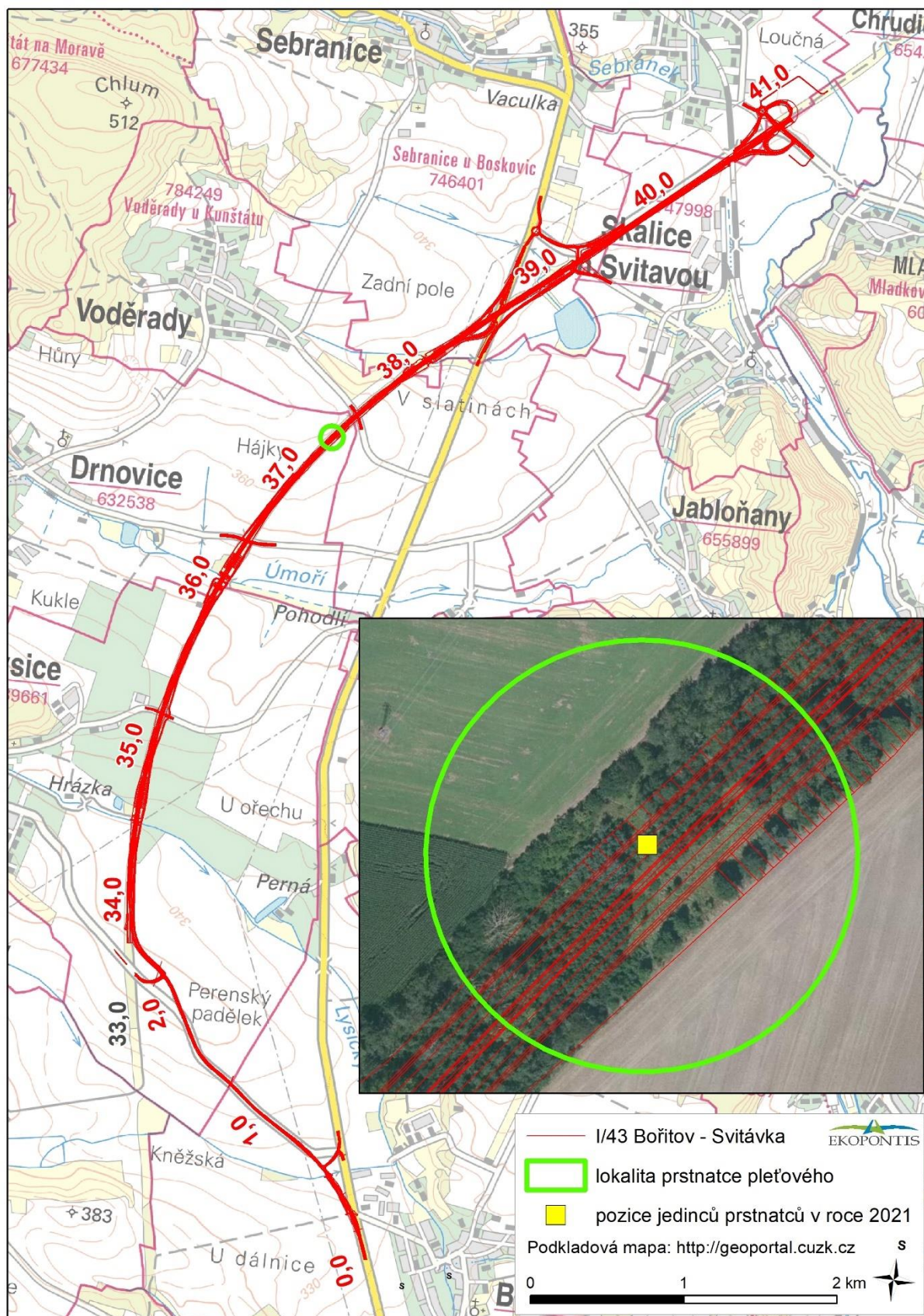


Obrázek 1 Výskyt prstnatce pleťového (*Dactylorhiza incarnata*) v ČR podle záznamů nálezné databáze ochrany přírody (NDOP)

3 LOKALITA VÝSKYTU PRSTNATCE PLEŤOVÉHO (*DACTYLORHIZA INCARNATA*) V TĚLESE STARÉ DÁLNIČE

Prstnatec pleťový (*Dactylorhiza incarnata*) se ve sledovaném území tělesa staré dálnice nachází cca v km 37,35 stavby I/43 Bořitov – Svitávka (viz Obrázek 2). Jedná se o mozaiku světlých nekosených převážně vlhčích trávníků s nálety dřevin. V roce 2018 zde populace druhu čítala 9 kvetoucích a 7 sterilních lodyh (HBH 2018b). V roce 2021 zde populace druhu čítala 4 kvetoucí a 4 sterilní lodyhy. Všech 8 jedinců bylo v roce 2021 soustředěno na relativně malé plošce (cca 1x1 m) podél pěšiny vyšlapané myslivci mezi krmelcem a posedem (viz Obrázek 3 a Obrázek 4). Jakkoliv byly v případě 4 jedinců zaznamenány kvetoucí lodyhy (viz Obrázek 5), prakticky všichni jedinci vykazovali během sezóny 2021 sníženou vitalitu a známky poškození (viz Obrázek 6). Toto lze do velké míry pravděpodobně přičíst činnosti zdejšího společenstva plžů, kteří svými okusy významně ovlivňovali stav jednotlivých jedinců. Fertilní lodyhy tak sice v průběhu sezóny dospěly do květu, avšak ve všech případech nedošlo k dokončení vývoje, neboť kvetoucí lodyha byla okusy oddělena od rostliny.

Z uvedeného vyplývá, že stav populace v rámci řešené lokality nevykazuje uspokojivý trend, přičemž je zejména vzhledem k malému počtu jedinců náchylný rovněž na stochastické jevy. Populace však bezpochyby skýtá potenciál pro získání semenného materiálu, což je základní předpoklad pro úspěšnost transferu. Pro podporu zdejší populace a zvýšení pravděpodobnosti úspěchu sběru semen byl navíc v průběhu druhé poloviny roku 2021 zahájen management území s předpokládaným trváním do 05/2023.



Obrázek 2 Lokalita výskytu prstnatce pleťového v tělese staré dálnice



Obrázek 3 Pozice 8 jedinců řešené populace prstnatce pleťového v prostoru tělesa staré dálnice (27. 5. 2021)



Obrázek 4 Detail pozice 8 jedinců řešené populace prstnatce pleťového v prostoru tělesa staré dálnice (27. 5. 2021)



Obrázek 5 Kvetoucí lodyha jednoho z jedinců řešené populace prstnatce pleťového v prostoru tělesa staré dálnice (27. 5. 2021)



Obrázek 6 Jeden z jedinců řešené populace prstnatce pleťového v prostoru tělesa staré dálnice vykazující známky snížené vitality (27. 5. 2021)



Obrázek 7 Jeden z jedinců řešené populace prstnatce pleťového v prostoru tělesa staré dálnice, který sice v sezóně 2021 dospěl do květu, avšak nedošlo k dokončení vývoje, neboť kvetoucí lodyha byla okusy plíží oddělena od rostliny (15. 6. 2021)

4 LOKALITY VÝSKYTU PRSTNATCE PLEŤOVÉHO (*DACTYLORHIZA INCARNATA*) V ŠIRŠÍM ÚZEMÍ

Nejbližší lokality recentního výskytu druhu od řešené populace v tělese staré dálnice se nacházejí v PP Čtvrtky za Bořím, v PR Obůrky-Třeštětec, v Růženině lomu v Brně Líšni (EVL Jižní svahy Hádů) a ve Křtinském lomu (CHKO Moravský krasu). Všechny recentní lokality v okolí jsou tedy chráněná území. Zároveň mají společné i to, že jde o plochy trvale podmáčené; v případě obou lomů také sukcesně nezapojené, nebo je na nich vegetace udržována pravidelným kosením. Podstatné je i geologické podloží, kterým je buď kulum (Křtinský lom) nebo vápenec (Růženin lom i ostatní lokality, kde došlo při stavbě staré dálnice k odkrytí spodních vrstev podloží); každopádně nejde o kyselé horniny. Je proto těžké představit si v blízkém okolí nějakou jinou vhodnou lokalitu, která by měla podobný charakter a splňovala tak nemalé ekologické nároky druhu. Proto i úbytek lokalit druhu na Moravě je oproti minulosti výrazný (viz Tabulka 1).

