

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Anna Ungrová

Přizpůsobení kořenů orchidejí k epifytickému způsobu života
Adaptations of orchid roots to epiphytism

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Jan Ponert

Konzultant: doc. RNDr. Helena Lipavská, Ph.D.

Praha, 2018

Prohlášení:

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

V Praze, 8.5.2018

Podpis

Poděkování:

Ráda bych poděkovala zejména svému školiteli RNDr. Janu Ponertovi za cenné rady, pomoc při vyhledávání a zpracování potřebné literatury a za veškerý čas, který mi věnoval. Děkuji také doc. RNDr. Heleně Lipavské, Ph.D. za věcné připomínky a dále své rodině za velkou trpělivost a podporu po celou dobu zpracovávání této práce.

Abstrakt

Evoluční úspěch orchidejí je do značné míry podmíněn schopností osidlovat epifytická stanoviště. Tato schopnost vychází z řady adaptací na různých úrovních, a právě adaptivní znaky vzdušných kořenů mohou hrát klíčovou roli, protože kořeny jsou prakticky jediným orgánem, který zajišťuje příjem vody a živin. Hlavním cílem je zde shrnout a diskutovat v současnosti dostupné informace o kořenech epifytických orchidejí (čeleď *Orchidaceae*), zvláště pak o jejich adaptacích k epifytickému způsobu života. Kořeny epifytů se musí vypořádat s periodickým nedostatkem vody i živin, často ve spojení s vysokou ozářeností. Kořeny epifytických orchidejí se těmto podmínkám přizpůsobují na mnoha úrovních. Rhizodermis vytváří velamen schopný zachycovat vodu i živiny a chránit kořeny před podmínkami okolního prostředí včetně UV záření. Primární kůra obsahuje chloroplasty, které mohou alespoň u některých druhů orchidejí fotosyntetizovat. Exodermis je dobře diferencovaná s vyztuženými buněčnými stěnami a pomocí průchozích a provzdušňovacích buněk plní úlohu selektivní bariéry transportu látek. Funkce některých adaptivních struktur nicméně není zcela jasná, například tilosomy by mohly regulovat transpiraci. Epifytismus u orchidejí vzniknul vícekrát nezávisle a některé adaptace kořenů tedy pravděpodobně vznikly opakovaně konvergencí.

Klíčová slova: adaptace, epifyt, fotosyntéza, orchideoidní mykorrhizní symbióza, velamen, vstavačovitě, vzdušné kořeny

Abstract

The evolutionary success of orchids is to a large extent driven by the ability to colonize epiphytic habitats. This ability is based on a number of adaptations at different levels, and the adaptive features of aerial roots can play a key role because the roots are practically the only organ providing water and nutrient uptake. The main aim of this work is to review available information about roots of epiphytic orchids (*Orchidaceae*), especially their adaptations to the epiphytic way of life. The roots of epiphytes must deal with a periodic lack of water and nutrients, often in conjunction with high irradiation. The roots of epiphytic orchids adapt to these conditions on many levels. Rhizodermis forms a velamen capable to retain water and nutrients and protecting roots against environmental conditions including UV radiation. Root cortex contains chloroplasts, which can perform photosynthesis at least in some orchid species. Exodermis is well differentiated with thick secondary cell walls and acts as a selective barrier for the transport of substances with the use of passage and aeration cells. The function of some adaptive structures is still unclear, for example, tilosomes could regulate transpiration. Epiphytism evolved multiple times in orchids, and some root adaptations therefore originated repeatedly likely as a result of convergence.

Keywords: adaptations, aerial roots, epiphyte, orchid mycorrhizal symbiosis, photosynthesis, velamen radicum, *Orchidaceae*

Obsah

1	Úvod.....	1
2	Anatomická stavba kořenů a její funkce	2
2.1	Rhizodermis.....	2
2.1.1	Anatomická stavba velamenu.....	3
2.1.2	Příjem vody a živin kořeny s velamenem.....	5
2.1.3	Pneumatody	7
2.1.4	Tilosomy.....	8
2.1.5	Ochranná funkce velamenu proti slunečnímu záření.....	9
2.1.6	Endofyté velamenu.....	10
2.2	Primární kůra.....	11
2.2.1	Exodermis.....	12
2.2.2	Průchozí buňky exodermis	12
2.2.3	Střední vrstva primární kůry.....	13
2.2.4	Endodermis.....	14
2.3	Střední válec	15
3	Fotosyntéza u orchidejí	17
3.1	Fotosyntéza v epifytických kořenech	18
4	Mykorhizní symbióza epifytických orchidejí.....	21
5	Evoluce epifytického způsobu života u orchidejí.....	23
6	Závěr.....	26
	Seznam použité literatury.....	27

Seznam zkratek

Zkratka	Anglický ekvivalent	Český ekvivalent
<i>AGL12</i>	<i>Agamous-like 12</i>	gen podobný genu <i>AGAMOUS</i> , označovaný <i>AGL12</i> nebo <i>XAL1</i>
CAM	<i>crassulacean acid metabolism</i>	metabolismus kyselin u tlusticovitých rostlin charakterizující specifický typ fotosyntézy
CHS	<i>chalcone synthase</i>	chalkonsyntáza
PEPC	<i>phosphoenolpyruvate carboxylase</i>	fosfoenolpyruvátcarboxyláza
PGPR	<i>plant growth promoting rhizobacteria</i>	bakterie podporující růst rostlin
<i>PhCHS3</i>	<i>Phalaenopsis chalcone synthase 3</i>	paralog genu chalkonsyntázy 3
<i>PhCHS4</i>	<i>Phalaenopsis chalcone synthase 4</i>	paralog genu chalkonsyntázy 4
Rubisco	<i>ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase</i>	ribulóza-1,5-bisfosfátcarboxyláza/oxygenáza
UV-B	<i>ultraviolet B</i>	ultrafialové záření spektrální oblasti B
WGD	<i>whole-genome duplication</i>	duplikace celého genomu
WUE	<i>water use efficiency</i>	efektivita využití vody

1 Úvod

Čeď vstavačovité (*Orchidaceae*), dále jen orchideje, tvoří s více než 26 000 druhy jednu z největších čeledí krytosemenných rostlin (Chase *et al.*, 2015). Tento počet se nicméně každým rokem mění jak díky objevům nových druhů, tak díky revizi klasifikace.

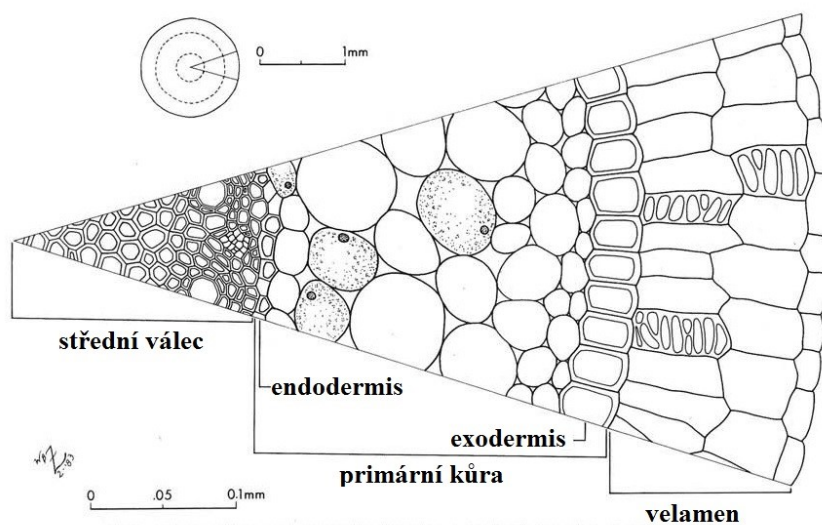
Během evolučního vývoje se orchideje adaptovaly na různé typy prostředí. Dnes známe terestrické, epifytické i lithofytické zástupce, vyskytující se celosvětově ve všech biomech kromě pouště (Stern, 2014). Příčiny jejich neobvyklého evolučního úspěchu jsou dnes intenzivně studovány a mezi uvažované inovativní znaky, které přispěly k jejich značně úspěšné diverzifikaci, jsou řazeny například specifické systémy opylování a koevoluce s opylovači, vznik CAM metabolismu (ang. *crassulacean acid metabolism*) či přechod k epifytickému způsobu života (Silvera *et al.*, 2009; Givnish *et al.*, 2015).

Více než 69 % všech druhů orchidejí je epifytických a tvoří tak dominantu všech cévnatých epifytů, které byly dosud objeveny (Zotz, 2013). Tři nejpočetnější rody orchidejí, *Bulbophyllum*, *Dendrobium* a *Epidendrum* (Zotz, 2013; Chase *et al.*, 2015) obsahují převážně epifytické druhy. Epifytický způsob života zahrnuje mnoho podmínek naprosto odlišných od těch, ve kterých žijí terestrickí zástupci, například specifický typ substrátu či periodický nedostatek vody a živin často v kombinaci s vysokým ozářením (Lüttge, 2008).

Hlavním limitujícím faktorem na epifytických stanovištích je dostupnost vody a živin (Benzing, 1990). U většiny epifytických orchidejí jsou za příjem vody a živin odpovědné takřka výhradně kořeny. Výjimkou je například *Dendrobium senile* s dobře vyvinutými absorpčními trichomy po celém těle (Averyanov *et al.*, 2016). U epifytů, a nejen u orchidejí, jsou kořeny často v přímém kontaktu s atmosférou. Proto se u nich vytvořily specializované morfologické struktury pro zadržování periodicky dostupné vody a další adaptace vedoucí k celkovému přizpůsobení k růstu v korunách stromů (Stern, 2014). Tato práce se zabývá vzdušnými kořeny epifytických orchidejí a hlavním cílem je zde shrnout poznatky právě o jejich neobvyklé stavbě v souvislosti s uvažovanými funkcemi.

2 Anatomická stavba kořenů a její funkce

Stejně jako většina ostatních jednoděložných rostlin, mají orchideje kořenový systém složený z adventivních kořenů, jejichž funkce je primárně absorpční (Stern, 2014). Základní zjednodušenou strukturu kořenů terestrických i epifytických orchidejí popsal Pridgeon (1987) (Obr.1). Povrch kořene tvoří jednovrstevná či vícevrstevná epidermis, která na vnitřní straně navazuje na primární kůru. V té lze na povrchu odlišit nápadnou vrstvu sekundárně ztloustlých buněk exodermis plnící funkci apoplastické bariéry. Pod nimi se nachází střední vrstva primární kůry (mesodermis) z více vrstev tenkostěnných parenchymatických buněk a pod ní vrstva endodermis, která již těsně sousedí se středním válcem (Pridgeon, 1987) (Obr.1).



Obrázek 1: Řez kořenem epifytické orchideje *Restrepiella ophiocephala*.
– převzato a upraveno podle Pridgeon (1987)

2.1 Rhizodermis

U orchidejí rozlišujeme na povrchu kořenů dva typy pokožky. Prvním je klasická jednovrstevná rhizodermis tvořená především živými buňkami s absorpční funkcí (Stern, 2014). Tento typ se nachází převážně u terestrických orchidejí, nicméně lze ji pozorovat i u některých epifytických zástupců, například u rodu *Vanilla* (Stern & Judd, 1999).

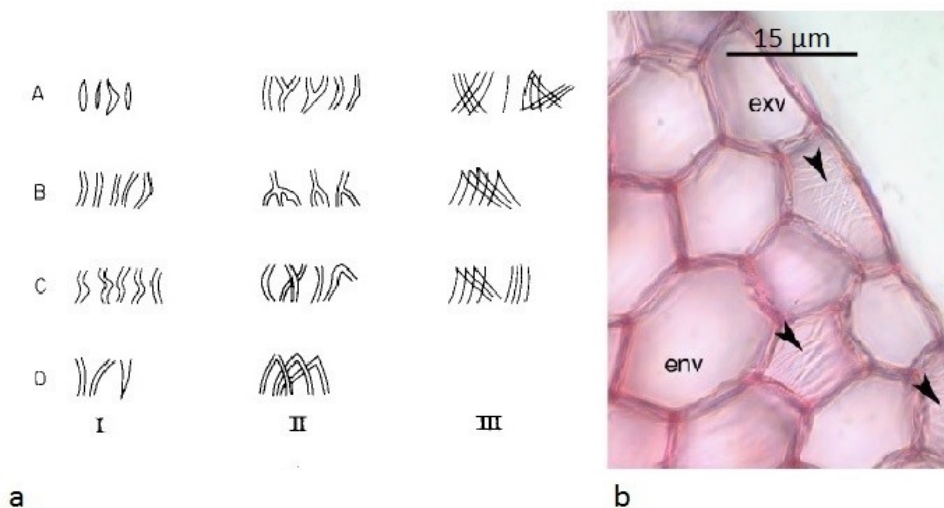
Druhým typem pokožky, typickým naopak pro epifytické orchideje, je struktura, tvořená jednou či více vrstvami mrtvých buněk, známá pod pojmem velamen (ang. *velamen radicum*) (Haberlandt, 1914; Pridgeon, 1987; Joca *et al.*, 2017). Na rozdíl od klasické rhizodermis je velamen téměř vždy na vnitřní straně ohraničen vrstvou specializovaných buněk exodermis (Porembski & Barthlott, 1988). Velamen ale není specifikem orchidejí, a dokonce ani epifytů. Jeho výskyt byl doložen u více než 240 rodů terestrických jednoděložných rostlin, převážně z řádů *Asparagales*, *Liliales*, *Alismatales* a *Poales*,

a u jednoho řádu rostlin dvouděložných, *Lamiales* (Zotz *et al.*, 2017). Funkce velamenu u terestrických orchidejí zatím není objasněná (Zotz *et al.*, 2017).

2.1.1 Anatomická stavba velamenu

Tvary mrtvých buněk velamenu jsou polygonální (mnohotvaré), eliptické nebo obdélníkovité, v příčném průřezu (Oliveira & Sajo, 1999). Zpravidla můžeme odlišit tzv. epivelamen, svrchní vrstvu velamenu, která je tvořena zploštělými, menšími a méně lignifikovanými buňkami a dále ostatní vrstvy velamenu často s buňkami tangenciálně protáhlými (Sanford & Adanlawo, 1973; Pridgeon, 1987). Velikost buněk velamenu je proměnlivá a u některých druhů narůstá se vzdáleností od exodermis. Množství vrstev je mezidruhově variabilní a pohybuje se od 1 (*Vanilla*) do 24 (*Cyrtopodium punctatum*) (Pridgeon, 1987; Benzing, 1990). Jsou ale známé i práce, které ukazují, že se počet vrstev velamenu může lišit v rámci jediného druhu či dokonce jedince, například u rodu *Pleurothallis* (Pridgeon, 1987; Oliveira & Sajo, 1999) nebo rodu *Dendrobium* (Joca *et al.*, 2017). Kromě počtu vrstev velamenu se kořeny epifytických orchidejí odlišují i v typech a stupních tloušťky buněk (Stern, 2014; Joca *et al.*, 2017).

