

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Lucie Jankolová

Diverzifikace orchidejí ve Středomoří
Evolutionary history of *Orchidaceae* in the Mediterranean basin

Typ závěrečné práce:

Bakalářská práce

Vedoucí práce/Školitel: RNDr. Jan Ponert
Konzultant: Mgr. Ing. Pavel Trávníček, Ph.D.

Praha, 2017

Prohlášení

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

V Praze, 24.8.2017

Podpis

Poděkování:

Chtěla bych poděkovat svému školiteli, doktoru Ponertovi, za veškerou ochotu, pomoc a konzultace. Ráda bych také poděkovala Honzovi Sudovi, za motivaci ke studiu botaniky, kterou mi poskytl, a za sdílené nadšení z přírody.

Abstrakt:

Předmětem práce jsou vstavačovitě rostliny (čeleď *Orchidaceae*) s centrem výskytu v oblasti Středomoří. Pojednává se zde o vybraných blízce příbuzných rodech ze subtribu *Orchidinae*, konkrétně jde o rody *Anacamptis*, *Neotinea*, *Ophrys*, *Orchis* a *Serapias*. Tyto rody diverzifikují odlišnou mírou, některé čítají na stovky taxonů, jiné jich mají řádově pouze několik desítek. Práce je tedy zaměřena na faktory, které mohou mít vliv rozdílnou míru diverzifikace. Na základě dostupných dat se zdá, že hlavním faktorem zapříčiňujícím odlišnou míru diverzifikace je způsob lákání opylovačů. Sexuálně šálivé taxony diverzifikovaly více než ty s jinými opylovacími strategiemi.

Klíčová slova: evoluce, radiace, mediterán, *Orchidaceae*, diverzifikace, diverzita, Středomoří

Abstract:

This thesis focused on the plants of *Orchidaceae* family in the Mediterranean basin. I focused on selected closely related genera from the *Orchidinae* subtribe, namely *Anacamptis*, *Neotinea*, *Ophrys*, *Orchis* and *Serapias*. These genera diversified to a different rate, some of them containing hundreds of taxa, while others contain only few dozens of them. The work is therefore focused on the factors, that cause the differences in their diversification rate. Based on available results, the mode of pollinator attraction is probably the key factor responsible for different diversification rates. Sexually deceptive taxa diverged more than taxa with other pollination strategies.

Key words: evolution, radiation, mediterranean climate, *Orchidaceae*, diversification, diversity, Mediterranean basin

Obsah

1. Úvod.....	1
2. Speciace a diverzifikace orchidejí.....	1
3. Mechanismy druhové izolace u orchidejí.....	2
3.1. Vybrané rody středomořských orchidejí.....	3
3.1.1. Anacamptis.....	5
3.1.2. Neotinea.....	6
3.1.3. Ophrys.....	7
3.1.4. Orchis.....	12
3.1.5. Serapias.....	13
4. Vazba orchidejí na mykorhizní houby.....	16
5. Speciální procesy, které významně formovaly pojednávané druhy orchidejí.....	18
6. Závěr.....	20
7. Bibliografie.....	21

1. Úvod

Rostliny patří mezi nejrozmanitější organismy na Zemi. Orchideje (čeleď *Orchidaceae*) patří mezi druhově nejbohatší skupiny rostlin. V rámci Evropy leží centrum jejich diverzifikace ve Středomoří (Delforge 2006). Orchideje jsou velice různorodá skupina rostlin s krásnými květy. Nejspíše právě popularita této čeledi rostlin u široké veřejnosti však paradoxně odrazuje zájem mnoha profesionálních botaniků.

Při porovnávání počtů druhů (či taxonů) různých rodů se nelze ubránit jistým úvahám. Čím to je, že některé rody mají taxonů pouze řádově několik desítek (např. *Serapias*) a jiné jich čítají na stovky (např. *Ophrys*) (Delforge 2006)? Pokud chceme srovnávat počty druhů, můžeme poměrně snadno narazit na otázku, co to vlastně druh je. U některých případů jsou hranice druhů celkem snadno odlišitelné, jinde to ovšem není ani zdaleka tak jednoduché, což se týká především rodu *Ophrys* (viz kapitola 3.1.3).

Tato nezvykle bohatá čeleď si jistě zaslouží pozornost. V této práci se zaměřím na procesy, které u orchidejí mohou způsobovat, že některé diverzifikují neskonale více než jiné.

2. Speciace a diverzifikace orchidejí

V čeledi *Orchidaceae* je nepřehledné množství taxonů. Na jejich speciaci mohlo mít podíl velké množství různých faktorů. Počet druhů orchidejí se odhaduje na více než 26 000 (Chase et al. 2015), což by znamenalo, že čeleď vstavačovitých je největší čeledí rostlin na světě. Kromě Antarktidy najdeme zástupce *Orchidaceae* na všech kontinentech a nejvíce se jich vyskytuje v tropických oblastech (Dressler 1993).

Aby situace nebyla tak jednoduchá, většina druhů a někdy i rodů spolu velice ochotně hybridizuje (např. Bateman et al. 2003). Často tak najdeme do různé míry stabilizované hybridogenní taxony. Spolu s absencí fosilií vedl tento fakt k předpokladům, že čeleď *Orchidaceae* je poměrně mladá skupina, která vznikla někdy v eocénu a která dosud neustala ve svém počátečním rozvoji (Dressler 1993; Labandeira 1998).

Novější data získaná studiem orchidejí a objevy dalších fosilií však ukázaly, že orchideje jsou starší skupina vzniklá již před koncem křídý (Ramírez et al. 2007; Conran et al. 2009;

Givnish et al. 2015). Zatímco některé skupiny orchidejí ve svém vývoji ustaly, jiné opakovaně radiovaly a mnohé radiují dodnes (Chase et al. 2015; Givnish et al. 2015). Není zcela jasné, proč tomu tak je. Dávné radiace byly pravděpodobně uspíšeny různými adaptacemi orchidejí, například vytvořením brylek, přechodem na epifytický způsob života nebo vazbou na specifické opylovače (Givnish et al. 2015). V současné době však můžeme pozorovat podobné situace, kdy některé rody diverzifikují hodně, ale jim blízké příbuzné rody jen málo. Ačkoli je to rozhodně zajímavý fenomén, mnoho prací se těmito rozdíly nezabývá.

3. Mechanismy druhové izolace u orchidejí

U čeledi *Orchidaceae* se často vyskytují klamavé opylovací strategie, které mohou dosahovat různých úrovní specifity opylovače (Scopece et al. 2007). Přibližně u 60 % orchidejí je známý pouze o jediný druh opylovače (Tremblay 1992). Odhaduje se, že přibližně jedna třetina všech orchidejí je deceptivní (Van der Pijl & Dodson 1966). "Podvádějící" rostliny mají většinou mnohem méně druhů opylovačů a bývají specializované, ačkoli generalistické opylování se vyvinulo několikrát v podvádějících i v mutualistických liniích (Smithson 2009). Je zajímavé, že podvodné opylovací strategie u orchidejí nejspíše předcházely mutualismu s opylovači, nikoli naopak (Smithson 2009).

U méně specializovaných orchidejí je pro udržení druhu pravděpodobně podstatná postzygotická reprodukční izolace. Co se postzygotické reprodukční izolace týká, běžněji než časně zasahující postzygotické bariéry, jako je neživotaschopnost embrya nebo hybrida, se objevuje sterilita hybrida (Scopece et al. 2013). U potravně klamavých orchidejí může odlišnost karyotypů poskytující postzygotickou bariéru hrát důležitou roli v udržení hranic druhů sdílejících opylovače (Cozzolino et al. 2005). Dvojice druhů se společnými opylovači mají signifikantně odlišnější karyotyp než ty se specializovanými opylovači a tento efekt se vyskytuje napříč hlavními liniemi *Orchidinae* nezávisle na chromozomovém čísle (Cozzolino et al. 2004).

Orchideje, které nabízí odměnu, mívají mnohem větší množství pylu (Scopece et al. 2010). U odměňujících orchidejí může být ve větších populacích více semen, ale v důsledku inbrední deprese může docházet ke snížení životaschopnosti semen, zatímco u potravně klamavých orchidejí zůstává počet semen trvale menší a životaschopnost zhruba stejně vysoká (Meekers & Honnay 2011). Klamavé orchideje mají pylu méně, ten však mívá mnohem delší

trvanlivost a klíčivost (Bellusci, Musacchio, et al. 2010). Osobně by mě tedy zajímalo, jak velkou roli pak hraje časová reprodukční izolace druhů.

V důsledku rozvíjení molekulárních metod v posledních dvaceti letech došlo k četnému přehodnocování fylogenetických vztahů mezi rody i uvnitř nich. Morfologické analýzy totiž v tomto směru často nejsou spolehlivé, neboť například využívání stejného opylovače často vede k morfologické konvergenci (Paulus & Gack 1990), která není způsobena fylogenetickou příbuzností (Aceto et al. 1999).

Například u rodu *Orchis s.l.* se zjistilo, že je silně parafyletický a např. rod *Dactylorhiza* je hluboce vklíněný uvnitř něj (Aceto et al. 1999; Cozzolino et al. 1998).

V zájmu zachování monofyletičnosti taxonů byly některé druhy, původně rodu *Orchis*, začleněny do rodu *Neotinea* a jiné do rodu *Anacamptis*. Do rodu *Anacamptis* byly z rodu *Orchis s.l.* zařazeny druhy s chromozomovým číslem $n=32$ nebo 36 (Bateman et al. 2003; Inda et al. 2012), tedy například všechny druhy ze skupiny *O. morio* (Delforge 2006). Rod *Neotinea* má chromozomové číslo $2n=42$ nebo 40 , rod *Orchis* $2n=42$ (Bernardos & Amich 2002; Bernardos et al. 2004).

3.1. Vybrané rody středomořských orchidejí

Jak již bylo zmíněno (viz kapitola 2), u některých rodů je míra diverzifikace diametrálně odlišná než u jejich blízkých příbuzných. Příkladem může být Středomoří, kde se některé blízké příbuzné rody oddělily v přibližně stejnou dobu, počty jejich taxonů se však velice liší (viz již zmíněný kontrast mezi počty rodů *Serapias* a *Ophrys* a Tabulka 1) (Inda et al. 2012; Givnish et al. 2015).