Tabulka 1 Počty a úbytky lokalit na Moravě (Jattiová & Šmiták, 1996, upraveno – Veselá 2008, dle HBH 2018a)

počet zaznamenaných údajů	celkový počet podchycených lokalit	lokality historické (na nichž nebyl zaznamenán výskyt po roce 1980 nebo které nebyly prověřovány)	počet historických lokalit, na nichž byl druh nově ověřen	počet nových lokalit zaznamenaných po roce 1980	celkový počet současných (recentních) nalezišť	% úbytku druhu
379	168	114	19	35	54	68 %

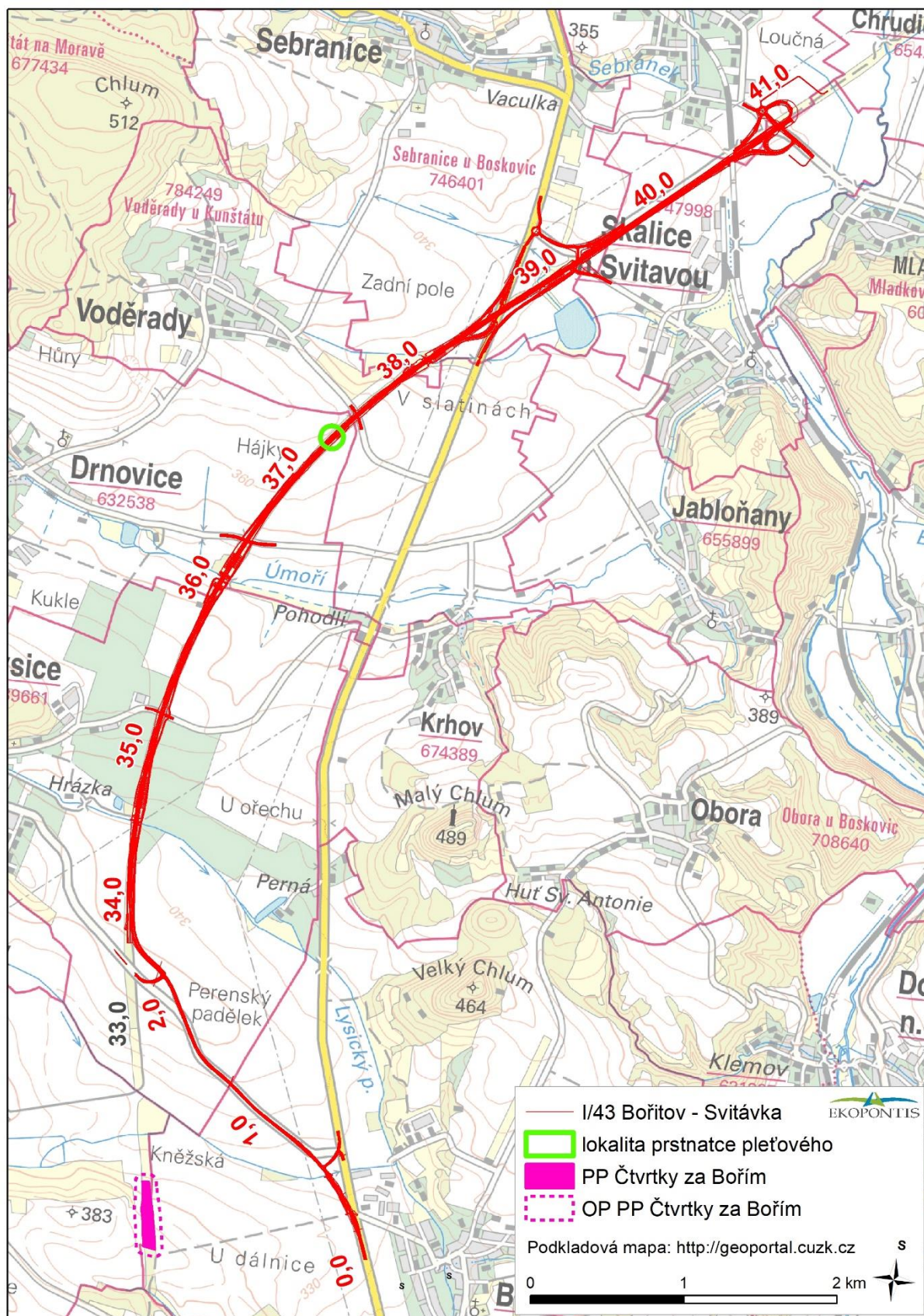
Jako nejvhodnější lokalita pro transfer populace prstnatce pleťového se jeví **PP Čtvrtky za Bořím** (malá vzdálenost od zdrojové lokality, vhodné podmínky), která byla doporučena již Studií 2018.

- lokalizace: k.ú. Býkovice, cca 5 km od řešené lokality v tělese staré dálnice (viz Obrázek 8)
- plocha: 2,5 ha
- datum vyhlášení: 20. 2. 1996
- předmět ochrany (přesné znění textu dle zřizovacího předpisu): Zvlášť cenný biotop vzácných vstavačovitých rostlin s vysokou ekologickou hodnotou. Jedná se o výjimečně cenné společenstvo kolem odvodňovacího příkopu s pramenným výronem. Rostou zde mokřadní ostřice (*Carex* sp.), metlice trsnatá (*Deschampsia caespitosa*), pcháč bahenní (*Cirsium palustre*) a pcháč šedý (*Cirsium canum*), k nimž se přidružují vzácné druhy vstavač vojenský (*Orchis militaris*), vemeník dvoulistý (*Platanthera bifolia*), bradáček vejčitý (*Listera ovata*) a kozlík dvoudomý (*Valeriana dioica*). Zákonem chráněny jsou druhy vemeník dvoulistý a vstavač vojenský, regionálně je velmi vzácný bradáček vejčitý. Fytogeograficky velmi zajímavý je výskyt regionálně ohroženého kozlíku dvoudomého.
- cíl ochrany: Cílem ochrany přírodní památky je udržování optimálních podmínek pro rozvoj travobylinných společenstev s výskytem cenných a zvláště chráněných druhů rostlin.