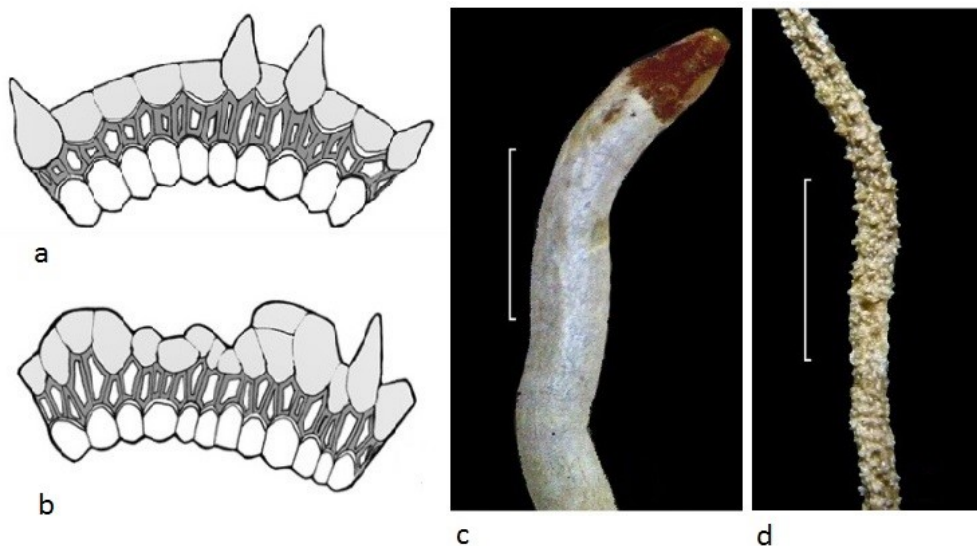
Primární buněčné stěny buněk velamenu jsou tvořeny mikrofibrilami celulózy propojenými řetězcí hemicelulózy a pektinů (Barberon & Geldner, 2014; Joca *et al.*, 2017). U většiny orchidejí jsou buněčné stěny sekundárně vyztužené a zpravidla obsahují otvory, které propojují volné prostory uvnitř odumřelých buněk. Buňky velamenu odumírají záhy po svém vzniku, zpravidla hned za prodlužovací zónou kořene. Na tangenciálních a někdy i na radiálních buněčných stěnách se dostředivě ukládá lignin a utváří vnitřní vláknitou strukturu, jejíž textura je u většiny druhů variabilní (Benzing *et al.*, 1983; Pridgeon, 1987). Sekundární tloušťky zde pravděpodobně funguje jako mechanická ochrana a zároveň zábrana buněčného zhroucení po odumření buňky (Pridgeon, 1987). Klasifikaci různých typů textur tohoto tloušťky navrhli jako jedni z prvních autoři Sanford & Adanlawo (1973) u afrických epifytických orchidejí (Obr. 2a) a jejich rozdělení je dodnes používáno při popisu velamenu u jednotlivých druhů orchidejí (Obr. 2b) (Thangavelu & Muthu, 2017).



Obrázek 2: Typy textur sekundárního tloušťnutí buněk velamenu epifytických orchidejí.
a) Rozdělení typů textur sekundárních buněčných stěn velamenu afrických epifytických orchidejí.
– převzato ze Sanford & Adanlawo (1973)
b) Detail průřezu kořenem *Epidendrum radicans*, (exv) – svrchní vrstva velamenu, (env) – spodní vrstva velamenu. Šípky ukazují na texturu typu III A.
– převzato z Thangavelu & Muthu (2017)

Kvůli značné variabilitě velamenů u studovaných druhů epifytických orchidejí navrhli autoři Porembski & Barthlott (1988) jiné rozdělení velamenů do 12 základních typů. Jednotlivé typy jsou nazývané dle hlavních rodů orchidejí, které je reprezentují: *Calanthe*, *Bulbophyllum*, *Pleurothallis*, *Malaxis*, *Spiranthes*, *Coelogyne*, *Dendrobium*, *Epidendrum*, *Cymbidium* a *Vanda* typ (Porembski & Barthlott, 1988; Stern, 2014). Jednotlivé typy charakterizuje například množství vrstev velamenu, velikost buněk a typy tloušťnutí buněčných stěn či vlastnosti buněk exodermis a primární kůry. Poslední dva typy zahrnují orchideje s nespecifikovaným velamenem (ang. *unspecified velamen*) a prostou jednovrstevnou rhizodermis (ang. *velamen absent*) (Porembski & Barthlott, 1988).

Vzdušné kořeny s velamenem se vyznačují ve většině případů hladkým povrchem (Stern, 2014) (Obr. 3c). Je zajímavé, že u některých orchidejí byl pozorován atypický povrch vzdušných kořenů se zrnitou či nádorovitou texturou (Obr. 3d). Pessoa *et al.* (2017) detailně zkoumali anatomicky odlišné typy kořenů u rodu *Campylocentrum*. Výsledky ukázaly, že zrnitý vzhled vícevrstevného velamenu může být způsoben dvěma základními strukturami. Mohou ho tvořit jednobuněčné tenkostěnné kořenové vlásky vycházející z epivelamenu (Obr. 3a) nebo přímo shluky buněk epivelamenu (ang. *tufts*), které vystupují do prostoru (Obr. 3b) (Pessoa *et al.*, 2017).



Obrázek 3: Variabilita povrchu vzdušných kořenů u rodu *Campylocentrum*.
 a) Kořenové vlásky epivelamenu. b) Shluky buněk epivelamenu (ang. *tufts*).
 (světle šedá – epivelamen, tmavě šedá – exodermis, bílá – svrchní vrstva primární kůry)
 c) Hladký povrch kořene *C. crassirhizum*.
 d) Zrnitý povrch kořene *C. poeppigii*.
 - převzato z Pessoa *et al.* (2017)

Kořenové vlásky pozorovali u epifytických orchidejí například i Carlsward *et al.* (2006), a to konkrétně u dalších druhů z tribu *Vandae*. Z jejich výsledků vyplývá, že pokud jsou přítomny kořenové vlásky, mají buňky velamenu a exodermis zpravidla tenčí buněčné stěny, než když kořenové vlásky chybí. Je pravděpodobné, že zvýšením počtu kořenových vlásků dochází ke zvětšení plochy pro absorpci, a tím je zvýšen celkový příjem vody.

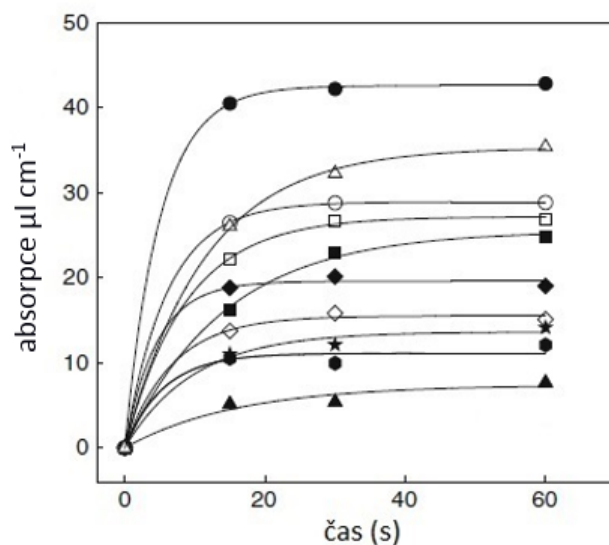
2.1.2 Příjem vody a živin kořeny s velamenem

Vnější vrstvu kořene epifytických orchidejí označil jako první pojmem *velamen radicum* Schleiden (1849). Za primární funkci byla od objevu považována hlavně absorpce vodní páry a plynů. Příjem vody je pak dodnes často považován za hlavní funkci velamenu. Většina moderních studií vlastností velamenu je prováděna u epifytických orchidejí (Zotz *et al.*, 2017) a tyto studie uvádí mnohem rozšířenější pole funkcí. Jedná se o příjem a zadržování vody i minerálních látek, fixaci k podkladu, mechanickou ochranu, redukci vodních ztrát (Pridgeon, 1987; Benzinger, 1990; Zotz & Winkler, 2013; Zotz *et al.*, 2017) a ochranu před UV-B zářením (ang. *ultraviolet B*) (Chomický *et al.* 2015).

Pokud se velamen dostane do kontaktu s vodou, jeho vzduchem vyplněné mrtvé buňky se naplní vodou. Transport vody se soluty nejprve probíhá pasivně, apoplastickou cestou (Joca *et al.*, 2017). Vnitřní prostory buněk zároveň fungují jako efektivní zásobárna vody. Většinou se předpokládá, že počet vrstev velamenu negativně koreluje s vlhkostí stanoviště, kde se daný druh nachází (Oliveira & Sajo, 1999).

První experimenty mající za cíl potvrdit vysokou absorpční schopnost velamenu, probíhaly už v 19. století. Prostým měřením změny hmotnosti kořenů s velamenem po jejich umístění do vlhkého prostředí vědci pozorovali skutečnost, že velamen má patrně schopnost absorpce vody i přímo z vlhkého vzduchu (označovanou jako kondenzační kapacitu; Pridgeon, 1987). Podobnými pokusy s měřením hmotnosti testovali i výdej vody kořeny (transpiraci). Kondenzační kapacita kořenů však nebyla dále studována a další práce se zaměřily pouze na příjem vody v kapalném skupenství (z deště a rosy).

U epifytických orchidejí bylo pozorováno, že velamen zachycuje největší množství vody v prvních sekundách dopadu srážek na kořeny (Went, 1940). Takové chování by mohlo být způsobeno zachycením hned prvních dopadajících kapek vody, protože dešťová voda zpravidla obsahuje větší množství živin pouze v prvních minutách deště (Gambell & Fisher 1964; Angstrom & Hoberg 1952; Minoura & Iwasaka 1996). Tento předpoklad testovali Zotz & Winkler (2013) s kladným závěrem a zjištěním, že u 11 testovaných epifytických orchidejí došlo po první minutě ponoření do deionizované vody k úplnému nasycení všech vrstev velamenu. Nejrychleji běžela saturace v prvních 15 sekundách, kdy se velameny naplnily z $82 \pm 4 \%$ (Obr. 4) (Zotz & Winkler, 2013).



Obrázek 4: Časový průběh příjmu vody u 10 vybraných druhů orchidejí. Symboly reprezentují jednotlivé druhy, uvedeny jsou zde průměry naměřených hodnot pro každý testovaný druh. U všech druhů došlo k naplnění velamenu vodou velmi rychle. – převzato a upraveno podle Zotz & Winkler (2013)

Dle výsledků Zotz & Winkler (2013) je ztráta vody na rozdíl od příjmu velmi pomalá a je závislá na množství buněčných vrstev velamenu. V této studii například autoři pozorovali, že voda byla ve velamenu většiny jimi testovaných epifytických orchidejí zadržována více než 1 hodinu. Shodují se tak na dlouhodobém zadržování vody velamenem s autory Dycus & Knudson (1957), kteří testovali podobným způsobem jiné druhy orchidejí.

Ačkoli jsou buňky velamenu mrtvé, jejich buněčná stěna si zachovává svoji specifickou strukturu a složení, díky kterému se velamen uplatňuje nejen v příjmu vody, ale také v příjmu živin

(Zotz & Winkler, 2013). Po rychlé absorpci vody s živinami následuje ve velamenu zadržování nabitých iontů (Zotz & Winkler, 2013). Hlavní roli v příjmu živin pomocí velamenu má buněčná stěna. Základními složkami primární buněčné stěny jsou celulóza, hemicelulózy a pektiny (Barberon & Geldner, 2014). Důležitost přítomnosti právě pektinů v buněčných stěnách velamenu pozorovali ve svých experimentech Zotz & Winkler (2013) i Joca *et al.* (2017). Pektiny jsou polysacharidy bohaté na kyselinu galakturonovou, která jim díky obsahu karboxylových skupin ($R.COO^-$) propůjčuje záporný náboj. Pro testování absorpce a zadržování iontů využili autoři v obou studiích radioizotopy $^{86}Rb^+$, jakožto analogu pro K^+ , a dále ^{32}P . Závěrem byl fakt, že zde pektiny díky svým vlastnostem působí jako akumulátory kationtů, zatímco anionty jsou odpuzovány (Barberon & Geldner, 2014). Tato apoplastická cesta skrz velamen zásadně přispívá k toku živin do kořenů epifytických orchidejí, a tvoří tak jednu z hlavních funkcí velamenu. Přechod iontů do symplastu je poté zajišťován specifickými přenašeči v průchozích buňkách exodermis (Peterson & Enstone, 1996).

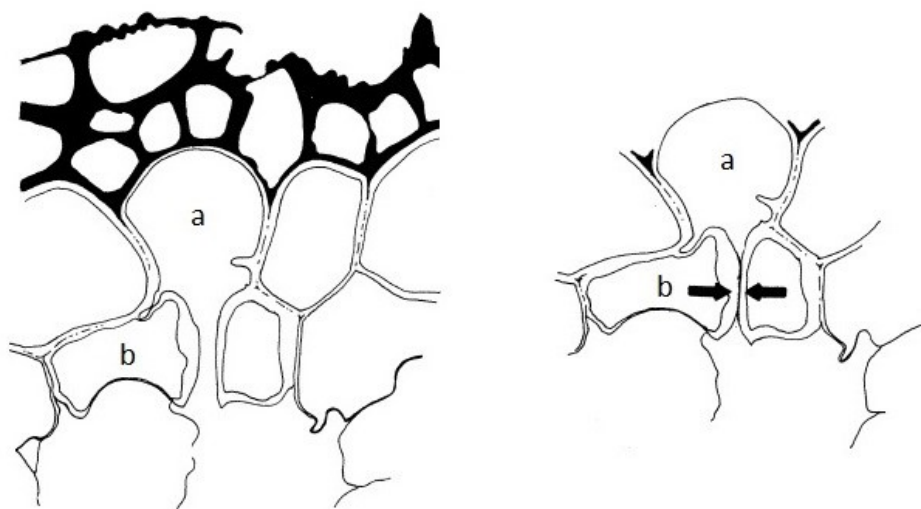
2.1.3 Pneumatody

Pneumatody jsou popisovány mnoha autory jako vícebuněčné, specializované struktury v kořenech epifytických orchidejí. Lze je najít především u zástupců tribu *Vandaeae*, například u rodů *Campylocentrum*, *Vanda*, *Phalaenopsis* (Benzing, 1983), *Cleisostoma* (Ponert *et al.*, 2016) nebo *Dendrophylax* (Mújica *et al.*, 2018). Pneumatody mohou mít různé velikosti, tvary i počet. Většinou se na kořenech vyskytují ve větším počtu, nicméně například u epifytické orchideje *Campylocentrum pachyrrhizum*, která má specifické ploché vzdušné kořeny, byly pozorovány na některých kořenech pouze 2 podlouhlé pneumatody (Benzing, 1983).

