

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Botanika



**Bc. Jana Duchoslavová**

**Klonální integrace *Agrostis stolonifera* v živinově  
heterogenním prostředí**

Clonal integration of *Agrostis stolonifera* in heterogeneous  
soil environment

Školitel: Mgr. Martin Weiser

Diplomová práce

Praha 2014

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 dne 14.8.2014

Jana Duchoslavová

## *Poděkování*

Chtěla bych moc poděkovat svým rodičům za to, že mě podporují ve studiu, dále všem, kdo mi pomáhali se sklizením pokusů, ale hlavně svému školiteli za ochotu poskytnout mi radu a povzbuzení v každé situaci.

Díky, Louskáčku!



## Abstrakt

Sdílení zdrojů mezi rametami umožňuje klonálním rostlinám vypořádat se s heterogenitou prostředí. Dosavadní studie ukázaly, že výhody klonální integrace rostou s velikostí kontrastu v dostupnosti zdrojů mezi rametami. Stejně velký kontrast ale rostliny pravděpodobně vnímají různě při různé celkové dostupnosti zdroje. Lze očekávat, že integrace bude mít větší dopad spíše při celkově nižší dostupnosti zdroje a vysokém kontrastu v dostupnosti zdroje mezi rametami (Caraco & Kelly 1991). Cílem této práce bylo ověřit tyto předpoklady u dvojic ramet *Agrostis stolonifera*, které byly pěstovány při různě velkém kontrastu v dostupnosti živin zasazeném do různě celkově bohatých podmínek.

Experiment s dvojicemi stejně vývojově starých ramet ukázal celkově velmi slabý efekt integrace na růst ramet, nicméně integrace měla pozitivní efekt na přežívání ramet a ovlivňovala také poměr podzemní a nadzemní biomasy ramet. V experimentu, kde dvojice tvořily starší mateřské ramety a jejich dceřiné ramety, byl efekt integrace na růst dceřiných ramet výraznější. Velikost efektu integrace ale byla, navzdory předpokladům, vyšší při vyšší dostupnosti živin pro dceřiné ramety a klesala s rostoucím kontrastem mezi rametami. Spojené dceřiné ramety měly také vyšší poměr podzemní a nadzemní biomasy než nespojené ramety, což odporuje předpokladu o specializaci na příjem lokálně hojného zdroje u integrovaných ramet. *Agrostis stolonifera* reagoval na dostupnost živin také změnou morfologie ramet, nehnojené ramety měly méně šlahounů, delší nejdelší šlahoun a šlahouny se jim více větvily. Zaznamenané změny morfologických parametrů celkově odpovídaly projevům „pátrání“ (*foraging*) u klonálních rostlin.

Výsledky napovídají, že převážně translokovaným zdrojem možná nebyly minerální živiny, ale asimiláty, což je v práci dále diskutováno. Dále naznačují, že velký vliv na výsledky experimentů s integrací rostlin má způsob založení experimentu.

**Klíčová slova:** klonální rostliny, fyziologická integrace, *Agrostis stolonifera*, heterogenita prostředí, živiny, sdílení zdrojů, dělba práce, foraging, morfologická plasticita, root-shoot ratio

## Abstract

Clonal plants may be able to cope with spatial heterogeneity due to the physiological integration of ramets. Previous studies demonstrated that benefits of clonal integration increase with patch contrast between individual ramets. However, the same magnitude of contrast may be perceived differently in rich and poor environments. According to the theoretical work of Caraco and Kelly (1991), I expected these benefits to be the greatest in overall poor conditions and high between-patch contrast. To test this hypothesis, I conducted experiments with pairs of ramets of a stoloniferous grass, *Agrostis stolonifera*, grown in variously nutrient rich conditions.

The experiment with pairs of ramet of similar developmental age showed only very weak effect of integration on growth of ramets, although integration significantly improved survival of ramets and also affected root-shoot ratio of ramets. Nevertheless, there were considerable benefits of integration in the experiment with developmentally older mother ramets and their daughter ramets. Contrary to the predictions, the benefits of integration were bigger in rich conditions and they decreased with increasing between-patch contrast. In addition, effect of integration on root-shoot ratio of ramets was opposite to the expected specialization for acquisition of locally abundant resource. Plants responded to nutrients also in terms of morphological plasticity. In poor environment they produced less stolons with longer top stolon and higher intensity of branching. Morphological responses to patch richness were in accord with a concept of clonal foraging for resources.

The unexpected results may indicate translocation of assimilates rather than mineral nutrients between ramets of *A. stolonifera*. I further discuss that the experimental set up is of a great importance for possible results of experiments on clonal integration.

**Key words:** clonal plants, physiological integration, *Agrostis stolonifera*, environmental heterogeneity, nutrients, resource sharing, division of labour, foraging, morphological plasticity, root-shoot ratio

## Obsah

1	Úvod .....	7
1.1	Cíle práce.....	12
2	Metodika .....	13
2.1	Pokus č.1 – stejnověké dvojice ramet .....	14
2.2	Pokus č.2 – doplňující pokus.....	16
2.3	Pokus č.3 – mateřské a dceřiné ramety .....	17
2.4	Analýza dat.....	18
2.4.1	Pokus č.1 .....	19
2.4.2	Pokus č.2 .....	24
2.4.3	Pokus č.3 .....	26
2.4.4	Morfologie ramet (Pokus č.3) .....	29
3	Výsledky .....	33
3.1	Pokus č.1 – stejnověké dvojice ramet .....	33
3.2	Pokus č.2 – doplňující pokus.....	41
3.3	Pokus č.3 – mateřské a dceřiné ramety .....	45
3.4	Morfologie ramet (Pokus č.3) .....	54
4	Diskuze .....	61
4.1	Diskuze metodiky .....	61
4.2	Diskuze výsledků .....	62
5	Závěr .....	74
6	Literatura .....	75

# 1 Úvod

Díky svému modulárnímu uspořádání je velká část rostlin schopná rozmnožovat se vegetativně a vytvářet tak opakující se jednotky (ramety), které jsou geneticky identické, ale potenciálně fyziologicky nezávislé – každá rameta má všechny struktury potřebné k samostatnému růstu. Mladé ramety se buď záhy oddělují od mateřské rostliny a rostou samostatně (např. *Galanthus nivalis*), nebo s ní zůstávají funkčně propojené například pomocí oddenků či šlahounů (*Aegopodium podagraria*, *Fragaria vesca*).

Podle databáze cévnatých rostlin střední Evropy (Klimeš et al. 1997) tvoří klonální rostliny s propojenými rametami téměř polovinu ze všech druhů. Fyziologická integrace ramet je tedy (alespoň v našich podmínkách) všeobecně rozšířená, přestože s udržováním funkčního propojení jsou nutně spojeny energetické náklady (Eriksson & Jerling 1990; Ikegami et al. 2008) a v rámci propojeného klonu může docházet ke snazšímu šíření systémových chorob (Stuefer et al. 2004; ale viz Koubek & Herben 2007).

Klonální růst umožňuje rostlinám rychle kolonizovat prostor, případně pronikat na disturbovaná místa a do mezer ve vegetaci (Fahrig et al. 1994; Kalamees & Zobel 2002). Oproti šíření semen mohou rostliny více ovlivnit, kam bude umístěna nová rameta (např. Roiloa & Retuerto 2006; Gao et al. 2012), a to buď evoluční optimalizací morfologických parametrů – délky internodií, směru růstu a způsobu větvení šlahounů či oddenků (Benot et al. 2010), nebo plastickou změnou morfologie orgánů klonálního růstu v odpovědi na lokální podmínky a signály od zbytku rostliny (Louâpre et al. 2012). Rostlina tak může optimalizovat získávání zdrojů z obsazených stanovišť, šíření na nová místa a tato místa do jisté míry také vybírat, tj. „pátrat“ po zdrojích (tzv. *foraging*, Slade & Hutchings 1987c; Macek & Lepš 2003). Za projevy aktivního „klonálního pátrání“ se považuje zkracování internodií a vyšší intenzita větvení v bohatých podmínkách a naopak prodlužování klonálních orgánů a menší intenzita větvení v chudých podmínkách. Předpokládá se, že takové chování umožňuje rostlinám plně využít bohatá stanoviště a naopak rychleji uniknout z chudých stanovišť. Uvedené projevy byly skutečně pozorovány např. u *Glechoma hederacea* (Slade & Hutchings 1987b; Slade & Hutchings 1987c) nebo *Cynodon dactylon* (Dong & de Kroon 1994). Nicméně se zdá, že tyto druhy tvořící nadzemní šlahouny lépe reagují na světlo než na živiny (Slade & Hutchings 1987b; Dong & de Kroon 1994), i když u *Glechoma hederacea* (Slade & Hutchings 1987c) a dalších druhů autoři pozorovali projevy „pátrání“ i v reakci na různou dostupnost živin (*Halerpestes ruthenica*, Yu & Dong 2003; *Trientalis europaea* Dong et al.

1997). Existují ovšem i práce namítající, že pro efektivní „pátrání“ by musely růstové parametry být až nerealisticky plastické nebo že takové chování funguje jen za velmi omezených podmínek, tedy že pozorované morfologické změny nejsou dostačující k tomu, aby umožnily rostlinám efektivní obsazování vhodných stanovišť (Cain 1994; Oborny 1994).

Při hodnocení plastických morfologických změn a změn v alokaci biomasy do různých částí rostliny je potřeba brát v potaz alometrické zákonitosti – tj. závislost měřených parametrů na velikosti a vývojovém stadiu rostliny (Weiner 2004). Některé zdánlivě plastické reakce rostliny totiž mohou být pouze pasivním důsledkem alometrie (Huber & Stuefer 1997).

Proč ale rostliny investují do udržování dlouhodobého funkčního propojení mezi rametami? Propojení ramet, tedy jejich fyziologická integrace, umožňuje rostlině sdílet látky mezi rametami, a do jisté míry tak vyrovnávat heterogenitu prostředí a rozdílné nároky jednotlivých ramet – rostlina může posílat vodu, minerální látky či asimiláty do té části klonu, kde jsou nejvíce potřeba (např. Alpert 1996), popřípadě sdílet informace o stavu nebo o prostředí ramet (Louâpre et al. 2012). Translokace mezi rametami byla pozorována pro všechny typy hlavních zdrojů, tedy vodu (např. u *Carex hirta* a *C.flacca*, de Kroon et al. 1996), minerální živiny (např. u *Carex arenaria*, Noble & Marshall 1983) i asimiláty (např. u *Trifolium repens*, Chapman et al. 1992). Translokace vody xylémem je poháněna rozdíly ve vodním gradientu mezi rametami a translokace asimilátů floémem je pravděpodobně řízena hlavně tzv. *source-sink* systémem (Marshall 1990), tedy od místa, kde vzniká více asimilátů, než je spotřebováno (tzv. *source*), k místu, kde je naopak spotřeba vyšší než produkce (tzv. *sink*). Minerální živiny jsou transportovány převážně xylémem, i když částečně mohou být vedeny i floémem, např. při jejich redistribuci ze zásobních orgánů (Marshall 1990).

U některých druhů probíhá translokace pouze jedním směrem – od vývojově starších k mladším rametám, jako např. u *Glechoma hederacea* (Slade & Hutchings 1987a; Slade & Hutchings 1987c) nebo *Carex arenaria* (Noble & Marshall 1983), u jiných rostlin ale může výměna látek probíhat oběma směry – např. u *Fragaria chiloensis* (Alpert 1996), *Fragaria orientalis* (Zhang et al. 2008) nebo *Podophyllum peltatum* (Jonsdottir & Watson 1997).

V nedávné metaanalýze experimentálních studií zbývajících se klonální integrací (Song et al. 2013) autoři ukázali, že integrace má obecně pozitivní efekt na růst podporované ramety bez výrazného negativního efektu na podporující rametu a že se efekt integrace neliší pro jednotlivé typy translokovaných zdrojů, ani mezi druhy tvořícími šlahouny, nebo oddenky. Rozdíl nenašli ani mezi experimentálními přístupy používajícími různé typy kontrol – v experimentech jsou dvojice spojených ramet rostoucích v květináčích s kontrastními



podmínkami (tj. s větší a menší dostupností zdroje) srovnávány buď s dvojicemi ramet rostoucích také v kontrastních podmínkách, u kterých bylo ale přerušeno spojení (např. Friedman & Alpert 1991; Roiloa et al. 2007), nebo s dvojicemi spojených ramet rostoucími v homogenních podmínkách (např. Stuefer et al. 1996; He et al. 2011). Přitom se dá očekávat, že v případě rozpojených kontrol se efekt spojení bude jevit větší, jednak proto, že přerušení spojení mezi rametami může být pro rostlinu traumatické (Jonsdottir & Watson 1997), a jednak proto, že druhý přístup přehlídí možnou roli integrace v homogenních podmínkách (Song et al. 2013).

Klasickým příkladem sdílení zdrojů je podpora mladých, vyvíjejících se ramet mateřskou rametou (Marshall 1990). I ve zcela homogenním prostředí jsou mladé ramety silnějším sinkem, protože ještě nemají zcela vyvinuté struktury pro příjem zdrojů. Podporované ramety tak mají kompetiční výhodu před semenáčky rostoucími pouze z vlastních zásob nebo mohou snáze překonat podmínky nepříznivé pro malé rostlinky.

Ve chvíli, kdy jsou mladé ramety zcela soběstačné v příjmu vody a živin a ve tvorbě asimilátů, se transport látek z mateřské ramety obvykle zastavuje (Colvill & Marshall 1981; Marshall 1990). Nicméně i mezi dospělými rametami může transport látek probíhat a přinášet rostlině výhody (např. Friedman & Alpert 1991) – pokud jsou ramety rostoucí na horších stanovištích podporovány rametami z lepších míst, rostlina může být schopná lépe se vyrovnávat s prostorovou heterogenitou prostředí a šířit se i na jinak nedostupná místa (Alpert & Mooney 1986). Integrace může rametám pomoci vypořádat se se stresovými faktory, jako je sucho (Zhang et al. 2012), kontaminace půdy (Roiloa & Retuerto 2011) nebo překrytí listů substrátem (Yu et al. 2001), a ovlivňovat tedy nejen růst ramet, ale také jejich přežívání (např. Zhang et al. 2012; Yu et al. 2001). V některých případech ovšem může být pro rostlinu výhodnější naopak potlačit růst ramet ve špatných podmínkách a investovat hlavně do ramet, které obsadily bohatá stanoviště (Sun et al. 2011).

Za určitých podmínek mohou propojené klony těžit z heterogenního prostředí dokonce více než z prostředí homogenního se stejným celkovým množstvím zdrojů (Hutchings & Wijesinghe 2008). To je dáno tím, že získávání lokálně hojného zdroje je efektivnější než získávání zdroje, který je v malé koncentraci (Bloom et al. 1985). Teoreticky je tedy nejvýhodnější přijímat zdroj tam, kde má největší koncentraci, a transportovat ho odtud k ostatním rametám. To samozřejmě platí jen do té doby, kdy jsou výhody vyšší než cena za translokaci (Ikegami et al. 2008). Pokud jsou různé zdroje v prostředí rozmístěny kompletně, tj. při dostatku jednoho je zároveň nedostatek druhého zdroje, ramety se

mohou specializovat na příjem lokálně hojného zdroje a zdroje si vzájemně vyměňovat. Tato specializace ramet se díky analogii s ekonomickými systémy nazývá dělba práce (Alpert & Stuefer 1997). Specializace ramet se nicméně může projevit i při heterogenitě v dostupnosti pouze jednoho zdroje (Birch & Hutchings 1994). Situace při dělbě práce je zdánlivě opačná než v případě, kdy ramety (nebo neklonální rostliny) rostou na daných stanovištích zcela samostatně a musí nejvíce investovat do příjmu limitujícího zdroje (Bloom et al. 1985; Ikegami et al. 2008), ačkoliv je vlastně analogická vyhledávání míst bohatých na zdroje příslušnými orgány jednotlivých ramet (Crick & Grime 1987; Wang et al. 2013) – mění se pouze úroveň, na které toto „pátrání“ probíhá.

Dělba práce ale není univerzální fenomén fungující u všech klonálních rostlin – byla pozorována například u *Fragaria chiloensis* (Roiloa et al. 2007), *Potentilla anserina* (Wang et al. 2011) nebo *Trifolium repens* (Stuefer et al. 1996), v řadě prací se ale známky specializace ramet neprojevily (Stuefer & Hutchings 1994; Alpert et al. 2003; He et al. 2011). Kromě samotné ceny za translokaci látek má specializace ramet ještě další omezení – ramety jsou na sobě vzájemně závislé a ve chvíli, kdy dojde k přerušení spojení, popřípadě ke změně podmínek, jejich specializace se pro ně stane nevýhodnou (Alpert & Stuefer 1997).

Jak tedy prostředí musí vypadat, aby se rostlinám vyplatila integrace ramet? Různé typy prostředí se mezi sebou liší jednak celkovou dostupností zdrojů (Mágori & Oborny 2003), jednak velikostí rozdílů v dostupnosti zdrojů mezi stanovišti, tj. kontrastem (Ikegami et al. 2008).

Podle dosavadních poznatků se zdá, že fyziologická integrace je rozšířená zejména v prostředích, kde je růst limitován abiotickými faktory, jako jsou arktická a alpínská prostředí (Jonsdottir & Callaghan 1996; Song et al. 2002). Rozsáhlá integrace zde rostlinám umožňuje přijímat nedostatkové živiny z velké plochy a klonální orgány jim mohou sloužit také k ukládání zásob. Celková dostupnost zdroje může být důležitým aspektem pro výhody a nevýhody integrace, ale experimentální studie s ní většinou nemanipulují. Existuje nicméně minimálně práce na *Potentilla simplex*, kde autoři měnili podíl květináčů s živinami a bez nich – tedy celkovou dostupnost živin pro celý klonální fragment – která ukázala, že integrace byla nejvýhodnější, pokud byla obohacených květináčů polovina, tj. při středním celkovém množství živin a nejvyšší heterogenitě (Wijesinghe & Handel 1994).

Řada prací ukazuje, že efekt integrace je výrazně ovlivněn velikostí kontrastu – výhody integrace se s velikostí kontrastu zvyšují (Friedman & Alpert 1991; Wijesinghe & Hutchings 1997; Hutchings & Wijesinghe 2008). Například Hutchings a Wijesinghe (2008) pěstovali

*Glechoma hederacea* v kontejnerech rozdělených na plochy s různě úživnou půdou (získanou smícháním písku a kompostu v různém poměru). Celkový poměr písku a kompostu v kontejneru (a tedy i celkový obsah živin) zůstal zachován, ale měnil se kontrast mezi plochami od 60 % kompostu v bohatých a 40 % v chudých plochách až po 100 % kompostu a čistý písek. Pokud byly plochy dostatečně velké, celková biomasa klonu se s rostoucím kontrastem zvětšovala. U *Fragaria orientalis* zvýhodňovala translokace vody ramety tím více, čím méně byly zavlažovány (Zhang et al. 2008). U *Fragaria chiloensis* se zase výhody integrace projevily pouze při velkém kontrastu v dostupnosti světla a živin mezi rametami (Friedman & Alpert 1991), a podobně se u kapradiny *Dryopterigium glaucum* projevil efekt integrace pouze při vysokém kontrastu v osvětlení (Guo et al. 2011). Také míra specializace ramet zřejmě roste se zvyšujícím se kontrastem v dostupnosti zdrojů mezi rametami – u *Potentilla anserina* autoři pozorovali morfologické projevy specializace opět pouze při největším kontrastu v dostupnosti zdrojů (Wang et al. 2011).