Jakkoliv tedy není prstnatec pleťový explicitně jmenován jako předmět ochrany PP Čtvrtky za Bořím, je jeho výskyt na lokalitě významnou biologickou hodnotou území – viz Plán péče o přírodní památku Čtvrtky za Bořím na období 2015–2024 (Chalupa 2014): „*Hlavní předmět ochrany ZCHÚ – současný stav: travobylinná společenstva s výskytem vstavačovitých rostlin – Tvoří centrální část přírodní památky. Hlavní stanoviště prstnatce pleťového (*Dactylorhiza incarnata*), vemeníku dvoulistého (*Platanthera bifolia*) a vstavače vojenského (*Orchis militaris*) jsou situována v severní části lokality. Projevuje se zde nežádoucí sukcese třtiny křovištní (*Calamagrostis epigejos*) a zlatobýlu kanadského (*Solidago canadensis*). Louky jsou pravidelně koseny. Roztroušený výskyt vzrostlejších dřevin a keřů, místy vytvářející i silný zápoj, zejména v jižní části území.*“

Plán péče o přírodní památku Čtvrtky za Bořím na období 2015–2024 (Chalupa 2014) uvádí v území odhadem 20 až 30 jedinců prstnatce pleťového – hlavní část populace na severní louce (v pravobřeží odvodňovacího kanálu a v prostoru prameniště na odvodňovacím kanálku; viz Obrázek 9). Dle botanického průzkumu území v roce 2021 v souvislosti s přípravou komunikace č. 43 však byl v území zaznamenán pouze jeden jedinec (viz Obrázek 10), což potvrzuje recentní pokles počtu jedinců zdejší populace. V roce 2018 botanický průzkum výskyt druhu v území dokonce vůbec nezaznamenal. Každopádně vzhledem k (historickému) výskytu druhu v území této přírodní památky existuje reálný předpoklad vhodných půdních podmínek, na které jsou orchideje obecně velmi citlivé kvůli tzv. orchideoidní mykorrhize (závislost na výskytu mykorrhizní houby). Navíc prstnatec pleťový je poměrně citlivý i na vláhové poměry v území, přičemž jejich splnění je opět možné v území přírodní památky očekávat. V neposlední řadě je pro dlouhodobou perspektivu výskytu druhu nutný pravidelný vhodný management území, který je zde v určité míře garantován pravidelnou činností orgánu ochrany přírody v území přírodní památky.

Studii 2018 nebyla jako cílová lokalita transferu zcela vyloučena ani lokalita PR Obůrky-Třeštětec. Předmětem ochrany jsou zde mokřadní travobylinná společenstva na dně trvale zamokřeného zářezu s výskytem řady významných druhů rostlin a živočichů. Tedy shodně s řešenou lokalitou a shodně s lokalitou PP Čtvrtky za Bořím je rovněž PR Obůrky-Třeštětec vázána na prostor tělesa staré dálnice. Populace prstnatce pleťového je zde relativně stabilní i v posledních letech, tedy i zde se zjevně vyskytují vhodné podmínky pro výskyt druhu. Avšak vzdálenost území od řešené lokality v tělese staré dálnice již je podstatně větší (cca 19 km). Navíc, jak již bylo uvedeno, populace druhu je zde relativně stabilní. Naopak populace v PP Čtvrtky za Bořím recentně vykazuje negativní trend početnosti, tedy transfer z řešené lokality v tělese staré dálnice do území PP Čtvrtky za Bořím nabývá dalšího rozměru se zjevně přidanou hodnotou – posílení populace druhu v území přírodní památky.



Obrázek 8 Pozice řešené lokality prstnatce pleťového v tělese staré dálnice a území PP Čtvrtky za Bořím



Obrázek 9 Pozice severní louky v PP Čtvrtky za Bořím, kde je Plánem péče (Chalupa 2014) uváděn výskyt populace prstnatce pleťového



Obrázek 10 Jedinec prstnatce pleťového v území severní louky PP Čtvrtky za Bořím (15. 6. 2021)

5 MOŽNOSTI KULTIVACE ORCHIDEJÍ A RELEVANTNÍ METODY TRANSFERU

Možnosti kultivace našich orchidejí ve svém základu vycházejí ze značných ekologických specifik této skupiny, kterým je podrobná pozornost věnována již ve Studii 2018. V ČR se přirozeně vyskytuje přibližně 60 druhů orchidejí (tedy zástupců čeledi vstavačovitě – Orchidaceae). Rostou na horských a podhorských loukách, na lesostepích nebo v lesích, najdeme je v závislosti na nárocích jednotlivých druhů na místech suchých i vlhkých. Mnohé z těchto rostlin jsou velmi vzácné¹. Všechny naše orchideje jsou zapsány v Červeném seznamu ohrožených druhů České republiky – Cévnaté rostliny (Grulich & Chobot 2017). Mnohé z nich jsou chráněné dle §§ 48 a 49 zákona 114/1992 Sb., o ochraně přírody a krajiny, či ochranářskými úmluvami (např. CITES, Bernská úmluva). Pro pochopení ekologie orchidejí a jejich následnou ochranu je potřeba znát alespoň základní vlastnosti jejich biologie, kterými je přítomnost orchideoidní mykorhizy, vlastnosti semen orchidejí a v neposlední řadě i způsob opylování.

- **Orchideoidní mykoriza** je jedním z pilířů poznání ekologie rostlin čeledi Orchidaceae. První zmínky o tomto fenoménu jsou známé už z konce 19. století. Nápadná je totiž tzv. mykoheterotrofie (schopnost rostliny získávat uhlík z houbového vlákna), kterou, alespoň v raných vývojových stádiích, procházejí všechny druhy orchidejí. Mykorhizní houby (mykorhiza – symbiotické soužití hub s kořeny vyšších rostlin) izolované z kořenů orchidejí patří převážně mezi stopkovýtrusé houby (Basidiomycetes) – nejčastěji rod *Rhizoctonia* (teleomorfní stádia – *Tulasnella*, *Sebacina*, *Thanatephorus*, *Ceratobasidium*, *Armillaria*, *Fomes* atd.). Zcela závislé na mykorhizní houbě jsou zejména nezelené heterotrofní orchideje (např. hojný lesní druh hlístník hnízdák – *Neottia nidus-avis*), ale také klíčící stádia prakticky všech druhů orchidejí, protože vývoj klíčící rostliny je možný pouze po její kolonizaci mykorhizní houbou. Je to dáno tím, že semena obsahují jen velmi omezené množství rezervních látek a bez přísunu uhlíkatých látek od houbového partnera de facto nevyklíčí. Základním funkčním prvkem této mykorhizy jsou tzv. klubička hyf (houbových vláken), které se nacházejí uvnitř buněk primární kůry kořene, kde se hyfa penetrující dovnitř buňky větvi a vytváří hustou propletenou strukturu. Vytvořené klubičko po určité době kolabuje a tato buňka může být znova rekolonizována. Přenos uhlíkatých látek z houby do pletiv hostitelské rostliny může probíhat dvojnásobným způsobem – buď přes membránu živých hyfových klubiček nebo fagocytózou kolabovaného houbového endofyta. V současnosti je získáváno stále více důkazů pro první z těchto možností (Smith a Read 2008), přičemž kolaps hyfového klubička je považován za obranný mechanismus hostitelské buňky proti přílišnému rozvoji houbové infekce, která se může stát patogenní. Přenos uhlíkatých látek z dospělých fotosyntetizujících rostlin do houby byl potvrzen poměrně nedávno (Cameron et al. 2006, Látalová & Baláž 2010).

Mykoheterotrofie má za následek i časté nahloučení většího počtu rostlin na menší ploše, protože semenáčky nacházejí v blízkosti mateřských rostlin vhodné mykorhizní houby. Částečně je dáno toto nahloučení pravděpodobně i vegetativním rozmnožením mateřské

¹ Orchideje jsou u nás na rozsáhlém ústupu, což započalo už v minulém století zejména činností člověka spojenou se zemědělstvím a výstavbou. Tak jako v minulosti činnost člověka v oblasti pastevectví a s ním spojeným mýcením lesů poskytla prostor pro významnější rozšíření lučních druhů našich zemních orchidejí, tak v současnosti jiné lidské aktivity toto rozšíření potlačují.

hlízy. Díky tomu jsou rostliny obvykle rozmístěny ve více nebo méně bohatých shlucích a směrem k okraji populace se nacházejí spíše jednotlivé rostliny. Podobný model je možno vztáhnout i na výskyt druhů v krajině, kdy kolem bohaté lokality vzniká více drobnějších, ale často dočasných populací (Ellenberg et al. 1991).