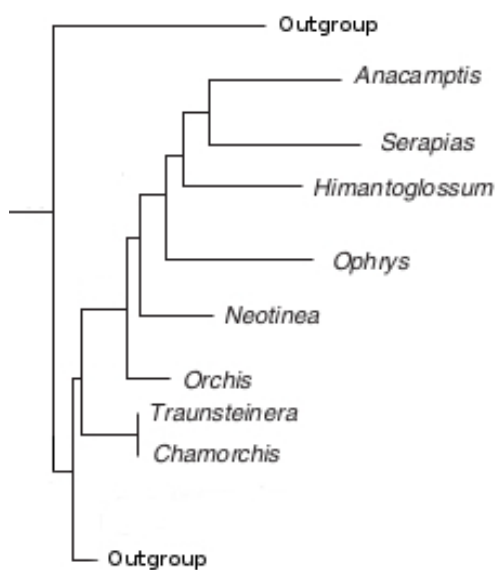
Nejčetnějším a nejdiskutovanějším středomořským rodem je rod *Ophrys*. Z ostatních rodů čeledi *Orchidaceae* je rod *Ophrys* asi nejpříbuznější rodům *Himantoglossum*, *Serapias* a *Anacamptis* (Cozzolino et al. 2001). Proto se ve své práci dále zaměřím na skupinu blízké příbuzných rodů ze subtribu *Orchidinae*, které mají centrum rozšíření ve Středomoří: *Anacamptis*, *Neotinea*, *Ophrys*, *Orchis* a *Serapias*.

	(Delforge 2006)		(Baumann et al. 2009)		(WCSP 2017)		Opylovací strategie
Rod	Počet druhů	Počet taxonů	Počet druhů	Počet taxonů	Počet druhů	Počet taxonů	
<i>Anacamptis</i>	21	28	12	26	9	18	nektar, potravně klamavá, (sexuálně klamavá?)
<i>Serapias</i>	28	30	16	30	15	24	úkryt, sexuálně klamavá
<i>Himantoglossum</i>	8	10	8	12	11	14	nektar, potravně klamavá
<i>Ophrys</i>	252	252	61	174	32	99	sexuálně klamavá, úkryt
<i>Neotinea</i>	6	6	4	4	4	6	nektar, potravně klamavá
<i>Orchis</i>	60	61	20	37	20	31	nektar, potravně klamavá, (sexuálně klamavá)

Tabulka 1: Počty druhů v rodech podle různých pojetí a opylovací strategie

Zařazení projednávané skupiny orchidejí v systému cévnatých rostlin:

Oddělení:	Krytosemenné	(<i>Magnoliophyta</i>)
Třída:	Jednoděložné	(<i>Lilipsida</i>)
Řád:	Chřestotvaré	(<i>Asparagales</i>)
Čeleď:	Vstavačovité	(<i>Orchidaceae</i>)
Podčeleď:	Vstavačové	(<i>Orchidoideae</i>)
Tribus:	<i>Orchideae</i>	
Subtribus:	<i>Orchidinae</i>	



Obrázek 1: Vzájemná fylogenetická pozice projednávaných a jim blízce příbuzných rodů.

Upraveno podle Inda et al. 2012

3.1.1. *Anacamptis* (rudohlávek)

Zástupci rodu *Anacamptis* se vyskytují hlavně ve střední a jižní Evropě. Na západě jejich areál rozšíření zasahuje do Anglie a Portugalska, jižní hranice pak vede přes severní Afriku do Izraele a Iráku (Baumann & Künkele 1989; Delforge 2006). Severní hranice areálu je

nespojité a většina druhů nezasahuje do severní Evropy, pouze *Anacamptis pyramidalis* a případně *A. morio* se vzácně vyskytují až v jižní Skandinávii (Baumann & Künkele 1989; Delforge 2006).

Tento rod tvoří mykorhizní symbiózu především s houbami čeledi *Tulasnelaceae*, *Ceratobasidiaceae* a *Pezizaceae* (Bailarote et al. 2012; Girlanda et al. 2011; Ercole et al. 2015).

Většina druhů rodu *Anacamptis* neposkytuje svým opylovačům žádnou odměnu. Květy mají zpravidla ostruhu, ta však neobsahuje nektar (Bell et al. 2009). V některých případech se může jednat i o tzv. Batesovy mimikry, kdy šálivé květy napodobují jiný druh rostliny, který nektar poskytuje. Asi nejlepším příkladem takové strategie je *A. israelitica* napodobující *Bellevalia flexuosa* (Dafni & Ivri 1981). Výjimkami jsou *A. coriophora*, *A. fragrans* a *A. sancta* které nektar pro své opylovače v menším množství obsahují (Dafni & Ivri 1979; Bell et al. 2009). Jako opylovači byli zaznamenáni především čmeláci (Smithson 2002; Johnson et al. 2004), ale i různé včely (Dafni & Ivri 1979). Druh *A. pyramidalis* má delší ostruhu a je uzpůsoben opylování motýly (Lind et al. 2007). U druhu *A. papilionacea* to vypadá, že je opylován nejen na základě potravního klamání, ale částečně i sexuálního klamání (Scopece et al. 2009).

Druhy rodu *Anacamptis* mají chromozomové číslo $2n=32$ nebo 36 (Bateman et al. 2003; Inda et al. 2012). *Anacamptis pyramidalis* se nicméně vyskytuje ve dvou ploidních úrovních, diploidní a tetraploidní, které jsou navzájem silně reprodukčně izolované (Pegoraro et al. 2016). Diploidi a tetraploidi se mírně liší, ne však do té míry, aby jejich morfologická odlišnost poskytovala florální izolaci přes specializované opylovače (Pegoraro et al. 2016).

3.1.2. *Neotinea*

Rod *Neotinea* byl poměrně nedávno výrazně přehodnocen a to, podobně jako rod *Anacamptis*, vyčleněním řady taxonů z rodu *Orchis s.l.* (Bateman et al. 2003). U tohoto rodu květ tvoří přílbu a pysk je rozdělený na tři části, z nichž prostřední má dva laloky (Inda et al. 2012).

Rod *Neotinea* se vyskytuje hlavně v oblasti Středomoří, některé druhy zasahují do střední Evropy (*N. tridentata*, *N. ustulata*) a *N. maculata* se vyskytuje i v jihovýchodním Irsku (pravděpodobně preglaciální relikv) (Delforge 2006). *N. maculata* také zasahuje nejdále na západ, na Kanárské ostrovy a na Madeiru. Nejvíce na východ zasahuje *N. tridentata* a to až do západního Iránu (Delforge 2006).

U druhů *Neotinea tridentata* a *N. ustulata* je zajímavé, že sympatrické populace spolu téměř nehybridizují, ale při pokusech křížení allopatrických populací se nevyskytly žádné poopylovací postzygotické bariéry, které by bránily vzniku hybridních potomků (Pellegrino 2016). V případě některých taxonů tohoto rodu není jasné, na jaké úrovni mají být rozlišovány. Například u druhu *N. ustulata* se vyskytují dvě formy, dříve a později kvetoucí, které byly rozlišovány někdy jako poddruhy a jindy jako bezvýznamná vnitrodruhová variabilita. Podle práce (Haraštová-Sobotková et al. 2000) však jde spíše o variety, které jsou časově poměrně dobře reprodukčně izolované.

Většina druhů rodu *Neotinea* má chromozomové číslo $2n=42$ (D'Emérico et al. 1990; D'Emérico et al. 2002)

Neotinea commutata je tetraploidní, nejspíše hybridogenního původu z *N. tridentata* a *N. lactea* (Pavarese et al. 2013).

3.1.3. *Ophrys* (tořič)

V rámci Mediteránu je asi nejdiverzifikovanější rod *Ophrys* (Delforge 2006). Tento rod díky své jedinečné květní morfologii a opylovací strategii dokáže zaujmout jak odborníky, tak amatérské nadšence. Právě to nejspíš vede k neobvyklé četnosti různorodých publikací vztahujících se k tomuto tématu.

Rod *Ophrys* je však kvůli své morfologické variabilitě velice problematickým ohledně taxonomie a definice druhu. Podle různých pojetí se počet druhů pohybuje od několika desítek (Pedersen & Faurholdt 2007) až po přibližně 250 (Delforge 2006). Navzdory své druhové bohatosti a rozrůzněnosti florální morfologie je rod *Ophrys* typický nízkou diverzitou DNA sekvencí (Soliva et al. 2001). Z toho lze usuzovat, že diverzifikoval poměrně pozdě. U mnoha taxonů je nedostatečná reprodukční izolace. Sympatrické taxony tohoto rodu spoléhají hlavně na předopylovací bariéry a poopylovací bariéry prakticky chybí (Hannes F Paulus & Gack 1990).

Vzhledem k tomu, že areály některých druhů byly v minulosti izolované, ale dnes se překrývají, je možné najít v přírodě mezidruhové hybridy a u mnoha druhů je lze získat i uměle (Hannes F Paulus & Gack 1990). Ani předopylovací bariéry tedy nefungují zcela dokonale. Počet hybridů však podezřele narůstá v závislosti na oblíbenosti lokality u milovníků orchidejí (Paulus 2015).

Reprodukční izolace je u některých tořičů dosaženo např. odlišnou dobou kvetení (časová izolace) nebo geografickou izolací (Hannes F Paulus & Gack 1990). Za jeden z nejvýznamnějších faktorů izolujících jednotlivé taxony je však považována specializace jednotlivých taxonů na odlišné druhy opylovačů (Sundermann 1975).

Většina druhů rodu *Ophrys* je opylována samečkami z řádu *Hymenoptera* za pomoci sexuálního klamání, takzvané pseudokopulace. Atraktivitu květů pro blanokřídlé samečky zprostředkovávají n-alkeny, které se vyskytují napříč čeledí *Orchidaceae*, a pravděpodobně byly preadaptací k sexuálnímu klamání (Schiestl & Cozzolino 2008). Tyto látky jsou v rostlinách přítomné v kutikule, kde pomáhají zamezit ztrátám vody (Hadley 1981; Schiestl & Cozzolino 2008). U některých orchidejí, včetně rodu *Ophrys*, získaly n-alkeny novou funkci v reprodukčních orgánech, což jim umožnilo využít různé vzorce reprodukčního chování opylovačů skrze chemické mimikry (Schiestl & Cozzolino 2008). Květy rodu *Ophrys* obsahují signifikantně větší absolutní množství n-alkenů a více druhů alkenů s dvojnými vazbami v různých pozicích (Schiestl & Cozzolino 2008). Co se týká taxonomie druhů, chemické složení vůně nebývá směrodatné, neboť může znamenat jak příbuznost taxonů, tak nezávisle vzniklou specializaci na stejný druh opylovače (Stöckl et al. 2005).