Stejný rozdíl v dostupnosti zdroje ale může být rostlinami vnímán různě v závislosti na kontextu – celkové dostupnosti zdroje v prostředí. Například stejný absolutní rozdíl v koncentraci živin v půdě je nejspíš pro rostliny různě významný, pokud je prostředí celkově úživné, nebo na živiny chudé. Teoreticky se tímto problémem zabývá například jednoduchý model translokace mezi dvojicí ramet (Caraco & Kelly 1991). Závislost růstu ramety na dostupnosti zdroje nemusí být lineární, ale její křivka může měnit sklon (viz obrázek 1) – ve strmějším úseku se pak stejné rozdíly v dostupnosti zdroje projeví na růstu více než v méně strmé části. Tato studie ukazuje, že výhody translokace mezi rametami mohou být silně ovlivněny právě povahou této závislosti a předpovídá, že nejvýhodnější je translokace ve chvíli, kdy se podporující rameta nachází v ploché části křivky, a cena za translokaci je pro ni tedy minimální, a podporovaná rameta se naopak nachází v prudce rostoucí části křivky, a zvýšené množství zdroje se u ní tím pádem výrazně promítne do růstu.

Ve své práci jsem se zabývala právě vlivem kontrastu v dostupnosti živin na výhody klonální integrace v závislosti na celkovém množství živin v systému.

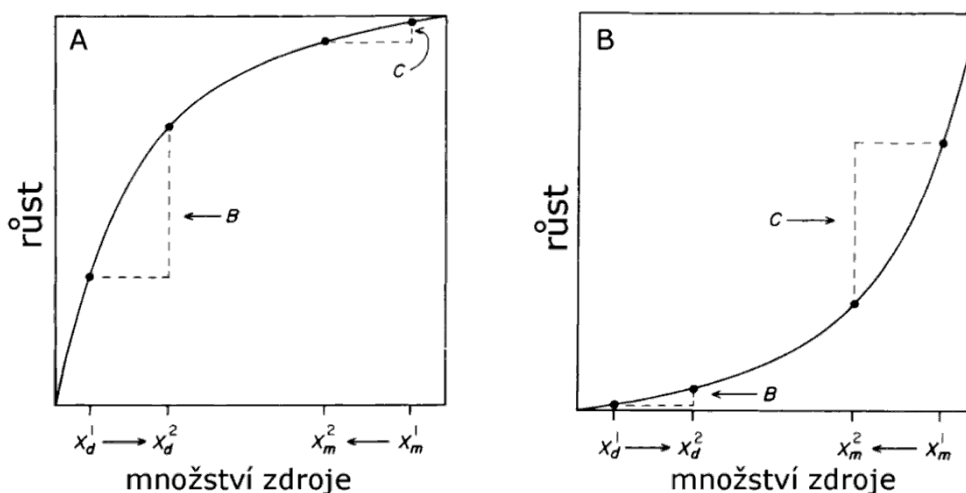
## 1.1 Cíle práce

V rámci své práce jsem chtěla experimentálně zjistit, jaký vliv na výhody klonální integrace má relativní kontrast v dostupnosti živin – tedy jaký je vliv různě velkého kontrastu navíc zasazeného do různě celkově bohatých podmínek. Jako modelovou rostlinu jsem si vybrala výběžkatou travu *Agrostis stolonifera* (psineček výběžkatý).

Hlavním cílem práce bylo porovnat vliv klonální integrace na přežívání a růst *A. stolonifera* při různých velikostech kontrastu v dostupnosti živin a různých průměrných dostupnostech živin a výsledky experimentů porovnat s teoretickými předpověďmi (Caraco & Kelly 1991).

Dále jsem chtěla zjistit, zda má integrace v heterogenním prostředí vliv na relativní investici ramet do kořenové a nadzemní biomasy, tedy jestli u ramet dochází ke specializaci na příjem lokálně hojného zdroje.

Třetím cílem bylo posoudit vliv integrace ramet a dostupnosti živin na vybrané morfologické charakteristiky *A. stolonifera*, zejména posoudit, zda a jak se mění architektura klonálního růstu.



**Obrázek 1: Teoretický model velikosti výhod a ceny klonálních integrace při různě vypadajících závislostech růstu rostliny na množství dostupného zdroje.** Mateřská (větší) rameta poskytují dceřinné (menší) rametě určité množství zdroje (znázorněné šipkou na ose x), čímž omezí svůj růst o hodnotu C (cena za integraci) a zvýší růst menší ramety o B (výhody integrace). V případě konkávní závislosti (vlevo) jsou výhody (B) větší než cena (C), v případě konvexní závislosti B (vpravo) je tomu naopak (upraveno podle Caraco & Kelly 1991).

## 2 Metodika

Vliv heterogenity prostředí na sdílení zdrojů u *Agrostis stolonifera* jsem zkoumala experimentálně. V pokusech jsem sledovala růst dvojic ramet<sup>1</sup> pěstovaných ve dvojicích květináčů v závislosti na experimentálních podmínkách. Jako heterogenní zdroj jsem zvolila živiny, které jsem rostlinám přidávala ve formě směsného hnojiva. Manipulovala jsem jak s velikostí rozdílu v množství hnojiva mezi květináči, tak s celkovou dostupností hnojiva.

Pokusy proběhly během vegetačních sezón 2012 a 2013. Celkem jsem provedla 2 hlavní pokusy a 1 doplňující pokus, které jsou podrobně popsány v následujících podkapitolách.

### **Modelový druh, rostlinný materiál a použité hnojivo**

Jako modelovou rostlinu jsem ve všech pokusech použila psineček výběžkatý (*Agrostis stolonifera*). *A. stolonifera* je široce rozšířená vytrvalá tráva tvořící dlouhé poléhavé nadzemní výběžky (šlahouny), které kořenují ze spodních nodů (Clayton et al. 2006; Kubát et al. 2002). Roste zejména na vlhkých loukách, pastvinách, prameništích, v příkopech a na březích, dobře snáší zaplavení i zasolení. Druh má širokou ekologickou amplitudu – roste jak na písčítých, tak na živinami bohatých substrátech a snáší také různé vlhkostní režimy (Kubát et al. 2002, Kik et al. 1990). V České republice se na celém území vyskytují 3 cytotypy *A. stolonifera* s různou ploidní úrovní – tetraploidí, pentaploidí a hexaploidí (Kubešová 2007).

Rostliny použité v pokusu č.1 pocházely ze tří různých zásobních klonů (klony A, B a C) pěstovaných v experimentální části Botanické zahrady Přírodovědecké fakulty UK v Praze. Klón A je hexaploidní, klony B a C jsou tetraploidní. V ostatních pokusech byl použit pouze klón A.

V pokusech č.1 a 2 jsem pracovala s podobně velkými dvojicemi ramet získaných nastříháním šlahounů zásobních rostlin na dvounodové fragmenty. Oproti tomu v pokusu č.3 dvojici tvořila vždy vývojově starší mateřská rameta (pocházející z dříve zasazeného jednonodového fragmentu) a její dceřiná (později zakořeněná) rameta.

Substrátem byl ve všech případech promytý písek. Dna květináčů pod pískem jsem přikryla netkanou textilií, aby písek nevypadával ven a aby rostliny neprokořeňovaly ven z květináčů.

---

<sup>1</sup> Pojem rameta v souvislosti s provedenými pokusy používám pro část rostliny rostoucí v samostatném květináči, která vyrostla z původně jedné zasazené ramety s.str. (tj. potenciálně samostatné jednotky). S postupem času z těchto původních ramet vznikly trsy ramet, které však pro jednoduchost stále označuji jako jednotlivé ramety.

Jako hnojivo jsem ve všech pokusech použila pomalu se uvolňující granulát (*slow release fertilizer*), který jsem aplikovala na začátku pokusu na povrch nebo těsně pod povrch substrátu. Konkrétně šlo o hnojivo Osmocote pro trávníky, s procentuálním obsahem prvků N,P,K (Mg a S): 23,5,10 (2 a 9).

## 2.1 Pokus č.1 – stejnověké dvojice ramet

V prvním pokusu jsem zkoumala vliv průměrného množství živin a kontrastu v dostupných živinách na růst stejnověkých dvojic ramet *A. stolonifera*. Pokus probíhal od června do září 2012 v otevřeném foliovém tunelu v Brožkově genetické zahradě UK v Praze (viz obrázek 1 v příloze).

Ze zásobních rostlin jsem dva týdny před zahájením pokusu (4.6.2012) ostříhala šlahouny se dvěma a více nody, které jsem nechala zakořenit na písku. Po zakořenění (cca za týden) jsem pak z těchto šlahounů nastříhala klonální fragmenty s dvěma nody tak, aby oba nody měly alespoň základ kořínku a nejméně na jednom nodu byly vyvinuté listy. Délka internodií byla zhruba 2-3 cm. Tyto fragmenty jsem zasadila do dvojic květináčů (objem 1 l) naplněných čistým pískem. Každý nodus (resp. rameta) byl tedy zasazen do svého květináče. Do zahájení pokusu jsem nahrazovala rostliny, které zásah nepřežily, novými.

Celkem bylo v pokusu 144 propojených dvojic (tj. 288 květináčů) a 140 květináčů kontrolních rozpojených ramet. Hned po zasazení jsem do květináčů nasypala příslušné množství hnojiva (hnojivo Osmocote pro trávníky; použitá množství hnojiva ukazuje tabulka 1). Pro spojené dvojice jsem použila tři různá průměrná množství živin (1,5 g, 3 g a 5 g) a čtyři různé velikosti absolutního kontrastu (bez kontrastu, rozdíl 1 g, 2 g a 3 g), konkrétní množství živin v květináčích ukazuje tabulka 1. Pro každou kombinaci průměrného množství živin a kontrastu jsem měla tři opakování pro obě možné orientace fragmentu (od bazálního k apikálnímu nodu a naopak), to celé jednou pro hexaploidní klon A a jednou pro směs tetraploidních klonů B a C – celkem tedy 12 opakování. U kontrolních rozpojených rostlin byla pokryta všechna množství hnojiva použitá pro jednotlivé květináče spojených dvojic, tj. kompletní řada od 0 g do 6,5 g po 0,5g krocích (celkem 14 různých množství). Pro každé množství hnojiva jsem měla 5 opakování s pokud možno rovnoměrným rozložením rostlin, které pocházely z původně bazálních nebo apikálních nodů.

Při zahájení pokusu (18.6.2012) jsem u kontrolních dvojic přestříhla internodium uprostřed mezi nody a u všech sazeniček spočítala listy (tj. počáteční velikost ramet). Během pokusu jsem průběžně plela květináče i jejich okolí a snažila jsem se zabránit šlahounům v

zakořeňování na podkladu či v jiných květináčích. Rostliny byly od zasazení až do konce pokusu zavlažovány pomocí automatického zavlažovacího systému.

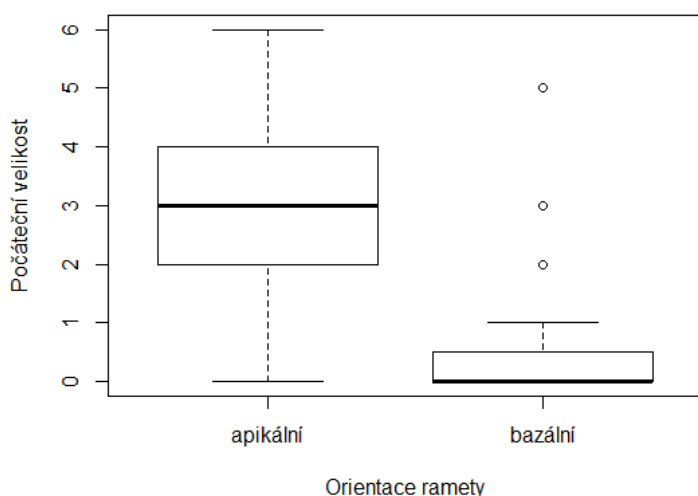
Pokus jsem ukončila v září 2012. Zapsala jsem všechny rostliny, které odumřely. U zbylých rostlin jsem nejprve sklídila všechny nadzemní části (7. až 21.9.) a poté jsem promývala kořeny (21.9. až 3.10.). Celou nadzemní část jsem vždy ustříhla těsně u povrchu písku, jednotlivé šlahouny roztřídila do velikostních kategorií po 20 cm (0-20 cm, 20-40 cm, 40-60 cm atd.), šlahouny v každé kategorii spočítala, usušila do konstantní hmotnosti (65° C, minimálně 24 h) a poté zvažila hmotnost sušiny. Zbylou bazální část prýtu jsem pak odstranila od kořenů, kořeny promyla, usušila do konstantní hmotnosti (65° C, minimálně 24 h) a zvažila hmotnost sušiny.

### Počáteční velikosti ramet

Vlivem postupu při pěstování klonálních fragmentů byly bazální ramety na počátku výrazně menší než apikální ramety (viz obrázek 2).

**Tabulka 1: Množství hnojiva v gramech pro jednotlivé treatmenty spojených dvojic (pokus č.1).** Ramety v 1. a 2. květináči byly u každého treatmentu zastoupeny apikálními i bazálními rametami. U kontrolních rozpojených rostlin byla pokryta všechna množství hnojiva použitá pro jednotlivé květináče spojených dvojic, tj. kompletní řada od 0 g do 6,5 g po 0,5g krocích (celkem 14 různých množství).

	málo živin (1,5 g)		středně živin (3 g)		hodně živin (5 g)	
	1. květináč	2. květináč	1. květináč	2. květináč	1. květináč	2. květináč
<b>bez kontrastu (0 g)</b>	1,5	1,5	3	3	5	5
<b>malý kontrast (1 g)</b>	1	2	2,5	3,5	4,5	5,5
<b>střední kontrast (2 g)</b>	0,5	2,5	2	4	4	6
<b>velký kontrast (3 g)</b>	0	3	1,5	4,5	3,5	6,5



**Obrázek 2: Počáteční velikosti (počet listů) u apikálních a bazálních ramet v pokusu č. 1.**

## 2.2 Pokus č.2 – doplňující pokus

Jelikož se v pokusu č.1 neprojevily výrazné rozdíly v biomase spojených a nespojených ramet, pokusila jsem se v létě 2013 pomocí jednoduššího doplňujícího pokusu ověřit, zda u takto získaných dvojic ramet vůbec dochází k translokaci živin (resp. zda má translokace vliv na růst ramet). Pokus probíhal v experimentálním skleníku Katedry botaniky PřF UK.

Oproti předchozímu pokusu jsem použila speciálně upravené květináče – každý květináč měl uprostřed jednoho horního okraje zářez umožňující vést šlahoun od ramety k sousednímu květináči bez ohýbání šlahounu přes okraj květináče. Toto opatření jednak zabraňovalo zbytečnému ohýbání šlahounů (které může snižovat jejich vodivost) a jednak umožňovalo umístit květináče dál od sebe, takže se jejich stěny přímo nedotýkaly a nemohlo docházet k přímému kontaktu mezi substráty.

V každém treatmentu bylo 12 opakování, v heterogenních podmínkách byl gradient živin vždy směřovaný od bazálních ramet k apikálním (tabulka 2).

Jednotlivé treatmenty pro dvojice ramet v textu označuji kódem, kde první číslo udává množství hnojiva apikální ramety, druhé číslo množství hnojiva bazální ramety a pomlčka mezi čísly označuje spojené ramety, zatímco křížek nespojené ramety. Jednotlivé spojené ramety označuji podobně, jen za čísla ještě dodávám „a“ pro apikální a „b“ pro bazální rametu (např. „0-0 a“). U nespojených ramet uvádím jen jejich množství hnojiva a písmeno označující orientaci (např. „0 a“).

**Tabulka 2: Přehled treatmentů použitých v pokusu č.2.** V tabulce jsou uvedena množství hnojiva v gramech.

		spojené		nespojené	
rameta:		apikální	bazální	apikální	bazální
distribuce hnojiva	heterogenní (průměr 1,5 g)	0	3	0	3
	homogenní (průměr 1,5 g)	1,5	1,5	1,5	1,5
	homogenní chudé	0	0		

Měsíc před zahájením pokusu (5.6.2013) jsem ostříhala šlahouny ze zásobních rostlin *A. stolonifera* (pouze klon A) a nechala je zakořenit na písku.

V den zahájení pokusu (4.7.2013) jsem ze zakořeněných šlahounů nastříhala fragmenty se dvěma rametami (obě ramety vždy měly vyvinuté kořeny i listy – viz obrázek 4 v příloze). Snažila jsem se vybírat ramety co nejpodobněji velké. Tyto dvojice ramet jsem zasadila do dvojic květináčů se zářezy, pohnojila odpovídajícím množstvím hnojiva (tabulka 2) a u ramet z treatmentu „nespojené“ přestříhala šlahoun spojující ramety přibližně uprostřed mezi



rametami. Zároveň jsem změřila počáteční velikosti rostlin (délky šlahounů od povrchu substrátu ke špičce nejdelšího listu).

Po 5 týdnech od zahájení (12.-13.8.) jsem pokus sklídila – znovu jsem změřila všechny šlahouny, promyla jsem kořeny, nadzemní a podzemní biomasu usušila do konstantní hmotnosti (65°C, 48 hodin) a zvažila.

### 2.3 Pokus č.3 – mateřské a dceřiné ramety

Třetí pokus probíhal od července do září roku 2013 v otevřeném foliovém tunelu v Brožkově genetické zahradě UK v Praze (viz obrázek 5 v příloze). Pro tento pokus jsem použila pouze rostliny klonu A. Dvojici ramet na rozdíl od předchozích pokusů tvořila vždy starší mateřská rameta a její dceřiná rameta (viz obrázek 6 v příloze). U poloviny dvojic ramet bylo přerušeno spojení mezi rametami. Manipulovala jsem s velikostí kontrastu v dostupnosti živin mezi rametami („kontrast“) a s množstvím hnojiva dceřiné ramety („úroveň živin“), jak ukazuje tabulka 3. Jednotlivé treatmenty v textu označuji kódem, kdy první číslo udává množství hnojiva dceřiné ramety, druhé číslo množství hnojiva mateřské ramety a pomlčka mezi čísly označuje spojené ramety, zatímco křížek nespojené ramety. Oproti prvním dvěma pokusům jsem nepracovala s průměrným množstvím hnojiva pro dvojici ramet, neboť ramety nebyly rovnocenné (tj. vyrovnaně velké). Kromě mateřských a dceřiných ramet byly v pokusu ještě tzv. kalibrační ramety, které byly zasazeny ve stejnou dobu jako mateřské ramety a které sloužily jako doplňující pozorování k vyšetření reakce růstu nespojených ramet na hnojivo.

V každé kombinaci úrovně živin a kontrastu bylo 14 spojených a 14 nespojených dvojic ramet. Kalibračních ramet bylo po 10 v každé ze 4 dávek hnojiva (0,75; 2,25; 3,75 a 4,25 g hnojiva).