- **Semena orchidejí** jsou typická velkým počtem a malou velikostí. Díky svojí lehkosti mohou být snadno šířena vzduchem-větre (anemochorie) a díky své speciální stavbě (Obrázek 11) mohou být nesena až na vzdálenost několika kilometrů (Jersáková & Malinová 2007). Takových drobných semen je v jedné tobolce obsaženo několik tisíc až několik milionů a hmotnost jednoho semene se pohybuje v rozmezí od 0,31 do 24 μg (Arditti & Ghani 2000). Jsou tvořena nedokonale vyvinutým bezděložným embryem oválného tvaru uzavřeným testou. Embrya i testa se mezi jednotlivými rody navzájem liší velikostí a tvarem. Protože semena postrádají větší množství zásobních látek, je nutným předpokladem pro klíčení a další vývoj přítomnost mykorhizní houby, která umožní rostlině získání potřebných látek prostřednictvím mykoheterotrofie. Proto v přírodě semena klíčí jen na místech, kde se v půdě setkají s odpovídajícím druhem houby, splněny musí být samozřejmě i ostatní ekologické požadavky daného druhu. Tomu odpovídá celková strategie orchidejí, tj. produkce velkého množství lehkých semen. Po dopadu semene na zem semeno nejdříve nabobtná a v případě, že se setká se symbiotickou houbou, uvnitř skryté embryo protrhne testu a tímto otvorem nejčastěji pronikají dovnitř houbové hyfy. Po získání dostatečného množství živin pomocí mykoheterotrofie embryo začíná klíčit. Toto vývojové stádium nazýváme protokormem (Obrázek 12), který zůstává v půdě po několik týdnů, měsíců až let od začátku klíčení (Rasmussen & Whigham 1993). Semena lze uchovávat v semenných bankách a takto uchovaná semena můžou být následně cíleně použita. Nejpoužívanější je skladování zralých semen a jejich následné suché zmrazení na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Seaton & Pritchard 2003). Spolu se semeny orchidejí je nutné uchovávat i jejich symbiotické houby, což je možné dlouhodobě dělat při teplotě pod nulou v alginátových kapslích (Sommerville et al. 2009). Možnost je i skladování obojího (semen i hub) v tekutém dusíku při $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Seaton et al. 2010).



Obrázek 11 Semena orchidejí v tobolce (vlevo), detail semene (vpravo) (foto Jan Ponert, in HBH 2018a)



Obrázek 12 Protokorm orchidejí (vlevo), osmiměsíční semenáč – první prýt s kořenem (vpravo) (foto Jan Ponert, in HBH 2018a)

- Opylování orchidejí** je v biologii této skupiny rostlin obzvláště zajímavé a samozřejmě i důležité z hlediska celkového fungování druhu na lokalitě, i když u mnoha druhů, prstnatce pleťového (*Dactylorhiza incarnata*) nevyjímaje, nebývá přímo limitujícím prvkem ovlivňujícím výskyt druhu. Opylení některých druhů je vázáno na specifické opylovače a květní orgány jsou na ně proto také velmi dobře adaptovány. Vzhledem k tvorbě obrovského množství semen musí být při opylení zajištěn velký přísun pylu, proto se pylová zrna slepují v brylky, které jsou transportovány jako celek. Kvůli jejich velikosti je opylení vázáno na živočišné organismy. Opylení orchidejí zajišťují nejčastěji zástupci blanokřídlého hmyzu, z nich nejvíce samotářské a sociální včely, méně často vosy. Dále se na opylení podílí motýli, dvoukřídlí, ojedinele i příslušníci jiných řádů hmyzu, např. brouci (Procházka, 1980). Orchideje jsou většinou cizosprašné, ale existují i výjimky (včetně našich druhů), které patří mezi samosprašné, např. tořič včelonosný (*Ophrys apifera*), některé kruštíky a do jisté míry i okrotice bílá (*Cephalanthera damasonium*) (Procházka 1980) a někdy mezi těmito dvěma strategiemi není ostrá hranice. Když se hmyz snaží proniknout k jícnu ostruhy, narazí na rostellum vybíhající dopředu před bliznu. Rostellum se odchlípí a uvolní brylky, které do té doby vězely v lepidé tekutině. Tato tekutina po dotyku s hmyzem na vzduchu rychle tuhne a zajistí připevnění brylek nejčastěji na sosák, nebo jinou část těla hmyzu. Ten při opouštění květu vytáhne brylky z jejich pouzdra a odnese je s sebou. Stopky brylek pak ochabnou a při návštěvě dalšího květu se nalepí na bliznu. Takto může dojít k oplození více květů pylem z jedné brylky. Nutno podotknout, že orchideje se při opylení chovají velmi „sobecky“, protože tento proces se pro hmyz nesoucí brylky často stává příčinou smrti. Někdy je hmyz odměněn nektarem, jindy (u druhů se šálivými květy) rostlina spoléhá na nezkušené jedince, kteří květ navštíví jen jednou, dokud nezjistí, že zde na ně potrava nečeká, čehož využívají druhy kvetoucí časně (např. *Cephalanthera rubra*) (Gumbert & Kunze 2001). V některých případech orchideje využívají principu tzv. pseudokopulace (např. rod *Ophrys* – tořič), jejichž květy mají pysk nápadně připomínající samičku specifického hmyzu a lákají samečka, který se při pokusu spářit se s touto atrapou stane nedobrovolným nositelem brylek. Jeden sameček může být takto oklamán několikrát, protože barevné a tvarové kombinace pysku se mohou lišit. Optický klam je navíc podpořen vůní, která velmi připomíná pach feromonů samičky.

Studie 2018 dále uvádí kritické momenty kultivace našich orchidejí:

- Klíčení semen a jejich následná kultivace in vitro** je v současnosti pravděpodobně jednou z nejvíce probádaných oblastí celého procesu. Přesto však pokusům o vyklíčení doposud

vzdorují zejména plně mykotrofní druhy a rovněž některé oddenkaté orchideje rodů *Cephalanthera* nebo *Epipactis*. Klíčení semen našich orchidejí se provádí (velmi podobně jako klíčení tropických orchidejí) většinou asymbioticky in vitro. Jako alternativa existuje způsob symbiotického výsevu in vitro nebo výsev semen k matečním rostlinám pěstovaným v kultuře. Je však třeba podotknout, že orchideje jsou chráněné mezinárodní úmluvou CITES, která z důvodu tzv. předběžné opatrnosti zakazuje i sběr semen.