Předpokládá se, že sexuální klamání u tořičů se vyvinulo z potravního klamání, tedy napodobování květů nabízejících potravní odměnu (Scopece et al. 2010).

Do nedávna byla sexuálně klamavá strategie považovaná za záležitost patřící výlučně k čeledi *Orchidaceae*, ale byl již popsán případ sexuálního klamání i u čeledi *Asteraceae* v případě rostliny *Gorteria diffusa* a jejího opylovače, dlouhososky *Megapalpus* (*Diptera: Bombyliidae*) (Ellis & Johnson 2010) a u čeledi *Iridaceae* v sekci *Oncocyclus* rodu *Iris*, např. u *Iris paradoxa* a opylovače *Xylocopa valga* (*Hymenoptera: Apidae*) (Vereecken et al. 2012).

V minulosti byl rod *Ophrys* dělený celkem na dvě velké sekce. Sekci *Pseudophrys* a sekci *Euophrys*, které se liší pozicí opylovače v květu (Delforge 2006). U sekce *Pseudophrys* je hmyz orientovaný zadečkem do středu květu, v sekci *Euophrys* je tomu naopak (Delforge 2006). Fylogenetické analýzy sekvencí DNA však ukázaly, že sekce *Euophrys* (sensu Delforge 2006) je polyfyletická (Soliva et al. 2001). Je totiž vklíněná mezi větší množství skupin řazených do sekce *Euophrys* (Devey et al. 2008).

Dnes je možné na základě výsledků fylogenetických analýz rod *Ophrys* s jistotou rozdělit do zhruba deseti skupin, konkrétně jde o skupiny okolo druhů *O. insectifera*, *O. tenthredinifera*, *O. speculum*, *O. bombyliflora*, *O. apifera*, *O. sphegodes s. l.*, *O. fuciflora s. l.*, *O. scolopax s. l.* a *O. umbilicata* a monofyletickou skupinu odpovídající sekci *Pseudophrys* (Devey et al. 2008; Inda et al. 2012).

Rod *Ophrys* se od svých příbuzných patrně oddělil brzy, ale diverzifikoval poměrně pozdě (v období před přibližně 4,6 až 0,47 miliony let) s největší rychlostí diverzifikace v období pozdního Pliocénu nebo časného až středního Pleistocénu (Inda et al. 2012). V souladu s těmito výsledky se v bazálních pozicích nacházejí skupiny *O. insectifera* a *O. speculum*, přičemž každá z těchto skupin se skládá z jediného široce rozšířeného taxonu (*O. insectifera*, respektive *O. speculum*) a jen několika málo taxonů endemických či málo rozšířených (Delforge 2006).

Oproti převážné většině zbytku rodu *Ophrys* jsou skupiny *O. insectifera* a *O. speculum* opylované vosami rodů *Argogorytes* (Hymenoptera: Sphecidae) a *Dasycolia* (Hymenoptera: Scoliidae) (Delforge 2006; Inda et al. 2012). Právě kvůli tomu byly tyto skupiny řazeny k sobě. *Ophrys speculum* a *O. insectifera* však spolu neformují monofyletickou skupinu (Soliva et al. 2001). Malý počet druhů opylovaných vosami kontrastuje s množstvím a diverzitou mladších, včelami opylovaných, druhů. Předpokládá se tedy, že u vosami opylovaných druhů nedošlo k nijak extensivní radiaci. Nejvlivnějším faktorem u druhové radiace zřejmě není sexuální klamání jako takové, nýbrž přechod od sexuálního klamání cíleného na vosy k tomu, které je určené včelám (Breitkopf et al. 2015). Jednou došlo k návratu k opylování vosami (*O. cilicica* pravděpodobně opylovaný rodem *Argogorytes*) (Paulus & Hirth 2011), dvakrát k přesunu k opylování brouky (skupina *O. blitopertha* opylovaná rodem *Blitopertha* (Coleoptera: Scarabaeidae) (Paulus & Gack 1990; Paulus 2009) a některé populace *O. fuciflora* opylované rodem *Phyllopertha* (Coleoptera: Scarabaeidae) (Tyteca & Vereecken 2006)), jednou k přechodu k opylování čmeláky (*O. chestermanii* a *O. normanii* opylované *Bombus vestalis* (Hymenoptera: Apidae) (Paulus & Gack 1995)). U *O. helenae* došlo k přechodu od sexuálního klamavé strategie k poskytování úkrytu (Paulus & Gack 1993; Vereecken et al. 2012) Diskutabilní je možnost opylování některých druhů pestřenkami (Paulus 2006). Druh *O. apifera* je kromě opylování včelami fakultativně autogamický a jeho samoopylení zřejmě zprostředkovává vítr (Claessens & Kleynen 2002). K podobným přechodům na jiné opylovače došlo i u dvou mladých

stenoendemitů z výše zmíněné bazální skupiny *O. insectifera* opylované primárně vosami. *Ophrys subinsectifera* sexuálně klame samce blanokřídlých *Scterictiphora gastrica* (*Hymenoptera: Argidae*) (Souche 2007; Joffard et al. 2016) a *O. aymoninii* láká samce včel *Andrena combinata* (Paulus et Gack 1990, Joffard et al. 2016). Opylování včelami se tedy vyvinulo alespoň třikrát nezávisle na sobě, nicméně naposledy vzniklo teprve nedávno a dosud nevedlo k žádné významné radiaci.

K zajímavým změnám v lákání opylovačů, které nejspíš souvisí s diverzifikací tořičů, došlo i v rámci druhů opylovaných včelami (Breitkopf et al. 2015).

Nejstarší linie opylované včelami se vyvinuly v období před 3,0 až 1,2 miliony let a jsou opylované rodem *Eucera* (*Hymenoptera: Apidae*). Později, před zhruba milionem let, se začaly objevovat první druhy přecházející k opylování druhově bohatším rodem včel *Andrena* a posléze také druhy opylované několika menšími rody, např. *Anthophora* (*Hymenoptera: Apidae*), *Xylocopa* (*Hymenoptera: Apidae*) a *Chalicodoma* (*Hymenoptera: Megachilidae*) (Breitkopf et al. 2015). Je pravděpodobné, že s ustálením mediteránního sezónního subtropického klimatu v měnícím se životním prostředí kvartéru se podmínky staly přívětivé pro adaptaci na ještě nevyužitě velké skupiny blízce příbuzných a podobných opylovačů. Zejména vznik mozaikovitého prostředí, jak jej známe ze současného Mediteránu, mohl spustit diverzifikaci tamějších rodů včel. V důsledku možnosti využít tyto nové opylovače byly také spuštěny sekundární radiace rodu *Ophrys* (Breitkopf et al. 2015), ačkoli speciace sexuálně klamavých orchidejí jako taková je na geografické izolaci nejspíše nezávislejší než druhy s jinými strategiemi lákání opylovačů, u kterých jsou předopylovací bariéry většinou slabší (Scopece et al. 2007).

U zkoumání fylogeneze sexuálně klamavé australské *Chiloglottis* a jejích opylovačů se zjistilo, že proběhla podle již existující a diverzifikované populace opylovačů (Mant et al. 2002; Mant et al. 2005). Je tedy možné, že radiace rodu *Ophrys* probíhala podobně (Schiestl & Ayasse 2002), čemuž také nasvědčují výše uvedené výsledky popisující evoluci strategií lákání opylovačů u rodu *Ophrys*.

Sexuálně klamavá opylovací strategie lákání opylovačů může mít značné dopady na evoluční chování tořičů. Oproti potravně klamavým orchidejím u nich může být zvýšená pravděpodobnost opylení (Schiestl & Cozzolino 2008; Scopece et al. 2010). Zároveň může

výrazně podněcovat diverzifikaci, a to jednak nutnou specializací na konkrétní opylovače, také však například jinou pseudokopulační pozicí opylovače v květu (Devey et al. 2008) či specializací na odlišné letové vlny stejného druhu opylovače (Paulus & Hirth 2014).

Sexuální klamání může mít také vliv na populační chování rostlin. Při vyšší hustotě populace rostlin rodu *Ophrys* je možné, že se je hmyz naučí rychleji a lépe rozpoznávat a bude se tudíž květům vyhýbat (Xu et al. 2011). Tomu částečně zabraňuje nedokonalost sexuálních mimiker (Vereecken & Schiestl 2008), ale také nízká populační hustota obvyklá především u odvozenějších druhů tořičů (Jersáková et al. 2006; Vandewoestijne et al. 2009). Učení by mohla do jisté míry omezovat i variabilita kreseb na pysku květu mezi jedinci (Streinzer et al. 2010).

Podle výše uvedených informací se může zdát, že jednotlivé taxony tořičů se zcela striktně specializují na konkrétní opylovače a to je hlavní hnací silou jejich diverzifikace. Některé výsledky tomu nasvědčují (Xu et al. 2011; Schlüter et al. 2011), ale v některých případech je situace pravděpodobně složitější. V přírodě se často můžeme setkat s hybridy druhů se zcela odlišnými opylovači a výjimkou dokonce nejsou ani hybridogenní více či méně ustálené taxony (Devey et al. 2008). Mezidruhová hybridní kombinace morfologických znaků květů a složek vůně (Cortis et al. 2009). V případě vzniku křížence s natolik odlišným složením vůně, že již nepřitahuje původního opylovače, je zde možnost, že bude přitahovat jiný druh opylovače, a tak při úspěšné další reprodukci se nová populace jedinců rodu *Ophrys* izoluje od svých sympatrických rodičovských druhů a dá vznik druhu novému (Vereecken et al. 2010; Ayasse et al. 2011). To znamená, že proces diverzifikace by mohl být závislý na dostupnosti druhů opylovače a možnosti rostlin napodobit jeho pohlavní feromony obecně (Schiestl & Ayasse 2002).