Jako jeden z prvních popsal buněčnou strukturu pneumatod Haberlandt (1914), a to na kořenech *Taeniophyllum zollingeri*. Vymezil tři části, ze kterých se dle jeho pozorování pneumatody skládají – velmi lignifikované buňky velamenu vyplněné vzduchem, jedna a více tenkostěnných buněk exodermis a specializované buňky primární kůry (Haberlandt, 1914). Autoři Benzing *et al.* (1983) na rozdíl od předešlých studií označili pojmem pneumatoda pouze vzduchem vyplněné buňky velamenu, zatímco přiléhající buňky exodermis a primární kůry již do termínu pneumatoda nezahrnují. Buňky exodermis nacházející se pod pneumatodami charakterizovali jako tzv. provzdušňovací buňky (ang. *aeration cells*) (Obr. 3). U všech pozorovaných druhů orchidejí byly tyto buňky tenkostěnné, prázdné a často propojené s mezibuněčnými prostory primární kůry díky chybějícím vnitřním tangenciálním stěnám. Celý tento komplex buněk velamenu s provzdušňovacími buňkami prezentovali jako tzv. provzdušňovací jednotky (ang. *aeration units*). Jakmile se mrtvé buňky velamenu naplní vodou, fungují jako difuzní bariéra a je tak výrazně omezen přístup plynů, především pak CO_2 k vnitřním vrstvám kořene. Fotosyntetizující parenchym primární kůry tedy nemá dostatečný přísun CO_2 , což snižuje rychlost fotosyntézy (Cockburn *et al.*, 1985; Reinert, 1998). Na rozdíl od buněk velamenu se vysoce lignifikované buňky pneumatod vodou neplní a pneumatody si zachovávají na pohled bílou až šedivou barvu, typickou pro suchý

velamen. I přes neshody v názvech jednotlivých částí je pravděpodobné, že tyto struktury zprostředkovávají průchod plynů do primární kůry vzdušných kořenů (Benzing *et al.*, 1983; Telepova-
Texier, 2000; Carlsward *et al.*, 2006; Stern, 2014).

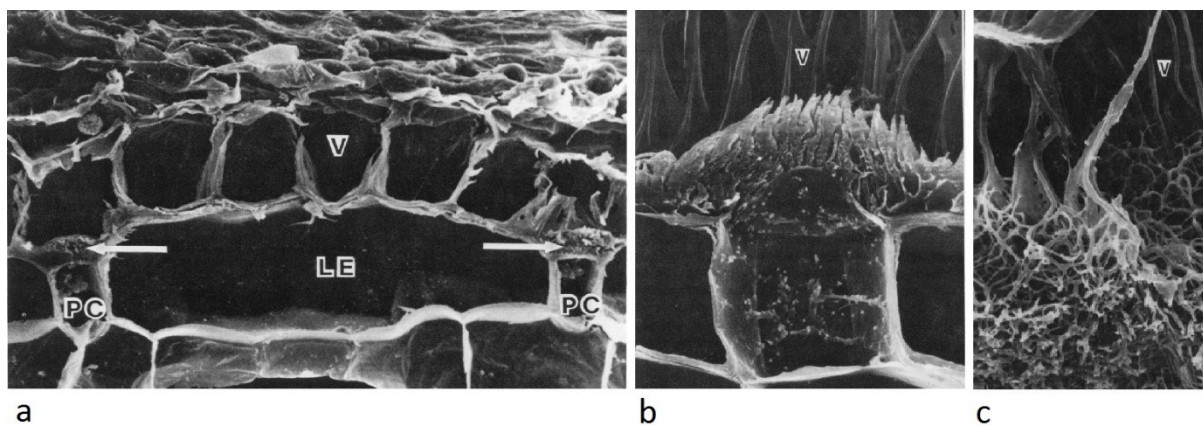
Možný mechanismus regulace této výměny plynů byl pozorován v kořenech orchideje *Harrisella porrecta* (Obr. 3) (Benzing *et al.*, 1983). Pouhou změnou turgoru ztloustlých buněk primární kůry, které se nachází pod provzdušňovací buňkou, by mohl být ovlivněn přísun plynů do primární kůry podobně jako je tomu u svěracích buněk listových průduchů (Benzing *et al.*, 1983). Nicméně tento předpoklad není podpořen přímými důkazy a regulace příjmu plynů vzdušnými kořeny nebyla dále studována.



Obrázek 3: Možný mechanismus regulace transportu plynů do kořene *Harrisella porrecta*, (a) – provzdušňovací buňka exodermis, (b) – buňka střední části primární kůry. Šipky naznačují změnu turgoru provzdušňovacích buněk a uzavření štěrbin. - převzato a upraveno podle Benzing *et al.* (1983)

2.1.4 Tilosomy

Lignifikované výrůstky buněk nejspodnější vrstvy velamenu se nazývají tilosomy (Pridgeon *et al.*, 1983). První popis této struktury uvedl Chatin (1856), který představil tilosomy jako silné papilární výrůstky buněk viditelné ve velamenu orchideje *Bulbophyllum careyanum*. V průběhu dalších studií se ukázalo, že tilosomy se vyskytují pouze v těch buňkách velamenu, které jsou v těsném kontaktu s průchozími buňkami vrstvy exodermis (Obr. 4). Ze 175 testovaných rodů čeledi vstavačovitých se tilosomy nacházely u 39 téměř výlučně epifytických rodů (například u rodu *Bulbophyllum*) (Pridgeon *et al.*, 1983). Je tedy pravděpodobné, že vývoj tilosomů souvisí s adaptací orchidejí na epifytický způsob života. Pridgeon *et al.* (1983), kteří se mimo jiné zasloužili o univerzální termín tilosom, představili sedm anatomicky odlišných typů – v angličtině označovaných jako *spongy*, *lamellate*, *discoïd*, *webbed*, *meshed*, *baculate* a *plaited tilosome*. Mnohé typy jsou druhově specifické, tudíž lze této rozmanitosti využít při fylogenetické klasifikaci orchidejí (Pridgeon, 1987).



Obrázek 4: Tilosomy v kořenech orchidejí. a) Radiální řez kořenem *Sobralia decora*, (V) - velamen, (LE) - dlouhá exodermální buňka, (PC) - průchozí buňka, (C) - primární kůra. Bílé šipky ukazují na tilosomy. b) Radiální řez kořenem *Encyclia radiata*. Detailní pohled na průchozí buňku exodermis a přilehlé tilosomy. c) Detail buňky velamenu s tilosomy typu *webbed* u *Polystachya flavescens*. – převzato z Pridgeon *et al.* (1983)

Fakt, že se tyto struktury nachází výhradně v těsném kontaktu s průchozími buňkami, je v současné době prakticky jediné, co můžeme využít pro určení jejich funkce. Většina autorů se přiklání k názoru, že se jedná o strukturu, která zabráňuje nadměrné transpiraci z průchozích buněk (Pridgeon, 1983). Mezi další uvažované funkce patří například absorpce či kondenzace vodních par nebo možná zábrana průniku patogenů do primární kůry (Pridgeon, 1983). Stavba tilosomů je mezi různými druhy orchidejí značně variabilní, a tak je možné, že se budou jejich funkce u různých druhů lišit.

2.1.5 Ochranná funkce velamenu proti slunečnímu záření

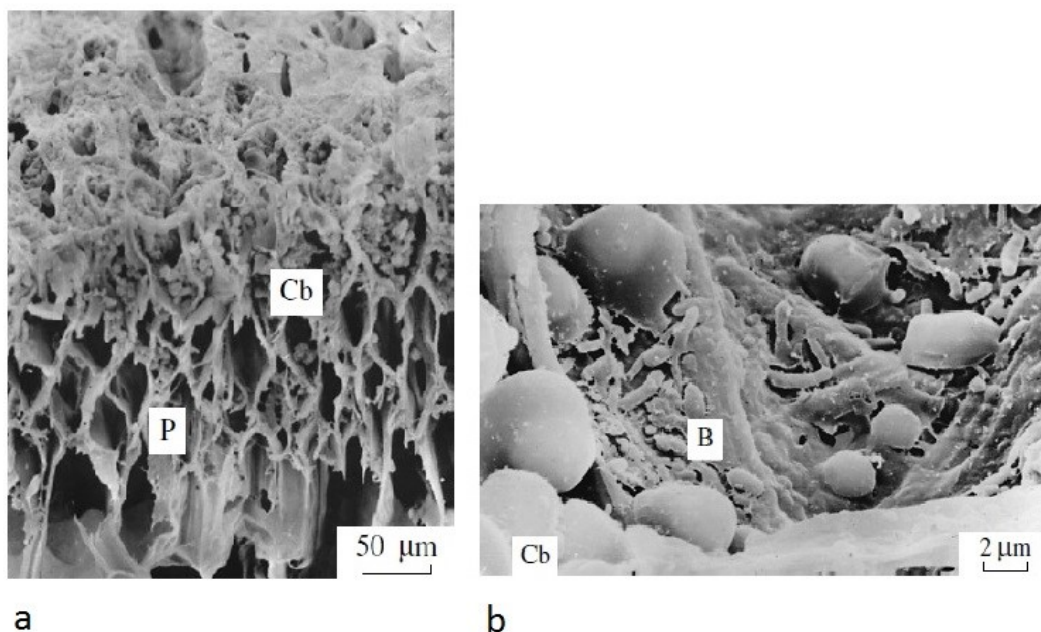
Dalším stresovým faktorem vedle nerovnoměrného zásobení vodou a živinami je u epifytických zástupců orchidejí vysoké ozáření. Jelikož vzdušné kořeny orchidejí se díky přítomnosti chloroplastů v buňkách primární kůry podílí na fotosyntéze a u bezlistých orchidejí kořeny plně přebírají tuto úlohu, je potenciální ochranná funkce velamenu intenzivně testována (Ho *et al.*, 1983). Velmi důležitá je ochrana proti nebezpečnému UV-B záření (280–315 nm), jehož podíl stoupá s nadmořskou výškou a s klesající zeměpisnou šířkou (Singh *et al.*, 2017). UV-B záření v rostlinách způsobuje mutace DNA, degradaci fotosyntetického aparátu, změny sekundárního metabolismu aj. (shrnutí v Jansen *et al.*, 1998; Singh *et al.*, 2017). Většina cévnatých rostlin využívá akumulaci sekundárních fenolických sloučenin v listové epidermis – především flavonoidů, jako ochranu proti UV záření (shrnutí v Agati & Tattini 2010; Singh *et al.*, 2017). Fotoprotektivní funkce flavonoidů byla pozorována také u fotosyntetizujících kořenů epifytických orchidejí pokrytých vrstvami mrtvých buněk velamenu (Chomicki *et al.*, 2015). Akumulaci flavonoidů ve velamenu autoři pozorovali pouze u epifytických zástupců orchidejí, nikoli u terestrických. Na rozdíl od ostatních cévnatých rostlin, kde se koncentrace flavonoidů může v živých epidermálních buňkách během ontogeneze měnit, je koncentrace ve zralém velamenu vzdušných kořenů stálá. Flavonoidy vznikají v živých buňkách kořenové špičky a ukládají se do buněčných stěn před odumřením těchto buněk budoucího velamenu. U některých orchidejí bylo zjištěno ukládání flavonoidů i ve vrstvě exodermis a přilehlé vrstvě primární kůry (Chomicki *et al.*, 2015). Autoři soudí, že syntéza

flavonoidů v kořenech orchidejí je řízena světlem. Ukázali také, že bezlistá orchidej s plochými kořeny *Dendrophylax lindenii* obsahovala více flavonoidů na více ozářené straně kořenů. Kořeny *Phalaenopsis* hybr. rostoucí ve tmě obsahovaly výrazně méně flavonoidů než kořeny rostoucí na světle. Světlo indukuje expresi paralogů genu chalkon-syntázy (CHS) *PhCHS3* a *PhCHS4* (*Phalaenopsis chalcone synthase 3,4*), která je jedním z prvních enzymů biosyntetické dráhy flavonoidů (Jansen *et al.*, 1998; Chomicki *et al.*, 2015). Výsledkem je dlouhodobá ochrana a vysoká fotosyntetická účinnost ve vzdušných kořenech i pod UV-B stresem (Chomicky *et al.*, 2015).

2.1.6 Endofyté velamenu

Povrch kořene tvořený mrtvými buňkami velamenu může plnit i úlohu specifické ekologické niky pro mikroorganismy (Tsavkelova *et al.*, 2003a, Tsavkelova *et al.*, 2003b). Výskyt jak heterotrofních, tak i fototrofních mikroorganismů s dominancí sinic, byl pozorován u mnoha epifytických orchidejí (Obr. 5), například u druhu *Dendrobium moschatum* či *Pholidota articulata* (Tsavkelova *et al.*, 2003a; Tsavkelova *et al.*, 2007). Na povrchu kořenů se tvoří plášť z kolonií sinic a bakterií, v případě *Dendrobium moschatum* tmavě zelený a až 3 mm tlustý (Tsavkelova *et al.*, 2003a). Přítomnost tohoto pláště má negativní vliv na rychlost fotosyntézy kořene, nicméně, jak pozorovala Tsavkelova (2011), může podporovat růst a diferenciaci houbových hyf orchideoidní mykorhizy. Některé sinice přirozeně produkují polysacharidy a utváří tak slizovitý obal, který může sloužit ostatním mikroorganismům – bakteriím a houbám jako zdroj živin a energie (Tsavkelova, 2011). Přítomnost těchto symbiotických mikroorganismů závisí dle studií na vlhkosti stanoviště dané rostliny. Čím vyšší vzdušná vlhkost, tím je vyšší hustota osídlení povrchu vzdušných kořenů (Tsavkelova *et al.*, 2003a). Z posledních poznatků vyplývá, že se tento symbiotický vztah mezi mikroorganismy a kořeny orchidejí vyskytuje i u terestrických zástupců, nicméně v mnohem menším měřítku (Tsavkelova, 2011).

Studiem symbiotického vztahu sinic a epifytických orchidejí se zabývá jen málo autorů a zatím není prokázán přímý vliv těchto mikroorganismů na růst orchidejí. Existují ale studie naznačující pozitivní vliv této symbiózy na orchideje. Společenstvo sinic na vzdušných kořenech epifytických orchidejí je velice variabilní a nejvíce jsou v něm zastoupeny sinice rodů *Nostoc*, *Anabaena*, *Scytonema* a *Calothrix* (Tsavkelova *et al.*, 2003b; Tsavkelova, 2011). Některé tyto rody jsou schopné vázat vzdušný dusík, a proto by dle autorů mohly figurovat v kořenech jako tzv. diazotrofní organizmy, které by epifytickým orchidejím pravděpodobně dokázaly zvýšit příjem potřebného dusíku (Tsavkelova *et al.*, 2003a). Pro epifytické orchideje, rostoucí na stromech v oblastech tropických deštných lesů, kde je běžné nedostatečné množství živin, by tato symbióza mohla být velice významná.