**Tabulka 3: Přehled treatmentů použitých v pokusu č.3. V tabulce jsou uvedena množství hnojiva v gramech.** Všechny uvedené dvojice mateřských a dceřiných ramet byly buď spojené, nebo nespojené.

	málo živin		hodně živin	
	dcera $\bar{x}$	matka	dcera $\bar{x}$	matka
<b>bez kontrastu (<math>\Delta</math> 0 g)</b>	0	0	1,5	1,5
<b>malý kontrast (<math>\Delta</math> 1,5 g)</b>	0	1,5	1,5	3
<b>velký kontrast (<math>\Delta</math> 3 g)</b>	0	3	1,5	4,5
<b>zpětný treatment (<math>\Delta</math> 1,5 g)</b>			1,5	0

Dva měsíce před zahájením pokusu (5.6.2013) jsem ostříhala šlahouny ze zásobních rostlin *A. stolonifera* (klon A) a nechala je zakořenit na písku. Po měsíci (3.7.) jsem ze šlahounů nastříhala jednotlivé ramety a zasadila je do květináčů s promytým pískem umístěných ve foliovém tunelu. Tyto dříve zasazené ramety jsou v pokusu označovány jako

mateřské a kalibrační. Použila jsem květináče se zářezy stejně jako v pokusu č.2. Ke květináčům bylo zavedeno automatické zavlažování a 5.7. jsem změřila počáteční velikost mateřských a kalibračních ramet (jako délku jednotlivých šlahounů od povrchu substrátu) a pohnojila je příslušným množstvím hnojiva (tabulka 3).

Po třech týdnech od zasazení byly všechny rostliny dostatečně velké, aby se nejdelší šlahoun mohl nechat zakořenit ve vedlejším květináči. 24.7. jsem opět změřila velikost mateřských a kalibračních ramet a 25.7. jsem nejdelší šlahoun každé mateřské ramety položila do nového květináče s promytým pískem a příslušným množstvím hnojiva. Šlahoun jsem k substrátu připevnila drátkem a zasypala vlhkým pískem. Všechny takto vzniklé dceřiné ramety jsem nechala týden zakořenit ve spojení s mateřskou rametou.

V den zahájení pokusu (1. 8. 2013) jsem u příslušných rostlin přestříhla spojení mezi dceřinou a mateřskou rametou (viz tabulka 3) a u kalibračních rostlin jsem ustříhla nejdelší šlahoun (aby byly ošetřené stejným způsobem jako mateřské nespojené ramety). V průběhu pokusu jsem cca po týdně (5.8., 12.8., 18.8., 26.8.) kontrolovala stav rostlin – zaznamenávala jsem viditelně chřadnoucí a mrtvé rostliny a také případné problémy s automatickým zavlažováním u jednotlivých květináčů.

Pokus jsem zakončila a sklídila po jednom měsíci od zahájení (2.-4.9.). U dceřiných ramet jsem změřila délka všech šlahounů od místa zakořenění. U mateřských a kalibračních ramet jsem šlahouny pouze spočítala a změřila délku nejdelšího šlahounu. Kořeny všech ramet jsem promyla a nadzemní a podzemní biomasu zvlášť usušila (65°C, 3-4 dny, do konstantní hmotnosti) a zvažila.

## 2.4 Analýza dat

Pro detaily všech použitých modelů viz sekci Přílohy.

Pro všechny analýzy úmrtnosti jsem použila zobecněné lineární modely binomické rodiny (*link function* - logit). Pro analýzy biomasy a poměru podzemní a nadzemní biomasy jsem použila smíšené lineární modely (ANCOVA).

Všechny velikosti efektů a jejich střední chyby (*SE*) jsou v textu uvedené v transformovaném měřítku (podle transformace a *link function* konkrétního modelu).

Analýzy jsem prováděla v programu R (verze 3.0.2., R Core Team 2013), mnohorozměrné analýzy v programu Canoco (verze 5.00, ter Braak & Šmilauer 2012).

## **Transformace závislé proměnné**

Lze očekávat multiplikativní růst ramet, s různou mírou rychlosti v závislosti na počátečních parametrech a experimentálním prostředí. Proto jsem *a priori* logaritmicky transformovala hodnoty biomasy ramet, tj. závislé proměnné. V některých případech jsem ale kvůli normalizaci reziduálů použila odmocninovou transformaci.

### **2.4.1 Pokus č.1**

Celkem bylo v pokusu 428 ramet, z toho 140 nespojených. Úmrtnost ramet jsem analyzovala na datovém souboru tvořeném všemi pozorováními s kompletními údaji o příslušnosti ke klonu (v 5 případech nebylo jasné, zda jde o klon B, nebo C). Pro analýzy biomasy ramet jsem použila pouze data o živých rametách s kompletními údaji (ve 13 případech došlo ke ztrátě dat o počtu nebo hmotnosti šlahounů určité kategorie).

## **Kovariáty**

Ve všech analýzách úmrtnosti ramet jsem jako kovariátu použila příslušnost ke klonu (v analýzách úmrtnosti jako tříhladinový faktor – klony A, B a C) a počáteční velikost ramet vyjádřenou jako počet listů ramety v okamžiku zahájení pokusu.

V analýzách biomasy a poměru podzemní a nadzemní biomasy jsem jako kovariáty použila počáteční velikost ramet, příslušnost ke klonu (dvouhladinový faktor – klon A a klony B a C, viz níže), dobu mezi sklizením nadzemní a podzemní biomasy, která negativně korelovala s podzemní biomasou (kořeny pravděpodobně v mezičase část biomasy prodýchaly), a první a druhou mocninu vzdálenosti od levého zadního rohu skleníku. V tomto rohu byla zřejmě půda pod květináči úživnější a rostliny byly v důsledku toho větší (v průběhu pokusu prokořenily dnem květináčů až do půdy pod květináči). Vzdálenost jsem spočítala jako eukleidovskou, jednotkou byla pozice květináče od daného rohu.

Pro všechny analýzy biomasy a poměru podzemní a nadzemní biomasy jsem sloučila diploidní klony B a C do jedné kategorie, což umožnilo zahrnout do datasetu i pozorování se ztracenými údaji o příslušnosti ke klonu (tyto pozorování s jistotou pocházely z klonu B nebo C) a vedlo k vyváženému rozložení klonů (klon A tvořil polovinu všech ramet a klony B a C dohromady druhou polovinu).

Rozdíly ve vysvětlené variabilitě s použitím klonu jako tříhladinového (A,B,C) nebo dvouhladinového (A, B+C) faktoru jsem testovala pomocí lineárních modelů (viz model 1.0), ve kterých byly kromě proměnné klon zahrnuty jako kovariáty počáteční velikost, doba mezi sklizením nadzemní a podzemní biomasy, první a druhá mocnina vzdálenosti od levého

zadního rohu skleníku, množství hnojiva a spojení mezi rametami. Závislou proměnnou byl desítkový logaritmus biomasy ramet nebo desítkový logaritmus poměru podzemní a nadzemní biomasy ramet. Do modelů byly zahrnuty pouze živé ramety s kompletními údaji o příslušnosti ke klonu. Kvůli zachování nezávislosti pozorování jsem modely udělala zvlášť pro apikální a bazální ramety.

Modely zahrnující všechny tři klony vysvětlily jen zanedbatelně větší procento variability v biomase i poměru podzemní a nadzemní biomasy ramet než modely se sloučenými klony B a C (tabulka 4), zároveň se modely zahrnující všechny tři klony průkazně nelišily od modelů se sloučenými klony B a C u biomasy (apikální r.  $P_F=0,119$ ; bazální r.  $P_F=0,834$ ), ani u poměru podzemní a nadzemní biomasy (apikální r.  $P_F=0,862$ ; bazální r.  $P_F=0,500$ ).

**Tabulka 4: Podíly variability v biomase a poměru podzemní a nadzemní biomasy vysvětlené faktorem klon při použití všech třech hladin klonu (A, B, C) a po sloučení klonů B a C do jedné kategorie (A, B+C).**

	biomasa		poměr podzemní a nadzemní biomasy	
	apikální ramety	bazální ramety	apikální ramety	bazální ramety
klony A,B,C	13,75%	0,04%	3,79%	2,97%
klony A a B+C	12,61%	0,01%	3,77%	2,73%
<b>rozdíl</b>	<b>1,14%</b>	<b>0,03%</b>	<b>0,02%</b>	<b>0,24%</b>

### Kontrolní nespojené ramety

Nejprve jsem sledovala reakci rostlin (ve smyslu úmrtnosti, celkové biomasy a poměru podzemní a nadzemní biomasy) na použité dávkování hnojiva, a to u kontrolních nespojených ramet, které měly s jistotou k dispozici pouze živiny pocházející z jejich květináče.

#### 1.1. Jak závisí úmrtnost ramet na příslušnosti ke klonu a množství hnojiva?

Pro analýzu úmrtnosti nespojených ramet jsem použila zobecněný lineární model s binomiálním rozdělením (*link function* - logit). Dataset tvořily všechny nespojené ramety s kompletními údaji o příslušnosti ke klonu (celkem 137 pozorování). V modelu byla zahrnuta počáteční velikost jako kovariáta, příslušnost ke klonu jako faktor, množství hnojiva jako lineární prediktor a dále interakce mezi klonem a hnojivem. Binomickou závislou proměnnou byla smrt ramety (viz model 1.1).

#### 1.2. Jak závisí biomasa ramet na příslušnosti ke klonu a množství hnojiva?

Pro analýzu závislosti biomasy nespojených ramet na hnojivu jsem použila lineární model. Dataset tvořily všechny živé nespojené ramety s kompletními údaji (celkem 94 pozorování).

Jako kovariáty byly v modelu zahrnuty doba mezi sklizením nadzemní a podzemní biomasy, první a druhá mocnina vzdálenosti od levého zadního rohu skleníku a počáteční velikost ramet, jako prediktory příslušnost ke klonu jako faktor, množství hnojiva jako lineární člen a desítkový logaritmus množství hnojiva (kvůli definičnímu oboru logaritmu jsem hodnoty množství hnojiva transformovala přičtením jedničky) a interakce mezi klonem a množstvím hnojiva. Logaritmus u množství hnojiva jsem zvolila, protože jsem očekávala asymptotický vztah mezi biomasou a množstvím hnojiva (kvůli limitaci růstu jiným zdrojem než živinami při vyšších dávkách hnojiva), který logaritmická funkce poměrně dobře popisuje. Závislou proměnnou byl desítkový logaritmus biomasy ramet (model 1.2).

### *1.3. Jak závisí poměr podzemní a nadzemní biomasy na příslušnosti ke klonu a množství hnojiva?*

Pro analýzu závislosti poměru podzemní a nadzemní biomasy nespojených ramet na hnojivu jsem použila lineární model. Dataset tvořily všechny živé nespojené ramety s kompletními údaji (celkem 95 pozorování). Kovariáty (doba mezi sklizením nadzemní a podzemní biomasy, vzdálenost od levého zadního rohu skleníku, počáteční velikost a orientace) byly z modelu vyřazeny, protože jejich vliv byl neprůkazný a vysvětlovaly velmi málo celkové variability. Jako prediktory byly zahrnuty příslušnost ke klonu, množství hnojiva jako lineární člen a desítkový logaritmus množství hnojiva (množství hnojiva jsem transformovala přičtením jedničky). Závislou proměnnou byl desítkový logaritmus poměru podzemní a nadzemní biomasy ramet (model 1.3).

### **Vliv spojení na úmrtnost rostlin**

Celkový vliv spojení na úmrtnost ramet (tj. vliv spojení bez ohledu na množství hnojiva druhé ramety) a vliv spojení na úmrtnost ramet v homogenních podmínkách (tj. druhá rameta byla pohnojena stejným množstvím hnojiva) jsem analyzovala vždy zvlášť pro apikální a bazální ramety, abych v analyzovaném datasetu měla vždy jen nezávislá pozorování (tj. vzájemně nespojené ramety).

### *1.4. Jak celkově ovlivňuje spojení úmrtnost ramet?*

### *1.5. Jak ovlivňuje spojení úmrtnost ramet v homogenních podmínkách?*

V analýzách celkového vlivu spojení na úmrtnost ramet (model 1.4a pro apikální a model 1.4b pro bazální ramety) a vlivu spojení na úmrtnost ramet v homogenních podmínkách (model 1.5a pro apikální a 1.5b pro bazální ramety) byly jako kovariáty v modelech zahrnuty počáteční velikost a klon, dále hnojivo jako lineární prediktor, spojení jako faktor a interakce

mezi hnojivem a spojením. Počáteční velikost a množství hnojiva byly standardizovány, aby bylo možné srovnat velikosti efektů u apikálních a bazálních ramet. Binomickou závislou proměnnou byla smrt ramet.

Pro analýzu celkového vlivu spojení na úmrtnost jsem použila pozorování s kompletními údaji o příslušnosti ke klonu ze všech treatmentů (212 apikálních a 211 bazálních ramet), pro analýzu vlivu spojení na úmrtnost v homogenních podmínkách pouze pozorování z nulového kontrastu (51 apikálních a 50 bazálních ramet).

#### *1.6. Liší se efekt treatmentu na úmrtnost u spojených a nespojených ramet?*

Úmrtnost spojených a nespojených ramet v jednotlivých kombinacích úrovně hnojiva a kontrastu v dostupnosti hnojiva jsem porovnávala na základě obrázku (obrázek 8), netestovala jsem.

### **Vliv spojení na biomasu rostlin**

#### *1.7. Závisí biomasa dvojic spojených ramet na úrovni hnojiva nebo velikosti kontrastu?*

Vliv nerovnoměrné dostupnosti daného množství živin na růst rostlin jsem sledovala na biomasách dvojic spojených ramet v jednotlivých treatmentech. Pro analýzu jsem použila pouze data o spojených dvojicích ramet, kde obě ramety z dvojice přežily, jednotlivými pozorováními byly dvojice ramet (celkem 101 pozorování). Jako kovariáty jsem do modelu zahrнула vzdálenost od rohu a součet počátečních velikostí ramet ve dvojici, jako prediktory úroveň živin (lineární prediktor), velikost kontrastu jako faktor a dále interakci mezi úrovní živin a kontrastem. Závislou proměnnou byl desítkový logaritmus součtu biomas ramet ve dvojici (viz model 1.7).

#### *1.8. Liší se efekt treatmentu na biomasu dvojic u spojených a nespojených ramet?*

Na tuto otázku jsem odpověděla v explorativní fázi analýzy vizuálním zhodnocením grafu. Efekt jsem netestovala.

#### *1.9. Má spojení vliv na biomasu méně hnojených ramet?*

Pro analýzu vlivu spojení na biomasu méně hnojených ramet v různých treatmentech jsem použila pouze živé ramety a ze spojených ramet pouze ty, jejichž druhá rameta také přežila (celkem 144 pozorování). Jako kovariáty jsem do modelu zahrнула první a druhou mocninu vzdálenosti od rohu, dobu mezi sklizením nadzemní a podzemní biomasy, počáteční velikost a příslušnost ke klonu, jako prediktory orientaci ramety (faktor), treatment (kombinace úrovně

živin a kontrastu, faktor o 12 hladinách), interakci treatmentu a spojení a interakci orientace a spojení. Závislou proměnnou byl desítkový logaritmus biomasy ramet (viz model 1.9).

### **Vliv spojení na poměr podzemní a nadzemní biomasy ramet**

#### *1.10. Má spojení vliv na poměr podzemní a nadzemní biomasy ramet?*

Protože jsem na základě odpovědi poměru podzemní a nadzemní biomasy na hnojivo u nespojených ramet (model 1.3, obrázek 6) očekávala možný efekt spojení pouze v nízkých dávkách hnojiva, nejprve jsem vyhodnotila relativní vliv spojení na poměr podzemní a nadzemní biomasy pro každou ze tří úrovní živin a v rámci každé úrovně pro méně a více hnojené ramety (tj. celkem 6 datasetů), a to na základě variability vysvětlené spojením v lineárních modelech a průkaznosti vlivu spojení. V modelech byly jako kovariáty zahrnuty doba mezi sklizením podzemní a nadzemní biomasy, vzdálenost od levého zadního rohu skleníku, počáteční velikost, klon, orientace a hnojivo. Prediktory byly spojení a interakce mezi hnojivem a spojením. Všechny číselné proměnné byly standardizovány, aby bylo možné porovnat velikosti efektů mezi modely. Závislou proměnnou byl desítkový logaritmus poměru podzemní a nadzemní biomasy ramet. Dataset vždy tvořily všechny živé ramety z příslušné kombinace úrovně živin a dávky hnojiva a živé nespojené ramety s odpovídající dávkou hnojiva.

Podrobněji jsem se dále zabývala pouze těmi modely, ve kterých spojení mělo průkazný vliv na poměr podzemní a nadzemní biomasy ramet (modely 1.10n a 1.10s).

## 2.4.2 Pokus č.2

Celkem bylo v pokusu 120 ramet (tj. 60 dvojic) – 24 ramet (12 dvojic) v každém treatmentu.

### Nespojené ramety

Reakci rostlin na použité dávkování hnojiva jsem nejprve testovala na nespojených rametách, které měly s jistotou k dispozici pouze živiny pocházející z jejich květináče. V datasetu byly zahrnuty pouze živé, nespojené ramety (celkem 41 pozorování).

2.1. *Jak množství hnojiva ovlivňovalo biomasu nespojených ramet?*

2.2. *Jak množství hnojiva ovlivňovalo poměr podzemní a nadzemní biomasy nespojených ramet?*

Vliv hnojiva na biomasu a na poměr podzemní a nadzemní biomasy ramet jsem analyzovala pomocí lineárních modelů. Jako kovariáty byly v modelech zahrnuty počáteční velikost a orientace ramet (apikální/bazální, faktor), prediktorem bylo hnojivo jako faktor (množství hnojiva dosahovalo pouze tří různých hodnot – 0, 1,5 a 3 g). Závislou proměnnou byl desítkový logaritmus biomasy ramet, respektive desítkový logaritmus poměru podzemní a nadzemní biomasy (modely 2.1 a 2.2).

Pro porovnání jednotlivých hladin množství hnojiva jsem použila metodu *Tukey's Honest Significant Difference* (funkce „TukeyHSD“ v programu R).

### Vliv spojení a distribuce hnojiva na biomasu dvojic ramet

2.3. *Jaký vliv mělo spojení a distribuce hnojiva na biomasu dvojic ramet?*

Abych zjistila vliv spojení a distribuce hnojiva na růst celých rostlin, porovnávala jsem celkové biomasu dvojic ramet s průměrnou dávkou hnojiva 1,5 g (tj. treatmenty 0-3, 0x3, 1,5-1,5 a 1,5x1,5, viz obrázek 13). Dataset tvořily ty dvojice ramet, kde obě ramety přežily (celkem 41 dvojic).

Použila jsem lineární model, kde byl jako kovariáta zahrnut součet počátečních velikostí ramet ve dvojici. Prediktory byly spojení, distribuce hnojiva (faktor – homogenní nebo heterogenní distribuce) a jejich interakce. Závislou proměnnou byl desítkový logaritmus biomasy dvojic ramet (model 2.3).

Pro stanovení velikosti vlivu spojení na biomasu dvojic v homogenních a heterogenních podmínkách jsem vytvořila tabulku variability vysvětlené spojením v lineárních modelech, ve kterých jsem analyzovala zvlášť dvojice ramet s homogenní a s heterogenní distribucí živin. V těchto modelech byl jako kovariáta použit součet počátečních velikostí ramet a jako



prediktor spojení (faktor). Závislou proměnnou byl desítkový logaritmus biomasy dvojic ramet.

### **Vliv spojení na biomasu jednotlivých ramet a na poměr podzemní a nadzemní biomasy ramet**

*2.4. Jaký vliv mělo spojení s hnojenou rametou na biomasu nehnojených ramet?*

*2.5. Jaký vliv mělo spojení s hnojenou rametou na poměr podzemní a nadzemní biomasy nehnojených ramet?*

Vliv spojení s hnojenou rametou na nehnojené ramety jsem studovala porovnáním nehnojených ramet spojených s hnojenými rametami (treatment „0-3 a“) s dvěma typy kontrol. Jedním typem kontrol byly nehnojené ramety, které byly spojené s nehnojenými rametami (treatment „0-0 a“). Druhým typem byly nehnojené ramety, u nichž bylo na začátku pokusu přestřiženo propojení a které tedy rostly zcela samostatně (treatment „0 a“). Všechny studované nehnojené ramety byly apikální, celkem bylo 12 pozorování v každém treatmentu.