Hybridizace tořičů ale může přinášet i nevýhody v podobě redukované fitness (Cortis et al. 2009). Studie hybridní zóny mezi dvěma hluboce oddělenými druhy tořičů, které konvergovaly ke stejnému opylovači, *O. iricolor* a *O. incubacea*, ukázala, že v přírodě se vyskytují nejspíš pouze F1 kříženci (Cortis et al. 2009), když nepočítáme zpětné křížence. Co se dalšího vývoje kříženců týká, hybridní opylovaní hybridním pylem nebyli plodní, rodičovské druhy opylované hybridním pylem produkovaly nějaká semena, ale pouze hybridní opylovaní rodičovským pylem produkovali signifikantní množství životaschopných semen (Cortis et al. 2009). Na existenci postzygotických bariér poukazuje také pozorování, že při porovnávání dvojice hlouběji oddělených druhů s různými, druhově specifickými opylovači (např. *O. fusca* a

O. tenthredinifera), se karyotyp liší mnohem méně než u druhů se společným opylovačem (D'Emérico et al. 2005; Cozzolino et al. 2004). Není však jasné, zda se podobné mechanismy uplatňují i mezi blízkými příbuznými taxony.

Chromozomy rodu *Ophrys* se liší v rámci sekcí, ale vzhledem k velikosti chromozomů a obsahu heterochromatinu si jsou všechny karyotypy velice podobné. U většiny druhů je počet chromozomů $2n=36$ (D'Emérico et al. 2005). U *O. fusca* jsou známy dvě ploidní úrovně: $2n=36$ a $2n=72,76$. U *O. dyris* se objevuje i pentaploidie ($2n=90$) (Bernardos et al. 2003), jinak podobně jako u *O. vasconica*, $2n=72$ (García-Barriuso et al. 2010). U některých jedinců bylo napočítáno chromozomů pouze 18, což by naznačovalo, že jedna sada se skládá pouze z devíti chromozomů, a tudíž se u rodu *Ophrys* běžně vyskytují tetraploidi, popřípadě oktaploidi či dekaploidi (Bernardos et al. 2003).

Ačkoli se nachází v bazální pozici, skupina okolo *O. insectifera* má nejasymetričtější karyotyp, což napovídá tomu, že zde asi proběhlo nejvíce chromozomových přestaveb, naproti tomu nejsymetričtější karyotyp má skupina *O. tenthredinifera* (D'Emérico et al. 2005).

3.1.4. *Orchis* (vstavač)

Rod *Orchis s.s.* se dělí na dvě hlavní větve, jednu tvoří skupina druhů s dlouhou ostruhou (např. *O. mascula*) a druhou větev tvoří skupina druhů, které mají ostruhu krátkou nebo jim zcela chybí (např. *O. italica*) (Cozzolino et al. 2001). Poměrně nově k tomuto rodu patří i *Orchis anthropophora* (dříve *Aceras anthropophorum*) (Aceto et al. 1999; Bateman et al. 2003).

Tento rod je rozšířený především v Mediteránu, areál některých druhů však zasahuje na východ na Kavkaz a na sever až do Anglie (Delforge 2006).

U rodu *Orchis* je zřejmě zamezováno vzniku hybridů tím, že na blizně je upřednostňován pyl stejného druhu před pylem druhu jiného (Luca et al. 2015). Po opylení pylem jiného druhu dochází k prodlevě před růstem pylové láčky a blizna zůstává receptivní. Pokud se tedy na bliznu poté dostane pyl stejného druhu, ten "má přednost" (Luca et al. 2015).

Velká část rodu *Orchis s.s.* je potravně klamavá. Většina druhů tedy nemá nektar, ale má ostruhu, která zvyšuje pravděpodobnost opylení, výjimkou je tedy v bazální pozici *O. anthropophora*, který má nektar a nemá ostruhu (Bell et al. 2009). Malé populace potravně

klamavých druhů rodu *Orchis* (např. *Orchis purpurea*) jsou silně limitované dostupností opylovače (Jacquemyn et al. 2007).

Orchis galilaea, pravděpodobně jako jediný druh tohoto rodu, využívá sexuálně klamavé opylovací strategie, ale v tomto případě u opylovačů nedochází ke pseudokopulaci (Bino et al. 1982; Delforge 2006). Tento druh se vyskytuje na poměrně malém území v okolí Galileje, od Izraele a západního Jordánska přes Libanon až do přilehlé části Sýrie (Delforge 2006; Baumann et al. 2009).

Orchis s.s. má chromozomové číslo $2n=42$ (Cozzolino et al. 2001; Bernardos et al. 2004).

3.1.5. *Serapias* (serapie)

Rod *Serapias* čítá kolem 25 druhů. (Delforge 2006) Molekulární fylogenetické analýzy potvrdily, že tento rod je monofyletický (Bateman et al. 2003). Má charakteristicky kápoovitý tvar květů, ve kterých k sobě přiléhají sepaly a petaly včetně bazální části pysku.

Tento rod se nachází hlavně ve středomoří, jeho rozšíření však sahá na severu do Bretaně a na východě po Kavkaz (Delforge 2006).

Rod *Serapias* je pravděpodobně blízce příbuzný rodu *Ophrys* (Bateman et al. 2003; Bellusci, Pellegrino, et al. 2010). O tom vypovídá i to, že druhy rodu *Serapias*, stejně jako rodu *Ophrys*, obsahují vysoké množství n-alkenů s dvojnými vazbami v různých pozicích (Schiestl & Cozzolino 2008). Rod *Serapias* se pravděpodobně také oddělil brzy, ale diverzifikoval až recentně (cca před 1,2 miliony let) (Inda et al. 2012).

Různé druhy rodu *Serapias* se vyskytují v podobných podmínkách a kvetou přibližně ve stejnou dobu. Květy nevylučují nektar, ale lákají opylovače svým jedinečným tvarem tvořícím trubičku poskytující úkryt (Dafni et al. 1981; Delforge 2006). Opylovači se proto na květy slétají pokud je pod mrakem, deštivo nebo na večer (Gumprecht 1977; Dafni et al. 1981; van der Cingel 1995). Kromě toho se v noci a v poledne teplota uvnitř květu rovná teplotě okolní, avšak v ranních hodinách přesahuje vnitřní teplota okolní až o 3°C (Dafni et al. 1981). Zahřátí je pravděpodobně způsobeno slunečním zářením a opylovačům, kteří v květu strávili celou noc, může pomoci obnovit aktivitu a odletět (Dafni et al. 1981). Hlavními opylovači jsou pravděpodobně samotářské včely (van der Cingel 1995; Pellegrino, D'Emérico, et al. 2005; Vereecken et al. 2010).

Je zvláštní, že samci byli v květech pozorováni mnohem častěji nežli samice (Dafni et al. 1981; van der Cingel 1995; Pellegrino et al. 2012). Podle výsledků analýz vůně květů se ukázalo, že květy pravděpodobně napodobují tvarem i vůní příbytky samic (Pellegrino et al. 2012).

Složky vůně květů jsou podobné těm, které samotářské včely mají v kutikulárních voscích. Včely totiž vystylají hnízda svými sekrety, aby zajistily vyvíjející se larvě vhodné mikrobiální podmínky bez přílišného množství vody (Michener 1964).

Velikost květů může fungovat jako prezygotická bariéra vzhledem k tomu, že příliš malí opylovači nejsou schopni sejmout pollinii z důvodu své vlastní drobnosti a příliš velcí se do květu nevejdou (Dafni et al. 1981).

Protože květy se jinak morfologicky liší pouze minimálně, předpokládalo se, že u rodu *Serapias* jsou opylovači poměrně nespecifičtí. Studium kontaktní hybridní zóny dvou druhů s podobně velkými květy, *S. cordigera* a *S. vomeracea*, však přineslo zajímavé výsledky (Bellusci, Pellegrino, et al. 2010). Umělé křížení těchto dvou druhů ukázalo, že jejich vzájemná inkompatibilita je velice nízká a plodnost a životaschopnost semen vysoká. V přírodě jsou však F1 kříženci vzácní a častěji se vyskytují jejich zpětní kříženci s rodičovskými druhy. To naznačuje, že hlavní roli by měly hrát předopylovací bariéry a opylovači těchto dvou druhů by tedy měli být různí (Bellusci, Pellegrino, et al. 2010).

Předopylovací bariéry by mohly být u rodu *Serapias* zajištěny různými vůněmi květů, protože ty se významně odlišují mezi druhy (Pellegrino et al. 2012). To se shoduje s výše zmíněným předpokladem, že vůně květů napodobuje příbytky samic. Vůně určitého taxonu rodu *Serapias* by mohla napodobovat konkrétní druh včely a tím zajišťovat reprodukční izolaci mezi taxony (Pellegrino et al. 2012).

U některých druhů může být situace ještě složitější. U *S. lingua* došlo totiž k přecházení od "pouhé" imitace přístřešku k regulárnímu sexuálnímu klamání. Dochází zde k pseudokopulaci samců *Ceratina cucurbitina* (Hymenoptera: Apidae) s bazálním hrbolekem pysku, který jim připomíná samici v úkrytu (Vereecken et al. 2012). Je možné, že podobný mechanismus se vyskytuje i u blízké příbuzných taxonů, jejichž bazální hrbolek pysku má stejnou strukturu (Delforge 2006).

Druh *S. parviflora* je autogamický (s občasně se vyskytující kleistogamií) s malými květy (Delforge 2006; Bellusci et al. 2009) a je možné předpokládat, že silná redukce velikosti květu mohla předcházet přechodu od cizosprašnosti k samosprašnosti (Bellusci et al. 2008).

Existují dvě různá pojetí členění skupin druhů rodu *Serapias* na základě klasické florální morfologie. Podle Baumann & Künkele 1989 se druhy dělí podle velikosti květů na *Platypetalae*, *Mediopetalae* a *Stenopetalae*. Podle Delforge 2006 se podle celkové stavby květů dělí na skupiny *Serapias parviflora*, *S. vomeracea* a *S. lingua*. Podle výsledků molekulárních analýz plastidových sekvencí se rod *Serapias* člení do dvou hlavních skupin a každá z nich ještě do dvou menších, na jedné větvi jsou podskupiny se *S. parviflora* a *S. lingua*, na druhé pak podskupiny se *S. vomeracea* a *S. cordigera* (Bellusci et al. 2008).