Obrázek 5: Mikroorganismy na vzdušných kořenech orchidejí.
 a) Průřez velamenem *Acampe papillosa*, (P) -velamen, (Cb) – sinice.
 b) Povrch kořene *Dendrobium phalaenopsis*, (B) - bakterie, (Cb) – sinice.
 – převzato z Tsavkelova *et al.* (2003a)

Součástí mikrobiálního společenstva vzdušných kořenů jsou i tzv. satelitní bakterie. Jedná se o rhizobakterie z různých kmenů, které se podobně jako sinice vyskytují u epifytických orchidejí v mnohem větší koncentraci než u orchidejí terestrických (Tsavkelova *et al.*, 2007). Některé tyto bakterie dokáží podobně jako sinice fixovat vzdušný dusík, a také byla u některých pozorována v laboratorních podmínkách produkce rostlinného fytohormonu auxinu, konkrétně kyseliny indol-3-octové (IAA) (Tsavkelova *et al.*, 2005; Tsavkelova *et al.*, 2007). Tato schopnost satelitních bakterií produkovat některé fytohormony a ovlivňovat tak růst orchidejí je stále předmětem testování podobně jako dosud neprokázaný transport dusíku z bakterií do kořenů orchidejí (Bayman & Otero, 2006). Zda se tyto bakterie budou řadit k tzv. *plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR), které mají prokazatelně stimulační vliv na růst rostlin, je předmětem dalších studií.

2.2 Primární kůra

Pod vrstvami velamenu u orchidejí najdeme primární kůru, jejíž buňky jsou převážně parenchymatické a v různých stádiích sekundárního tloušťnutí. Primární kůra plní hlavně mechanickou, ochrannou a zásobní funkci. U mnoha epifytických orchidejí byla potvrzena i schopnost zastávat asimilační funkci, avšak poznatky o průběhu fotosyntézy ve vzdušných kořenech zdaleka nejsou úplné. Primární kůru tvoří zpravidla 3 odlišné vrstvy, které jsou níže podrobně popsány.

2.2.1 Exodermis

Vrstva exodermis byla vymezena Haberlandtem (1914) jako nejsvrchnější vrstva primární kůry kořene. U orchidejí je exodermis zpravidla jednovrstevná, dimorfní a vykazuje vysokou podobnost s vrstvou endodermis. Skládá se z tzv. průchozích buněk a dlouhých lignifikovaných či suberinizovaných buněk. Buňky exodermis podléhají třem fázím tloustnutí (Pridgeon, 1987; Peterson & Enstone, 1996). První fází je tvorba tzv. Caspariho proužků s vysokým obsahem ligninu či suberinu, které se ukládají v buňkách ekvatoriálně na radiálních stěnách, a tvoří tak opaskovitou strukturu. Díky svému složení nejsou propustné pro vodu a v ní rozpuštěné ionty (soluty) a plní tak funkci první apoplastické bariéry na cestě solutů od povrchu kořene do středního válce. Pro druhou fázi tloustnutí buněk exodermis je charakteristické ukládání ligninu a suberinu na všech stěnách buněk, popisované často jako O-ztlustlina díky tvaru do kruhu. Třetí fází je tvorba terciální celulózní buněčné stěny, která je popisována jako U-ztlustlina, jelikož na příčném řezu je buňka ztloustlá na jedné vnitřní periklinální stěně a obou radiálních stěnách a ztlustlina tak tvoří útvar podobný misce (Peterson & Enstone, 1996). Souhrnně se z výsledků studií Peterson & Enstone (1996) a Joca *et al.* (2017) dá říct, že tvorba Caspariho proužků v exodermis je typická spíše pro terestrické orchideje, zatímco O-ztlustlinu a U-ztlustlinu lze nalézt spíše u epifytických zástupců.

2.2.2 Průchozí buňky exodermis

Zásadní strukturou pro příjem vody a iontů jsou krátké tenkostěnné živé průchozí buňky (ang. *passage cells*) (Pridgeon, 1987; Peterson & Enstone, 1996). Tyto buňky se vyznačují především hustou cytoplazmou, vysokou metabolickou aktivitou a absencí sekundárního tloustnutí buněčných stěn (Peterson & Enstone, 1996). V čeledi vstavačovitých je najdeme jak v exodermis, tak i v endodermis kořene. U epifytických orchidejí, kde buňky velamenu odumírají, přejímají průchozí buňky exodermis funkci živých buněk rhizodermis, nacházejících se v přímém kontaktu s půdou (Barberon & Geldner, 2014; Joca *et al.*, 2017). Díky vyztuženým buněčným stěnám plní exodermis také funkci selektivního příjmu iontů do symplastu (Peterson & Enstone, 1996; Joca *et al.*, 2017). Jedním z rozdílů mezi buňkami exodermis a endodermis je rozdílná přítomnost orchideoidních mykorhizních hub (Peterson & Enstone, 1996). Dle studie Esnault *et al.* (1994) jsou živé průchozí buňky exodermis pravděpodobně jediným místem, kudy mohou houbové hyfy proniknout do primární kůry kořene. Buněčné stěny ostatních buněk exodermis s vysokým obsahem ligninu fungují pravděpodobně jako mechanická bariéra pro průchod hyf (Esnault *et al.*, 1994; Chomicky *et al.*, 2014). Pouze hyfy, které se dostanou do kontaktu s průchozí buňkou, mohou skrz ni projít do primární kůry (Chomicky *et al.*, 2014). V hlubších vrstvách střední vrstvy primární kůry ani v endodermis se hyfy mykorhizních hub u orchidejí nevyskytují (Esnault *et al.*, 1994).

Na kořenech *Dendrophylax lindenii* bylo pozorováno nepravidelné rozmístění průchozích buněk exodermis (Chomicky *et al.*, 2014). Tato bezlistá orchidej, specifická svým nepravidelným

tvarem kořenů, vykazovala nejvyšší hustotu průchozích buněk exodermis na spodní straně kořenů sousedící s podkladem. Díky této schopnosti asymetricky umístit průchozí buňky je kontrolován výskyt houbových endofytů, a tím minimalizován vliv na fotosyntetický aparát ve svrchní části primární kůry (Chomický *et al.*, 2014). U bezlistých orchidejí by se tak mohl zvýšit příjem uhlíku (Chomický *et al.*, 2014). Autoři Esnault *et al.* (1994) pozorovali, že distribuce houbových hyf nemusí být v různě starých částech kořene stejná. Je pravděpodobné, že mykorrhizní houby infikují průchozí buňky v rané vývojové fázi a přetrvávají zde po dobu vývoje kořene.

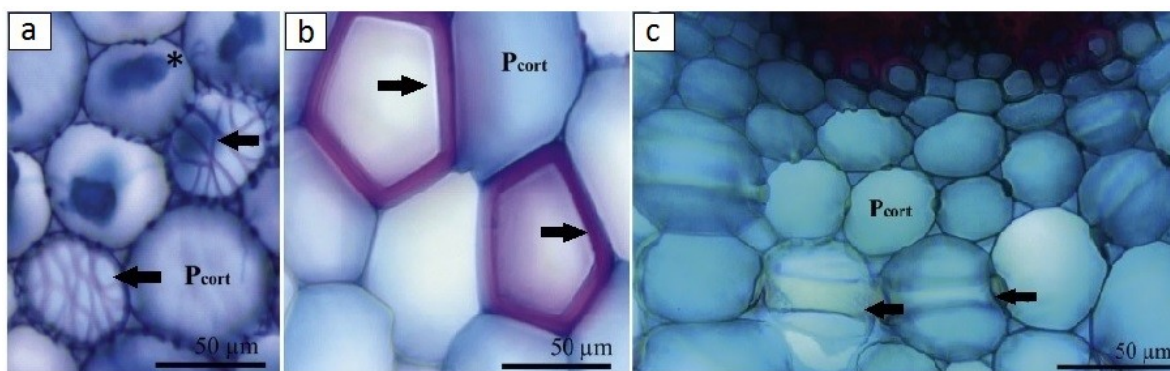
2.2.3 Střední vrstva primární kůry

Součástí primární kůry kořenů epifytických orchidejí je vrstva exodermis, endodermis a vícevrstevná střední část, někdy nazývaná mesodermis. Ta zaujímá největší plochu primární kůry a je tvořena živými i mrtvými buňkami různých typů (Benzing *et al.*, 1983).

Ze studie autorů Moreira & Isaias (2008), kteří porovnávali anatomickou strukturu kořenů terestrických a epifytických orchidejí, vyplývá, že velikost buněk střední vrstvy primární kůry je druhově variabilní a ve většině kořenů klesá tato velikost od středu k okrajům primární kůry. Nejmenší buňky se tak mnohdy nachází ve vrstvách sousedících s endodermis a exodermis. Druhově variabilní je i počet vrstev této střední části primární kůry (Moreira & Isaias, 2008). Typické jsou zde živé tenkostěnné fotosynteticky aktivní parenchymatické buňky s četnými, mnohdy trojúhelníkovitými mezibuněčnými prostory (Moreira & Isaias, 2008). Jednotlivé parenchymatické buňky zde mohou podléhat sekundárnímu tloušťnutí, a řadit se tak k buňkám zvaným idioblasty (Oliveira & Sajo, 1999; Stern, 2014). Od okolních buněk se idioblasty odlišují svou velikostí, tvarem, obsahem a odlišným stupněm tloušťnutí buněčných stěn.

Jedním z typů tloušťnutí buněčných stěn, které se u nich nachází, je tzv. *phi-thickening* (Obr. 6c), popsané poprvé v primární kůře kořene druhu *Pelargonium hortorum* (Haas *et al.*, 1976). Tento typ nerovnoměrného tloušťnutí se vyskytuje u mnoha nahosemenných i krytosemenných rostlin, například u rodu *Brassica* (López-Pérez *et al.*, 2007), *Pyrus* (Peterson *et al.*, 1981) nebo rodu epifytických orchidejí *Miltoniopsis* (Idris & Collings, 2014). Do radiálních buněčných stěn se sekundárně ukládá převážně celulóza a lignin, méně pak suberin nebo taniny, a dochází tak k tvorbě pruhovitých ztluštěnin podobných tvaru řeckého písmene ϕ , podle kterého byl název odvozen (Haas *et al.*, 1976; Moreira & Isaias, 2008; Joca *et al.*, 2017). I přesto, že je *phi-thickening* anatomicky velmi podobné Casparyho proužkům, zpravidla nefunguje jako apoplastická bariéra (Pires *et al.*, 2003). Dalšími typy sekundárního tloušťnutí parenchymatických buněk je síťovité tloušťnutí (Obr. 6a) nebo rovnoměrné tloušťnutí na všech stěnách (Obr. 6b) (Joca *et al.*, 2017). Funkcí těchto ztluštěnin je pravděpodobně mechanická ochrana a zadržování i regulace transportu vody a solutů apoplastem (Dickison, 2000; Joca *et al.*, 2017).

Součástí střední vrstvy primární kůry jsou také tzv. tracheoidální idioblasty. Tento termín zavedl Foster (1956) pro prstencovitě či spirálovitě sekundárně ztloustlé mrtvé buňky, které se tím podobají cévám ve středním válci. Někdy je těmto buňkám přiřazován pojem pseudovelamen díky velké strukturní podobnosti buněk se sekundárně ztloustlými buňkami velamenu (Poremski & Barthlott, 1988; Idris & Collings, 2014). Tracheoidální idioblasty vytvářejí jeden z volných prostorů v primární kůře, který by mohl napomáhat transportu plynů, především pak CO₂, potřebného k fotosyntéze (Benzing *et al.*, 1983). Tento prostor však může být vyplněný také vodou. Dalšími uvažovanými funkcemi tracheoidálních idioblastů v kořenech epifytických orchidejí je proto skladování vody a mechanická opora (Olatunji & Nengim, 1980 a citace uvnitř). Buňky, jejichž buněčná stěna sekundárně netloustne, mohou podléhat apoptóze a dát tak vzniknout lyzigenním intercelulárám, které tvoří prostor sloužící pravděpodobně pouze pro transport plynů primární kůrou (Benzing *et al.*, 1983).



Obrázek 6: Typy sekundárního tloustnutí buněčných stěn buněk primární kůry kořene epifytických orchidejí.
a) Buňky primární kůry kořene *Catasetum planiceps* (P_{cort}). Šipky ukazují síťovité tloustnutí buněčných stěn, (*) – pelotony orchideoidní mykorhizy.
b) Buňky primární kůry kořene *Bifrenaria harrisoniae* (P_{cort}). Šipky ukazují rovnoměrné tloustnutí buněčných stěn.
c) Buňky primární kůry kořene *Cattleya skinneri alba* (P_{cort}). Šipky ukazují tloustnutí typu *phi-thickening*.
– převzato a upraveno podle Joca *et al.* (2017)

V primární kůře se mohou vyskytovat i idioblasty s osmoticky aktivními látkami či minerálními inkluzemi. Pozorovány byly například jehlicovité krystalky šřavelanu vápenatého, zvané rafidy, které mohou fungovat jako chemická ochrana proti herbivorům a zásoba vápenatých iontů (Franceschi & Nakata, 2005; Moreira & Isaias, 2008).

2.2.4 Endodermis

Vrstva kořene, která navazuje bezprostředně na střední válec, se nazývá endodermis a jak bylo uvedeno výše, vykazuje velkou podobnost s vrstvou exodermis. U epifytických orchidejí je endodermis složena z těsně přilehajících buněk bez mezibuněčných prostor, kde buněčné stěny vždy podléhají přinejmenším první fázi sekundárního tloustnutí, tedy tvorbě Casparyho proužků (viz kapitola Exodermis) (Moreira & Isaias, 2008; Stern, 2014). Tento typ sekundárního tloustnutí slouží jako účinná bariéra neregulovaného pohybu iontů apoplastem. Podobně jako u buněk exodermis musí soluty vstoupit

přes plasmalemu do symplastu. U některých orchidejí, například z rodu *Encyclia* či *Polystachya*, pokračuje sekundární tloušťnutí až k tvorbě O-ztlustlin (Moreira & Isaias, 2008; Joca *et al.*, 2017).

Stejně jako ve vrstvě exodermis, je zde nezbytná přítomnost průchozích buněk zodpovědných za selektivní symplastický transport do středního válce (Moreira & Isaias, 2008). Jejich výskyt je nejen v kořenech epifytů často omezen na těsný kontakt s buňkami protoxylému, pravděpodobně z důvodu zvýšení účinnosti transportu (Stern, 2014; Joca *et al.*, 2017). Jak uvádí Joca *et al.* (2017) ve své studii, poměr průchozích buněk s celkovým počtem buněk endodermis nabývá u epifytických orchidejí hodnot od 0,1 do 0,3. U vrstvy exodermis je uváděna hodnota 0,2 až 0,6. S ohledem na specifické vlastnosti průchozích buněk je pravděpodobné, že se zvyšováním jejich počtu roste příjem vody a solutů transportovaných do středního válce. Joca *et al.* (2017) ještě uvádí silnou pozitivní korelaci mezi počtem průchozích buněk endodermis a velikostí velamenu. Uvedené závěry prezentují významnou schopnost epifytických orchidejí zvýšit tak transport vody od povrchu kořenů do středního válce.