Jako kovariáta byla do lineárních modelů zahrnuta počáteční velikost ramet a jako prediktor treatment (faktor). U treatmentu byly nastaveny kontrasty tak, aby modely nejprve porovnály ramety spojené s hnojenými rametami („0-3 a“) s nespojenými rametami („0 a“), a potom ramety spojené s hnojenými rametami („0-3 a“) s rametami spojenými s nehnojenou rametou („0-0 a“). Závislou proměnnou byl desítkový logaritmus biomasy ramet, respektive desítkový logaritmus poměru podzemní a nadzemní biomasy (modely 2.4 a 2.5).

*2.6. Jaký vliv mělo spojení s nehnojenou rametou na hnojené ramety?*

Vliv spojení na hnojené ramety jsem analyzovala na všech živých rametách hnojených 3 g hnojiva (celkem 20 pozorování – 12 spojených a 8 nespojených ramet). V lineárních modelech byla jako kovariáta zahrnuta počáteční velikost ramet a prediktorem bylo spojení (faktor). Závislou proměnnou byla odmocněná biomasa ramet, respektive desítkový logaritmus poměru podzemní a nadzemní biomasy ramet (modely 2.6b pro biomasu a 2.6p pro poměr podzemní a nadzemní biomasy).

### 2.4.3 Pokus č.3

Celkem bylo v pokusu 432 ramet – 196 dceřiných, 196 mateřských ramet a 40 kalibračních ramet, které doplňovaly pokrytí škály použitých množství hnojiva. Pro analýzy byly z datasetu vyřazeny mrtvé ramety (ty se vyskytovaly pouze mezi dceřinými rametami).

#### **Kovariáty**

Jako kovariáta byla při analýzách nespojených mateřských ramet použita počáteční velikost mateřských ramet (celková délka šlahounů po zasazení ramet). V analýzách dceřiných ramet byla jako kovariáta délka nejdelšího šlahounu příslušné mateřské ramety těsně před zakořeňováním dceřiných ramet (z tohoto šlahounu následně dceřiná rameta vznikla). V analýze vlivu spojení na mateřské ramety byla jako kovariáta zařazena celková délka šlahounů mateřských ramet těsně před přerušením spojení s dceřinými rametami.

#### **Reakce nespojených mateřských ramet na hnojivo**

*3.1. Jaký vliv mělo použité dávkování hnojiva na biomasu ramet?*

*3.2. Jaký vliv mělo použité dávkování hnojiva na poměr podzemní a nadzemní biomasy ramet?*

Reakci rostlin na použité dávkování hnojiva jsem sledovala na mateřských nespojených rametách a kalibračních rametách. Pro analýzy vlivu hnojiva na ramety jsem použila lineární modely, jako kovariátu jsem v modelech použila počáteční velikost mateřských ramet a jako prediktory množství hnojiva jako lineární člen a desítkový logaritmus množství hnojiva. Logaritmická funkce totiž dobře popisovala zjevně asymptotický průběh závislosti. Kvůli definičnímu oboru logaritmu jsem množství hnojiva transformovala přičtením jedničky.

Závislou proměnnou byl desítkový logaritmus biomasy ramet (model 3.1), respektive desítkový logaritmus poměru podzemní a nadzemní biomasy ramet (model 3.2).

#### **Dceřiné ramety**

*3.3. Jaký vliv mělo hnojivo na biomasu spojených a nespojených dceřiných ramet?*

*3.4. Jaký vliv mělo hnojivo na poměr podzemní a nadzemní biomasy u spojených a nespojených dceřiných ramet?*

Vliv hnojiva na spojené a nespojené dceřiné ramety jsem sledovala na živých dceřiných rametách, jejichž mateřské ramety rostly v 1,5 g nebo 3 g hnojiva. Takto hnojené mateřské

ramety měly dceřiné ramety jak v 0 g, tak v 1,5 g hnojiva, a bylo tak možné pozorovat vliv hnojiva (tj. úrovně živin) na dceřiné ramety s podobnou počáteční velikostí.

Pro analýzy jsem použila lineární modely, kde byly jako kovariáty počáteční velikost dceřiné ramety a množství hnojiva mateřské ramety a jako prediktory množství hnojiva dceřiné ramety (2 možné hodnoty), spojení (faktor) a interakce mezi množstvím hnojiva a spojením. Závislou proměnnou byl desítkový logaritmus biomasy ramet (model 3.3), respektive desítkový logaritmus poměru podzemní a nadzemní biomasy ramet (model 3.4).

### *3.5. Jaký byl vliv spojení na biomasu dceřiných ramet v jednotlivých treatmentech?*

Vliv spojení v jednotlivých treatmentech na biomasu dceřiných ramet jsem analyzovala pomocí lineárních modelů, a to nejprve dohromady pro obě úrovně živin (model 3.5d), a poté zvlášť pro nízkou (model 3.5n) a vysokou úroveň živin (model 3.5v), protože u jednotlivých úrovní byly různé rozptyly hodnot (u vysoké úrovně živin byly rozptyly hodnot vyšší) a zároveň mě zajímala variabilita vysvětlená prediktory v jednotlivých úrovních živin.

Do analýz jsem jako kovariáty zařadila počáteční velikost dceřiných ramet a interakci počáteční velikosti a kontrastu pro odfiltrování efektu počátečních podmínek. Počáteční velikost jsem standardizovala, aby bylo možné srovnat velikosti efektů v jednotlivých modelech (ostatní proměnné byly faktory nebo měly pouze dvě možné hodnoty, a tak u nich nebyla standardizace potřeba). V analýze pro obě úrovně živin (model 3.5d) byly jako prediktory kontrast, úroveň živin, spojení a jejich interakce. V analýzách pro jednotlivé úrovně zvlášť (model 3.5n a model 3.5v) byly jako prediktory kontrast, spojení a jejich interakce. Závislou proměnnou byl ve všech případech desítkový logaritmus biomasy ramet.

Přehled variability vysvětlené počáteční velikostí a spojením v jednotlivých treatmentech (obrázek 19) jsem vytvořila na základě lineárních modelů, kde byly jako prediktory zahrnuty počáteční velikost a spojení (jako faktor) a závislou proměnnou byl desítkový logaritmus biomasy. Dataset vždy tvořily všechny živé ramety z dvojice treatmentů lišících se pouze spojením mezi rametami (např. 0-0 a 0x0). Tyto modely jsem použila pouze pro výpočet podílu variability vysvětlené jednotlivými prediktory.

### *3.6. Jaký byl vliv spojení na poměr podzemní a nadzemní biomasy dceřiných ramet v jednotlivých treatmentech?*

Stejně jako u analýzy vlivu spojení na biomasu ramet jsem vliv spojení na poměr podzemní a nadzemní biomasy analyzovala nejprve dohromady pro všechny treatmenty (model 3.6d) a poté zvlášť pro obě úrovně živin (modely 3.6n pro nízkou a 3.6v pro vysokou úroveň živin).

Ve všech analýzách jsem jako kovariátu použila počáteční velikost dceřiných ramet. V analýze zahrnující všechny treatmenty byly jako prediktory úroveň živin, kontrast, spojení a jejich interakce. V analýzách pro jednotlivé úrovně byly jako prediktory kontrast, spojení a jejich interakce. Počáteční velikost jsem standardizovala, aby bylo možné srovnat velikosti efektů v jednotlivých modelech (ostatní proměnné byly faktory nebo měly pouze dvě možné hodnoty).

### **Mateřské ramety**

*3.7. Jaký byl vliv spojení na biomasu mateřských ramet?*

*3.8. Jaký byl vliv spojení na poměr podzemní a nadzemní biomasy mateřských ramet?*

Do analýzy vlivu spojení na mateřské ramety v jednotlivých treatmentech jsem jako kovariátu zahrnula celkovou délku šlahounů mateřských ramet při zahájení pokusu (tj. v den přerušení spojení), množství hnojiva mateřské ramety jako lineární člen a desítkový logaritmus množství hnojiva (hnojivo muselo být transformováno přičtením jedničky), prediktory byly úroveň živin a spojení, jejich vzájemná interakce a interakce s množstvím hnojiva mateřské ramety. Závislou proměnnou byl desítkový logaritmus biomasy mateřských ramet (model 3.7), respektive desítkový logaritmus poměru podzemní a nadzemní biomasy mateřských ramet (model 3.8).

### **Zpětný treatment**

Účelem zpětného treatmentu bylo zjistit, zda v podmínkách, kdy má dceřiná více živin než mateřská rameta, bude translokace stále probíhat směrem od mateřské k dceřiné rametě, nebo se zastaví či obrátí opačným směrem.

Do datasetu pro analýzu vlivu spojení na ramety ve zpětném treatmentu jsem zařadila živé ramety ze zpětného treatmentu (1,5x0 a 1,5-0) a jako kontrolu ramety z treatmentu bez hnojení (0x0 a 0-0). Ve všech těchto treatmentech byly mateřské ramety nehnojené, a dceřiné ramety měly tím pádem srovnatelné počáteční podmínky. U analýzy pro mateřské ramety jsem do datasetu zařadila i mateřské ramety, jejichž dceřiné ramety nepřežily, protože ve všech takových případech šlo o nespojené dvojice. Vliv spojení na ramety jsem analyzovala pomocí lineárních modelů.

*3.9. Jaký byl vliv spojení na biomasu dceřiných ramet ve zpětném treatmentu?*

*3.10. Jaký byl vliv spojení na poměr podzemní a nadzemní biomasy dceřiných ramet ve zpětném treatmentu?*

Do analýzy vlivu spojení na dceřiné ramety jsem zahrnula počáteční velikost dceřiných ramet jako kovariátu a jako prediktory množství hnojiva dceřiné ramety, spojení (faktor) a interakci mezi hnojivem a spojením. Závislou proměnnou byla odmocněná biomasa ramet (model 3.9), respektive desítkový logaritmus poměru podzemní a nadzemní biomasy ramet (model 3.10).

*3.11. Jaký byl vliv spojení na biomasu mateřských ramet ve zpětném treatmentu?*

*3.12. Jaký byl vliv spojení na poměr podzemní a nadzemní biomasy mateřských ramet ve zpětném treatmentu?*

Do analýz vlivu spojení na mateřské ramety jsem zahrnula velikost mateřských ramet na začátku pokusu jako kovariátu a množství hnojiva dceřiné ramety, spojení (faktor) a interakci mezi hnojivem a spojením jako prediktory. Závislou proměnnou byl desítkový logaritmus biomasy ramet (model 3.11), respektive desítkový logaritmus poměru podzemní a nadzemní biomasy (model 3.12).

### **Poměr biomas dceřiných a mateřských ramet**

*3.13. Lišila se relativní alokace biomasy do dceřiných a mateřských ramet v různých treatmentech?*

Pro analýzu vlivu treatmentu na alokaci biomasy do dceřiných a mateřských ramet jsem použila dataset se všemi dvojicemi ramet, kde obě ramety z dvojice přežily (celkem 192 dvojic). Do analýzy jsem jako kovariáty zařadila počáteční velikost dceřiných a mateřských ramet a jako prediktory úroveň živin, kontrast mezi rametami, spojení a jejich vzájemné interakce. Závislou proměnnou byl desítkový logaritmus podílu biomasy dceřiné a mateřské ramety.

### **2.4.4 Morfologie ramet (Pokus č.3)**

Na závěr analýz jsem se zabývala morfologií ramet (zejména ve smyslu rozložení délek šlahounů) ve vztahu k hnojení a spojení, a to u rostlin z pokusu č.3. Při interpretaci výsledků je třeba mít na paměti, že od efektu hnojení a spojení na morfologické charakteristiky je ve všech analýzách odfiltrován vliv nadzemní biomasy ramet.

## **Mateřské ramety**

U mateřských ramet jsem jako morfologické charakteristiky použila délku nejdelšího šlahounu, počet šlahounů, průměrnou hmotnost jednoho šlahounu a poměr podzemní a nadzemní biomasy. Délka nejdelšího šlahounu může odrážet investici rostliny do šíření z daného stanoviště, nebo dokonce snahu „uniknout“ ze stávajících podmínek (Slade & Hutchings 1987b). Počet šlahounů pak dává obraz o jakémisi zahuštění trsu a průměrná hmotnost šlahounu vypovídá o délce a větvenosti šlahounů. Poměr podzemní a nadzemní biomasy pak ukazuje zejména snahu ramety získávat spíše podzemní nebo nadzemní zdroje.

Pro analýzy jsem použila všechny mateřské ramety, včetně kalibračních ramet.

### *4.1 Liší se vztah délky nejdelšího šlahounu a velikosti ramety u různě hnojených ramet?*

Vztah délky nejdelšího šlahounu a velikosti ramet jsem analyzovala pomocí lineárního modelu. Jako prediktory byly do modelu zahrnuty desítkový logaritmus nadzemní biomasy ramet, množství hnojiva a jejich interakce. Množství hnojiva jsem pro tuto analýzu rozdělila na 2 kategorie – nehnojené ramety (0 g) a hnojené ramety (ostatní množství hnojiva). Závislou proměnnou byl desítkový logaritmus délky nejdelšího šlahounu (model 4.1). Kvůli vysokému vlivu na výsledek (*leverage*) jsem z analýzy vyloučila jedno pozorování.

### *4.2 Liší se vztah počtu šlahounů a velikosti ramety u různě hnojených ramet?*

Vztah počtu šlahounů a velikosti ramety jsem analyzovala pomocí lineárního modelu. Jako prediktory byly do modelu zahrnuty desítkový logaritmus nadzemní biomasy ramet, množství hnojiva (8 různých hodnot) a jejich interakce. Závislou proměnnou byl desítkový logaritmus počtu šlahounů (model 4.2).

### *4.3 Jaký vliv má hnojivo na morfologické charakteristiky mateřských ramet?*

Vliv hnojiva na morfologii jsem studovala pomocí mnohorozměrné analýzy RDA (*redundancy analysis*), všechny morfologické parametry byly standardizovány na nulový průměr a jednotkový rozptyl. Pro odfiltrování prostého vlivu velikosti jsem jako kovariátu použila nadzemní biomasu ramet. Prediktorem bylo hnojivo a závislými proměnnými délka nejdelšího šlahounu, počet šlahounů, průměrná hmotnost šlahounu a poměr podzemní a nadzemní biomasy.

## **Dceřiné ramety**

U dceřiných ramet jsem, stejně jako u mateřských ramet, jako morfologické charakteristiky použila délku nejdelšího šlahounu, počet šlahounů, průměrnou hmotnost jednoho šlahounu a poměr podzemní a nadzemní biomasy ramet. Navíc jsem použila ještě celkovou délku šlahounů, která spolu s hmotností jednotkové délky šlahounu vypovídá o větvenosti šlahounů, dále průměrnou délku šlahounu, rozptyl délek šlahounů, šikmost rozdělení délek šlahounů, které dávají představu o tvaru rozdělení délek šlahounů – tj. zda jsou šlahouny spíše podobně velké nebo naopak velmi krátké a dlouhé, jestli je mezi nimi pár extrémně dlouhých šlahounů, nebo je rozdělení relativně symetrické. Dále jsem u dceřiných ramet analyzovala počty šlahounů v délkových kategoriích (po 10 cm), což může např. ukázat, které šlahouny se nejvíce podílejí na případném zahušťování trsu.

Pro analýzy jsem použila všechny dceřiné ramety, včetně ramet ze zpětného treatmentu (1,5-0 a 1,5x0).

### *4.4 Liší se vztah délky nejdelšího šlahounu na velikosti ramety u různě hnojených ramet a u spojených a nespojených ramet?*

Vztah délky nejdelšího šlahounu a velikosti ramet jsem analyzovala pomocí lineárního modelu. Jako prediktory byly do modelu zahrnuty desítkový logaritmus nadzemní biomasy ramet, množství hnojiva, spojení a všechny jejich interakce. Kvůli vysokému vlivu na výsledek (*leverage*) jsem z analýzy vyloučila jedno pozorování. Závislou proměnnou byl desítkový logaritmus délky nejdelšího šlahounu (model 4.4).

### *4.5 Liší se závislost počtu šlahounů na velikosti ramety u různě hnojených ramet a u spojených a nespojených ramet?*

### *4.6 Liší se závislost hmotnosti jednotkové délky šlahounu na velikosti ramety u různě hnojených ramet a u spojených a nespojených ramet?*

Vztah počtu šlahounů a velikosti ramety a vztah hmotnosti jednotkové délky šlahounů a velikosti ramety jsem analyzovala pomocí lineárních modelů. Jako prediktory byly do modelů zahrnuty desítkový logaritmus nadzemní biomasy ramet, množství hnojiva, spojení a všechny jejich interakce. Závislou proměnnou byl desítkový logaritmus počtu šlahounů, respektive desítkový logaritmus hmotnosti jednotkové délky šlahounu (modely 4.5 a 4.6).

#### 4.7 Jaký vliv má hnojivo a spojení na morfologické charakteristiky a zastoupení různě dlouhých šlahounů u dceřiných ramet?

Vliv hnojiva a spojení na morfologické charakteristiky jsem posuzovala jednak z obrázků v explorativní části analýzy, jednak pomocí mnohorozměrné analýzy RDA (*redundancy analysis*).

Pro odfiltrování prostého vlivu velikosti jsem jako kovariáty použila nadzemní biomasu ramet a počáteční velikost šlahounu. Prediktorem bylo hnojivo nebo spojení a závislými proměnnými délka nejdelšího šlahounu, počet šlahounů, průměrná hmotnost šlahounu, celková délka šlahounů, průměrná délka šlahounu, rozptyl délek šlahounů, šikmost rozdělení šlahounů a poměr podzemní a nadzemní biomasy.

Vliv hnojiva a spojení na zastoupení různě dlouhých šlahounů jsem analyzovala pomocí analýzy RDA. Pro odfiltrování prostého vlivu velikosti jsem jako kovariáty použila nadzemní biomasu ramet a počáteční velikost šlahounu. Prediktorem bylo hnojivo nebo spojení a závislými proměnnými počty šlahounů v délkových kategoriích (po 10 cm).



## 3 Výsledky

### 3.1 Pokus č.1 – stejnověké dvojice ramet

#### Kontrolní nespojené ramety

Reakci rostlin na použité dávkování hnojiva jsem sledovala na kontrolních nespojených rametách. Z celkem 140 nespojených ramet do konce pokusu přežilo 98 ramet (70 %).