- **Přenos semenáčků pěstovaných in vitro do vnějšího prostředí umělé kultury** (nikoliv do přírody) je dalším kritickým okamžikem, protože typicky nitrifikované mladé rostliny se musí vyrovnat s náparem patogenů a míra úspěšnosti je silně závislá na vegetační fázi, použitém substrátu a vhodných okolních podmínkách (teplota, vlhkost, světlo aj.). Dá se však říci, že i tato etapa je obecně řešitelná.
- **Pěstování dospělých rostlin** se daří u hlíznatých a části oddenkatých orchidejí. Převážně neúspěšné jsou pak pokusy o kultivaci tzv. silně až plně mykotrofních druhů, z nichž některé postrádají chlorofyl. Bylo zveřejněno mnoho složení substrátů, které měly zajistit úspěšné pěstování, ale bohužel výsledky byly nereprodukovatelné, příp. jen dočasné. Kořeny našich orchidejí jsou totiž velmi náchylné na hnilobu, jejichž příčinou jsou zatím neidentifikované patogenní mikroorganismy (houby nebo bakterie). Dříve byly tyto neúspěchy přičítány vymizení mykorhizní houby z kořenů orchidejí, přičemž právě ona mykorhiza měla být pro život orchideje nepostradatelná. Nasvědčovalo tomu např. i to, že uhynuly i orchideje přesazené do substrátu, ve kterém rostly v přírodě. Dnes je však tento názor překonán, nicméně problematika stále není zcela spolehlivě vyřešena. Zdá se, že hnilobě kořenů orchidejí lze zabránit podpořením vhodného edafonu v pěstební nádobě, a to pomocí hub (které však nemají nic společného s mykorhizou). Tyto houby fungují jako antibiotická ochrana proti patogenním organizmům. V Německu se např. prodává substrát obsahující zárodky některých hub, přičemž němečtí pěstitelé mají s tímto substrátem velmi dobré zkušenosti. Tento substrát lze napodobit tak, že se do osvědčeného substrátu přidávají např. kousky tlejícího dřeva s myceliem dřevokazných hub.
- **Přenos kultivovaných rostlin do přírody.** Nad poslední fázi úspěšného navrácení kultivovaných rostlin na příhodná stanoviště dnes visí zřejmě největší počet otazníků, neboť o tématu existují pouze nejasné a kusé zprávy bez důležitých detailů o dosažených výsledcích. Touto problematikou se již po několik let zabývá Královská botanická zahrada Kew Garden ve Velké Británii, avšak výsledky již realizovaných projektů nejsou veřejně dostupné z obav o další osudy zachráněných lokalit. Jako neúčinnější se dle některých pramenů jeví vysazování co nejsilnějších dospělých rostlin. Problém je v tom, že dospělá rostlina musí v přírodě mít takové podmínky, aby opět nenastávalo uhnívání kořenů podobně jako při umělé kultivaci.

Studie 2018 předkládá pouze stručný přehled možností transferu v zásadě spočívající v kombinaci několika postupů:

- **Symbiotický výsev semen in vitro.** V době zralosti se v terénu z populace, která má být reintrodukována, získají semena, a v laboratoři se poté kultivují spolu s mykorhizní houbou. Semena je nutné před samotným výsevem sterilizovat, a to z důvodu zničení možných původců kontaminace, ale i kvůli narušení testy (svrchního obalu semen), čímž se stává semeno prostupnější pro vodu (Barsberg et al. 2013). Sterilovaná semena se vysévají přímo

na tuhé médium s mykobiontem, nebo na kousek papíru (Zettler a Hofer 1997). Jednou z možností je i výsev pomocí sterilní injekční stříkačky s odpovídajícím množstvím vody. Po laboratorní kultivaci se rostliny cca po roce přenesou do kultivace ex vitro, kde se pěstují do dostatečné velikosti, aby byly schopné zvládnout přesazení do terénu. Experimentálně bylo přímo u prstnatce pleťového vyzkoušeno, že stačí získat sterilní rostliny o velikosti cca 20 cm (Veselá 2008), z jiné studie je definována doba kultivace ex vitro 2 roky (Shirokov et al. 2017). Celková doba kultivace do okamžiku vysazení rostlin na cílovou lokalitu tedy trvá cca 3-4 roky.

- **Asymbiotický výsev semen in vitro.** Jedná se o metodu generativního rozmnožování, při které je přítomnost houbového endofyta nahrazena zdrojem uhlíkatých látek v živném médiu (Vejsadová et al. 2002; Sommerville et al. 2009). Bylo zjištěno, že mezi podstatné faktory, které pozitivně ovlivňují růst a vývoj in vitro semenáčů rodu *Dactylorhiza*, patří růstové regulátory (Vejsadová 2006; Wotavová et al. 2007). V in vitro kulturách se používají jednak cytokininy, které podporují buněčné dělení i tvorbu adventivních pupenů, a také auxiny pro stimulaci prodlužovacího růstu buněk, rostlinných orgánů a tvorby kořenů (Rasmussen 1995). Převod in vitro semenáčů do ex vitro podmínek je obtížný v závislosti na stupni jejich mykotrofie. Druhy, které jsou v dospělosti prakticky zcela autotrofní, nezávislé na přítomnosti houbového endofyta, se převádějí do nesterilních podmínek snadněji (Procházka 1980). Podle Vlašínové (1988) je pro převod semenáčů důležitá především hlíza s kořenovou částí, neboť listy většinou při přenosu usychají. Zettler (1997) doporučuje substrát inokulovat vhodným houbovým symbiontem a poté přenést rostliny do skleníku s častým postřikem, aby se zabránilo dehydrataci rostlin. Vejsadová et al. (1998) ale použili pro repatriaci aklimatizované 20 měsíců staré semenáče *Dactylorhiza maculata* subsp. *maculata* přímo z in vitro podmínek. Ovšem pouze s 12% úspěšností, proto se mezifáze ve skleníku jeví jako vhodná varianta.
- **Výsev semen přímo na stanoviště.** Jednou z možností obnovy orchidejových populací je rozsévání semen na příhodná stanoviště (McKendrick et al. 2000). Buď se v tomto případě přidává do půdy v místě výsevu tuhé médium s mykobiontem, či roztok, a to se smíchá s autochtonním substrátem, kam se semena vysejí. Možný a používaný je také postup, kdy se posilují stávající populace orchidejí semeny odjinud tak, že se opatrně naruší vegetační kryt kolem stávajících rostlin a na obnaženou půdu zbavenou konkurence se vysévají ke kořenům semena, která díky blízkosti dospělých jedinců svého druhu budou mít zajištěna i přítomnost potřebného mykobionta (ČSOP Arion in verb.).
- **Transfer dospělých rostlin.** Někdy je nutné provést transfer přímo přenosem dospělých jedinců z místa na místo. Naráží to však na mnohá úskalí, kvůli kterým se dospělá rostlina nedokáže v novém prostředí ujmout a transfer není úspěšný. Zejména je to problematika konkurence okolní vegetace (je problematická v případě jakéhokoliv přenesení jedinců na nové místo v přírodním prostředí). Konkurenci lze řešit při samotném přesazení aplikací kontaktního herbicidu a teprve po jeho zaschnutí následně provést samotné přesazení (Veselá 2008). Kromě jednotlivých rostlin je možné transplantovat i celé půdní bloky (Mudrák et al. 2016), které jsou stabilnější a méně trpí samotným aktem přesazení. Transplantace bloků půdy je finančně náročná a v případě orchidejí se používá jen v případě zániku původní populace.

6 PODROBNÝ NÁVOD S FORMULACÍ KONKRÉTNÍCH METOD A POSTUPŮ TRANSFERU PRSTNATCE PLEŤOVÉHO (*DACTYLORHIZA INCARNATA*) Z TĚLESA STARÉ DÁLNIČKY DO ÚZEMÍ PP ČTVRTKY ZA BOŘÍM

Nezbytným předpokladem pro úspěšně realizovaný transfer prstnatce pleťového (*Dactylorhiza incarnata*) z dotčeného území tělesa staré dálnice (viz kapitola 3) je docílení stavu, kdy zde budou dostatečně životaschopní fertilitní jedinci tohoto druhu (ideálně již ve vegetační sezóně 2022), schopní vytvořit plně vyvinuté plody (tobolky) s klíčovými, tj. neabortovaná embrya nesoucími semeny. Managementová opatření budou spočívat zejména v každoročním kosení travnatých ploch na předem určené lokalitě v termínech a rozsazích zohledňující vývoj populace druhu v území (září až říjen – bez omezení, resp. červen až červenec – s omezením pouze na plochy bez výskytu druhu v daném roce), případně dle potřeby odstraňování náletových dřevin či ruční narušování půdního povrchu pro potlačení konkurenčně silnějších druhů. Dle zkušeností z vegetační sezóny roku 2021 je třeba zahrnout rovněž ochranná opatření proti biotickým faktorům – plži, mšice či zvěř – území s výskytem druhu tak bude oploceno (zabránění nežádoucímu sešlapu či okusu zvěří) a dle potřeby budou aplikována opatření proti škůdcům (mechanická či chemická ochrana jednotlivých jedinců). Vývoj zdejší populace bude zejména v období dubna až července pravidelně monitorován a dle potřeby budou zaváděna účinná opatření k dosažení stavu jedinců s plně vyvinutými plody.