2.3 Střední válec

Střední válec má velice podobnou anatomickou strukturu u epifytických i terestrických orchidejí (Moreira & Isaias, 2008). Základní prvky tvoří pericykl, radiálně uspořádané cévní svazky a parenchymatická dřev (Pridgeon, 1987; Stern, 2014). Pericykl je zpravidla tvořen dvěma typy buněk. Buňky, které se nachází v blízkosti xylému, jsou většinou tenkostěnné, pravděpodobně pro usnadnění průchodu živin z primární kůry. Naopak buňky přítomné naproti floému jsou sekundárně ztlouštělé a často tvoří O-ztlustliny (Stern & Judd, 1999; Stern, 2014). Množství vrstev pericyklu se pohybuje od 1 do 3 (Stern, 2014). Cévní svazky jsou diarchní až 35-archní (Stern, 2014). V těsné blízkosti xylému se nachází průchozí buňky endodermis, které tak zprostředkovávají tok vody a živin do vodivých pletiv (Moreira & Isaias, 2008). Cévní elementy jsou obklopeny parenchymatickými a sklerenchymatickými buňkami. Centrální část středního válce, dřev, je zpravidla tvořena parenchymatickými buňkami s často širokými mezibuněčnými prostory (Stern, 2014). Například u podčeledi *Vanilloideae* se zde vyskytují i buňky sklerenchymatické (Stern & Judd, 1999).

Nedávná studie autorů Joca *et al.* (2017) provedená na 18 druzích epifytických orchidejí prezentuje pozitivní a negativní korelace mezi zastoupením jednotlivých struktur kořene s cílem spojit anatomické rysy vzdušných kořenů s funkcemi. Z této studie vyplývá, že u epifytických orchidejí se vyskytují pravděpodobně dvě kompenzační strategie pro zefektivnění absorpce vody a solutů (Joca *et al.*, 2017). První strategií je zvýšení počtu cévních svazků a průchozích buněk endodermis, čímž je pravděpodobně zefektivněna a zrychlena přeprava vody a živin do celé rostliny (Joca *et al.*, 2017). Druhou strategií je jednoduché zvýšení počtu vrstev velamenu. Díky tomu dochází k vyššímu zadržování vody a živin na povrchu kořene, který je může přijímat do svých hlubších vrstev delší dobu (Joca *et al.*, 2017). Pro definitivní potvrzení těchto strategií by však bylo potřebné zvýšit množství testovaných druhů.

Přítomnost chloroplastů u epifytických orchidejí byla pozorována kromě primární kůry i v parenchymatických buňkách středního válce. Například v dřeni epifytických kořenů třech druhů rodu *Vanilla* (*Vanilla insignis*, *V. pompona* a *V. madagascariensis*) z podčeledi *Vanilloideae* (Stern & Judd, 1999) a u *Cleisostoma yersinii* z podčeledi *Epidendroideae* (Ponert *et al.*, 2016) se vyskytují četné chloroplasty. Chloroplasty byly pozorovány dokonce i u terestrických (absorpčních) kořenů *Vanilla africana* (Stern & Judd, 1999).

3 Fotosyntéza u orchidejí

Obecně se u orchidejí může fotosyntéza vyskytovat téměř v každém orgánu (Hew & Yong, 2004). Kromě klasického umístění chloroplastů v listech se u některých orchidejí nachází také v květních částech, stoncích, pahlízách či vzdušných kořenech (Hew & Yong, 2004). Na rozdíl od fixace CO₂ vzdušnými kořeny je fixace probíhající v listech epifytických orchidejí poměrně široce prostudována. Z dosavadních poznatků vyplývá, že v tlustých listech je pravděpodobně nejvíce využívaným typem fixace CAM, zatímco tenkolisté orchideje preferují C₃ metabolismus (Hew & Yong, 2004). Existují ale i orchideje kombinující tyto 2 strategie, například *Vanilla planifolia* (Gehrig *et al.*, 1998). Ačkoli bylo prozatím testováno jen malé množství epifytických orchidejí, předpokládá se, že ve vzdušných kořenech je nejčastějším typem fixace CO₂ CAM (Hew & Yong, 2004; Martin *et al.*, 2010). Přítomnost C₄ metabolismu u orchidejí nebyla pozorována (Hew & Yong, 2004).

Epifytický způsob života a přechod na CAM metabolismus, jsou aspekty spojované s evolučním úspěchem orchidejí. Fylogenetické analýzy ukázaly, že CAM metabolismus vznikl u orchidejí nezávisle během evoluce zřejmě více než desetkrát (Silvera *et al.*, 2009) a dnes je využíván především orchidejemi z podčeledi *Epidendroideae* (Silvera *et al.*, 2010). Tento typ fixace CO₂ maximalizuje účinnost využití vody tzv. WUE (ang. *water use efficiency*) o 20–80 % a umožňuje tak růst v aridních či semiaridních oblastech a na jiných místech s nedostatkem vody nebo s nízkou koncentrací CO₂ (Borland *et al.*, 2009; Silvera *et al.*, 2009; Lüttge, 2004). CAM strategie umožňuje rostlinám ponechat během dne, kdy vlhkost vzduchu dosahuje nejnižších hodnot, listové průduchy uzavřené, a zabránit tak nadměrné transpiraci (Benzing, 1990). Jako indikátory toho, zda daná rostlina využívá CAM metabolismus, se u orchidejí uvádí hodnoty poměru ¹³C/¹²C ($\delta^{13}\text{C}$) mezi -13‰ až -34‰ (nejvíce okolo -17‰) a prokázané kolísání obsahu organických kyselin v daném fotosyntetizujícím orgánu (Hew & Yong, 2004). Přechod na CAM metabolismus a na epifytický způsob života spolu patrně může souviset. Na epifytických stanovištích, pro která je charakteristický periodický nedostatek vody, totiž může být CAM metabolismus významným benefitem podobně jako pro terestrické rostliny v aridních oblastech (Silvera *et al.*, 2009). V souladu s tímto předpokladem bylo zjištěno, že druhy orchidejí, které striktně využívají CAM, jsou z velké většiny epifytické (Silvera *et al.*, 2009). Výskyt epifytických orchidejí využívajících CAM metabolismus klesá s narůstající nadmořskou výškou (od 0 do 500 m. n. m.) a vzrůstá s rostoucí vzdáleností jedince od povrchu půdy (Zotz & Zeigler, 1997; Silvera *et al.*, 2009; Kerbauy *et al.*, 2012). Podobně je tomu i v závislosti na množství srážek na daném stanovišti, kdy se počet CAM orchidejí zvyšuje s klesajícím množstvím srážek (Silvera *et al.*, 2009; Kerbauy *et al.*, 2012).

3.1 Fotosyntéza v epifytických kořenech

U většiny epifytických orchidejí jsou vzdušné kořeny v přímém kontaktu s atmosférou, obsahují chloroplasty a za vhodných podmínek zde může probíhat fotosyntéza (Motomura *et al.*, 2008). Přítomnost chloroplastů v kořenech není ale výhradou pouze epifytických orchidejí. Chloroplasty byly pozorovány také v kořenech některých vodních, mokřadních či mangrovových rostlin (Gill & Tomlinson, 1977; Rich *et al.*, 2008). Přítomnost chloroplastů ve vzdušných kořenech orchidejí byla pozorována v buňkách střední vrstvy primární kůry a někdy i ve středním válci a v endodermis (Goh *et al.*, 1983; Benzing, 1990; Ponert *et al.*, 2016). V pracích, které se fotosyntézou vzdušných kořenů zabývají, ale nejsou zpravidla rozlišovány chloroplasty středního válce od chloroplastů v primární kůře, ačkoli by jejich úlohy v cyklu fixace CO₂ mohly být odlišné. Pokud dojde u vzdušných kořenů orchidejí k překrytí půdou a je omezen kontakt se světlem, chloroplasty mohou být degradovány a kořeny se mění na terestrickou formu (Benzing, 1990). Jak tato proměna probíhá, zatím není popsáno.

Prokázat fotosyntézu ve vzdušných kořenech a určit, jaký způsob fixace CO₂ využívají, bylo a stále je cílem mnoha autorů, nicméně s nepříliš uspokojivými výsledky. Pokusy provedené na kořenech CAM orchidejí rodů *Arachnis* a *Aranda* ukázaly značný rozdíl v obsahu organických kyselin (Goh *et al.*, 1983). U obou orchidejí byl naměřen nejvyšší obsah kyselin v ranních hodinách a nejnižší obsah ve večerních hodinách. Kolísání obsahu organických kyselin, které autoři interpretují především jako změny obsahu malátu, bylo v kořenech podobné jako kolísání u listů, avšak s nižší amplitudou (Goh *et al.*, 1983). U vzdušných kořenů bezlisté orchideje *Chiloschista usneoides* byla naměřena podobně vysoká fluktuace obsahu kyselin v kořenech, jako bývá obvyklá v listech CAM (Cockburn *et al.*, 1985), na rozdíl například od olistěné orchideje *Phalaenopsis amabilis*, kde byla zjištěna jen slabá fluktuace (Benzing *et al.*, 1983; Kerbauy *et al.*, 2012). Z obou výše zmíněných studií vyplývá, že příjem CO₂ by měl ve vzdušných kořenech probíhat převážně v noci a hlavním produktem, který zde vzniká, je malát (Goh *et al.*, 1983; Cockburn *et al.*, 1985). Ten je podobně jako v listech ukládán do buněčných vakuol (Cockburn *et al.*, 1985). U bezlisté orchideje *Campylocentrum tyrridion* byl pozorován prudký nárůst čistého příjmu CO₂ v době těsně po setmění, což je typický znak spojovaný s CAM (Winter *et al.*, 1985). Předpoklad přítomnosti CAM ve vzdušných kořenech podporuje i aktivita enzymu PEPC (ang. *phosphoenolpyruvate carboxylase*) pozorovaná v kořenech orchideje *Arachnis* Maggie Oei, která spolu s naměřenou fluktuací kyselin vylučuje pouhou translokaci kyselin z listů do kořenů (Hew *et al.*, 1984).

Fluktuace obsahu organických kyselin, značící přítomnost CAM, ale není vždy stejná. Motomura *et al.* (2008) navrhli u vzdušných kořenů osmi druhů rodu *Phalaenopsis* celkem tři typy akumulace malátu. Prvním typem je obligátní CAM charakteristický vysokým obsahem malátu v kořenech na konci noci a nízkým obsahem na konci dne. Druhým typem je tzv. skryté CAM (ang. *latent crassulacean acid metabolism*) s vysokým obsahem malátu ráno i večer. Posledním typem jsou

kořeny se vždy nízkým obsahem malátu, což je typické pro C3 metabolismus (Motomura *et al.*, 2008). Značná variabilita hodnot byla zjištěna jak napříč kořeny jednoho rodu, tak i u jednotlivých rostlin určitého druhu. Odlišný typ akumulace malátu byl pozorován dokonce i v různých kořenech jedné rostliny, například u *P. cornu-cervi* (Motomura *et al.*, 2008; uvádí pod chybným jménem *P. cornu-cervie*; WCSP, 2018). Všechny tyto závěry podporují názor, že ve vzdušných kořenech některých epifytických orchidejí může probíhat CAM metabolismus.

V případě, že je velamen nasáklý vodou, funguje jako difuzní bariéra a brání výměně plynů mezi kořenem a okolní atmosférou. Důkazem toho jsou výsledky studií Goh *et al.* (1983) a Cockburn *et al.* (1985), kteří pozorovali nižší obsah kyselin ve vzdušných kořenech, udržovaných po celou dobu pozorování vlhkých. U suchých kořenů bylo nicméně pozorováno, že fixace CO₂ probíhá pravděpodobně jak v apikální části, tak ve zbytku kořene krytém vyvinutým velamenem (Cockburn *et al.*, 1985).

Vzdušné kořeny epifytických orchidejí zpravidla neobsahují průduchy, které by zabraňovaly případnému úniku CO₂ při jeho uvolňování z malátu během dne (Cockburn *et al.*, 1985; Stern, 2014). Navzdory nepřítomnosti průduchů na kořenech *Chiloschista usneoides* byly autory Cockburn *et al.* (1985) naměřeny nízké ztráty CO₂ během dne. I ve dne bylo v kořenech naměřeno podobné složení plynů jako v okolní atmosféře a nedocházelo zde k výraznému zvýšení koncentrace CO₂ (Cockburn *et al.*, 1985). Podle autorů by ztráta CO₂ během světelné fáze CAM mohla být minimalizována určitou rovnováhou mezi dekarboxylací malátu a refixací CO₂ enzymem Rubisco (ang. *ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase*) v Calvinově cyklu. Tento typ fixace CO₂ v kořenech bez průduchů navrhli odlišit termínem astomatální CAM (ang. *astomatal crassulacean acid metabolism*).

Ačkoli vzdušné kořeny epifytických orchidejí vykazují znaky pro přítomnost CAM metabolismu, ne vždy se v tomto případě jedná o čistou fotosyntézu (ang. *net photosynthesis*). Čistá fotosyntéza byla pozorována zpravidla jen u asimilačních kořenů bezlistých orchidejí (viz Tab. 1), u kterých vzdušné kořeny přebírají funkci hlavního zdroje asimilátů pro růst (Hew & Yong, 2004). Na druhou stranu u mnoha epifytických orchidejí s listy, kde vzdušné kořeny plně nepřejímají asimilační funkci, nevykazují kořeny čistý příjem CO₂ během noci. Nejsou tedy zcela autotrofní, jsou pravděpodobně stále závislé na listech a představují tak pouze sekundární zdroj asimilátů (Benzing & Ott, 1981; Goh *et al.*, 1983; Cockburn *et al.*, 1985; Winter *et al.*, 1985; Hew & Yong, 2004). Je ale možné, že je zde příjem CO₂ během noci maskován vysokým podílem respirace v kořenech či přítomností nasyceného velamenu, který zabraňuje výměně plynů (Hew & Yong, 2004).

Orchideje s listy	Vzdušné kořeny
<i>Arachnis</i> Maggie Oei	Bez čisté fotosyntézy
<i>Aranda</i> Wendy Scott	Bez čisté fotosyntézy Vysoká aktivita enzymu PEPC
<i>Aranda</i> Deborah	Bez čisté fotosyntézy
<i>Cattleya</i> hybrid	Bez čisté fotosyntézy Fixace $^{14}\text{CO}_2$
<i>Encyclia tampensis</i>	Bez čisté fotosyntézy
<i>Epidendrum</i> sp.	Fixace $^{14}\text{CO}_2$
<i>Kingidium taeniale</i>	Bez čisté fotosyntézy
<i>Phalaenopsis</i> hybrid	Fixace $^{14}\text{CO}_2$
<i>Rangaeris amaniensis</i>	Bez čisté fotosyntézy
<i>Saccolabium bicuspidatus</i>	Bez čisté fotosyntézy
<i>Vanda paraishi</i>	Bez čisté fotosyntézy Fixace $^{14}\text{CO}_2$
<i>Oncidium</i> Goldiana	Fixace $^{14}\text{CO}_2$
Bezlisté orchideje	
<i>Campylocentrum tyrridion</i>	Pozorována čistá fotosyntéza
<i>Campylocentrum pachyrrhizum</i> (uvedeno pod chybným názvem <i>Campylocentrum pachyrrbizum</i>)	Pozorována čistá fotosyntéza
<i>Chiloschista usneoides</i>	Pozorována čistá fotosyntéza
<i>Polyradicion lindenii</i>	Pozorována čistá fotosyntéza
<i>Chiloschista segawae</i> (uvedeno pod chybným názvem <i>Sarcobilus segawai</i>)	Pozorována čistá fotosyntéza

Tabulka 1: Záznamy o fixaci uhlíku a pozorování čisté fotosyntézy ve vzdušných kořenech orchidejí – převzato a upraveno podle Hew (1995)
Chybné názvy opraveny podle WCSP (2018).