#### 1.1. Jak závisí úmrtnost ramet na příslušnosti ke klonu a množství hnojiva?

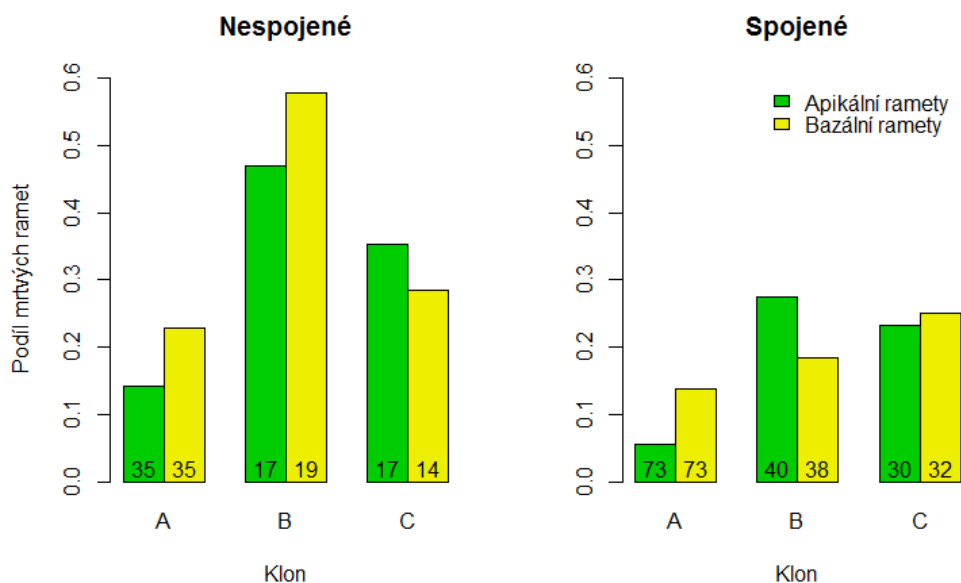
S větším množstvím hnojiva se zvyšovala pravděpodobnost smrti (viz obrázek 4; velikost efektu 0,14,  $SE=0,16$ ,  $P_{\text{Chisq}}=0,03$ ), klony se průkazně lišily úmrtností ( $P_{\text{Chisq}}=0,003$ , obrázek 3 – levá část a obrázek 4), ale nelišily se reakcí na hnojivo ( $P_{\text{Chisq}}=0,71$ ). Model byl celkově průkazný ( $P_{\text{Chisq}}=0,002$ , d.f.= 6, 130, viz model 1.1).

#### 1.2. Jak závisí biomasa ramet na příslušnosti ke klonu a množství hnojiva?

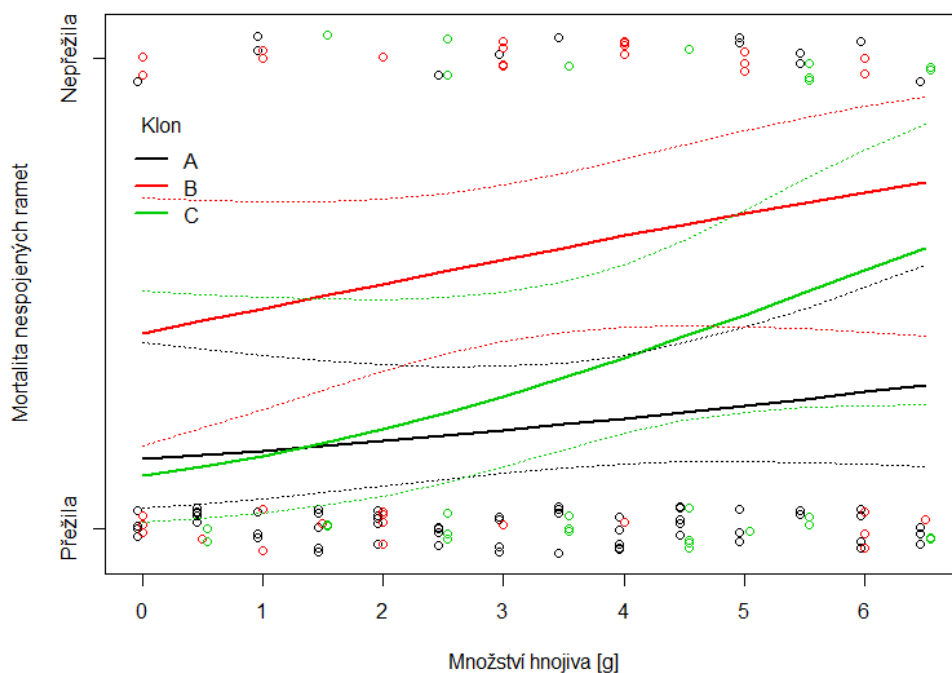
Biomasa kontrolních ramet s vyšším množstvím hnojiva rostla, rychlost tohoto růstu ale při vyšším množství hnojiva klesala (hodnota lineárního členu -0,14,  $P_F=0,005$ ; logaritmický člen 1,65,  $P_F<0,001$ ; viz obrázek 5), hnojivo dohromady vysvětlilo pouze 16,4 % celkové variability. Rostliny z klonů B a C byly průkazně menší než rostliny z klonu A (velikost efektu -0,13,  $SE=0,13$ ,  $P_F<0,001$ ; 11,3 % celkové variability), interakce mezi klonem a hnojivem nebyla průkazná ( $P_F=0,345$ ). Model vysvětlil 36,1 % celkové variability (adjusted  $R^2=0,361$ ,  $F_{8,85}=7,573$ ,  $P<<0,001$ , viz model 1.2).

#### 1.3. Jak závisí poměr podzemní a nadzemní biomasy na příslušnosti ke klonu a množství hnojiva?

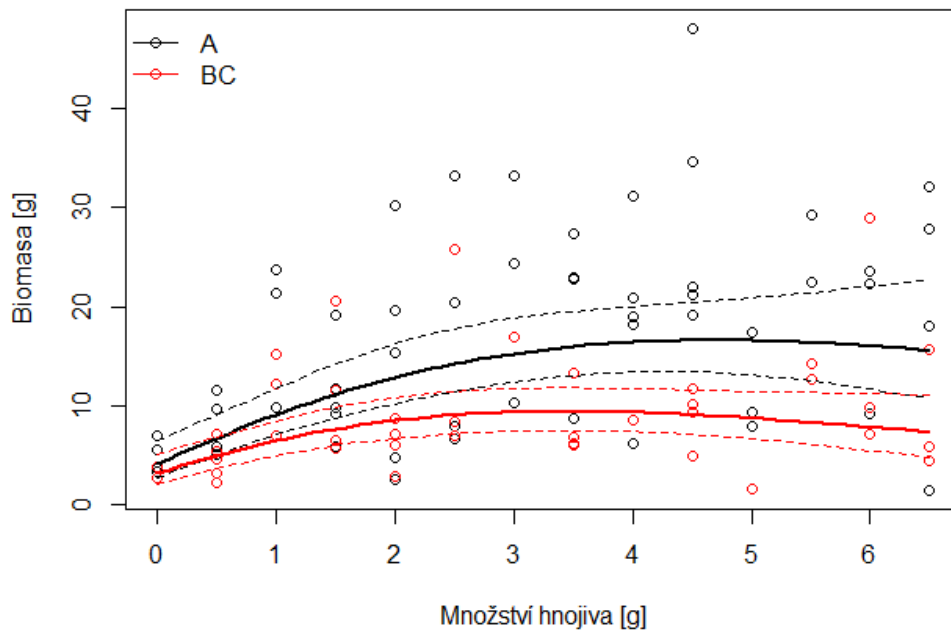
Klony se nelišily poměrem podzemní a nadzemní biomasy ( $P_F=0,515$ ), hnojivo tento poměr snižovalo (tj. více hnojené ramety měly relativně méně kořenů), ale tento efekt byl patrný pouze při nízkých množstvích hnojiva (viz obrázek 6; hodnota lineárního členu 0,12,  $SE=0,4$ ,  $P_F<0,001$ , hodnota logaritmického členu -1,33,  $SE=0,31$ ,  $P_F<0,001$ , vliv hnojiva vysvětlil dohromady 29,8 % celkové variability). Model celkem vysvětlil 27,8 % variability (adjusted  $R^2=0,278$ ,  $F_{3,91}=13,06$ ,  $P<0,001$ , viz model 1.3).



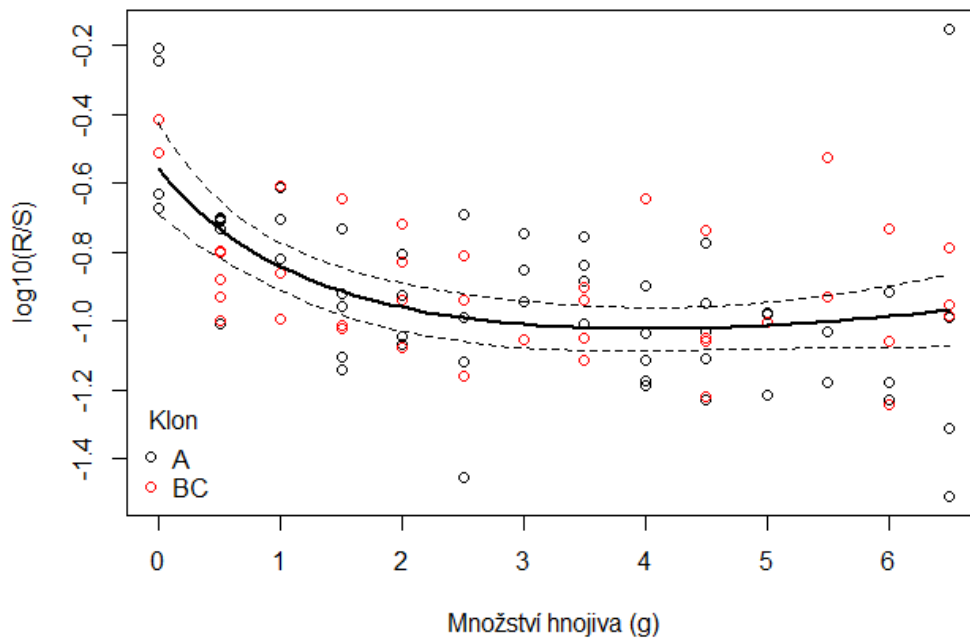
**Obrázek 3: Podíly mrtvých apikálních (zeleně) a bazálních (žlutě) ramet jednotlivých klonů.** Vlevo jsou zobrazeny nespojené ramety, vpravo spojené ramety. Na bázi sloupečků je uveden celkový počet ramet v dané kategorii.



**Obrázek 4: Úmrtnost nespojených ramet.** Plné čáry představují pravděpodobnost smrti ramet v závislosti na množství hnojiva a příslušnosti ke klonu předpovězené modelem (model 1.1), hodnota počáteční velikosti byla pro vytvoření obrázku zadána jako konstantní a rovna mediánu všech počátečních velikostí. Tečkované čáry vyznačují hranice 95% konfidenčních intervalů predikovaných hodnot pravděpodobností.



**Obrázek 5: Závislost biomasy nespojených ramet na hnojivu.** Plné čáry představují hodnoty předpovězené modelem (model 1.2) pro klon A (černě) a klony B a C (červeně), čárkované čáry vyznačují hranice 95% konfidenčních intervalů pro predikované hodnoty biomasy.



**Obrázek 6: Vliv hnojiva na poměr podzemní a nadzemní biomasy (R/S) u nespojených ramet.** Plná čára ukazuje hodnoty předpovězené modelem (model 1.3) pro klon A (klony B a C se od klonu A nelišily). Čárkované čáry vyznačují hranice 95 % konfidenčního intervalu pro predikované hodnoty. Závislá proměnná je v logaritmickém měřítku (logaritmus o základu 10).

## Vliv spojení na úmrtnost rostlin

### 1.4. Jak celkově ovlivňuje spojení úmrtnost ramet?

Nejprve jsem sledovala celkový efekt spojení na úmrtnost, tj. bez ohledu na to, jak byla druhá rameta hnojená (pro srovnání úmrtnosti v jednotlivých dávkách hnojiva viz obrázek 1 v příloze). Z celkem 288 spojených ramet jich do konce pokusu nepřežilo 47 (16 %), ze 140 nespojených ramet jich nepřežilo 42 (30 %).

U apikálních ramet úmrtnost rostla s větším množstvím hnojiva (standardizovaná velikost efektu 0,12,  $SE=0,26$ ,  $P_{\text{Chisq}}=0,028$ ; viz obrázek 7 – červené křivky) a spojení ji s marginální průkazností snižovalo (velikost efektu 0,48,  $SE=0,44$ ,  $P_{\text{Chisq}}=0,085$ ), marginálně průkazná byla také interakce mezi hnojivem a spojením (standardizovaná velikost efektu 0,72,  $SE=0,42$ ,  $P_{\text{Chisq}}=0,079$ ) – ve vyšších dávkách hnojiva spojení snižovalo úmrtnost více (viz obrázek 7 – červené křivky). Model byl celkově průkazný ( $P_{\text{Chisq}} \ll 0,001$ , viz model 1.4a).

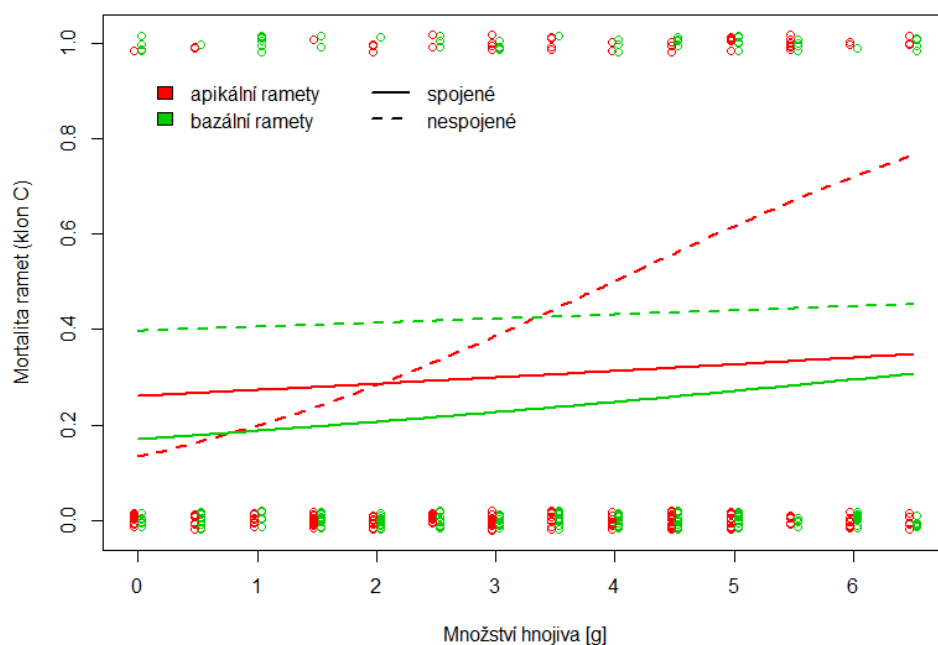
U bazálních ramet nemělo hnojivo na úmrtnost průkazný vliv, i když efekt (na spojené ramety) byl větší než u apikálních ramet (standardizovaná velikost efektu 0,22,  $SE=0,24$ ,  $P_{\text{Chisq}}=0,395$ , viz obrázek 7 – zelené křivky), spojení úmrtnost průkazně snižovalo (velikost efektu 0,90,  $SE=0,35$ ,  $P_{\text{Chisq}}=0,010$ ), interakce mezi spojením a hnojivem nebyla průkazná ( $P_{\text{Chisq}}=0,647$ ). Model byl celkově průkazný ( $P_{\text{Chisq}}=0,035$ , viz model 1.4b).

### 1.5. Jak ovlivňuje spojení úmrtnost ramet v homogenních podmínkách?

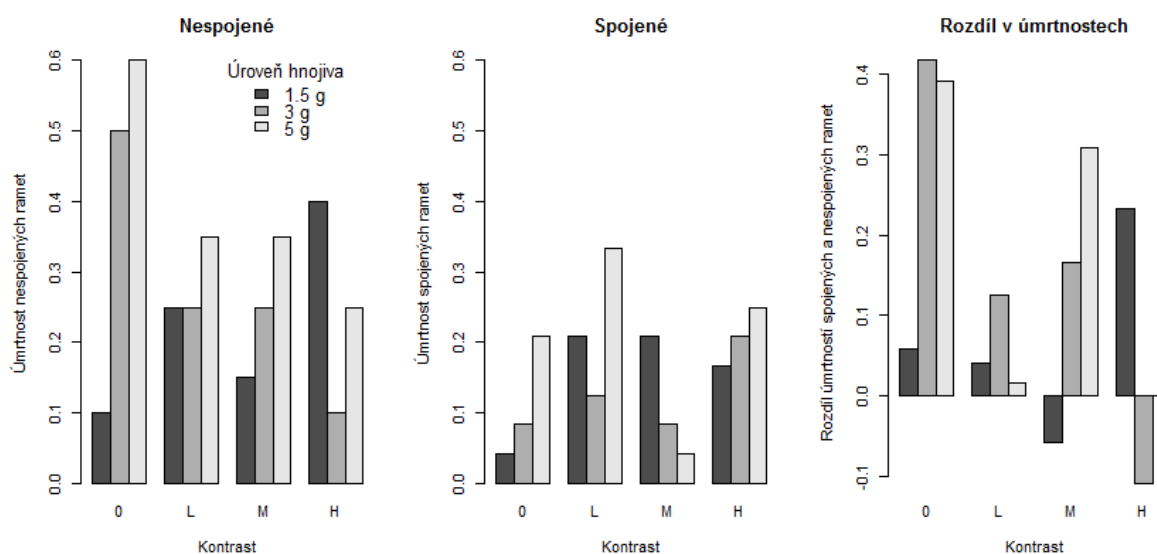
V homogenních podmínkách (tj. nulovém kontrastu, obrázek 8 – kontrast 0), kde nelze *a priori* předpokládat směrovanou translokaci živin mezi spojenými rametami, spojení průkazně snižovalo pravděpodobnost smrti u apikálních (velikost efektu 2,70,  $SE=1,30$ ,  $P_{\text{Chisq}}=0,005$ ) i bazálních ramet (velikost efektu 1,84,  $SE=0,84$ ,  $P_{\text{Chisq}}=0,027$ ), nicméně u apikálních ramet byl efekt silnější. V obou případech nemělo na úmrtnost průkazný vliv množství hnojiva (apikální ramety  $P_{\text{Chisq}}=0,120$ , bazální  $P_{\text{Chisq}}=0,172$ ) a efekt spojení se mezi úrovněmi hnojiva průkazně nelišil (apikální ramety  $P_{\text{Chisq}}=0,638$ , bazální  $P_{\text{Chisq}}=0,524$ ). Modely byly celkově průkazné (apikální ramety  $P_{\text{Chisq}}=0,002$ , model 1.5a; bazální ramety  $P_{\text{Chisq}}=0,056$ , model 1.5b, po odstranění neprůkazné interakce spojení a hnojiva  $P_{\text{Chisq}}=0,037$ ).

### 1.6. Liší se efekt treatmentu na úmrtnost u spojených a nespojených ramet?

V úmrtnostech spojených ramet v jednotlivých treatmentech a nespojených ramet v odpovídajících množstvích hnojiva není patrný žádný trend (viz obrázek 7).



**Obrázek 7: Vliv spojení na úmrtnost bazálních (zelená) a apikálních (červená) ramet.** Všechny čáry představují pravděpodobnosti smrti ramet predikované modely (Model 1.4a a 1.4b), plné čáry jsou pro spojené a přerušované pro nespojené ramety.