Jako bezprostředně následující krok po sběru plně zralých tobolek je navrhován asymbiotický, tedy bez přítomnosti kompatibilní mykorhizní houby realizovaný aseptický *in vitro* výsev na vhodná agarová média. Pravděpodobnost úspěšného vyklíčení prstnatce pleťového (*Dactylorhiza incarnata*) je stejně jako u ostatních druhů prstnatců poměrně vysoká. Není nutné ani vhodné volit komplikovanější cestu symbiotických výsevů, které se používají u druhů, které asymbiotickému způsobu výsevu vzdorují – udržení rovnováhy mezi klíčícím semenem, popř. protokormem či mladou rostlinou a potenciálně patogenní mykorhizní houbou činí symbiotické výsevy z hlediska výsledku mnohem hůře predikovatelnými.

Následným krokem po úspěšném vyklíčení je subkultivace v dalších médiích v aseptickém *in vitro* systému, kam jsou rostliny přenášeny v rámci pasážování v několikátýdenních až několikaměsíčních intervalech, v závislosti na rychlosti vývoje rostlin. U tohoto druhu lze zdárný vývoj zabezpečit i bez přidavku růstových regulátorů do pěstebního média – jejich aplikace se sice může z hlediska rychlosti vývinu ukázat jako prospěšná, mohou však způsobit i retardaci růstu či smrt mladých rostlin; jako bezpečnější se tedy pro tento druh jeví jejich vynechání z pěstebního schématu.

Přibližně po jednoleté kultivaci *in vitro* (může být v případě pomalejšího růstu prodloužena) budou získané rostliny „vylahovány“, tedy převedeny do nesterilního prostředí *ex vitro*. Praktické zkušenosti s tímto krokem ukazují, že není nutné záměrně introdukovat k podzemním částem mladých rostlin kompatibilní mykorhizní houbu. Při kultivaci rostlin ve skleníkových podmínkách, kde jsou pěstovány orchideje širokého taxonomického spektra (a tedy i spektrum jejich mykorhizních hub je dostatečně široké) dochází ke spontánní kolonizaci podzemních orgánů prstnatců vhodnou houbou. Alternativně lze využít k zaočkování houby asociující se s jinými druhy prstnatců, které má dr. Baláž ve své sbírce (např. *D. saccifera*, *D. foliosa* a další).

Po následné minimálně jednoleté, lépe však víceleté kultivaci jsou rostliny schopny introdukce na přírodní lokalitu. Vzhledem k faktu, že se bude jednat o již mykorhizované rostliny, není nezbytný

přenos do těsné blízkosti stávajících rostlin prstnatce pleťového (*Dactylorhiza incarnata*) na cílové lokalitě PP Čtvrtky za Bořím – minimalizuje se tím riziko jejich poškození.

Zejména v případě, kdy výsev a převod rostlin budou vysoce úspěšné (a potenciálně lze získat v takovém případě z jednoho výsevu až stovky juvenilních rostlin), jako vhodné dlouhodobé opatření se jeví ponechat jejich část ve vhodných kultivačních prostorách a po jejich maturaci je využívat jako dlouhodobý zdroj dalších rostlin a semen vhodných na introdukce na vhodné lokality. Tímto lze částečně eliminovat riziko, že introdukce na náhradní lokalitu v daném roce z důvodu extrémního počasí (zejména vysoké teploty a sucho) bude málo úspěšná.

Těsně před započítáním výstavby, ideálně v období květen až červenec, kdy jsou dobře vyvinuty snadno identifikovatelné prýty tohoto druhu, navrhujeme přenos všech rostlin z lokality v dotčeném území tělesa staré dálnice na náhradní lokalitu, tedy do PP Čtvrtky za Bořím. Tento krok je třeba velmi pečlivě a poměrně dlouho dopředu naplánovat, protože nalezení rostlin mimo období jejich hlavního vegetačního růstu může být velmi obtížné až nemožné. Navrženým postupem je přesazení samotných rostlin bez bloků intaktní půdy, v případě poměrně odolných druhů, kterými prstnatce jsou, jde o osvědčený způsob přenosu.

Nedílnou součástí činností souvisejících s transferem je rovněž průběžné sledování stavu populace prstnatce pleťového (*Dactylorhiza incarnata*) na území PP Čtvrtky za Bořím pro získání přehledu o její početnosti a lokalizaci jednotlivých jedinců před vlastním přenosem transferovaných jedinců na náhradní lokalitu. Tento monitoring je vhodné zahájit v předstihu alespoň dvou sezón před sezónou vlastního přenosu. Výstupem monitoringu bude zejména stanovení přesné pozice náhradní lokality v prostoru severní louky PP Čtvrtky za Bořím, doplňkově rovněž případný návrh lokálních terénních úprav území pro zvýšení pravděpodobnosti úspěšnosti transferu. Uvedené bude před vlastní realizací transferu projednáno a odsouhlaseno věcně a místně příslušným orgánem ochrany přírody (Krajský úřad Jihomoravského kraje); z jednání bude pořízen zápis. Skutečnost navrženého transferu a případná doplňková opatření v prostoru náhradní lokality je dále vhodné začlenit do textu nového plánu péče PP Čtvrtky za Bořím.

Území náhradní lokality a stav zdejší populace druhu budou následně po realizovaném transferu monitorovány nejméně po dobu tří let ode dne provedené přenosu transferovaných jedinců do PP Čtvrtky za Bořím. Zpracovatel monitoringu bude v úzkém kontaktu s věcně a místně příslušným orgánem ochrany přírody, který zde prostřednictvím pověřených subjektů realizuje management území ve prospěch předmětu ochrany PP Čtvrtky za Bořím. Vzhledem ke skutečnosti, že náhradní lokalitou je území, kde jsou managementem dlouhodobě sledovány zájmy výskytu vstavačovitých rostlin (vč. prstnatce pleťového), bude management v hrubých rysech shodný s opatřeními dle aktuálně platného Plánu péče o přírodní památku Čtvrtky za Bořím na období 2015–2024 (Chalupa 2014), tedy zejména každoroční kosení travnatých ploch na předmětné lokalitě v termínech a rozsazích zohledující vývoj populací cílových druhů v území. Doplňkově pak lze ve vlastním území transferovaných jedinců realizovat ruční narušování půdního povrchu pro potlačení konkurenčně silnějších druhů, příp. doplnění ochranných opatření proti biotickým faktorům (lokální oplocení, aplikace opatření proti škůdcům apod.).

7 ZÁVĚR

Obsahem předložené studie je **podrobný návod s formulací konkrétních metod a postupů transferu prstnatce pleťového (*Dactylorhiza incarnata*) z tělesa staré dálnice na vhodné náhradní lokality**. Předložený podrobný návod úzce navazuje na studii zpracovanou v roce 2018 (Studie pro transfer prstnatce pleťového z tělesa Staré dálnice na vhodné náhradní lokality (HBH 2018a)) v podobě přehledu možností, které jsou dle biologie druhu z hlediska řešené problematiky relevantní.