Rozdělení do dvou hlavních skupin více méně odpovídá velikostem květů s výjimkou *S. politisii*, jejíž různé populace se vyskytovaly každá v jiné skupině, a *S. olbia*, která se hodnotami šířky sepalů i petalů blíží spíše druhé skupině (Bellusci et al. 2008). Podle toho lze soudit, že rozrůznění velikosti květů mohlo hrát důležitou roli v počátcích diverzifikace a vývoje rodu *Serapias* (Bellusci et al. 2008). Pozice některých druhů však měly pouze slabou podporu a v analýze (Inda et al. 2012) založené na kombinaci jaderných, plastidových a mitochondriálních sekvencí, která ovšem zahrnovala pouze šest taxonů rodu *Serapias*, byl *S. vomeracea* zařazen do druhé z hlavních skupin spolu s *S. cordigera*, *S. neglecta* a *S. orientalis*. Je tedy otázkou, jak věrohodné jsou závěry Bellusci et al. 2008.

Pokud srovnáme florální morfologii široce rozšířených druhů (*S. lingua*, *S. vomeracea*, *S. cordigera*, *S. parviflora*), můžeme pozorovat, že *S. lingua* má petaly bohatě pokryté trichomy, zatímco ostatní tři druhy jsou chlupaté jen řídce nebo vůbec (Barone Lumaga et al. 2012). *S. lingua* má dva typy trichomů, všechny s rozšířenou sekreční špičkou, buď větší a s baňkovitými výčnělky, nebo menší bez výčnělků, které se vyskytují v oblasti epichilu (Barone Lumaga et al. 2012). Florální mikromorfologie *S. parviflora* je podobná *S. lingua*, ale pouze s jedním typem trichomů, a to s baňkovitými výčnělky po celém pysku (Barone Lumaga et al. 2012). *S. vomeracea* a *S. cordigera* mají kuželovité a žlábkované sekreční žlázy a jsou charakterizované přítomností jazykovitých trichomů s dvojlaločnými výčnělky na okrajích pysku, které pravděpodobně mají sekretorickou funkci (Barone Lumaga et al. 2012). Na základě

mikromorfologických znaků v květu by tedy mohlo být možné od sebe vzájemně odlišit rostliny ze čtyř hlavních větví z členění podle Bellusci et al. 2008.

Počet chromozomů je u většiny druhů $2n=36$ (D'Emérico et al. 2005). *Serapias olbia*, *S. gregaria* a *S. strictiflora* jsou tetraploidní ($2n=72$) (Aceto et al. 1999; Bellusci et al. 2008), a téměř všechny druhy ze skupiny *S. lingua* jsou polyploidní (Bellusci & Aquaro 2008). *Serapias olbia* se vyskytuje i jako hexaploid ($2n=108$) (Venhuis et al. 2007). *Serapias intermedia* subsp. *hyblaea* je triploidní ($2n=3x=54$) (Brullo et al. 2014), pravděpodobně hybridního původu se vznikem z diploidní *S. vomeracea* a tetraploidní *S. lingua* (Cristaudo et al. 2009). Podle výsledků se předpokládalo, že *S. lingua* by mohl být autotetraploid od *S. parviflora* (Bateman et al. 2003; Bernardos et al. 2004). To je však v rozporu s molekulárními analýzami založenými jak na sekvencích chloroplastového genomu (Bellusci et al. 2008), kde *S. parviflora* a *S. lingua* spadají do různých, hluboce oddělených skupin, tak i na výsledcích AFLP (amplified fragment length polymorphism) analýzy (Sardaro et al. 2012). Také klasické členění založené na morfologických znacích předpokládá, že *S. lingua* a *S. parviflora* si nejsou blízce příbuzné (Delforge 2006).

4. Vazba orchidejí na mykorrhizní houby

Orchideje jsou proslulé svojí symbiotickou vazbou na houby. Všechny orchideje jsou totiž alespoň z části svého života mykoheterotrofní (Rasmussen 1995). Jejich semena jsou velice malá a obsahují pouze nepatrné množství zásobních látek, které jim ovšem neposkytuje dostatek energie pro vytvoření fotosyntetického aparátu (Arditti & Ghani 2000). Protokormy, které se po vyklíčení ze semen vyvíjejí, jsou tedy alespoň z počátku na houbách závislé (Knudson 1924; Rasmussen et al. 2015). Mykorrhizu ovšem tvoří i dospělí a fotosyntetizující jedinci, ale dosud není jasné, jak moc jsou které orchideje v dospělosti na mykobiontovi závislé. Dosavadní výsledky nasvědčují tomu, že se jedná o různě silné závislosti, kde se v různé míře kombinuje mykoheterotrofie s autotrofií (Selosse & Roy 2009; Schiebold et al. 2017). Takový způsob výživy se označuje jako mixotrofie (Selosse & Roy 2009; Selosse et al. 2017). Výskyt orchidejí je tedy podmíněný přítomností mykorrhizních hub (McCormick et al. 2012; McCormick & Jacquemyn 2014; Rasmussen et al. 2015).

Vzhledem k této závislosti orchidejí na mykorhizních houbách by mohlo být možné, aby specializace orchidejí na jednotlivé taxony mykorhizních hub podněcovala speciaci čeledi *Orchidaceae* (Waterman & Bidartondo 2008; Waterman et al. 2011). U této úvahy je naprosto zásadní otázka specifity orchidejí vůči určitým houbám. Zatím dostupné výsledky však neposkytují zcela jednoznačnou odpověď. U některých orchidejí byla mykorhizní symbióza pozorovaná pouze s určitou houbou (např. McKendrick et al. 2004; Selosse et al. 2002; Bateman et al. 2014; Davis et al. 2015). U jiných druhů bylo naopak pozorováno, že mykorhizu vytváří se širokým spektrem hub (např. Shefferson et al. 2008; Pellegrino et al. 2016). Mohou tedy být specializované do různé míry. To by také mohlo souviset s rozšířením orchidejí v přírodě. Silně specifické druhy orchidejí by měly býti vzácnější než druhy méně specifické (McCormick & Jacquemyn 2014). Tento předpoklad byl potvrzen v případě australského druhu *Caladenia* (Swarts et al. 2010). Ovšem u rodu *Drakea* se u různě vzácných druhů složení mykobiontů neliší (Phillips et al. 2011). V belgických populacích *Anacamptis morio* a *Dactylorhiza fuchsii* bylo pozorováno, že výskyt *A. morio* klesá poměrně rychleji v porovnání s *D. fuchsii*, ačkoli *D. fuchsii* je ohledně mykorhizních hub mnohem specializovanější (Bailarote et al. 2012). Situace patrně souvisí s celou řadou faktorů a výskyt mykorhizní houby je nejspíš pouze jedním z nich. Některé široce rozšířené druhy orchidejí, například *Pheladenia deformis* (Davis et al. 2015) nebo *Neottia nidus-avis* (McKendrick et al. 2004; Selosse et al. 2002) jsou vázané na konkrétního mykobionta, který je však široce rozšířený. Zajímavé výsledky přinesla studie, která zkoumala schopnost hub využívat různé zdroje látek v půdě. Houby asociované se široce rozšířenými druhy orchidejí byly schopné využívat širší spektrum látek než ty, které asociují s druhy vzácnými (Nurfadilah et al. 2013). Je zajímavé, že vztah orchidejí a mykorhizních hub může být pravděpodobně ovlivněný i druhým směrem, stejný druh orchideje může vytvářet vazbu s různými taxony hub v závislosti na tom, v jakém prostředí se vyskytuje (Bateman et al. 2014; Jacquemyn et al. 2016). Složení mykorhizních symbiontů se také může měnit v závislosti na ročním období (Ercole et al. 2015).

Recentní rozvoj molekulárních metod velice usnadnil určování linií mykobiontů (Luca et al. 2014) a starší výsledky, kterých bylo dosaženo kultivačními metodami, jsou silně zkreslené (Rasmussen et al. 2015). Orchideje vytváří vazbu především se stopkovýtusými houbami - hlavně se zástupci skupin *Ceratobasidiaceae*, *Tulasnellaceae* a *Sebacinaceae* (Shefferson et al. 2008; Rasmussen et al. 2015; Pellegrino et al. 2016). Některé orchideje však tvoří mykorhizní

symbiózu i s různými jinými liniemi stopkovýtrusých hub či dokonce s některými vřeckovýtrusými, především nejspíše z řádu *Pezizales* (Ercole et al. 2015; Rasmussen et al. 2015 a citace uvnitř). To jsou jiné houby, než se kterými obvykle tvoří mykorhizní symbiózu jednoděložné rostliny. Právě přechod prapředků orchidejí z arbuskulárně mykorhizních hub (*Glomeromycota*) na saprotrofní taxony hub nejspíše umožnil orchidejím využít novou niku a tak zprostředkoval jejich první radiaci (Yukawa et al. 2009).

Význam dalších změn týkajících se mykorhizní symbiózy pro speciaci orchidejí již však není tak jasný. Celá situace je značně komplikovaná a je zapotřebí mnohých dalších výzkumů. V případě zde projednávaných rodů středomořských orchidejí jsou zatím informace pouze neúplné. Nelze z nich tedy vyvozovat jednoznačné závěry, zda se mykorhizní asociace nějak výrazně podílely na diverzifikaci těchto rodů orchidejí.

5. Speciační procesy, které významně formovaly pojednávané druhy orchidejí

Podle všeho, vzhledem k tomu, že všechny středomořské druhy, o kterých pojednávám, se spolu vyskytují zhruba ve stejném prostředí, lze soudit, že geografické rozšíření v jejich diverzifikaci nejspíše nehrálo nijak zásadní roli.

Mykorhizní symbióza k diverzifikaci středomořských orchidejí pravděpodobně také nijak výrazně nepřispívá.

Zdá se, že nejvýznamnějším faktorem ovlivňujícím diverzifikaci orchidejí, tedy mnou pojednávané skupiny, jsou opylovači. Nejvíce na opylovače specializovaná skupina, tořiče (tedy rod *Ophrys*), pojímá také největší množství taxonů, které jsou mezi sebou poměrně spolehlivě reprodukčně izolované.