4 Mykorhizní symbióza epifytických orchidejí

Semena orchidejí jsou velice malá a obsahují minimum zásobních látek (Arditti & Ghani, 2000; Rasmussen & Rasmussen, 2009; Rasmussen *et al.*, 2015). V časných fázích vývoje po vyklíčení orchideje zcela závisí na přísunu uhlíku a energie od mykobionta (jsou tzv. mykoheterotrofní), dokud se nevyvinou první fotosyntetizující orgány (Arditti, 1967; Suárez *et al.*, 2006). U většiny dospělých orchidejí je však mykorhizní symbióza přítomná i během dalšího vývoje a pravděpodobně zde může docházet ke kombinaci přísunu uhlíku z mykorhizních hub a z fotosyntézy (Jacquemyn *et al.*, 2017). V takovém případě by byl uhlík od mykobionta získán velice výhodně bez nákladů na transpiraci (Benzing *et al.*, 1983). Mykobionti mohou být i klíčovým partnerem pro přísun různých živin a vody (Yoder *et al.*, 2000; Dearnaley & Cameron, 2017). Je stále otevřenou otázkou, zda orchideoidní mykorhizní symbióza funguje u fotosyntetizujících orchidejí jako oboustranně výhodná interakce, jako je tomu například u arbuskulární mykorhizní symbiózy, nebo zda je to jednosměrný proces směřující spíš k parazitizmu (Rasmussen & Rasmussen, 2009; Kuga *et al.*, 2014; Dearnaley & Cameron, 2017).

U dospělých orchidejí byla přítomnost mykorhizních i nemykorhizních houbových organismů doložena jak v kořenech terestrických orchidejí, tak i v kořenech epifytů (Bayman & Otero, 2006; Sathiyadash *et al.*, 2012; Bertolini *et al.*, 2014). U kořenů epifytů umožňují penetraci mykobionta průchozí buňky exodermis, skrz které houbové hyfy prorůstají do primární kůry kořene (Peterson & Enstone, 1996). Jak u terestrických, tak u epifytických zástupců se poté v primární kůře tvoří tzv. pelotony – klubička hyf typická pro orchideoidní mykorhizu (Hadley *et al.*, 1971; Peterson *et al.*, 1988; Rasmussen & Rasmussen, 2009). U epifytických orchidejí je ale výskyt houbových pelotonů omezen často pouze na ty kořeny, které jsou v kontaktu s kůrou stromu nebo s vrstvou humusu tvořící podklad pro růst epifytického jedince (Suárez *et al.*, 2006; Sathiyadash *et al.*, 2012; Bertolini *et al.*, 2014). V tenkých vzdušných kořenech epifytických orchidejí houbové hyfy zabírají větší část primární kůry než u kořenů s větším průměrem (Bertolini *et al.*, 2014). Velký vliv na přítomnost houbových pelotonů má i množství srážek. Nejvíce nově utvořených pelotonů se nacházelo ve vzdušných kořenech orchidejí v období zvýšeného množství srážek a vyšší vlhkosti (Bertolini *et al.*, 2014). Z dosavadních studií vyplývá, že kořeny epifytických orchidejí jsou méně kolonizované než kořeny terestrických orchidejí (Rasmussen, 2002; Sathiyadash *et al.*, 2012).

Diverzita houbových taxonů vyskytujících se u epifytických orchidejí je stále ještě značně neprobádaná a mnohem více informací existuje v tomto ohledu pro terestrické orchideje než pro tropické epifytické zástupce (Xing *et al.*, 2015). Z dosavadních poznatků vyplývá, že se v kořenech terestrických orchidejí vyskytují jak ektomykorhizní houby z čeledi *Thelephoraceae*, *Sebacinaceae* či *Tuberaceae*, tak tzv. „*Rhizoctonias*“. Tento pojem označuje houby z oddělení stopkovýtrusných hub (Basidiomycota), které se nachází typicky v půdě jako saprotrofové nebo jako endofyty kořenů, kde tvoří orchideoidní mykorhizu (Xing *et al.*, 2015; Jacquemin *et al.*, 2017). Zahrnuty jsou zde převážně

zástupci čeledí *Tulasnellaceae*, *Ceratobasidiaceae* a *Serendipitaceae* (Weiß *et al.*, 2016; Jacquemin *et al.*, 2017).

V kořenech epifytických orchidejí dominuje v zastoupení skupina *Tulasnellaceae* následovaná skupinami *Ceratobasidiaceae* a *Sebacinales* (viz Tab. 2). Některé tyto houby jsou blíže příbuzné těm, které se často vyskytují i u terestrických zástupců v temperátním klimatu, například rod *Tulasnella* (anamorfa – *Epulorhiza*) či zástupci skupiny *Sebacinales* (Basidiomycota) (Pereira *et al.*, 2003; Suárez *et al.*, 2006; Xing *et al.*, 2015). Na druhou stranu u některých epifytických či litofytických orchidejí se může zastoupení hub v kořenech u jednoho druhu, u kterého se jednotliví jedinci vyskytují na odlišných typech stanovišť, lišit (Xing *et al.*, 2015). I u druhů epifytických orchidejí, které mají stejnou ekologii, rozšíření a blízkou taxonomickou příbuznost se mohou preference určitých endofytních houbových skupin značně odlišovat, jako je tomu například u příbuzných druhů orchidejí *Tolumnia variegata* a *Ionopsis utricularioides*, kde první zmíněný druh je spíše specialista a druhý spíše generalista v zastoupení jednotlivých skupin endofytických hub (Otero *et al.*, 2002; Otero *et al.*, 2004).

Epifytické orchideje	Hlavní skupiny hub orchideoidní mykorhizy	Zdroj
<i>Cyrtochilum flexuosum</i> <i>C. myanthum</i> <i>Maxillaria calantha</i>	<i>Serendipitaceae</i> <i>Ceratobasidiaceae</i> <i>Tulasnellaceae</i>	Cevallos <i>et al.</i> (2017)
<i>Pleurothallis lilijae</i> <i>Stelis hallii</i> <i>S. superbiens</i> <i>S. corcinna</i>	<i>Tulasnellaceae</i>	Suárez <i>et al.</i> (2006)
<i>Coelogyne viscosa</i>	<i>Tulasnellaceae</i> <i>Ceratobasidiaceae</i> <i>Sebacinales</i>	Xing <i>et al.</i> (2015)
<i>Teagueia</i> spp.	<i>Tulasnellaceae</i> <i>Atractiellales</i>	Suárez <i>et al.</i> (2016)

Tabulka 2: Hlavní skupiny hub orchideoidní mykorhizy identifikované v kořenech různých epifytických orchidejí

Zda je orchidejemi preferováno určité složení společenstva mykorhizních hub, jaký je způsob rozpoznávání partnerů symbiomy, nebo z jakého důvodu se v některých částech vzdušných kořenů houbové pelotony nevyskytují, je stále předmětem studií (Bertolini *et al.*, 2014). Je ale pravděpodobné, že přítomnost mykobionta může být značně výhodná v podmínkách, ve kterých se epifytické orchideje nachází (Dearnaley *et al.*, 2012).

5 Evoluce epifytického způsobu života u orchidejí

Přestože je tato práce zaměřena pouze na kořeny epifytických orchidejí, v této kapitole budou zmíněny i některé studie zabývající se celkovým vývojem různých znaků u orchidejí, a to hlavně v případě výsledků založených na sekvenování genomu. Takové studie totiž zpravidla neodlišují, zda se zkoumané adaptace týkají kořenů, nebo jiných částí orchidejí.

Ačkoli dnes orchideje tvoří jednu ze dvou největších čeledí krytosemenných rostlin, fosilní záznamy u této skupiny jsou velice omezené, a to převážně v podobě brylek (polinarií) zachovaných nejčastěji v jantaru. V současné době nejstarší dobře zachovalou fosilií jsou brylky orchideje *Succinantha baltica* (podčeleď *Epidendroideae*), které byly nalezeny na těle komára *Bradysia* sp. zachovaného v jantaru z období mladších třetihor (před 55-45 mil. let) (Poinar & Rasmussen, 2017). Mezi další dobře zachované fosilie orchidejí patří například brylky *Meliorchis caribea* (podtribus *Goodyerinae*) z období spodního až středního miocénu (před 20-15 mil. let) (Ramírez *et al.*, 2007) či listy *Dendrobium winikaphyllum* v diatomitu, jakožto pravděpodobně nejstarší makrofosilie orchidejí, která pochází ze spodního miocénu (před 23-20 mil. let) (Conran *et al.*, 2009).

Pomocí molekulárních fylogenetických metod je oddělení orchidejí od ostatních zástupců řádu *Asparagales* datováno do období před zhruba 130 až 110 mil. let (Givnish *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2017). Samostatný vývoj pěti dnes rozlišovaných podčeledí (*Apostasioideae*, *Vanilloideae*, *Cypripedioideae*, *Orchidoideae* a *Epidendroideae*) je na základě analýzy plastidové DNA odhadován do období před 90 až 64 mil. let (Givnish *et al.*, 2015). Těsně po vymírání na hranici křída/paleogén (před 66 mil. let) byla doložena intenzivní radiace orchidejí (Ramírez *et al.*, 2007; Cai *et al.*, 2015; Givnish *et al.*, 2015) a do tohoto období spadá také oddělení dvou nejmladších podčeledí *Epidendroideae* a *Orchidoideae* (Givnish *et al.*, 2015).

Epifytický způsob života se u krytosemenných rostlin vyvinul pravděpodobně poměrně pozdě. Udává se, že největší rozmach epifytů se odehrál na přelomu mezi pliocénem a pleistocénem (přelom třetihory/čtvrtohory) (Benzing, 1990). Dnes tvoří většinu epifytických druhů orchideje a zároveň nadpoloviční většina orchidejí je epifytických (Zotz, 2013). Terestrický způsob života je u orchidejí pravděpodobně původním znakem a epifytizmus se u této skupiny vyvinul až druhotně a mnohokrát nezávisle (Silvera *et al.*, 2009; Givnish *et al.*, 2015). Dominantou epifytických orchidejí je podčeleď *Epidendroideae*, která prodělala první výrazný rozvoj zřejmě hned po svém vzniku na začátku třetihor (před ~66 mil.let) (Givnish *et al.*, 2015), což je někdy spojováno s výraznými klimatickými změnami provázejícími toto období, jako je například aridizace a pokles koncentrace CO₂ (Pearson & Palmer, 2000; Ramírez *et al.*, 2007; Kerbauy *et al.*, 2012; Zotz, 2013). Z fylogenetických analýz je nicméně zřejmé, že pozdější přechody na epifytický způsob života výrazně zvýšily speciaci orchidejí, a to pravděpodobně i díky tomu, že tak orchideje mohly obsadit mnoho variabilních mikronik v korunách stromů (Givnish *et al.*, 2015). Jedním z výhodných znaků mohlo v té době být například využívání CAM

metabolismu, který je dnes nacházen převážně u rostlin žijících v aridních či semiaridních oblastech a jehož značnou výhodou je minimalizace ztrát vody a schopnost fungovat i při nízkých koncentracích CO₂ (Hew & Yong, 2004).

Je možné, že u jednoho z prvních přechodů na CAM u orchidejí mohla hrát určitou roli duplikace celého genomu (WGD; ang: *whole-genome duplication*) (Cai *et al.*, 2015; Givnish *et al.*, 2015), která je spolu s duplikacemi jednotlivých genů u krytosemenných rostlin častým mechanismem diverzifikace (Wood *et al.*, 2009). Jedním z příkladů je vznik C4 metabolismu genovou duplikací u některých trav (Wang & Petarson, 2013). Pravděpodobně velmi důležitá duplikace celého genomu u orchidejí se odehrála ve svrchní křídě a mohla mít za následek rozsáhlou radiaci orchidejí na začátku třetihor (Cai *et al.*, 2015; Givnish *et al.*, 2015). První osekvenování genomu u orchidejí, a to konkrétně u orchideje využívající CAM – *Phalaenopsis equestris*, umožnilo datovat tuto WGD před 81-72 miliony let, a odhalilo, že při ní došlo k nárůstu počtu kopií genů pro klíčové enzymy CAM cyklu fixace CO₂, například pro PEPC (Cai *et al.*, 2015; Deng *et al.*, 2016). Rozšíření sekvenčních dat o zástupce ostatních podčeledí orchidejí, a především o genom orchideje *Apostasia shenzhenica* z podčeledi *Apostasioideae*, bazální sesterské linie ke zbytku orchidejí, tuto WGD potvrdilo a posunulo její datování na přelom křídý a paleogénu (Zhang *et al.*, 2017).

Nabízí se tedy myšlenka, že genomová duplikace u předka orchidejí mohla zapříčinit vznik CAM a napomoci tak přechodu na epifytický způsob života (Cai *et al.*, 2015). Je možné, že díky tomu orchideje přežily i rozsáhlé vymírání na konci křídý (Cai *et al.*, 2015). Nicméně je také možné, že genomová duplikace se vznikem CAM u orchidejí nespojuje. Analýzy transkriptomů různých druhů orchidejí s CAM a C3 metabolismem ukázaly, že CAM u orchidejí je výsledkem adaptace na základě regulace genové exprese klíčových genů pro dráhu fixace CO₂ a nikoli na základě duplikace genomu (Zhang *et al.*, 2016a; Zhang *et al.*, 2017). U orchidejí s C3 i s CAM metabolismem byl nalezen shodný počet genových kopií a nebyla zde nalezena žádná korelace mezi vznikem CAM a duplikací genů (Zhang *et al.*, 2016a; Zhang *et al.*, 2017). Je tedy možné, že nárůst počtu genových kopií genomovou duplikací byl spíše predispozicí k tomu, aby mohly orchideje později v evoluci snadno přecházet na CAM metabolismus. Pro objasnění vzniku CAM u orchidejí je nicméně potřeba dalších studií a rozšíření počtu osekvenovaných genomů orchidejí. Samotná genomová duplikace pro epifyty ani nemusí být výhodná. Podle dostupných dat mají epifytické orchideje průměrně menší velikost genomu než terestrickí zástupci, což mohlo být v evoluci způsobeno selekčním tlakem na velikost buňky v důsledku vodního stresu (Chase *et al.*, 2005).