**Obrázek 8: Úmrtnosti ramet v jednotlivých kombinacích kontrastu v dostupnosti živin mezi rametami a celkové úrovni živin – nespojené ramety (vlevo), spojené ramety (uprostřed) a rozdíly v úmrtnostech mezi spojenými a nespojenými rametami (vpravo).**

## Vliv spojení na biomasu rostlin

### 1.7. Závísí biomasa dvojic spojených ramet na úrovni hnojiva nebo velikosti kontrastu?

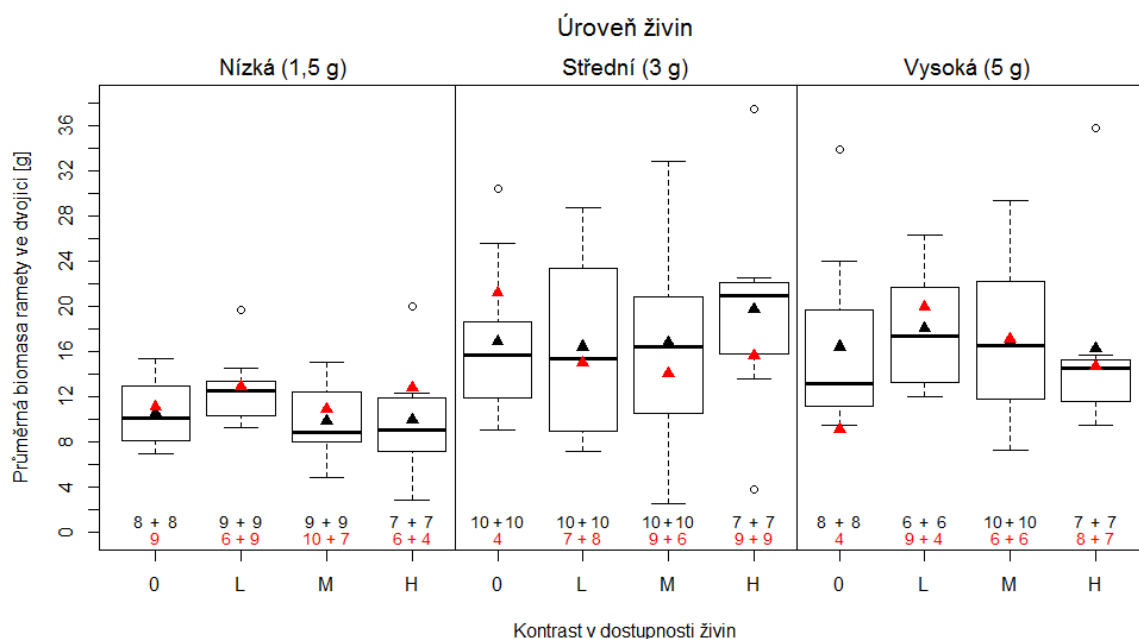
Na biomasu dvojic spojených ramet měla průkazný pozitivní vliv pouze celková úroveň živin (obrázek 9, velikost efektu 0,04,  $SE=0,03$ ,  $P_F<0,001$ ; 11,7 % celkové variability). Velikost kontrastu v množství hnojiva (tj. nerovnoměrnost v dostupnosti živin) biomasu dvojice neovlivňovala ( $P_F=0,784$ ), průkazná nebyla ani interakce mezi úrovní živin a kontrastem ( $P_F=0,855$ ). Model byl celkově průkazný a vysvětlil 14,1 % celkové variability (adjusted  $R^2=0,141$ ;  $F_{9,91}=2,835$ ;  $P=0,005$ ; viz model 1.7).

### 1.8. Liší se efekt treatmentu na biomasu dvojic u spojených a nespojených ramet?

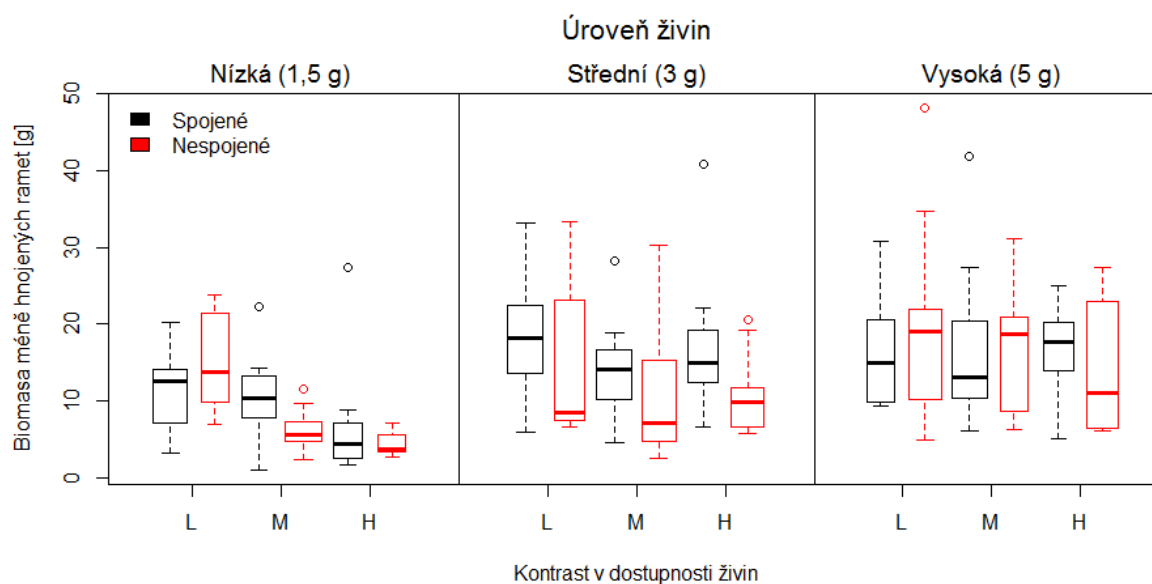
Průměrná biomasa ramet ve spojených dvojicích se výrazně nelišila od průměrné biomasy odpovídajících nespojených ramet (obrázek 9, netestováno).

### 1.9. Má spojení vliv na biomasu méně hnojených ramet?

U méně hnojených ramet mělo spojení vliv na biomasu pouze s marginální průkazností ( $P_F=0,066$ , 1,3 % celkové variability, viz obrázek 10). Vliv spojení se průkazně nelišil mezi jednotlivými treatmenty ( $P_F=0,683$ ), ale byl s marginální průkazností různý u apikálních a bazálních ramet – pozitivní efekt spojení byl silnější u bazálních ramet (velikost efektu -0,16;  $SE=0,08$ ;  $P_F=0,058$ ; 1,4 % celkové variability). Model byl celkově průkazný a vysvětlil 45,3 % celkové variability (adjusted  $R^2=0,453$ ,  $F_{24,119}=5,98$ ,  $P<<0,001$ ; viz model 1.9).



**Obrázek 9: Průměrná biomasa spojených ramet ve dvojici pro jednotlivé treatmenty (boxploty).** Jinými slovy biomasa dvojic ramet dělená dvěma. Průměrná biomasa všech spojených ramet v dané kategorii je vyznačena černým trojúhelníčkem, průměrná biomasa nespojených ramet s odpovídajícím množstvím hnojiva červeným trojúhelníčkem. Čísla pod boxploty udávají počet přeživších spojených (černě) a nespojených (červeně) ramet v kategorii, přičemž první číslo jsou vždy ramety s menší dávkou hnojiva. (Průměrná biomasa nespojených ramet není vychýlena kvůli nerovnoměrnému přežívání ramet s větší a menší dávkou hnojiva – hodnota je spočtena jako průměr průměrných biomas ramet s větší a menší dávkou.)



**Obrázek 10: Biomasa méně hnojených ramet v jednotlivých treatmentech.** Spojené ramety jsou nakresleny černě a nespojené ramety s odpovídajícím množstvím hnojiva červeně. Šířky boxplotů proporčně odpovídají počtu pozorování v dané kategorii.

## Vliv spojení na poměr podzemní a nadzemní biomasy raquet

### 1.10. Má spojení vliv na poměr podzemní a nadzemní biomasy raquet?

U více hnojených raquet (z každé dvojice) nemělo spojení průkazný vliv na poměr podzemní a nadzemní biomasy v žádné úrovni živin a variabilita vysvětlená spojením v jednotlivých úrovních byla nejvýše 1,5 %.

U méně hnojených raquet mělo spojení na poměr podzemní a nadzemní biomasy průkazný vliv pouze v nízké a střední úrovni živin, také variabilita v poměru podzemní a nadzemní biomasy raquet vysvětlená spojením byla nejvyšší v těchto případech (viz tabulka 5; 8,5 % variability v nízké úrovni živin a 10,8 % ve střední úrovni živin). Rozdílný efekt spojení při různém množství hnojiva (a zároveň velikosti kontrastu) se prokázal pouze v nízké úrovni živin (9,3 % variability).

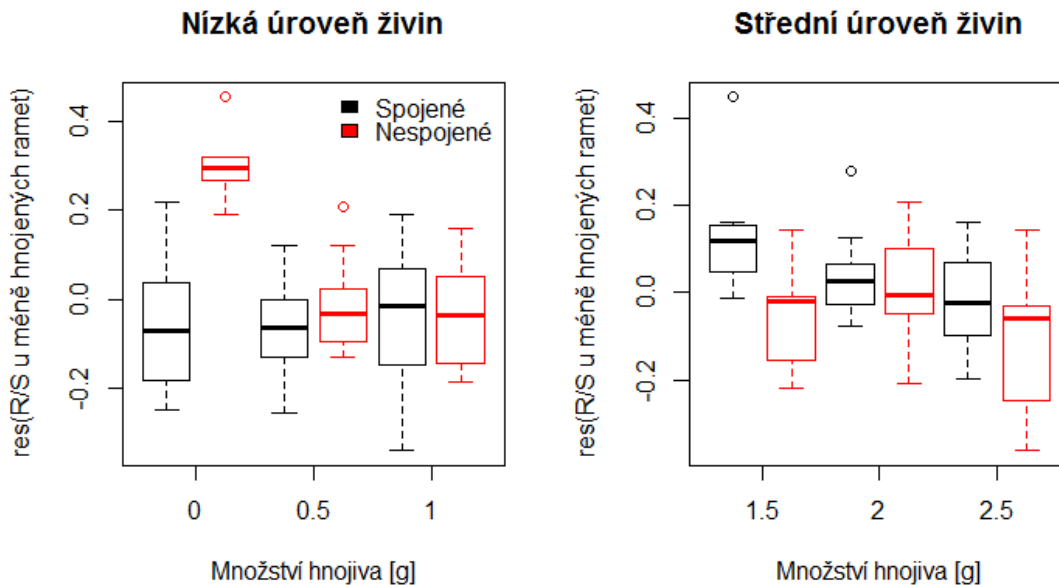
V nízké úrovni živin měly nespojené raquet průkazně vyšší poměr podzemní a nadzemní biomasy než spojené raquet (stand. efekt spojení -0,12,  $SE=0,04$ ,  $P_F=0,008$ , spojení vysvětlilo 8,5 % variability, viz obrázek 11), přičemž s vyšší dávkou hnojiva se snižoval efekt spojení (stand. efekt interakce -0,14,  $SE=0,05$ ,  $P_F=0,005$ , interakce vysvětlila 9,3 % variability). Model celkem vysvětlil 50,7 % variability (adj.  $R^2=0,507$ ;  $F_{8,38}=6,908$ ;  $P<0,001$ ; viz model 1.10n).

Naproti tomu ve střední úrovni živin měly nespojené raquet průkazně nižší poměr podzemní a nadzemní biomasy než spojené raquet (stand. efekt spojení 0,13,  $SE=0,05$ ,  $P_F=0,006$ , spojení vysvětlilo 10,8 % variability) – efekt spojení byl tedy přesně opačný než v nízké úrovni živin (viz obrázek 11). Interakce mezi hnojivem a spojením nebyla průkazná (stand. velikost efektu 0,02,  $SE=0,04$ ,  $P_F=0,574$ ). Model celkem vysvětlil 32,7 % variability (adj.  $R^2=0,327$ ;  $F_{8,43}=4,095$ ;  $P=0,001$ ; viz model 1.10s).

**Tabulka 5: Variabilita v poměru podzemní a nadzemní biomasy u méně hnojených raquet vysvětlená jednotlivými prediktory v modelech pro nízkou, střední a vysokou úroveň živin.** Tučně vyznačené hodnoty byly průkazné (tj.  $P_F<0,05$ ).

prediktor	úroveň živin		
	nízká	střední	vysoká
kovariáty celkem	33,8%	26,7%	12,7%
hnojivo	<b>7,6%</b>	5,2%	7,1%
spojení	<b>8,5%</b>	<b>10,8%</b>	0,2%
hnojivo:spojení	<b>9,3%</b>	0,4%	0,7%
reziduály	40,7%	56,8%	79,3%





**Obrázek 11: Poměr podzemní a nadzemní biomasy (R/S) méně hnojených ramet z nízké a střední úrovně živin.** Vyneseny jsou reziduály po odečtení vlivu kovariát. Se zvyšujícím se množstvím hnojiva se vždy zároveň snižuje kontrast v dostupnosti živin mezi rametami. V nízké úrovni živin spojené ramety měly průkazně menší R/S oproti nespojeným a síla tohoto efektu se s množstvím hnojiva snižovala. Ve střední úrovni živin měly spojené ramety naopak průkazně větší poměr R/S než nespojené ramety.

### 3.2 Pokus č.2 – doplňující pokus

#### Úmrtnost ramet

Z celkem 120 ramet jich do konce pokusu nepřežilo 7 (tj. 5,8 %), všechny mrtvé ramety byly bazální, nespojené a pohnojované 1,5 (3 ramety) nebo 3 g hnojiva (4 ramety).

#### Vliv hnojiva na nespojené ramety

##### 2.1. Jak množství hnojiva ovlivňovalo biomasu nespojených ramet?

Nespojené ramety měly největší průměrnou biomasu v 1,5 g hnojiva (0,16 g;  $SE=0,019$ ), středně velkou průměrnou biomasu měly nehnojené ramety (0,11 g;  $SE=0,015$ ) a nejmenší byla biomasa ramet ve 3 g hnojiva (0,08 g;  $SE=0,020$ ) - viz obrázek 12, levá část.

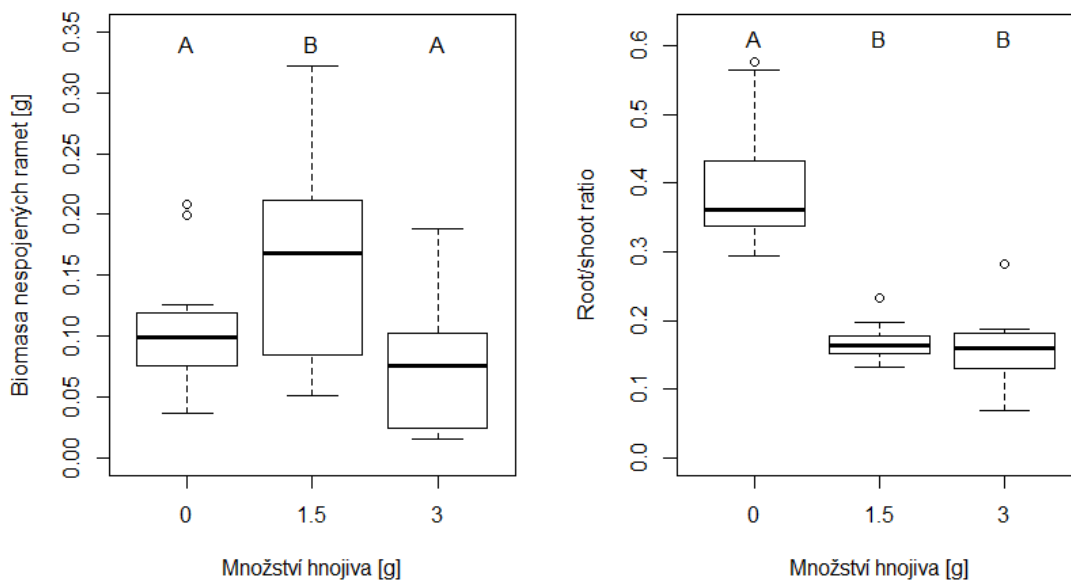
Vliv hnojiva na biomasu nespojených ramet byl průkazný (ve srovnání s rametami v 0 g hnojiva byla velikost efektu 0,25 s  $SE=0,11$  pro ramety v 1,5 g hnojiva a -0,04 s  $SE=0,16$  pro ramety ve 3 g hnojiva;  $P_F=0,009$ , 19,1 % celkové variability). Model celkově vysvětlil 29,6 % variability (adjusted  $R^2=0,296$ ,  $F_{4,36}=5,196$ ,  $P=0,002$ ; model 2.1).

Při porovnávání jednotlivých hladin byly ramety v 1,5 g hnojiva průkazně větší než nehnojené ramety (TukeyHSD  $P=0,045$ ) i než ramety ve 3 g hnojiva (TukeyHSD  $P=0,022$ ),

mezi rametami v 0 g a ve 3 g hnojiva nebyl průkazný rozdíl (TukeyHSD  $P=0,839$ ) – viz obrázek 12, levá část.

### 2.2. Jak množství hnojiva ovlivňovalo poměr podzemní a nadzemní biomasy nespojených ramet?

Nejvyšší poměr podzemní a nadzemní biomasy měly nehnojené ramety, ramety v 1,5 g i 3 g hnojiva měly poměr nižší (velikost efektu oproti nehnojeným rametám  $-0,38$  a  $SE=0,05$  u ramet v 1,5 g hnojiva a  $-0,42$ ,  $SE=0,06$  u ramet ve 3 g hnojiva;  $P_F<0,001$ , 46,3 % celkové variability). Model celkem vysvětlil 73,9 % variability (adjusted  $R^2=0,739$ ,  $F_{4,36}=29,37$ ,  $P<<0,001$ ; model 2.2). Test mnohonásobných porovnání potvrdil průkaznost rozdílů mezi nehnojenými a hnojenými rametami (TukeyHSD  $P<0,001$  pro rozdíl mezi 0 g a 1,5 g a  $P=0,001$  pro rozdíl mezi 0 g a 3 g hnojiva; viz obrázek 12, pravá část).



**Obrázek 12: Reakce nespojených ramet na hnojivo – biomasa ramet (vlevo) a poměr biomas podzemní a nadzemní části ramet („Root/shoot ratio“, vpravo).** Mezi treatmenty označenými stejnými písmeny nad boxploty nebyly průkazné rozdíly ( $P>0,05$ ).

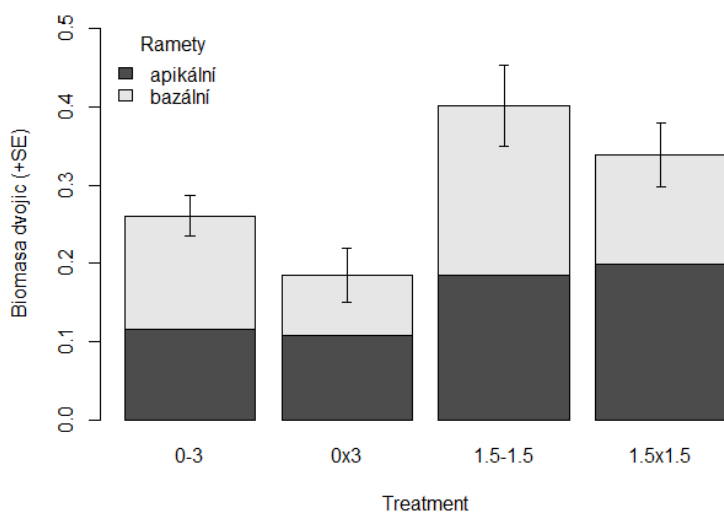
### Vliv spojení a distribuce hnojiva na dvojice ramet

#### 2.3. Jaký vliv mělo spojení a distribuce hnojiva na biomasu dvojice ramet?

Biomasa dvojice ramet s průměrnou dávkou hnojiva 1,5 g byla průkazně vyšší při homogenní (po 1,5 g) než při heterogenní (0 a 3 g) distribuci hnojiva (velikost efektu  $0,16$ ,  $SE=0,07$ ;  $P_F=0,001$ ; 20,5 % celkové variability, viz obrázek 13). Spojené dvojice ramet měly

(marginálně průkazně) větší biomasu než nespojené (velikost efektu 0,17,  $SE=0,08$ ;  $P_F=0,048$ , 6,8 % celkové variability). Interakce mezi spojením a distribucí hnojiva nebyla průkazná ( $P_F=0,401$ ). Model vysvětlil 35,31 % celkové variability (adjusted  $R^2=0,3531$ ,  $F_{4,36}=6,457$ ,  $P=0,001$ ; model 2.3).