U rodů jiných než *Ophrys* se někdy opylování za pomoci sexuálního klamání také objevuje. V rodu *Anacamptis* v případě *A. papilionacea* se sexuální klamání projevuje pouze částečně (Scopece et al. 2009), avšak u tohoto druhu je možné pozorovat poměrně vysokou morfologickou variabilitu. Ve svém areálu vytváří řadu odlišných morfotypů hodnocených na různých taxonomických úrovních. Jediný druh rodu *Anacamptis*, který vytváří podobné množství vnitrodruhových taxonů, je *A. morio* (Delforge 2006; Baumann et al. 2009). U něj jsou

však rozdíly mezi taxony mnohem méně nápadné. *A. papilionacea* lze proto považovat za nejdiferenzovanější druh rodu.

V souvislosti s rodem *Serapias* (viz kapitola 3.1.5.) by se dalo namítat, že přeci u taxonu *S. lingua s.l.* se sexuální klamání vyvinulo také, ale nijak závratnou morfologickou variabilitu zde nepozorujeme. Sexuálně deceptivní opylování by tedy nemuselo být tak významným pohonem diverzifikace. Avšak *S. lingua s.l.* se rozmnožuje převážně klonálně (Delforge 2006; Pellegrino, Musacchio, et al. 2005; Pellegrino et al. 2015). Velké množství jedinců tedy vyprodukuje obrovské množství takřka identického pylu nesoucího stejnou genetickou informaci. Nejspíše tento efekt potom ve srovnání s *A. papilionacea* nebo prakticky celým rodem *Ophrys* "vyváží" tendenci k takto poháněné diverzifikaci.

Tuto domněnku také podporuje fakt, že jediná z hlavních skupin rodu *Ophrys*, která se "nerozpadá" na další taxony, je *O. bombyliflora* (Devey et al. 2008; Inda et al. 2012). Tento druh se rozmnožuje také převážně klonálně (Delforge 2006) a vykazuje nejmenší variabilitu ze všech linií tořičů.

Situace může být nicméně složitější, neboť v rámci rodu *Orchis s.s.* existuje jeden sexuálně klamavý druh, *O. galilaea* (Bino et al. 1982), který však vnitrodruhové taxony nevytváří a patrně se rozmnožuje převážně generativně (Machaka-Houri et al. 2012). V rámci rodu *Orchis* je však tento druh jedinečný svou extrémní variabilitou barvy květu (Bino et al. 1982; Machaka-Houri et al. 2012) a zdá se, že se zde sexuálně klamavá opylovací strategie vyvinula teprve nedávno (Jersáková et al. 2006).

6. Závěr

Ve své práci jsem se zaměřila na diverzifikační procesy čeledi *Orchidaceae* na modelu Středomoří a hojně se zde vyskytujícího subtribu *Orchidinae*.

Dle zpracovaných studií se zdá, že hlavní příčinou obrovské míry diverzifikace je specializace na konkrétní druhy opylovačů, neboť u mykorhizních vztahů nebyl zjištěný nijak velký vliv na diverzifikaci, ačkoli je zapotřebí dalších studií. Všechny pojednávané rody rostou ve stejných biotopech, geografické členění v tomto případě tedy diverzifikaci také nepohání nijak významně.

Vysoké míry specializace vůči opylovačům bývá dosaženo především sexuálně klamavou opylovací strategií.

Téma mé bakalářské práce mi připadá velice zajímavé a čím více toho na dané téma vím, tím více bych se toho chtěla dozvídat. Proto bych se této oblasti ráda věnovala i do budoucna.

7. Bibliografie

- 2017, W., World Checklist of Selected Plant Families by the Royal Botanic Gardens, Kew, Published on the Internet; <http://apps.kew.org/wcsp/>.
- Aceto, S. et al., 1999. Phylogeny and evolution of Orchis and allied genera based on ITS DNA variation: morphological gaps and molecular continuity. *Molecular phylogenetics and evolution*, 13(1), pp.67–76. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10508540>.
- Arditti, J. & Ghani, A.K.A., 2000. Tansley Review No. 110: Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications. *New Phytologist*, 145(3), pp.367–421.
- Ayasse, M., Stökl, J. & Francke, W., 2011. Chemical ecology and pollinator-driven speciation in sexually deceptive orchids. *Phytochemistry*, 72(13), pp.1667–1677. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.03.023>.
- Bailarote, B.C., Lievens, B. & Jacquemyn, H., 2012. Does mycorrhizal specificity affect orchid decline and rarity? , 99(10), pp.1655–1665.
- Barone Lumaga, M.R. et al., 2012. Comparative floral micromorphology in four sympatric species of Serapias (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 169(4), pp.714–724.
- Bateman, R. et al., 2003. Molecular phylogenetics and evolution of Orchidinae and selected Habenarinae (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 142(1), pp.1–40. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1095-8339.2003.00157.x>.
- Bateman, R.M. et al., 2014. Speciation via floral heterochrony and presumed mycorrhizal host switching of endemic butterfly orchids on the Azorean archipelago. *American Journal of Botany*, 101(6), pp.979–1001.
- Baumann, H. & Künkele, S., 1989. Die Gattung Serapias L–eine taxonomische übersicht. *Orchideen*.
- Baumann, H., Künkele, S. & Lorenz, R., 2009. Orchideje Evropy a přilehlých oblastí.
- Bell, A.K. et al., 2009. Comparative micromorphology of nectariferous and nectarless labellar spurs in selected clades of subtribe Orchidinae (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 160(4), pp.369–387.
- Bellusci, F., Pellegrino, G., et al., 2010. Crossing barriers between the unrewarding Mediterranean orchids Serapias vomeracea and Serapias cordigera. *Plant Species Biology*, 25(1), pp.68–76.

- Bellusci, F., Musacchio, A., et al., 2010. Differences in pollen viability in relation to different deceptive pollination strategies in Mediterranean orchids. *Annals of Botany*, 106(5), pp.769–774.
- Bellusci, F. et al., 2008. Phylogenetic relationships in the orchid genus *Serapias* L. based on noncoding regions of the chloroplast genome. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 47(3), pp.986–991.
- Bellusci, F. & Aquaro, G., 2008. Contribution to the cytotaxonomical knowledge of four species of *Serapias* L. (Orchidaceae). *Botanica Complutensis*, 61(3), pp.294–299.
- Bellusci, F., Pellegrino, G. & Musacchio, A., 2009. Different levels of inbreeding depression between outcrossing and selfing *Serapias* species. *Biologia Plantarum*, 53(1), pp.175–178.
- Bernardos, S. & Amich, F., 2002. Karyological, taxonomic and chorological notes on the Orchidaceae of the central-western Iberian Peninsula. *Belgian Journal of Botany*, 135(2002), pp.76–87.
- Bernardos, S., Amich, F. & Gallego, F., 2003. Karyological and taxonomic notes on *Ophrys* (Orchidoideae, Orchidaceae) from the Iberian Peninsula. *Botanical Journal of the Linnean Society*, pp.395–406.
- Bernardos, S., Tyteca, D. & Amich, F., 2004. Cytotaxonomic study of some taxa of the subtribe Orchidinae (Orchidoideae, Orchidaceae) from the Iberian Peninsula. *Israel Journal of Plant Sciences*, 52, pp.161–170.
- Bino, R.J., Dafni, A. & Meeuse, A.D.J., 1982. The Pollination Ecology of *Orchis Galilaea* (Bornm. Et Schulze) Schltr. (Orchidaceae). *New Phytologist*, 90(2), pp.315–319.
- Breitkopf, H. et al., 2015. Multiple shifts to different pollinators fuelled rapid diversification in sexually deceptive *Ophrys* orchids. *New Phytologist*, 207(2), pp.377–389.
- Brullo, C., Emerico, S.D. & Pulvirenti, S., 2014. A cytological study of four Sicilian *Serapias* (Orchidaceae). *Caryologia*, 67(3), pp.260–264. Available at: <http://dx.doi.org/10.1080/0144235X.2014.974354>.
- Chase, M.W. et al., 2015. An updated classification of Orchidaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 177(2), pp.151–174.
- van der Cingel, N.A., 1995. An atlas of orchid pollination: European orchids.
- Claessens, J. & Kleynen, J., 2002. Investigations on the autogamy in *Ophrys apifera* Hudson. *Jber. naturwiss. Ver. Wuppertal*, 55, pp.62–77. Available at: www.europeanorchids.com/index.php/en/publications.

- Conran, J.G., Bannister, J.M. & Lee, D.E., 2009. Earliest orchid macrofossils: Early Miocene *Dendrobium* and *Earina* (Orchidaceae: Epidendroideae) from New Zealand. *American Journal of Botany*, 96(2), pp.466–474.
- Cortis, P. et al., 2009. Pollinator convergence and the nature of species' boundaries in sympatric Sardinian *Ophrys* (Orchidaceae). *Annals of Botany*, 104(3), pp.497–506.
- Cozzolino, S. et al., 2005. Evidence for pollinator sharing in Mediterranean nectar-mimic orchids: absence of premating barriers? *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, 272(1569), pp.1271–8. Available at: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-24044490946&partnerID=tZOtx3y1>.
- Cozzolino, S. et al., 1998. Phylogenetic relationships in *Orchis* and some related genera: An approach using chloroplast DNA. *Nordic Journal of Botany*, 18(1), pp.79–87. Available at: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0031909376&partnerID=40&md5=d0e64c5c92a4089adbccd5ef207e39e3>.
- Cozzolino, S. et al., 2001. Speciation processes in Eastern Mediterranean *Orchis* s.l. species: Molecular evidence and the role of pollination biology. *Israel Journal of Plant Sciences*, 49(2), pp.91–103. Available at: <http://www.sciencefromisrael.com/openurl.asp?genre=article&id=doi:10.1560/QV6M-E7A0-QFC7-G6BL>.
- Cozzolino, S., D'Emerico, S. & Widmer, A., 2004. Evidence for reproductive isolate selection in Mediterranean orchids: karyotype differences compensate for the lack of pollinator specificity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 271(Suppl_5), pp.S259–S262. Available at: <http://rspb.royalsocietypublishing.org/cgi/doi/10.1098/rsbl.2004.0166>.
- Cristaudo, A., Galesi, R. & Lorenz, R., 2009. Über zwei stabilisierte Hybridpopulationen aus der Gattung *Serapias* auf Sizilien. , (January).
- D'Emerico, S. et al., 2002. Heterochromatin distribution in selected taxa of the 42-chromosomes *Orchis* s. l. (Orchidaceae). *Caryologia*, 55(1), pp.55–62. Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00087114.2002.10589258>.
- D'Emerico, S. et al., 1990. Karyological Studies of Some Taxa of The Genera *Himantoglossum*, *Orchis*, *Serapias* and *Spiranthes* (Orchidaceae) from Apulia (Italy). *Caryologia*, 7114(February 2015), pp.267–276.
- D'Emerico, S. et al., 2005. Karyomorphology, heterochromatin patterns and evolution in the genus *Ophrys* (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 39(1), pp.87–99.