V rámci studií epifytických kořenů orchidejí je velkým přínosem výše zmíněné osekvenování genomu *Apostasia shenzhenica*, a to hlavně z důvodu, že lze od té doby porovnat genomy epifytických orchidejí, které mají vzdušné kořeny (*Phalaenopsis equestris*, *Dendrobium catenatum*), s genomem orchideje terestrické s klasickými kořeny (*Apostasia shenzhenica*) (Cai *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2016b;

Zhang *et al.*, 2017). Například gen *AGL12* (*Agamous-like 12*), který nalezneme jak v genomu orchideje *Apostasia*, tak u mnoha dalších terestrických rostlin, není přítomný u epifytických zástupců orchidejí (Zhang *et al.*, 2017). Protože produkt tohoto genu se mimo jiné uplatňuje v regulaci diferenciace buněk kořenů (Tapia-López *et al.*, 2008), je možné, že by díky ztrátě tohoto genu mohly epifytické orchideje ztratit i schopnost tvořit klasické terestrické kořeny a přejít tak zcela na epifytický způsob života (Zhang *et al.*, 2017). Nicméně jelikož jsou v této době osekvenované pouze 3 genomy orchidejí, je nutné provést mnoho dalších studií pro definitivní určení role genových a genomových duplikací či ztráty určitých genů u orchidejí a dopadu těchto změn na vývoj epifytických zástupců, stejně tak jako uvážit další faktory, které mohly evoluční vývoj epifytů ovlivnit.

6 Závěr

Ačkoli tvoří orchideje jednu z nejpočetnějších čeledí krytosemenných rostlin a jsou téměř celosvětově rozšířeny, naše znalosti o jejich anatomii, morfologii či fyziologii zdaleka nejsou kompletní. Většina dnešních druhů orchidejí je epifytická, nicméně epifytismus se u orchidejí vyvinul druhotně a vícekrát nezávisle. Tato adaptace orchidejím umožnila obsazení volných nik v korunách stromů a spolu s dalšími inovativními znaky tak podpořila postupnou intenzivní diverzifikaci. Spolu s přechodem na epifytický způsob života se ale orchideje musely vyrovnat s novými stresovými faktory, například s intenzivní ozářeností kořenů, periodicitou nedostatku vody či s omezeným přísunem živin. Během evolučního vývoje se tak u různých skupin epifytických orchidejí vytvořil velice podobný, specializovaný typ kořenů.

Rychlou absorpci vody a živin, jejich transport a dlouhodobé zadržování umožňuje díky svým vlastnostem vícevrstevná pokožka kořene – velamen. Při kontaktu kořene s vodou zůstávají suché zpravidla jen oblasti pneumatod, které díky své struktuře zprostředkovávají průchod plynů do primární kůry. Tato vlastnost je důležitá z hlediska fotosyntézy probíhající v primární kůře a někdy i ve středním válci a endodermis, nicméně zda je transport plynů regulován či nikoli, je stále předmětem studií. Samotná schopnost fotosyntézy ale není u všech druhů orchidejí stejná. Zatímco u některých, a to převážně u bezlistých epifytických orchidejí, byla pozorována CAM se všim všudy, u jiných druhů nebyla detekována čistá fotosyntéza a u dalších nebylo detekováno ani kolísání obsahu malátu, které by přítomnost CAM naznačovalo. Svrchní vrstva primární kůry – exodermis je značně vyvinutá a figuruje v kořeni jako první apoplastická bariéra. Její součástí jsou průchozí buňky zajišťující selektivní příjem látek a pravděpodobně také přístup houbových hyf do oblasti primární kůry. Průchozí buňky nicméně najdeme i ve vrstvě endodermis, kde většinou navazují na buňky protoxylému, pravděpodobně pro větší efektivitu transportu látek. Kořeny epifytických orchidejí navíc vytvářejí symbiózy s dalšími organismy, podobně jako kořeny terestrických druhů. Jednak vytváří v primární kůře mykorhizu s houbami a jednak mají na svém povrchu symbiotické mikroorganismy, které by mohly hrát roli v příjmu živin. Pro jednoznačné určení funkcí zde popisovaných anatomických struktur vzdušných kořenů je však zpravidla nutné další studium.

V dnešní době se epifytickými orchidejemi zabývá mnohem více vědeckých skupin, než tomu bylo před 50 lety, nicméně i přesto je dnes stále mnoho otázek týkajících se těchto krásných rostlin nezodpovězených. Ve svém dalším studiu bych se velice ráda tomuto tématu věnovala a pomohla tak některé z těchto otázek zodpovědět.

Seznam použité literatury

* sekundární citace jsou označeny hvězdičkou

- AGATI, G. & TATTINI, M. (2010). Multiple functional roles of flavonoids in photoprotection. *New Phytologist*, 186: 786-793.
- ÅNGSTRÖM, A. & HÖGBERG, L. (1952). On the Content of Nitrogen (NH₄-N, and NO₃-N) in Atmospheric Precipitation. *Tellus*, 4: 31-42.
- ARDITTI, J. (1967). Factors affecting the germination of orchid seeds. *The Botanical Review*, 33: 1-97
- ARDITTI, J. & GHANI, A. K. A. (2000). Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications. *New Phytologist*, 145: 367-421.
- AVERYLANOV, L. V.; PONERT, J.; NGUYEN, P. T.; ... & NGUYEN, V. C. (2016). A survey of *Dendrobium* Sw. sect. *Formosae* (Benth. & Hook. f.) Hook. f. in Cambodia, Laos and Vietnam. *Adansonia*, 38: 199-217.
- BARBERON, M. & GELDNER, N. (2014). Radial transport of nutrients: the plant root as a polarized epithelium. *Plant physiology*, 166: 528-537.
- BAYMAN, P. & OTERO, J. T. (2006). Microbial endophytes of orchid roots. *Microbial root endophytes*, Schulz B.J.E.; Boyle C.J.C. & Sieber T.N. (eds), Springer, Berlin, Heidelberg, ISBN: 978-3-540-33525-2
- BENZING, D. H. & OTT, D. W. (1981). Vegetative reduction in epiphytic *Bromeliaceae* and *Orchidaceae*: its origin and significance. *Biotropica*, 13: 131-140.
- BENZING, D. H.; FRIEDMAN, W. E.; PETERSON, G. & RENFROW, A. (1983). Shootlessness, velamentous roots, and the pre-eminence of *Orchidaceae* in the epiphytic biotope. *American Journal of Botany*, 70: 121-133.
- BENZING, D. H. (1990). *Vascular epiphytes: general biology and related biota*. Ashton, P.S.; Hubbel, S.P.; Janzen, D.H.; Marshal, A.G.; Raven, P.H. & Tomlinson, P.B. (eds), Cambridge University Press, Cambridge, ISBN: 978-0-521-04895-8
- BERTOLINI, V.; CRUZ-BLASI, J.; DAMON, A. & MORA, J. V. (2014). Seasonality and mycorrhizal colonization in three species of epiphytic orchids in southeast Mexico. *Acta Botanica Brasiliensis*, 28: 512-518.
- BORLAND, A. M.; GRIFFITHS, H.; HARTWELL, J. & SMITH, J. A. C. (2009). Exploiting the potential of plants with crassulacean acid metabolism for bioenergy production on marginal lands. *Journal of Experimental Botany*, 60: 2879-2896.
- CAI, J.; LIU, X.; VANNESTE, K.; ... & ZHENG, Z. (2015). The genome sequence of the orchid *Phalaenopsis equestris*. *Nature genetics*, 47: 65-72.
- CARLSWARD, B. S.; STERN, W. L. & BYTEBIER, B. (2006). Comparative vegetative anatomy and systematics of the angraecoids (*Vandaeae*, *Orchidaceae*) with an emphasis on the leafless habit. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 151: 165-218.
- CEVALLOS, S.; SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, A.; DECOCK, C.; ... & SUÁREZ, J. P. (2017). Are there keystone mycorrhizal fungi associated to tropical epiphytic orchids? *Mycorrhiza*, 27: 225-232.
- CHASE, M. W.; HANSON, L.; ALBERT, V. A. ... & WILLIAMS, N. H. (2005). Life history evolution and genome size in subtribe *Oncidiinae* (*Orchidaceae*). *Annals of Botany*, 95: 191-199.

- CHASE, M. W.; CAMERON, K. M.; FREUDENSTEIN, J. V.; ... & SCHUITEMAN, A. (2015). An updated classification of *Orchidaceae*. *Botanical journal of the Linnean Society*, 177: 151-174.
- * CHATIN, A. (1856). Anatomie des plantes aeriennes de l'ordre des Orchidees, 1. Mem. Anatomie des Racines. -2. Mem. Anatomie du Rhizome, de la tige, et des feuilles. *Mémoires de la Société des Sciences Naturelles de Cherbourg*, 5-18. – in Pridgeon (1987)
- CHOMICKY, G.; BIDEL, L. P. & JAY-ALLEMAND, C. (2014). Exodermis structure controls fungal invasion in the leafless epiphytic orchid *Dendrophylax lindenii* (Lindl.) Benth. ex Rolfe. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 209: 88-94.
- CHOMICKY, G.; BIDEL, L. P.; MING, F.; ... & RENNER, S. S. (2015). The velamen protects photosynthetic orchid roots against UV-B damage, and a large dated phylogeny implies multiple gains and losses of this function during the Cenozoic. *New Phytologist*, 205: 1330-1341.
- COCKBURN, W. (1985). Tansley Review No 1. Variation in photosynthetic acid metabolism in vascular plants: CAM and related phenomena. *New Phytologist*, 101: 3-24.
- COCKBURN, W.; GOH, C. J. & AVADHANI, P. N. (1985). Photosynthetic carbon assimilation in a shootless orchid, *Chiloschista usneoides* (DON) LDL: a variant on crassulacean acid metabolism. *Plant Physiology*, 77: 83-86.
- 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: 466-474.
- DEARNALEY, J. D.; MARTOS, F. & SELOSSE, M. A. (2012). 12 Orchid Mycorrhizas: Molecular Ecology, Physiology, Evolution and Conservation Aspects. *The Mycota IX: Fungal associations*, Hock B. (ed.), Springer, Berlin, Heidelberg. ISBN: 978-3-642-30826-0
- DEARNALEY, J. D. & CAMERON, D. D. (2017). Nitrogen transport in the orchid mycorrhizal symbiosis—further evidence for a mutualistic association. *New Phytologist*, 213: 10-12.
- DENG, H.; ZHANG, L. S.; ZHANG, G. Q.; ... & WANG, Y. (2016). Evolutionary history of PEPC genes in green plants: Implications for the evolution of CAM in orchids. *Molecular phylogenetics and evolution*, 94: 559-564.
- DICKISON, W. C. (2000). *Integrative plant anatomy*. Harcourt Academic Press, USA, ISBN: 0-12-215170-4
- DYCUS, A. M. & KNUDSON, L. (1957). The role of the velamen of the aerial roots of orchids. *Botanical Gazette*, 119: 78-87.
- ESNAULT, A. L.; MASUHARA, G. & MCGEE, P. A. (1994). Involvement of exodermal passage cells in mycorrhizal infection of some orchids. *Mycological Research*, 98: 672-676.
- FOSTER, A. S. (1956). Plant idioblasts: remarkable examples of cell specialization. *Protoplasma*, 46: 184-193.
- FRANCESCHI, V. R. & NAKATA, P. A. (2005). Calcium oxalate in plants: formation and function. *Annual Review of Plant Biology*, 56: 41-71.
- GAMBELL, A. W. & FISHER, D. W. (1964). Occurrence of sulfate and nitrate in rainfall. *Journal of Geophysical Research*, 69: 4203-4210.
- GEHRIG, H.; FAIST, K. & KLUGE, M. (1998). Identification of phosphoenolpyruvate carboxylase isoforms in leaf, stem and roots of the obligate CAM plant *Vanilla planifolia* Salib. (*Orchidaceae*): a physiological and molecular approach. *Plant molecular biology*, 38: 1215-1223.
- GILL, A. M. & TOMLINSON, P. B. (1977). Studies on the growth of red mangrove (*Rhizophora mangle* L.) 4. The adult root system. *Biotropica*, 9: 145-155.

- GIVNISH, T. J.; SPALINK, D.; AMES, M.; ... & ENDARA, L. (2015). Orchid phylogenomics and multiple drivers of their extraordinary diversification. *Proceedings of the Royal Society B*, 282: 20151553.
- GOH, C. J.; ARDITTI, J. & AVADHANI, P. N. (1983). Carbon fixation in orchid aerial roots. *New phytologist*, 95: 367-374.
- HAAS, D. L.; CAROTHERS, Z. B. & ROBBINS, R. R. (1976). Observations on the *phi-thickenings* and Casparian strips in *Pelargonium* roots. *American Journal of Botany*, 63: 863-867.
- HABERLANDT, G. (1914). *Physiological plant anatomy*. Macmillan and Company, limited, London.
- HADLEY, G.; JOHNSON, R. P. C. & JOHN, D. A. (1971). Fine structure of the host-fungus interface in orchid mycorrhiza. *Planta*, 100: 191-199.
- HEW, C. S.; NG, Y. W.; WONG, S. C.; ... & HO, K. K. (1984). Carbon dioxide fixation in orchid aerial roots. *Physiologia Plantarum*, 60: 154-158.
- * HEW, C. S. (1995). Advances in photosynthesis and partitioning of assimilates in orchids. *Proceedings of the Nagoya International Orchid Show*, 40–47. – in Hew & Yong (2004)
- HEW, C. S. & YONG, J. W. (2004). *The physiology of tropical orchids in relation to the industry*. World Scientific Publishing Company, Singapore, ISBN: 978-981-238-801-8
- HO, K. K.; YEOH, H. & HEW C. S. (1983). The presence of photosynthetic machinery in aerial roots of leafy orchids. *Plant and cell physiology*, 24: 1317-1321.
- HOSE, E.; CLARKSON, D. T.; STEUDLE, E.; ... & HARTUNG, W. (2001). The exodermis: a variable apoplastic barrier. *Journal of Experimental Botany*, 52: 2245-2264.
- IDRIS, N. A. & COLLINGS, D. A. (2014). Cell wall development in the velamen layer of the orchid *Miltoniopsis* investigated by confocal microscopy. *Malaysian Journal of Microbiology*, 10: 20-26.
- JACQUEMIN, H.; WAUD, M.; BRYNS, R.; ... & SELOSSE, M. A. (2017). Mycorrhizal associations and trophic modes in coexisting orchids: an ecological continuum between auto- and mixotrophy. *Frontiers in Plant Science*, 8: 1497.
- JANSEN, M. A.; GABA, V. & GREENBERG, B. M. (1998). Higher plants and UV-B radiation: balancing damage, repair and acclimation. *Trends in plant science*, 3: 131-135.
- JOCA, T. A. C.; DE OLIVEIRA, D. C.; ZOTZ, G.; ... & MOREIRA, A. S. F. P. (2017). The velamen of epiphytic orchids: Variation in structure and correlations with nutrient absorption. *Flora*, 230: 66-74.
- KERBAUY, G. B.; TAKAHASHI, C. A.; LOPEZ, A. M.; ... & MERCIER, H. (2012). Crassulacean acid metabolism in epiphytic orchids: current knowledge, future perspectives. *Applied Photosynthesis*. Najafpour M. (ed.), InTech, London, ISBN: 978-953-51-0061-4
- KUGA, Y.; SAKAMOTO, N. & YURIMOTO, H. (2014). Stable isotope cellular imaging reveals that both live and degenerating fungal pelotons transfer carbon and nitrogen to orchid protocorms. *New Phytologist*, 202: 594-605.
- LÓPEZ-PÉREZ, L.; FERNANDEZ-GARCIA, N.; OLMOS, E. & CARVAJAL, M. (2007). The *phi-thickening* in roots of broccoli plants: an acclimation mechanism to salinity? *International Journal of Plant Sciences*, 168: 1141-1149.
- LÜTTGE, U. (2004). Ecophysiology of crassulacean acid metabolism (CAM). *Annals of botany*, 93: 629-652.
- LÜTTGE, U. (2008). Tropical Forests. IV. Lianas, Hemi-Epiphytes, Epiphytes and Mistletoes. *Physiological Ecology of Tropical Plants*, Springer, Berlin, Heidelberg, ISBN: 978-3-540-71793-5