Spojení vysvětlilo větší podíl variability v biomase dvojic ramet při heterogenní (17,9 %,  $P_F=0,023$ ) než při homogenní (2,4 %,  $P_F=0,499$ ) distribuci živin (tabulka 6).



**Obrázek 13: Vliv spojení a distribuce živin na biomasu dvojic ramet s průměrnou dávkou hnojiva 1,5 g.** Zobrazeny jsou průměrné biomasy apikálních (tmavě) a bazálních (světle) ramet. Chybová úsečka vyznačuje střední chybu průměru biomas dvojic ramet.

**Tabulka 6: Podíl variability v biomase dvojic ramet vysvětlené počáteční velikostí dvojic a spojením mezi rametami při homogenní a heterogenní distribuci živin.** Tučně zvýrazněné hodnoty byly průkazné ( $P_F<0,05$ ).

	distribuce živin	
	homogenní	heterogenní
počátek dvojice	6,4%	<b>33,1%</b>
spojení	2,4%	<b>17,9%</b>
reziduály	91,2%	48,9%

### Vliv spojení na jednotlivé ramety

#### 2.4. Jaký vliv mělo spojení s hnojenou rametou na biomasu nehnojených ramet?

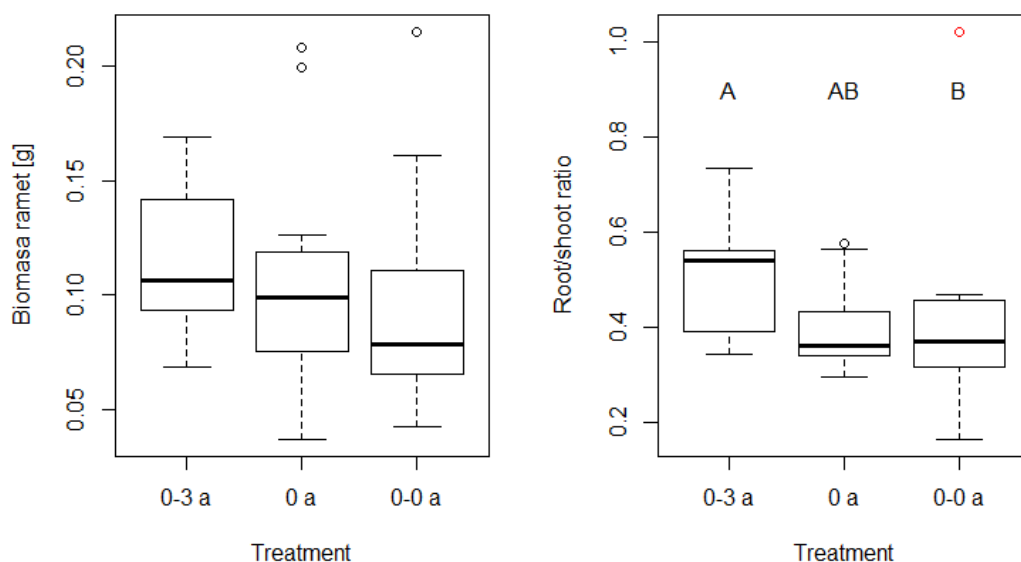
Celkový efekt treatmentu na biomasu nehnojených ramet byl pouze marginální ( $P_F=0,073$ , 10,1 % celkové variability). Vliv spojení s hnojenou rametou byl patrný pouze v porovnání s rametami spojenými s nehnojenou rametou, i když pouze s marginální průkazností – ramety

spojené s hnojenou rametou byly větší (velikost efektu 0,07,  $SE=0,03$ ,  $P_f=0,052$ ). Při porovnání s nespojenými rametami nebyl vidět žádný rozdíl ( $P_f=0,937$ ). Celkově model vysvětlil 37,9 % variability (adjusted  $R^2=0,3793$ ,  $F_{3,32}=8,129$ ,  $P<0,001$ ; model 2.4).

### 2.5. Jaký vliv mělo spojení s hnojenou rametou na poměr podzemní a nadzemní biomasy nehnojených ramet?

Model zahrnující všechna pozorování byl neprůkazný a vysvětlil pouze 8,03 % celkové variability (adjusted  $R^2=0,0803$ ,  $F_{3,32}=2,02$ ,  $P=0,131$ ).

Jedno z pozorování mělo výrazně negativní vliv na normalitu reziduálů modelu, šlo o odlehlou hodnotu z treatmentu 0-0 (viz červený bod na obrázek 14 – pravá část). Tato hodnota byla vzdálená 7,21 směrodatných odchylek od průměru všech ostatních hodnot z treatmentu 0-0 (počítaného bez tohoto pozorování), respektive 2,89 směr. odchylek při zahrnutí odlehlého pozorování do výpočtu. Po vyřazení tohoto pozorování z modelu byl efekt treatmentu na poměr podzemní a nadzemní biomasy průkazný ( $P_f=0,002$ , 30 % celkové variability) – poměr byl vyšší u ramet spojených s hnojenou rametou, než u ramet spojených s nehnojenou rametou (velikost efektu 0,07,  $SE=0,03$ ,  $P_f=0,006$ , viz obrázek 14 – pravá část). Rozdíl mezi rametami spojenými s hnojenou rametou a nespojenými rametami nebyl průkazný ( $P_f=0,533$ ). Model celkem vysvětlil 30,8 % variability (adjusted  $R^2=0,3081$ ,  $F_{3,32}=6,046$ ,  $P=0,002$ ; model 2.5).



**Obrázek 14: Vliv spojení s hnojenou rametou (treatment 0-3 a) na biomasu nehnojených ramet (vlevo) a poměr podzemní a nadzemní biomasy ramet (vpravo).** Jako kontroly sloužily nespojené nehnojené ramety (0 a) a nehnojené ramety spojené s nehnojenými rametami (0-0 a). Červeně je vyznačené odlehlé pozorování vyřazené z analýzy. Rozdílná písmena nad boxploty označují průkazné rozdíly ( $P<0,05$ ). Mezi biomasami ramet byl pouze marginální rozdíl ( $P=0,052$ ), a to mezi treatmenty „0-3 a“ a „0-0 a“.

### 2.6. Jaký vliv mělo spojení s nehnojenou rametou na hnojené ramety?

Spojené hnojené ramety byly pouze neprůkazně větší než nespojené (velikost efektu 0,08,  $SE=0,05$ ,  $P_F=0,100$ , 11,2 % celkové variability). Model byl celkově průkazný a vysvětlil 29,73 % variability (adjusted  $R^2=0,2973$ ,  $F_{2,17}=5,019$ ,  $P=0,019$ ; model 2.6b).

Na poměr podzemní a nadzemní biomasy hnojených ramet nemělo spojení vliv, směr efektu spojení byl ale záporný (velikost efektu 0,22,  $SE=0,15$ ,  $P_F=0,168$ ). Model byl celkově neprůkazný (adjusted  $R^2=0,0059$ ,  $F_{2,17}=1,057$ ,  $P=0,369$ ; model 2.6p).

## 3.3 Pokus č.3 – mateřské a dceřiné ramety

### Úmrtnost ramet

Do konce pokusu nepřežily 4 ramety z celkem 432 ramet (0,9 %). Všechny mrtvé ramety byly dceřiné a pohnojené 1,5 g hnojiva. 3 ramety byly nespojené a pocházely ze zpětného treatmentu (1,5x0) a 1 rameta byla spojená z treatmentu „bez kontrastu, hodně živin“ (1,5-1,5).

U 7 dceřiných ramet jsem v průběhu pokusu zaznamenala odumření nadzemní části a následnou regeneraci. Žádná z těchto ramet nebyla spojená s mateřskou rametou. 1 rameta pocházela z treatmentu „1,5x3“, 3 ramety ze zpětného treatmentu „1,5x0“ a 3 ramety z treatmentu „0x0“.

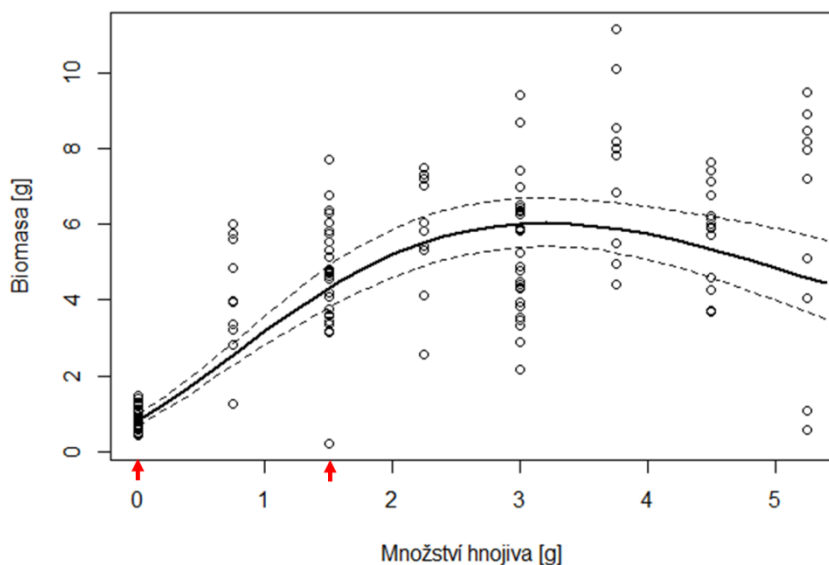
### Reakce nespojených mateřských ramet na hnojivo

#### 3.1. Jaký vliv mělo použité dávkování hnojiva na biomasu ramet?

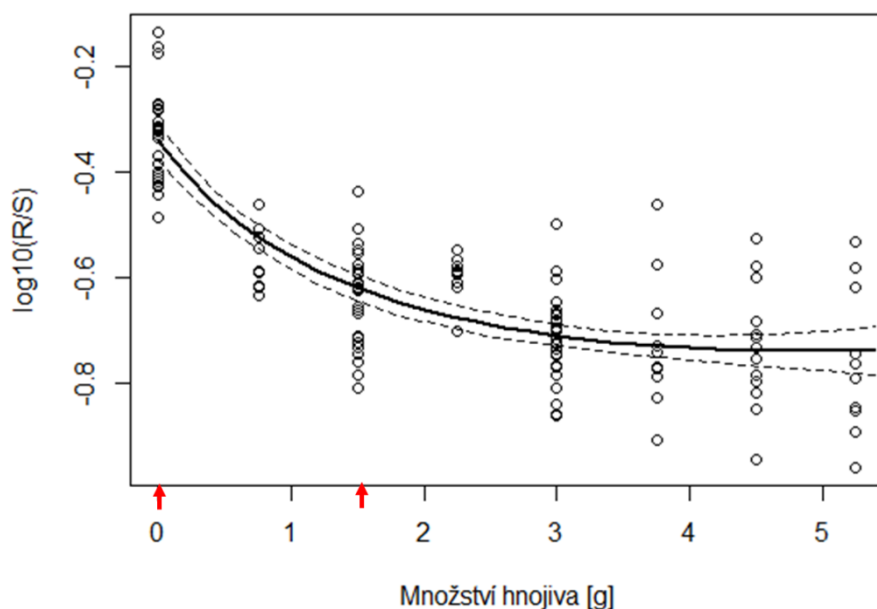
Biomasa ramet rostla s vyšší dávkou hnojiva, tento nárůst byl ale s vyšší dávkou hnojiva čím dál nižší (viz obrázek 15, hodnota lineárního členu -0,31,  $SE=0,04$ ,  $P_F \ll 0,001$ ; hodnota logaritmického členu 2,96,  $SE=0,26$ ,  $P_F \ll 0,001$ , vliv hnojiva dohromady 68,7 % celkové variability). Model vysvětlil 70,1 % celkové variability (adjusted  $R^2=0,701$ ,  $F_{3,134}=108$ ,  $P \ll 0,001$ ; model 3.1).

#### 3.2. Jaký vliv mělo použité dávkování hnojiva na poměr podzemní a nadzemní biomasy ramet?

Poměr podzemní a nadzemní biomasy nespojených ramet klesal s množstvím hnojiva a rychlost poklesu se při vyšším množství hnojiva snižovala (viz obrázek 16; hodnota lineárního členu 0,07,  $SE=0,02$ ,  $P_F \ll 0,001$ , hodnota logaritmického členu -0,96,  $SE=0,12$ ,  $P_F \ll 0,001$ ; vliv hnojiva celkem vysvětlil 69,8 % variability). Model vysvětlil 69,7 % celkové variability (adjusted  $R^2=0,697$ ,  $F_{3,134}=106,1$ ,  $P \ll 0,001$ , model 3.2).



**Obrázek 15: Vliv hnojiva na biomasu mateřských nespojených ramet.** Hodnoty biomasy jsou zlogaritmované (logaritmus o základu 10). Plná čára ukazuje hodnoty předpovězené modelem (model 3.1), čárkované čáry vyznačují hranici 95% konfidenčního intervalu pro predikované hodnoty biomasy. Červené šipky vyznačují množství hnojiva použité v pokusu pro dceřiné ramety, mateřské ramety byly hnojeny stejným nebo o 1,5 nebo 3 g větším množstvím hnojiva.



**Obrázek 16: Vliv hnojiva na poměr podzemní a nadzemní biomasy (R/S) u nespojených mateřských ramet.** Hodnoty poměru R/S jsou zlogaritmované (logaritmus o základu 10). Plná čára ukazuje hodnoty předpovězené modelem (model 3.2). Čárkované čáry vyznačují hranici 95% konfidenčních intervalů pro predikované hodnoty poměru R/S. Červené šipky vyznačují množství hnojiva použité v pokusu pro dceřiné ramety, mateřské ramety byly hnojeny stejným nebo o 1, 2 nebo 3 g větším množstvím hnojiva.

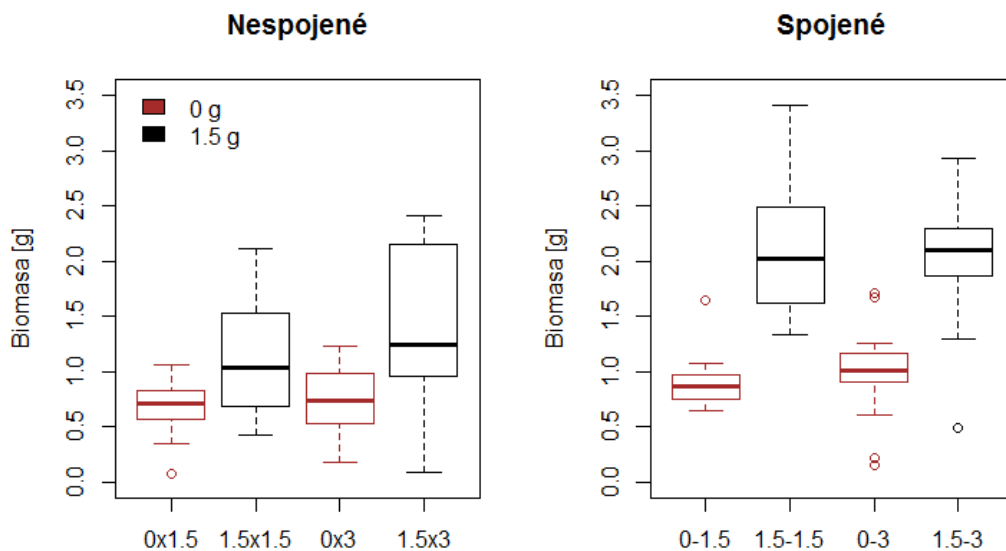
## Dceřiné ramety

### 3.3. Jaký vliv mělo hnojivo na biomasu spojených a nespojených dceřiných ramet?

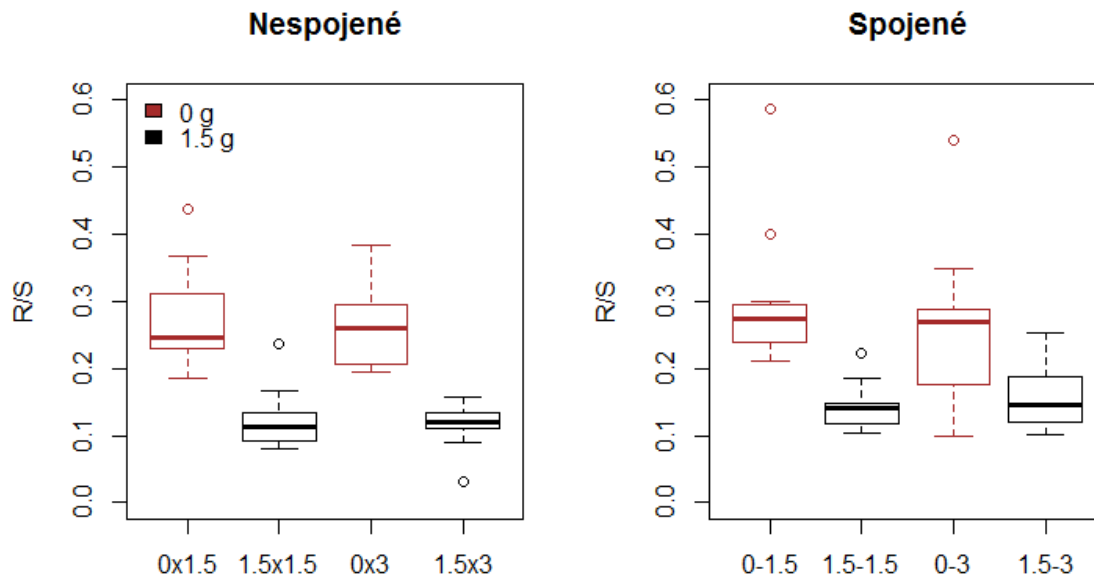
Hnojení zvyšovalo biomasu ramet (viz obrázek 17; velikost efektu 0,25,  $SE=0,04$ ,  $P_F \ll 0,001$ ; vliv hnojiva vysvětlil 24,6 % variability), zároveň byly spojené ramety větší než nespojené (velikost efektu 0,11,  $SE=0,05$ ,  $P_F < 0,001$ ; vliv spojení vysvětlil 10,3 % variability) a efekt hnojiva byl u spojených ramet výraznější (interakce 0,11,  $SE=0,05$ ,  $P_F=0,036$ ; interakce vysvětlila 1,9 % variability). Model celkově vysvětlil 53,0 % variability (adjusted  $R^2=0,530$ ,  $F_{5,105}=25,83$ ,  $P \ll 0,001$ ; viz model 3.3).

### 3.4. Jaký vliv mělo hnojivo na poměr podzemní a nadzemní biomasy u spojených a nespojených dceřiných ramet?

Hnojivo snižovalo poměr podzemní a nadzemní biomasy ramet (velikost efektu -0,18,  $SE=0,02$ ,  $P_F \ll 0,001$ , 56,5 % celkové variability; viz obrázek 18). Spojené ramety měly poměr podzemní a nadzemní biomasy vyšší než nespojené (velikost efektu 0,01,  $SE=0,03$ ,  $P_F=0,025$ , 1,7 % celkové variability) a u nespojených ramet hnojivo poměr s marginální průkazností snižovalo více (interakce -0,06,  $SE=0,03$ ,  $P_F=0,070$ , 1,1 % vysvětlené variability). Model celkem vysvětlil 64,4 % variability (adjusted  $R^2=0,644$ ,  $F_{5,105}=40,73$ ,  $P \ll 0,001$ , model 3.4).