- Dafni, A. & Ivri, Y., 1981. Floral Mimicry Between *Orchis israelitica* Baumann and Dafni (Orchidaceae) and *Bellevalia flexuosa* Boiss. (Liliaceae). *Oecologia*, 113(49), pp.229–232.
- Dafni, A. & Ivri, Y., 1979. Pollination Ecology of, and Hybridization Between, *Orchis coriophora* L. and *O. collina* Sol. Ex Russ. (Orchidaceae) in Israel. *New Phytologist*, 83(1), pp.181–187.
- Dafni, A., Ivri, Y. & Brantjes, N.B.M., 1981. Pollination of *Serapias vomeracea* Briq. (Orchidaceae) By Imitation of Holes for Sleeping Solitary Male Bees (Hymenoptera). *Acta Botanica Neerlandica*, 30(1–2), pp.69–73. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1438-8677.1981.tb00388.x>.
- Davis, B.J. et al., 2015. Continent-wide distribution in mycorrhizal fungi: Implications for the biogeography of specialized orchids. *Annals of Botany*, 116(3), pp.413–421.
- Delforge, P., 2006. Orchids of Europe, North Africa and the Middle East.
- Devey, D.S. et al., 2008. Friends or relatives? Phylogenetics and species delimitation in the controversial European orchid genus *Ophrys*. *Annals of Botany*, 101(3), pp.385–402.
- Dressler, R.L., 1993. *Phylogeny and Classification of the Orchid Family*, Cambridge University Press. Available at: <http://books.google.com/books?hl=ko&lr=&id=ucDBJSxaCPYC&pgis=1>.
- Ellis, A.G. & Johnson, S.D., 2010. Floral mimicry enhances pollen export: the evolution of pollination by sexual deceit outside of the orchidaceae. *The American naturalist*, 176(5), pp.E143–E151.
- Ercole, E. et al., 2015. Temporal variation in mycorrhizal diversity and carbon and nitrogen stable isotope abundance in the wintergreen meadow orchid *Anacamptis morio*. , pp.1308–1319.
- García-Barriuso, M., Bernardos, S. & Amich, F., 2010. Chromosomal evolution in Mediterranean species of *Ophrys* sect. *Pseudophrys* (Orchidaceae): An analysis of karyotypes and polyploidy. *Taxon*, 59(2), pp.525–537.
- Girlanda, M. et al., 2011. Photosynthetic Mediterranean meadow orchids feature partial mycoheterotrophy and specific mycorrhizal associations. *American Journal of Botany*, 98(7), pp.1148–1163.
- Givnish, T.J. et al., 2015. Orchid phylogenomics and multiple drivers of their extraordinary diversification. *Proceedings of the Royal Society B*, 282(1814), p.DOI: 10.1098/rspb.2015.1553. Available at: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84940705018&partnerID=tZOtx3y1>.

- Gumprecht, R., 1977. Seltsame Bestäubungsvorgänge bei Orchideen. *Die Orchidee*, (28), pp.1–23.
- Hadley, N.F., 1981. Cuticular lipids of terrestrial plants and arthropods: a comparison of their structure, composition, and waterproofing function. *Biological Reviews*.
- Haraštová-Sobotková, M. et al., 2000. Morphometric and genetic divergence among populations of *Neotinea ustulata* (Orchidaceae) with different flowering phenologies. , 87(12), pp.1842–1856.
- Inda, L.A., Pimentel, M. & Chase, M.W., 2012. Phylogenetics of tribe Orchideae (Orchidaceae: Orchidoideae) based on combined DNA matrices: Inferences regarding timing of diversification and evolution of pollination syndromes. *Annals of Botany*, 110(1), pp.71–90.
- Jacquemyn, H. et al., 2007. Fitness variation and genetic diversity in small, remnant populations of the food deceptive orchid *Orchis purpurea*. *Biological Conservation*, 139(1–2), pp.203–210.
- Jacquemyn, H. et al., 2016. Habitat-driven variation in mycorrhizal communities in the terrestrial orchid genus *Dactylorhiza*. *Scientific Reports*, 6(October), pp.1–10. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/srep37182>.
- Jersáková, J., Johnson, S.D. & Kindlmann, P., 2006. Mechanisms and evolution of deceptive pollination in orchids. *Biological Reviews*, 81(2), pp.219–235. Available at: http://journals.cambridge.org/abstract_S1464793105006986.
- Joffard, N., Buatois, B. & Schatz, B., 2016. Integrative taxonomy of the fly orchid group: insights from chemical ecology. *The Science of Nature*, 103(9–10), p.77. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s00114-016-1403-y>.
- Johnson, S.D., Peter, C.I. & Agren, J., 2004. The effects of nectar addition on pollen removal and geitonogamy in the non-rewarding orchid *Anacamptis morio*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 271(1541), pp.803–9. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1691667&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
%5Cn<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15255098>.
- Knudson, L., 1924. Further Observations on Nonsymbiotic Germination of Orchid Seeds. *Botanical Gazette*, 77(2), pp.212–219.
- Labandeira, C.C., 1998. How old is the flower and the fly? *Science*, (Apr 3), pp.57–59.
- Lind, H., Franzén, M. & Nilsson, L.A., 2007. Metapopulation pollination in the deceptive orchid *Anacamptis pyramidalis*. *Nordic Journal of Botany*, (February).

- Luca, A. et al., 2015. Pollen competition between two sympatric *Orchis* species (Orchidaceae): The overtaking of conspecific of heterospecific pollen as a reproductive barrier. *Plant Biology*, 17(1), pp.219–225.
- Luca, A., Bellusci, F. & Pellegrino, G., 2014. Interactions with mycorrhizal fungi in two closely related hybridizing orchid species. *Acta Botanica Croatica*, 73(1), pp.209–220. Available at: <http://www.degruyter.com/view/j/botcro.2014.73.issue-1/botcro-2013-0028/botcro-2013-0028.xml>.
- Machaka-Houri, N. et al., 2012. Reproductive success of the rare endemic *Orchis galilaea* (Orchidaceae) in Lebanon. *Turkish Journal of Botany*, 36(6), pp.677–682.
- Mant, J., Brown, G.R. & Weston, P.H., 2005. Opportunistic pollinator shifts among sexually deceptive orchids indicated by a phylogeny of pollinating and non-pollinating thynnine wasps (Tiphiiidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, pp.381–395.
- Mant, J.G. et al., 2002. A phylogenetic study of pollinator conservatism among sexually deceptive orchids. *Evolution*, 56(5), pp.888–898.
- McCormick, M.K. et al., 2012. Limitations on orchid recruitment: not a simple picture. *Molecular Ecology*, 21(6), pp.1511–1523.
- McCormick, M.K. & Jacquemyn, H., 2014. What constrains the distribution of orchid populations? *New Phytologist*, 202(2), pp.392–400.
- McKendrick, S.L. et al., 2004. Symbiotic germination and development of the myco-heterotrophic orchid *Neottia nidus-avis* in nature and its requirement for locally distributed *Sebacina* spp. *New Phytologist*, 163(2), pp.405–423.
- Meekers, T. & Honnay, O., 2011. Effects of habitat fragmentation on the reproductive success of the nectar-producing orchid *Gymnadenia conopsea* and the nectarless *Orchis mascula*. *Plant Ecology*, 212(11), pp.1791–1801.
- Michener, C.D., 1964. Evolution of the Nests of Bees. *American Zoologist*, 4(2), pp.227–239.
- Nurfadilah, S. et al., 2013. Variation in nutrient-acquisition patterns by mycorrhizal fungi of rare and common orchids explains diversification in a global biodiversity hotspot. *Annals of Botany*, 111(6), pp.1233–1241.
- Paulus, H.F., 2009. Bestäubungsbiologie einiger *Ophrys*-Arten der Süd-Türkei (Prov. Antalya) mit Beschreibung einer weiteren „Käfer-fusca“ *Ophrys urtae* spec.nov. (Orchidaceae und Coleoptera, Scarabaeidae). *Berichte Arbeitskreis Heimische Orchideen*, 26(2), pp.6–24.

- Paulus, H.F., 2006. Deceived males – Pollination biology of the Mediterranean orchid genus *Ophrys* (Orchidaceae). *J. Europäischer Orchideen*, 38(2), pp.303–351.
- Paulus, H.F., 2015. Pollinators as Isolation Mechanisms: Observations in Nature and Experiments regarding specificity of pollinator attraction in the genus *Ophrys* (Orchidaceae und Insecta, Hymenoptera, Apoidea). , (JANUARY).
- Paulus, H.F. & Gack, C., 1990. Pollinators as prepollinating isolation factors: evolution and speciation in *Ophrys* (Orchidaceae). *Israel Journal of Botany*.
- Paulus, H.F. & Gack, C., 1993. Schlafplatzmimikry bei der mediterranen Orchidee *Ophrys helenae*.
- Paulus, H.F. & Gack, C., 1990. Untersuchungen zur Pseudokopulation und Bestäuberspezifität in der Gattung *Ophrys* im östlichen Mittelmeerraum (Orchidaceae und Insecta, Hymenoptera, Apoidea). -in: Senghas, K. & Sundermann, H. & Kolbe, W. (ed.): Probleme bei europäischen und mediterranen. *Jber Naturwiss Ver Wuppertal*, (43), pp.80–118.
- Paulus, H.F. & Gack, C., 1995. Zur Pseudokopulation und Bestäubung in der Gattung *Ophrys* (Orchidaceae) Sardinien und Korsikas. *Jber Naturwiss Ver Wuppertal*, 48(December), pp.188–227. Available at: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-0039137400&partnerID=tZOtx3y1>.
- Paulus, H.F. & Hirth, M., 2011. Die Grabwespe *Argogorytes fargeii* als Bestäuber von *Ophrys fegis-ferdinandii* (Insecta, Hymenoptera, Crabronidae und Orchidaceae) - Untersuchungen in Rhodos, Chios und Samos. , 4(3), pp.10697–10706.
- Paulus, H.F. & Hirth, M., 2014. Zur Bestäubungsbiologie der Gattung *Ophrys* auf den Ionischen Inseln mit speziellen Bemerkungen zum Status von *O. punctulata-leucadica* sowie Beschreibungen von zwei neuen Arten aus der *O. lutea*- und *O. oestrifera*-Gruppe. *Journal Europäischer Orchideen*, pp.233–304.
- Pavarese, G. et al., 2013. When polyploidy and hybridization produce a fuzzy taxon: The complex origin of the insular neoendemic *Neotinea commutata* (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 173(4), pp.707–720.
- Pedersen, H.A. & Faurholdt, N., 2007. *Ophrys*: the Bee Orchids of Europe.
- Pegoraro, L. et al., 2016. Habitat preference and flowering-time variation contribute to reproductive isolation between diploid and autotetraploid *Anacamptis pyramidalis*. *Journal of Evolutionary Biology*, 29(10), pp.2070–2082.