- MARTIN, C. E.; MAS, E. J.; LU, C. & ONG, B. L. (2010). The photosynthetic pathway of the roots of twelve epiphytic orchids with CAM leaves. *Photosynthetica*, 48: 42-50.
- MINOURA, H. & IWASAKA, Y. (1996). Rapid change in nitrate and sulfate concentrations observed in early stage of precipitation and their deposition processes. *Journal of atmospheric chemistry*, 24: 39-55.
- MOREIRA, A. S. F. P. & ISAIAS, R. M. D. S. (2008). Comparative anatomy of the absorption roots of terrestrial and epiphytic orchids. *Brazilian archives of biology and technology*, 51: 83-93.
- MOTOMURA, H.; UENO, O.; KAGAWA, A. & YUKAWA, T. (2008). Carbon isotope ratios and the variation in the diurnal pattern of malate accumulation in aerial roots of CAM species of *Phalaenopsis* (Orchidaceae). *Photosynthetica*, 46: 531-536.
- MÚJICA, E. B.; MABLY, J. J.; SKARHA, S. M.; ... & ZETTLER, L. W. (2018). A comparison of ghost orchid (*Dendrophylax lindenii*) habitats in Florida and Cuba, with particular reference to seedling recruitment and mycorrhizal fungi. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 186: 572-586.
- OLATUNJI, O. A. & NENGIM, R. O. (1980). Occurrence and distribution of tracheoidal elements in the *Orchidaceae*. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 80: 357-370.
- OLIVEIRA, V. D. C. & SAJO, M. D. G. (1999). Root anatomy of nine *Orchidaceae* species. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 42: 1-9.
- OTERO, J. T.; ACKERMAN, J. D. & BAYMAN, P. (2002). Diversity and host specificity of endophytic Rhizoctonia-like fungi from tropical orchids. *American Journal of Botany*, 89: 1852-1858.
- OTERO, J. T.; ACKERMAN, J. D. & BAYMAN, P. (2004). Differences in mycorrhizal preferences between two tropical orchids. *Molecular Ecology*, 13: 2393-2404.
- PEARSON, P. N. & PALMER, M. R. (2000). Atmospheric carbon dioxide concentrations over the past 60 million years. *Nature*, 406: 695-699.
- PEREIRA, O. L.; ROLLEMBERG, C. L.; BORGES, A. C.; ... & KASUYA, M. C. (2003). *Epulorhiza epiphytica* sp. nov. isolated from mycorrhizal roots of epiphytic orchids in Brazil. *Mycoscience*, 44: 0153-0155.
- PESSOA, E.; ARRUDA, E.; PEREIRA, F. F. D. S. D. & ALVES, M. (2017). The odd roots of *Campylocentrum* (Angraeciinae-Orchidaceae): an anatomical study of its morphologically variable roots. *Rodriguésia*, 68: 1207-1215.
- PETERSON, C. A.; EMANUEL, M. E. & WEERDENBURG, C. A. (1981). The permeability of *phithickenings* in apple (*Pyrus malus*) and geranium (*Pelargonium hortorum*) roots to an apoplastic fluorescent dye tracer. *Canadian Journal of Botany*, 59: 1107-1110.
- PETERSON, C. A. (1988). Exodermal Casparian bands: their significance for ion uptake by roots. *Physiologia Plantarum*, 72: 204-208.
- PETERSON, C. A. & ENSTONE, D. E. (1996). Functions of passage cells in the endodermis and exodermis of roots. *Physiologia Plantarum*, 97: 592-598.
- PIRES, M. D. F. D. O.; SEMIR, J.; PINNA, G. F. D. A. M. D. & FELIX, L. P. (2003). Taxonomic separation of the genera *Prosthechea* and *Encyclia* (Laeliinae: *Orchidaceae*) using leaf and root anatomical features. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 143: 293-303.
- POINAR, G. & RASMUSSEN, F. N. (2017). Orchids from the past, with a new species in Baltic amber. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 183: 327-333.

- PONERT, J.; TRÁVNÍČEK, P.; VUONG, T. B.; ... & SUDA, J. (2016). A new species of *Cleisostoma* (*Orchidaceae*) from the Hon Ba Nature Reserve in Vietnam: A multidisciplinary assessment. *Public Library of Science one (PLoS one)*, 11: e0150631.
- POREMBSKI, S. & BARTHLOTT, W. (1988). Velamen radicum micromorphology and classification of *Orchidaceae*. *Nordic Journal of Botany*, 8: 117-137.
- PRIDGEON, A. M.; STERN, W. L. & BENZING, D. H. (1983). Tilosomes in roots of *Orchidaceae*: morphology and systematic occurrence. *American Journal of Botany*, 70: 1365-1377.
- PRIDGEON, A. M. (1987). The velamen and exodermis of orchid roots. *Orchid biology. Reviews and perspectives IV.*, Arditti, J. (ed.), Comstock Publishing Associates: Ithaca & London, ISBN: 0-8014-1777-5
- RAMÍREZ, S. R.; GRAVENDEEL, B.; SINGER, R. B.; ... & PIERCE, N. E. (2007). Dating the origin of the *Orchidaceae* from a fossil orchid with its pollinator. *Nature*, 448: 1042-1045.
- RASMUSSEN, H. N. (2002). Recent developments in the study of orchid mycorrhiza. *Plant and soil*, 244: 149-163.
- RASMUSSEN, H. N. & RASMUSSEN, F. N. (2009). Orchid mycorrhiza: implications of a mycophagous life style. *Oikos*, 118: 334-345.
- RASMUSSEN, H. N.; DIXON, K. W.; JERSÁKOVÁ, J. & TĚŠITELOVÁ, T. (2015). Germination and seedling establishment in orchids: a complex of requirements. *Annals of botany*, 116: 391-402.
- REINERT, F. (1998). Epiphytes: photosynthesis, water balance and nutrients. *Oecologia Brasiliensis*, 4: 87-108.
- RICH, S. M.; LUDWIG, M. & COLMER, T. D. (2008). Photosynthesis in aquatic adventitious roots of the halophytic stem-succulent *Tecticornia pergranulata* (formerly *Halosarcia pergranulata*). *Plant, Cell & Environment*, 31: 1007-1016.
- SANFORD, W. W. & ADANLAWO, I. (1973). Velamen and exodermis characters of West African epiphytic orchids in relation to taxonomic grouping and habitat tolerance. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 66: 307-321.
- SATHIYADASH, K.; MUTHUKUMAR, T.; UMA, E. & PANDEY, R. R. (2012). Mycorrhizal association and morphology in orchids. *Journal of plant interactions*, 7: 238-247.
- SCHLEIDEN, J. M. (1849). *Principles of scientific botany*. (Translated from 2nd German edition by E. Lankester), Longman, Brown, Green and Longmans, London.
- SILVERA, K.; SANTIAGO, L. S.; CUSHMAN, J. C. & WINTER, K. (2009). Crassulacean acid metabolism and epiphytism linked to adaptive radiations in the *Orchidaceae*. *Plant Physiology*, 149: 1838-1847.
- SILVERA, K.; SANTIAGO, L. S.; CUSHMAN, J. C. & WINTER, K. (2010). The incidence of crassulacean acid metabolism in *Orchidaceae* derived from carbon isotope ratios: a checklist of the flora of Panama and Costa Rica. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 163: 194-222.
- SINGH, V. P. (2017). *Uv-b Radiation: From Environmental Stressor to Regulator of Plant Growth*. Singh, V.P.; Singh, S.; Prasad, S.M. & Parihar, P. (eds), John Wiley & Sons, ISBN: 978-1-119-14360-4
- STERN, W. L. & JUDD, W. S. (1999). Comparative anatomy and systematics of the orchid tribe *Vanilleae* excluding *Vanilla*. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 134: 179-202.
- STERN, W. L. (2014). *Anatomy of the monocotyledons volume X: Orchidaceae*. Gregory, M. & Cutler, D.F. (eds), OUP Oxford, Oxford, ISBN: 978-0-19-968907-1

- SUÁREZ, J. P.; WEIB, M.; ABELE, A.; ... & KOTTKE, I. (2006). Diverse tulasnelloid fungi form mycorrhizas with epiphytic orchids in an Andean cloud forest. *Mycological research*, 110: 1257-1270.
- SUÁREZ, J. P.; EGUIGUREN, J. S.; HERRERA, P. & JOST, L. (2016). Do mycorrhizal fungi drive speciation in *Teagueia* (*Orchidaceae*) in the upper Pastaza watershed of Ecuador? *Symbiosis*, 69: 161-168.
- TAPIA-LÓPEZ, R.; GARCÍA-PONCE, B.; DUBROVSKY, J. G.; ... & ALVAREZ-BUYLLA, E. R. (2008). An AGAMOUS-related MADS-box gene, *XAL1* (*AGL12*), regulates root meristem cell proliferation and flowering transition in *Arabidopsis*. *Plant physiology*, 146: 1182-1192.
- TELEPOVA-TEXIER, M. (2000). Air-roots of epiphytic orchids (*Orchidaceae*). *Revue de Cytologie et Biologie végétales. Le Botaniste*, 23: 13-33.
- THANGAVELU, M. & MUTHU, S. (2017). Vegetative anatomical adaptations of *Epidendrum radicans* (*Epidendroideae, Orchidaceae*) to epiphytic conditions of growth. *Modern Phytomorphology*, 11: 117-130.
- TSAVKELOVA, E. A.; LOBAKOVA, E. S.; KOLOMEITSEVA, G. L.; ... & NETRUSOV, A. I. (2003). Localization of associative cyanobacteria on the roots of epiphytic orchids. *Microbiology*, 72: 86-91. (a)
- TSAVKELOVA, E. A.; LOBAKOVA, E. S.; KOLOMEITSEVA, G. L.; ... & NETRUSOV, A. I. (2003). Associative cyanobacteria isolated from the roots of epiphytic orchids. *Microbiology*, 72: 92-97. (b)
- TSAVKELOVA, E. A.; CHERDYNTSEVA, T. A. & NETRUSOV, A. I. (2005). Auxin production by bacteria associated with orchid roots. *Microbiology*, 74: 46-53.
- TSAVKELOVA, E. A.; CHERDYNTSEVA, T. A.; BOTINA, S. G. & NETRUSOV, A. I. (2007). Bacteria associated with orchid roots and microbial production of auxin. *Microbiological Research*, 162: 69-76.
- TSAVKELOVA, E. (2011). Bacteria associated with orchid roots. *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Growth Responses*, Maheshwari, D.K. (ed.), Springer, Berlin, Heidelberg, ISBN: 978-3-642-20332-9
- WANG, X. & PATERSON, A. H. (2013). Comparative genomic analysis of C4 photosynthesis pathway evolution in grasses. *Genomics of the Saccharinae*, Paterson, A.H. (ed.), Springer, New York, New York, ISBN: 978-1-4419-5947-8
- WCSP. *World Checklist of Selected Plant Families*. (2018). Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet; <http://wcsp.science.kew.org/> Retrieved 27 April 2018.
- WEIB, M.; WALLER, F.; ZUCCARO, A. & SELOSSE, M. A. (2016). *Sebacinales* – one thousand and one interactions with land plants. *New Phytologist*, 211: 20-40.
- WENT, F. W. (1940). Soziologie der Epiphyten eines tropischen Regenwaldes. *Annales du Jardin Botanique Buitenzorg*, 50: 1–98.
- WINTER, K.; MEDINA, E.; GARCIA, V.; ... & MUNIZ, R. (1985). Crassulacean Acid Metabolism in Roots of a Leafless Orchid, *Campylocentrum tyrridion* Garay & Dunsterv. *Journal of plant physiology*, 118: 73-78.
- WOOD, T. E.; TAKEBAYASHI, N.; BARKER; ... & RIESEBERG, L. H. (2009). The frequency of polyploid speciation in vascular plants. *Proceedings of the national Academy of sciences*, 106: 13875-13879.
- XING, X.; GAI, X.; LIU, Q.; ... & GUO, S. (2015). Mycorrhizal fungal diversity and community composition in a lithophytic and epiphytic orchid. *Mycorrhiza*, 25: 289-296.

- YODER, J. A.; ZETTLER, L. W. & STEWART, S. L. (2000). Water requirements of terrestrial and epiphytic orchid seeds and seedlings, and evidence for water uptake by means of mycotrophy. *Plant Science*, 156: 145-150.
- ZHANG, L.; CHEN, F.; ZHANG, G. Q.; ... & LIU, Z. J. (2016). Origin and mechanism of crassulacean acid metabolism in orchids as implied by comparative transcriptomics and genomics of the carbon fixation pathway. *The Plant Journal*, 86: 175-185. (a)
- ZHANG, G. Q.; XU, Q.; BIAN, C.; ... & SHI, Y. (2016). The *Dendrobium catenatum* Lindl. genome sequence provides insights into polysaccharide synthase, floral development and adaptive evolution. *Scientific reports*, 6: 19029. (b)
- ZHANG, G. Q.; LIU, K. W.; LI, Z.; ... & YOSHIDA, K. (2017). The *Apostasia* genome and the evolution of orchids. *Nature*, 549: 379.
- ZOTZ, G. & ZIEGLER, H. (1997). The occurrence of crassulacean acid metabolism among vascular epiphytes from Central Panama. *The New Phytologist*, 137: 223-229.
- ZOTZ, G. (2013). The systematic distribution of vascular epiphytes—a critical update. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 171: 453-481.
- ZOTZ, G. & WINKLER, U. (2013). Aerial roots of epiphytic orchids: the velamen radicum and its role in water and nutrient uptake. *Oecologia*, 171: 733-741.
- ZOTZ, G.; SCHICKENBERG, N. & ALBACH, D. (2017). The velamen radicum is common among terrestrial monocotyledons. *Annals of botany*, 120: 625-632.