Podrobný návod s formulací konkrétních metod a postupů transferu prstnatce pleťového (*Dactylorhiza incarnata*) z tělesa staré dálnice do území PP Čtvrtky za Bořím lze shrnout následujícím způsobem:

1. Zajistit vhodným managementem životaschopnou populaci prstnatce pleťového (*Dactylorhiza incarnata*) v dotčeném území tělesa staré dálnice tak, aby mohl být realizován odběr tobolek se semeny.
2. Ihned po odběru semen tyto axenicky vyset na vhodná agarová média.
3. Následné subkultivace v asymbiotickém in vitro pěstebním systému (minimálně 1 rok).
4. Převod do ex vitro podmínek, pěstování mladých rostlin pro jejich otužení a zvětšení jejich velikosti (minimálně 1 rok, lépe dvě a více vegetačních sezón).
5. Introdukce takto získaných rostlin na náhradní lokalitu. Část rostlin ponechat v dlouhodobé kultivaci pro následné introkuce semen či rostlin.
6. Těsně před započatím stavby provést přenos všech dohledatelných jedinců z dotčené lokality na náhradní lokalitu.

Ve vztahu k náhradní lokalitě severní louky PP Čtvrtky za Bořím pak je třeba realizovat následující činnosti:

1. Průběžné sledování stavu populace prstnatce pleťového (*Dactylorhiza incarnata*) na území PP Čtvrtky za Bořím pro získání přehledu o její početnosti a lokalizaci jednotlivých jedinců v předstihu alespoň dvou sezón před vlastním přenosem transferovaných jedinců na náhradní lokalitu.
2. Stanovení přesné pozice náhradní lokality v prostoru severní louky PP Čtvrtky za Bořím, doplnkově rovněž případný návrh lokálních terénních úprav území pro zvýšení pravděpodobnosti úspěšnosti transferu – s vazbou na projednání a odsouhlasení věcně a místně příslušným orgánem ochrany přírody.
3. Monitoring území náhradní lokality a stavu zdejší populace druhu nejméně po dobu tří let ode dne provedené přenosu transferovaných jedinců do PP Čtvrtky za Bořím. Vazba výstupů monitoringu území s prováděným managementem, který zde prostřednictvím pověřených subjektů realizuje věcně a místně příslušný orgán ochrany přírody.

V Brně dne 30. 9. 2021

Mgr. et Ing. Petr Švehlík

*držitel autorizace k provádění hodnocení ve smyslu § 67 podle § 45i zákona č. 114/1992 Sb.
(č.j. MZP/2021/610/1696)*

*držitel autorizace ke zpracování dokumentace, posudku a vyhodnocení podle § 19 zákona
č. 100/2001 Sb. (č.j. MZP/2021/710/2990)*

8 POUŽITÉ ZDROJE

- Agentura ochrany přírody a krajiny (2009): Metodické listy AOPK ČR č. 18, Záchranné programy.
- Arditti J., Ghani Aka. (2000): Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications. *New Phytologist* 145: 367–421.
- Bábková-Hrochová M. (2004): Banka semen ohrožených druhů při Vlastivědném muzeu v Olomouci. *Expozice ohrožených druhů rostlin – 1. část. – Zprávy Vlastivědného muzea v Olomouci*, 281: 1–12.
- Baláž M. (1999): Orchideoidní mykorrhiza – mýty a skutečnost. *Roetziana*, Brno, 28: 48–52.
- Basberg S., Ramussen H. N., Kodahl N. (2013): Composition of *Cypripedium Calceolus* (Orchidaceae) seeds analyzed by attenuated total reflectance IR spectroscopy: in search of understanding longevity in the ground. *American Journal of Botany* 100: 2066–2073
- Brundrett Mc. (2007): Scientific approaches to Australian temperate terrestrial orchid conservation. *Australian Journal of Botany* 55: 293–307.
- Cameron, D.D., Leake, J.R., Read, D.J. (2006): Mutualistic mycorrhiza in orchids: evidence from plant–fungus carbon and nitrogen transfers in the green-leaved terrestrial orchid *Goodyera repens*. *New Phytologist* (2006) 171: 405–416.
- De Pauw, M. A., Remphrey, W. R., Palmer, C. E. (1995): The cytokinin preference for in vitro germination and protocorm growth of *Cypripedium candidum*. *Annals of Botany*, vol. 75, no. 6, s. 267–275.
- Ellenberg H. et al. (1991): Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa. *Scripta Geobotanica*, Göttingen.
- Frosch, W. (1983): Asymbiotische Vermehrung von *Ophrys holoserica* mit Blüten nach 22 Monaten. *Die Orchidee*, vol. 34, s. 58–61.
- Godefroid S, Piazza C., Rossi G., Buor S., Stevens A.D., Aguraiuja R., Cowell C., Weekley C. W., Vogg G., Iriando J. M., Johnson I., Dixon B., Gordon D., Magnanon S., Valentin B., Bjureke K., Koopman R., Vicens M., Virevaire M., Vanderborght T. (2011): How successful are plant species reintroductions? *Biol. Conserv.*, 144, 672–682.
- Grulich V. & Chobot K. [eds.] (2017): Červený seznam ohrožených druhů České republiky. Cévnaté rostliny – Příroda, Praha, 35: 1–178.
- Hadley G (1982): European terrestrial orchids – In *Orchid Biology II*, pp. 295–303. Cornell Univ. Press, Ithaca.
- Harvais, G. (1982): An improved culture medium for growing the orchid *Cypripedium reginae* axenically. *Canadian Journal of Botany*, vol. 60, no. 12, s. 2547–2556.
- HBH Projekt spol. s r.o. (2018a): D43 Lysice/Bořitov – Svitávka – Podklady a průzkumy pro stupeň DÚR. Studie pro transfer prstnatce pleťového z tělesa Staré dálnice na vhodné náhradní lokality. Depon in ŘSD ČR.
- HBH Projekt spol. s r.o. (2018b): D43 Lysice/Bořitov – Svitávka – Podklady a průzkumy pro stupeň DÚR. Podrobný doplňující biologický průzkum a biologické hodnocení. Depon in ŘSD ČR.
- Chalupa, J. (2014): Plán péče o přírodní památku Čtvrtky za Bořím na období 2015–2024.