- Pellegrino, G. et al., 2012. Comparative analysis of floral scents in four sympatric species of *Serapias* L. (Orchidaceae): Clues on their pollination strategies. *Plant Systematics and Evolution*, 298(10), pp.1837–1843.
- Pellegrino, G., D’Emérico, S., et al., 2005. Confirmation of hybridization among sympatric insular populations of *Orchis mascula* and *O. provincialis*. *Plant Systematics and Evolution*, 251(2–4), pp.131–142.
- Pellegrino, G., Musacchio, A., et al., 2005. Reproductive versus floral isolation among morphologically similar *Serapias* L. species (Orchidaceae). *Journal of Heredity*, 96(1), pp.15–23.
- Pellegrino, G., 2016. Sympatric reinforcement of reproductive barriers between *Neotinea tridentata* and *N. ustulata* (Orchidaceae). *Journal of Plant Research*, 129(6), pp.1061–1068.
- Pellegrino, G., Bellusci, F. & Palermo, A.M., 2015. Effects of population structure on pollen flow, clonality rates and reproductive success in fragmented *Serapias lingua* populations. *BMC plant biology*, 15, p.222. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4573484&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Pellegrino, G., Luca, A. & Bellusci, F., 2016. Relationships between orchid and fungal biodiversity: Mycorrhizal preferences in Mediterranean orchids. *Plant Biosystems*, 150(2), pp.180–189.
- Phillips, R.D. et al., 2011. Do mycorrhizal symbioses cause rarity in orchids? *Journal of Ecology*, 99(3), pp.858–869.
- Van der Pijl, L. & Dodson, C.H., 1966. *Orchid Flowers: Their Pollination and Evolution*.
- Ramírez, S.R. et al., 2007. Dating the origin of the Orchidaceae from a fossil orchid with its pollinator. *Nature*, 448(7157), pp.1042–1045.
- Rasmussen, H.N. et al., 2015. Germination and seedling establishment in orchids: a complex of requirements. *Annals of Botany*, (2012), pp.391–402.
- Rasmussen, H.N., 1995. Terrestrial orchids from seed to mycotrophic plant.
- Sardaro, M.L.S. et al., 2012. Genetic diversity, population structure and phylogenetic inference among Italian Orchids of the *Serapias* genus assessed by AFLP molecular markers. *Plant Systematics and Evolution*, 298(9), pp.1701–1710.
- Schiebold, J.M. et al., 2017. Exploiting mycorrhizas in broad daylight: Partial mycoheterotrophy is a common nutritional strategy in meadow orchids. *Journal of Ecology*, (June), pp.1–11.

- Schiestl, F.P. & Ayasse, M., 2002. Do changes in floral odor cause speciation in sexually deceptive orchids? , 234, pp.111–119.
- Schiestl, F.P. & Cozzolino, S., 2008. Evolution of sexual mimicry in the orchid subtribe orchidinae: the role of preadaptations in the attraction of male bees as pollinators. *BMC Evolutionary Biology*, 8(1), p.27. Available at: <http://www.biomedcentral.com/1471-2148/8/27/abstract%5Cnhttp://www.biomedcentral.com/1471-2148/8/27?iframe=true&width=95%25&height=95%25%5Cnhttp://www.biomedcentral.com/content/pdf/1471-2148-8-27.pdf>.
- Schlüter, P.M. et al., 2011. Evidence for progenitor-derivative speciation in sexually deceptive orchids. *Annals of Botany*, 108(5), pp.895–906.
- Scopece, G. et al., 2013. Components of Reproductive Isolation between *Orchis mascula* and *Orchis pauciflora*. *Evolution*, 67(7), pp.2083–2093.
- Scopece, G. et al., 2007. Patterns of reproductive isolation in Mediterranean deceptive orchids. *Evolution*, 61(11), pp.2623–2642.
- Scopece, G. et al., 2010. Pollination efficiency and the evolution of specialized deceptive pollination systems. *The American Naturalist*, 175(1), pp.98–105. Available at: <http://www.jstor.org/stable/10.1086/648555>.
- Scopece, G. et al., 2009. Pollinator attraction in *Anacamptis papilionacea* (Orchidaceae): A food or a sex promise? *Plant Species Biology*, 24(2), pp.109–114.
- Selosse, M.-A. et al., 2002. Communities and populations of sebacinoid basidiomycetes associated with the achlorophyllous orchid *Neottia nidus-avis* (L.) LCM Rich. and neighbouring tree ectomycorrhizae. *Molecular Ecology*, (9), pp.1831–1844.
- Selosse, M.-A. & Roy, M., 2009. Green plants that feed on fungi : facts and questions about mixotrophy. *Cell*, (January), pp.64–70.
- Selosse, M.A., Charpin, M. & Not, F., 2017. Mixotrophy everywhere on land and in water: the grand écart hypothesis. *Ecology Letters*, 20(2), pp.246–263.
- Shefferson, R.P., Kull, T. & Tali, K., 2008. Mycorrhizal interactions of orchids colonizing Estonian mine tailings hills. *American Journal of Botany*, 95(2), pp.156–164.
- Smithson, A., 2009. A plant's view of cheating in plant–pollinator mutualisms. *Israel Journal of Plant Sciences*, 57(December 2014), pp.151–163.

- Smithson, A., 2002. The Consequences of Rewardlessness in Orchids: Reward - Supplementation Experiments With *Anacamptis morio* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, 89(10), pp.1579–1587.
- Soliva, M., Kocyan, a & Widmer, a, 2001. Molecular phylogenetics of the sexually deceptive orchid genus *Ophrys* (Orchidaceae) based on nuclear and chloroplast DNA sequences. *Molecular phylogenetics and evolution*, 20(1), pp.78–88.
- Souche, R., 2007. *Ophrys insectifera* complex; *Ophrys subinsectifera* from Spain. A new mechanism of pollination through sexual deception. , (January 2007).
- Stöckl, J. et al., 2005. Pollinator attracting odour signals in sexually deceptive orchids of the *Ophrys fusca* group. *Plant Systematics and Evolution*, 254(1–2), pp.105–120.
- Streinzer, M. et al., 2010. Visual discrimination between two sexually deceptive *Ophrys* species by a bee pollinator. *Arthropod-Plant Interactions*, 4(3), pp.141–148.
- Sundermann, H., 1975. Zum Problem der Definition taxonomischer Kategorien (Spezies , Subspezies , Praespezies , Varietät): Dargestellt am Beispiel des Sippenkomplexes *Ophrys fuciflora* (Crantz) Moench : *Ophrys Scolopax cav* . *Taxon*, 24(5), pp.615–627.
- Swarts, N.D. et al., 2010. Ecological specialization in mycorrhizal symbiosis leads to rarity in an endangered orchid. *Molecular Ecology*, 19(15), pp.3226–3242.
- Tremblay, R.L., 1992. Trends in the pollination ecology of the Orchidaceae: Evolution and systematics. *Canadian Journal of Botany*, pp.642–650.
- Tyteca, D. & Vereecken, N.J., 2006. Observations on the pollination of *Ophrys fuciflora* by pseudo- copulating males of *Phyllopertha horticola* in northern France. *ResearchGate*, 38(1), pp.203–214.
- Vandewoestijne, S. et al., 2009. Effects of individual and population parameters on reproductive success in three sexually deceptive orchid species. *Plant Biology*, 11(3), pp.454–463.
- Venhuis, C. et al., 2007. Morphological systematics of *Serapias* L. (Orchidaceae) in Southwest Europe. *Plant Systematics and Evolution*, 265(3–4), pp.165–177.
- Vereecken, N.J. et al., 2012. Pre-adaptations and the evolution of pollination by sexual deception: Cope’s rule of specialization revisited. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1748), pp.4786–4794.
- Vereecken, N.J., Cozzolino, S. & Schiestl, F.P., 2010. Hybrid floral scent novelty drives pollinator shift in sexually deceptive orchids. *BMC Evolutionary Biology*, 10(1), p.103. Available at:

<http://bmcevolbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2148-10-103>
<http://www.biomedcentral.com/1471-2148/10/103>.

- Vereecken, N.J. & Schiestl, F.P., 2008. The evolution of imperfect floral mimicry. *PNAS*.
- Waterman, R.J. et al., 2011. The effects of above- and belowground mutualisms on orchid speciation and coexistence. *The American naturalist*, 177(2), pp.E54–E68.
- Waterman, R.J. & Bidartondo, M.I., 2008. Deception above, deception below: Linking pollination and mycorrhizal biology of orchids. *Journal of Experimental Botany*, 59(5), pp.1085–1096.
- Xu, S. et al., 2011. Floral isolation is the main reproductive barrier among closely related sexually deceptive orchids. *Evolution*, 65(9), pp.2606–2620.
- Yukawa, T. et al., 2009. Mycorrhizal diversity in *Apostasia* (Orchidaceae) indicates the origin and evolution of orchid mycorrhiza. *American Journal of Botany*, 96(11), pp.1997–2009.