- Chytrý M., Kučera T., Kočí M., Grulich V. & Lustyk P. (eds) (2010): Katalog biotopů České republiky. Ed. 2. Agentura ochrany přírody a krajiny ČR, Praha.
- Jatiová M. et Šmiták J. (1996): Rozšíření a ochrana orchidejí na Moravě a ve Slezsku. Arca JiMfa, Třebíč.
- Jersáková J, Malinová T. (2007): Spatial aspects of seed dispersal and seedling recruitment in orchids. *New Phytologist* 176: 237–214.
- Kaplan Z. (2009): Rizika spojená s vysazováním rostlin do přírody. *Vesmír* 88, 54.
- Klaudisová A. (2002): Metodika pro zpracování záchranných programů pro zvláště chráněné druhy cévnatých rostlin a živočichů, Agentura ochrany přírody a krajiny ČR, Praha.
- Klimešová L. (2016): Obnova orchidejových populací na narušených stanovištích. Bakalářská práce, 75p, Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích, Přírodovědecká fakulta.
- Kubát K., Hrouda L., Chrtek J. Jun., Kaplan Z., Kirschner J. Et Štěpánek J. [eds.] (2002): Klíč ke květeně České republiky. – Academia, Praha.
- Láníková D., Láník B. (2009): Překvapení v opuštěném lomu – nová lokalita přesličky různobarvé v České republice. *Živa*. 6/2009. str. 254-255.
- Látalová, K., Baláž, M. (2010): Carbon nutrition of mature green orchid *Serapias strictiflora* and its mycorrhizal fungus *Epulorhiza* sp. *BIOLOGIA PLANTARUM* 54 (1): 97-104.
- Liu H., Ren H., Liu Q., Wen X. Z., Maunder M., Gao J. Y. (2015): Translocation of threatened plants as a conservation measure in China. *Conservation Biology*, 29: 1537-1551.
- Malmgren, S. (1996): Orchid propagation: theory and practice. *Proceedings of the North American Native Terrestrial Orchid Conference*, 16.–17. March 1996, Germantown, Maryland, p. 63–71.
- McKendrick S. L., Leake J. R. and Read D. J. (2000): Symbiotic germination and development of mycoheterotrophic plants in nature: transfer of carbon form ectomycorrhizal *Salix repens* and *Betula pendula* to the corallorhiza *trifida* through shared hyphal connections. *New Phytologist* 145: 539-548.
- Michl, J. (1981): Pěstování a množení evropských orchidejí. *Roetziana*, č. 12, s. 29–41.
- Mitchell, R. B. (1989): Growing hardy orchids from seeds at Kew. *The Plantsman*, vol. 11, p. 152–169.
- Mudrák O., Fajmon K., Jongepierová I., Doležal J. (2016): Restoring species – rich meadow by means of turf transplantation: long-term colonization of ex-arable land. *Applied Vegetation Science*.
- Münzbergová Z., Härtel H., Grulich V. Adamec L. (2016): Setkání botaniků k tématu ohrožených a vzácných druhů naší květeny. *Živa* č. 3.
- Pánková H. Münzbergová Z., Kříž K. (2018): Záchrané pěstování ohrožených rostlin v soukromých zahradách. *Fórum ochrany přírody* 1/2018, 28-32.
- Pavlík P. (2001–2010): Zpráva o transferu rostlin za rok 2001–2010 (35 p., 22 p. příl., 5 map., 2001; 10 p., 7 p. příl., 5 map., 2002; 26 p., 6 p. příl., 5 map., 2003; 24 p., 38 p. příl., 5 map., 2004; 34 p., 16 p. příl., 2005; 48 p., 14 p. příl., 2 map., 2006; 32 p., 22 p. příl., 2007; 18 p., 11 p. příl., 2008; 17 p., 21 p. příl., 2009; 18 p., 22 p. příl., 2010), Štramberk – Kotouč. – Ms. [Depon. in BZA Štramberk, AOPK Ostrava, MŽP Praha].

- Pavlík P. (2005): Záchrané transfery rostlin z velkolomu Kotouč Štramberk. – In: Sekerka P. [ed.]: Sborník z konference Introdukce a genetické zdroje rostlin. Botanické zahrady v novém tisíciletí. – Botanická zahrada hl. m. Prahy, Praha, p. 164–170.
- Pavlík P. (2009): Zpráva o transferu okrotice dlouholisté (*Cephalanthera longifolia*), lilie zlatohlavé (*Lilium martagon*) Velké Hydčice – Hejná – Rabí. – 10 p., append., ms. [Depon. in Krajský úřad Plzeňského kraje, Plzeň].
- Pivoňková L. (2011): Transfer Okrotice dlouholisté a Lilie zlatohlavé z vrchu Radvanka u Velkých Hydčic. CALLUNA Časopis západočeských botaniků, ROČNÍK 16 ČÍSLO 1.
- Plesník J. (2012): Úspěšnost repatriací u rostlin: všechno je jinak? Ochrana přírody č. 4, str. 36.
- Rasmussen H. N., Whigham D. (1993): Seed ecology of dust seeds in situ: a new study technique and its application in terrestrial orchids. American Journal of Botany 80: 1374–1378.
- Rasmussen, H. N. (1995): Terrestrial orchids: from seed to mycotrophic plant. Cambridge University Press, Cambridge, 444 p.
- Rasmussen, H. N. (2002): Recent developments in the study of orchid mycorrhiza. Plant and Soil, vol. 244, no. 1–2, p. 149–163.
- Seaton P. T., Hu H., Perner H., Prichard H W. (2010): Ex situ conservation of orchids in warming World. Botanical Revue 76: 193-203.
- Seaton P. T., Pritchard H. W. (2003): Orchid germplasm collection, storage and Exchange. Pp 227-258. In: Dixon K. W., Kell S. P., Barrett R. L., Cribb P. J. (eds). Orchid conservation. Natural History Publications, Kota Kinabalu, Sabah.
- Shirokov et al. (2017): Reintroduction of *Dactylorhiza incarnata* into the natural habitats of the European Russia, Applied ecology and environmental research 15(1): 445-455.
- Sommerville K. D., Siemon J. P., Wood C. B., Offord C. A. (2009): Simultaneous encapsulation of seed and mycorrhizal fungi for long-term storage and propagation of terrestrial orchids. Australian Journal of Botany 56: 609-615.
- Tlusták V. (2000): Ochrana mokřadní vegetace na příkladu řešení úkolu „Záchrana, kultivace a transfery ohrožených druhů rostlin v zátopovém území VN Turček“. – In: Anonymus (ed.): Praktická ochrana vegetácie. AOPK Banská Bystrica, 9–13.
- Vejsadová, H. (2006): Factors affecting seed germination and seedling growth of terrestrial orchids under in vitro conditions. Acta Biologica Cracoviensia, vol. 48, no. 1, p. 109–113.
- Vejsadová, H. (2009): Ex situ kultivace ohroženého druhu *Platanthera bifolia* (L.) L.C. Richard. – Acta Pruhoniana, 93: 31–35.
- Vejsadová, H., Dostálek, J., Látalová, K. (1998): Ekobiologie a reintrodukce kriticky ohroženého taxonu *Dactylorhiza maculata* (L.) Soó subsp. *maculata* (Orchidaceae) v severních Čechách. Acta Pruhoniana, č. 66, s. 53–64.
- Vejsadová, H., Látalová, K., and Řízková, R. (2002): Influence of growth regulators on terrestrial orchid cultivation under in vitro conditions. Acta Pruhoniana, č. 73, s. 27–36.
- Veselá B. (2008): Moderní metody v záchraných programech orchidejí. Bakalářská práce, 34 p., depon. Masarykova univerzita v Brně, Přírodovědecká fakulta.

Vlašínová, H. (1988): Metodika množení *Orchis morio* v aseptických podmínkách. Brno, Quercus, 9, ZO ČSOP.

Vymyslický T., Bábková-Hrochová M. (2007): Repatriace vybraných ohrožených druhů rostlin na původní lokality v Národním parku Podyjí. *Thayensia* (Znojmo), 7: 231–237.

Wotavová, K., Vejsadová, H., Kindlmann, P. (2007): Effects of sugars and growth regulators on in vitro growth of *Dactylorhiza* species. *Biologia Plantarum*, vol. 51, no. 1, p. 198–200.

Zettler L. W., Hofer C. J. (1997): Propagation of the little club-spor orchid (*Platanthera clavellata*) by symbiotic seed germination and ecological implications. *Environmental and Experimental Botany* 39: 189-195.

Internetové zdroje:

Pladias. Databáze české flóry a vegetace. www.pladias.cz

Orchidea klub Brno. www.orchideaklub.cz

Malmgren Svante, Henric Nyström: Orchid propagation.
www.lidaforsgarden.com/orchids/orchis_eng.htm