**Obrázek 17: Vliv hnojiva na biomasu dceřiných ramet.** Hnojivo průkazně zvyšovalo biomasu jak u nespojených (vlevo), tak u spojených (vpravo) dceřiných ramet. Spojené ramety byly větší než nespojené a efekt hnojiva byl u nich výraznější.



**Obrázek 18:** Vliv hnojiva na poměr podzemní a nadzemní biomasy (R/S) nespojených (vlevo) a spojených (vpravo) dceřiných ramet. Hnojivo podle modelu snižovalo poměr R/S a u spojených ramet byl poměr vyšší (model 3.4).

### 3.5. Jaký byl vliv spojení na biomasu dceřiných ramet v jednotlivých treatmentech?

Vliv spojení na biomasu dceřiných ramet jsem analyzovala jednak dohromady pro všechny treatmenty a jednak zvlášť pro obě úrovně živin. Srovnání těchto tří modelů ukazuje tabulka 7.

#### *Obě úrovně živin:*

Biomasy nespojených ramet v nízké úrovni hnojiva rostly s vyšším kontrastem (tj. vyšším množstvím hnojiva mateřské ramety, velikost lineárního efektu 0,20,  $SE=0,07$ , velikost kvadratického efektu -0,13,  $SE=0,07$ ;  $P_F=0,006$ , 1,5 % celkové variability), efekt kontrastu byl nižší ve vysoké úrovni živin (velikost lineárního efektu -0,23,  $SE=0,10$ ,  $P_F<0,001$ , 2,2 % celkové variability). Ve vyšší úrovni živin byly ramety větší (velikost efektu 0,46,  $SE=0,05$ ,  $P_F<<0,001$ , 19,8 % celkové variability) a spojené ramety byly celkově větší než nespojené (velikost efektu 0,19,  $SE=0,05$ ,  $P_F<<0,001$ , 4,4 % celkové variability). Efekt spojení se mezi úrovněmi živin nelišil ( $P_F=0,778$ ), ale klesal s vyšším kontrastem (velikost lineárního efektu -0,20,  $SE=0,09$ ,  $P_F=0,01$ , 1,3 % celkové variability). Model celkově vysvětlil 76,7 % variability (adjusted  $R^2=0,767$ ,  $F_{14,152}=39,99$ ,  $P<<0,001$ , viz model 3.5d).



#### *Nízká úroveň živin:*

U nehnojených ramet byla biomasa vyšší při vyšším kontrastu (tj. vyšším množstvím hnojiva mateřské ramety, velikost lineárního efektu 0,02,  $SE=0,07$ ,  $P_F<0,001$ , 6,7 % celkové variability), spojené ramety byly větší (velikost efektu 0,15,  $SE=0,05$ ,  $P_F<0,001$ , 3,9 % celkové variability) a efekt spojení se s kontrastem neměnil ( $P_F=0,280$ ). Nejsilnější efekt na biomasu měla počáteční velikost ramet (stand. velikost efektu 0,33,  $SE=0,04$ ,  $P_F<0,001$ , 67 % variability). Model celkově vysvětlil 80,6 % variability (adjusted  $R^2=0,806$ ,  $F_{8,75}=43,97$ ,  $P<<0,001$ , model 3.5n).

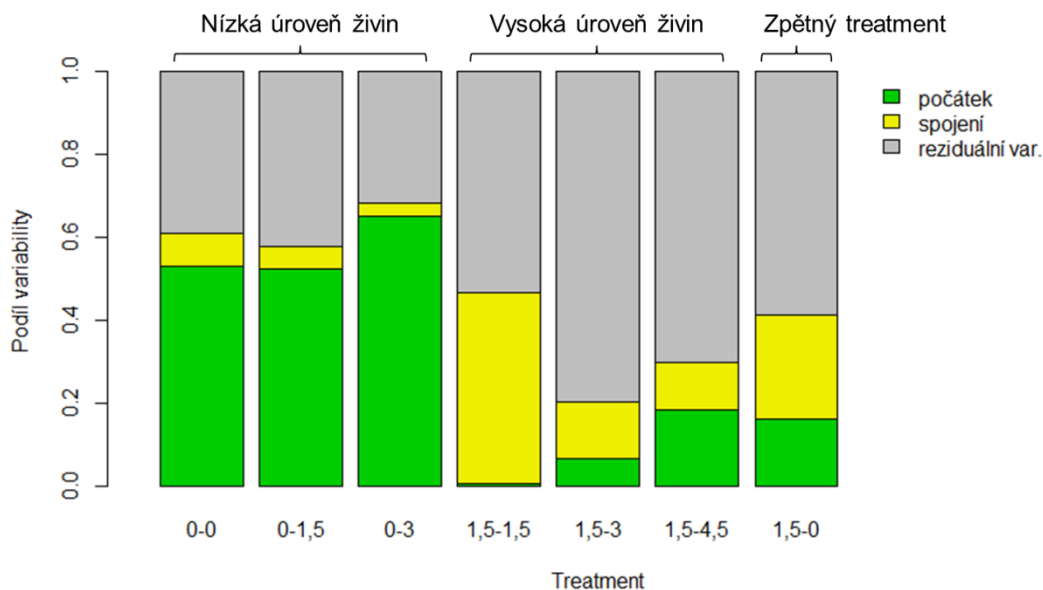
#### *Vysoká úroveň živin:*

U ramet ve vysoké úrovni živin velikost kontrastu nehrála roli ( $P_F=0,227$ ), ale spojené ramety byly větší (velikost efektu 0,22,  $SE=0,05$ ,  $P_F<0,001$ , 19,3 % celkové variability). Počáteční velikost ramet měla na biomasu menší vliv než spojení (stand. velikost efektu 0,06,  $SE=0,03$ ,  $P_F=0,003$ , 8,2 % variability). Model celkově vysvětlil 24,8 % variability (adjusted  $R^2=0,248$ ,  $F_{8,74}=4,376$ ,  $P<0,001$ , model 3.5v).

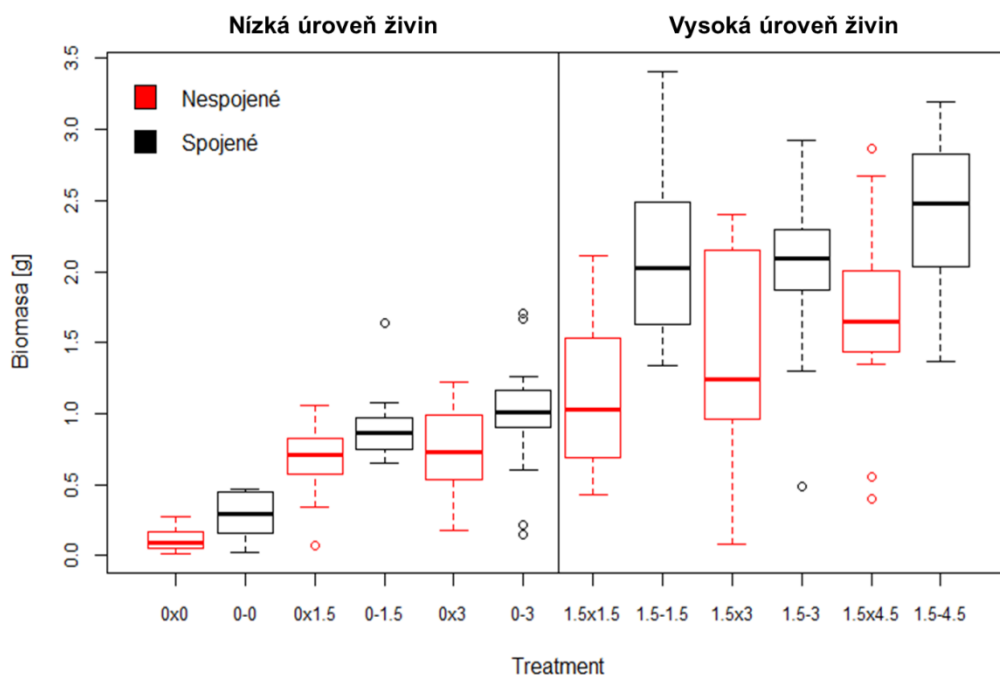
Při srovnání variability vysvětlené počáteční velikostí a spojením u jednotlivých treatmentů (viz obrázek 19) je patrné, že u všech treatmentů v nízké úrovni živin hrála nejvýznamnější roli počáteční velikost dceřiných ramet, zatímco ve vysoké úrovni živin byl obecně výraznější efekt spojení. Ve zpětném treatmentu (1,5-0) byl vliv spojení oproti vlivu počáteční velikosti také relativně vysoký (více o zpětném treatmentu viz níže).

**Tabulka 7: Variabilita v biomase dceřiných ramet vysvětlená jednotlivými prediktory v modelu pro obě úrovně živin dohromady (levý sloupec, model 3.5d) a v modelech pro úrovně živin zvlášť (prostřední a pravý sloupec, modely 3.5 n a 3.5v). Tučně zvýrazněné hodnoty byly průkazné (tj.  $P_F<0,05$ ).**

prediktor	procento vysvětlené variability		
	obě úrovně	nízká úroveň živin	vysoká úroveň živin
počátek	<b>46,2%</b>	<b>67,0%</b>	<b>8,2%</b>
kontrast	<b>1,5%</b>	<b>6,7%</b>	2,8%
level	<b>19,8%</b>		
<b>spojení</b>	<b>4,4%</b>	<b>3,9%</b>	<b>19,3%</b>
počátek:kontrast	<b>3,2%</b>	<b>4,2%</b>	0,6%
kontrast:level	<b>2,2%</b>		
kontrast:spojení	<b>1,3%</b>	0,6%	1,3%
level:spojení	0,0%		
kontrast:level:spojení	0,1%		
reziduály	21,4%	17,6%	67,9%



**Obrázek 19:** Podíl celkové variability v biomase dceřiných ramet vysvětlený jejich počáteční velikostí a spojením v jednotlivých treatmentech.



**Obrázek 20:** Vliv spojení na biomasu dceřiných ramet v jednotlivých treatmentech. Biomasa ramet rostla s hnojením mateřské ramety (tj. kontrastem) a byla vyšší ve vysoké úrovni živin. Spojené ramety byly průkazně větší než nespojené.

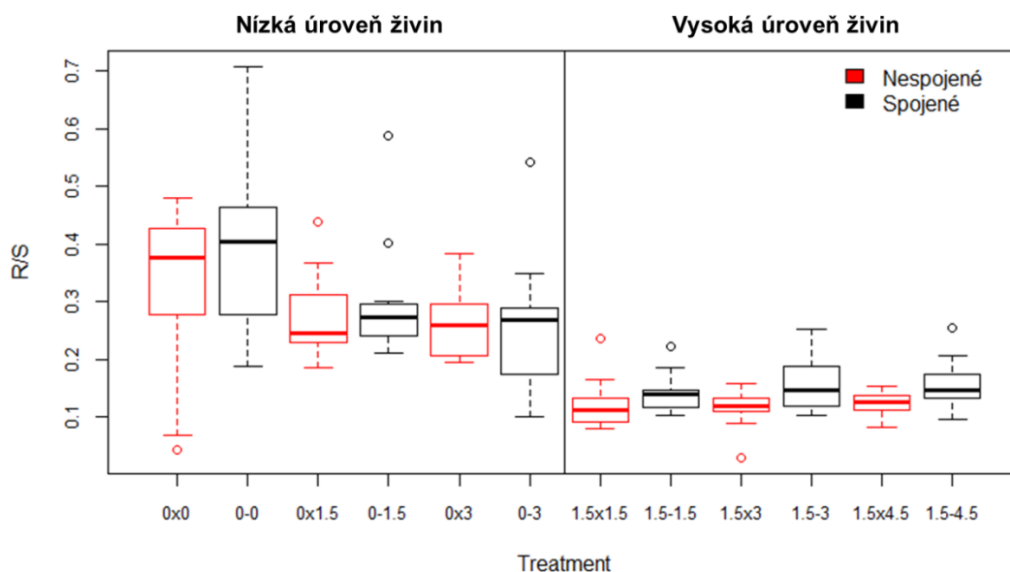
### 3.6. Jaký byl vliv spojení na poměr podzemní a nadzemní biomasy dceřiných ramet v jednotlivých treatmentech?

Vliv spojení na poměr podzemní a nadzemní biomasy jsem analyzovala jednak dohromady pro všechny treatmenty a jednak zvlášť pro obě úrovně živin.

V analýze zahrnující všechny treatmenty snižovalo množství hnojiva (tj. úroveň živin) poměr podzemní a nadzemní biomasy (velikost efektu -0,18,  $SE=0,02$ ,  $P_F<0,001$ , 39,1 % celkové variability; viz obrázek 21). Spojené ramety měly poměr vyšší (velikost efektu 0,06,  $SE=0,03$ ,  $P_F<0,001$ , 3,2% variability), a to bez ohledu na úroveň živin (interakce  $P_F=0,230$ ) a velikost kontrastu ( $P_F=0,609$ ). Model vysvětlil 58,4 % variability (adjusted  $R^2=0,584$ ,  $F_{12,154}=20,45$ ,  $P<0,001$ , model 3.6d).

V nízké úrovni živin nemělo spojení na poměr podzemní a nadzemní biomasy průkazný vliv ( $P_F=0,131$ , velikost efektu 0,06 s  $SE=0,04$ , 2,4% variability). Průkazný vliv měla pouze počáteční velikost ramet, která poměr snižovala (velikost efektu -0,08 s  $SE=0,03$ , 13,3 % variability). Model byl celkově průkazný a vysvětlil 14,1 % variability (adjusted  $R^2=0,141$ ,  $F_{6,77}=3,27$ ,  $P=0,006$ , model 3.6n).

Ve vysoké úrovni živin naproti tomu spojení poměr podzemní a nadzemní biomasy průkazně zvyšovalo (velikost efektu 0,11,  $SE=0,03$ ,  $P_F<0,001$ , 17,3 % variability), ale efekt spojení se nelišil v různých kontrastech ( $P_F=0,542$ ). Počáteční velikost ramet nehrála výraznou roli ( $P_F=0,11$ , velikost efektu -0,03 s  $SE=0,01$ , 2,6 % variability). Model celkem vysvětlil 17,2 % variability (adjusted  $R^2=0,172$ ,  $F_{6,76}=3,835$ ,  $P=0,002$ , model 3.6v).



**Obrázek 21: Vliv spojení na poměr podzemní a nadzemní biomasy („R/S“) dceřiných ramet v jednotlivých treatmentech.** Ve vysoké úrovni živin měly podle modelu ramety poměr nižší a spojené ramety měly poměr vyšší než nespojené (model 3.6d).

## **Mateřské ramety**

### *3.7. Jaký byl vliv spojení na biomasu mateřských ramet?*

Na biomasu mateřských ramet neměly průkazný vliv ani úroveň živin dceřiné ramety, ani spojení s dceřinou rametou (hodnoty  $P_F$  hlavních efektů i interakcí  $>0,05$ ). Model byl celkově průkazný a vysvětlil 82,7 % variability (adjusted  $R^2 = 0,827$ ,  $F_{9,186} = 104,3$ ,  $P \ll 0,001$ , model 3.7).

### *3.8. Jaký byl vliv spojení na poměr podzemní a nadzemní biomasy mateřských ramet?*

Na poměr podzemní a nadzemní biomasy mateřských ramet také neměla průkazný vliv ani úroveň živin dceřiné ramety, ani spojení s dceřinou rametou (hodnoty  $P_F$  hlavních efektů i interakcí  $>0,05$ ). Model byl celkově průkazný a vysvětlil 67,5 % variability (adjusted  $R^2 = 0,675$ ,  $F_{9,186} = 46,05$ ,  $P \ll 0,001$ , model 3.8).

## **Zpětný treatment**

### *3.9. Jaký byl vliv spojení na biomasu dceřiných ramet ve zpětném treatmentu?*

Hnojené dceřiné ramety (tj. ramety ze zpětného treatmentu) byly větší než nehnojené ramety pocházející ze stejně hnojených mateřských ramet (velikost efektu 0,17,  $SE=0,05$ ,  $P_F < 0,001$ , 11,9 % celkové variability; viz obrázek 22), spojené ramety byly větší než nespojené (velikost efektu 0,14,  $SE=0,07$ ,  $P_F < 0,001$ , 15,3 % celkové variability), ale efekt spojení se nelišil u hnojených a nehnojených ramet ( $P_F=0,112$ ). Model celkem vysvětlil 55,5 % variability (adjusted  $R^2 = 0,555$ ,  $F_{4,48} = 17,22$ ,  $P \ll 0,001$ , model 3.9).

### *3.10. Jaký byl vliv spojení na poměr podzemní a nadzemní biomasy dceřiných ramet ve zpětném treatmentu?*

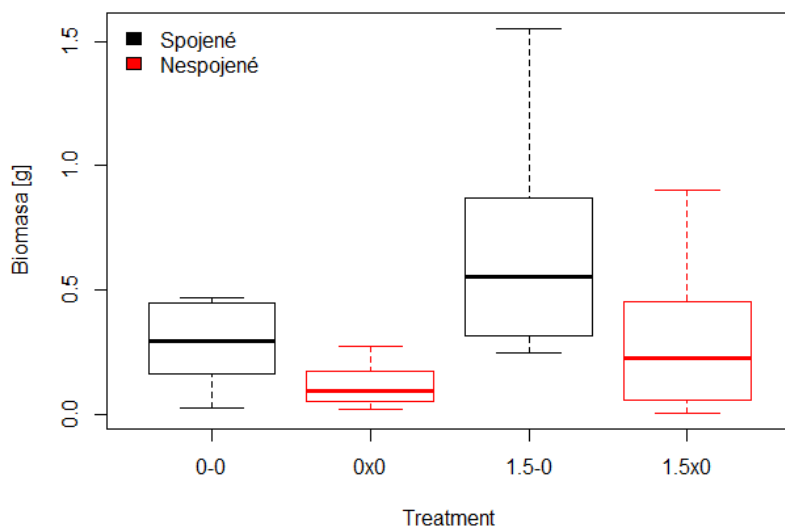
Na poměr podzemní a nadzemní biomasy ramet mělo průkazný vliv pouze hnojivo, které poměr snižovalo (velikost efektu -0,22,  $SE=0,06$ ,  $P_F < 0,001$ , 26,1 % variability). Spojení nemělo průkazný vliv, nicméně směr vlivu spojení byl kladný (velikost efektu 0,15,  $SE=0,09$ ,  $P_F=0,091$ , 4 % variability). Model celkem vysvětlil 29,6 % variability (adjusted  $R^2 = 0,296$ ,  $F_{4,48} = 6,453$ ,  $P < 0,001$ , model 3.10).

### *3.11. Jaký byl vliv spojení na biomasu mateřských ramet ve zpětném treatmentu?*

Na biomasu nehnojených mateřských ramet měla průkazný vliv pouze jejich velikost při zahájení pokusu ( $P_F < 0,001$ , 29,9 % celkové variability). Nebyl patrný žádný efekt hnojení dceřiné ramety ( $P_F=0,924$ ), ani spojení mezi rametami ( $P_F=0,464$ ). Model celkem vysvětlil 27,2 % variability (adjusted  $R^2 = 0,272$ ,  $F_{4,51} = 6,133$ ,  $P < 0,001$ , model 3.11).

### 3.12. Jaký byl vliv spojení na poměr podzemní a nadzemní biomasy mateřských ramet ve zpětném treatmentu?

Na poměr podzemní a nadzemní biomasy nemělo průkazný vliv ani spojení s dceřinou rametou, ani hnojení dceřiné ramety. Model byl neprůkazný (adjusted  $R^2=$  0,272,  $F_{4,51}=$  0,968,  $P=$ 0,433, model 3.12).

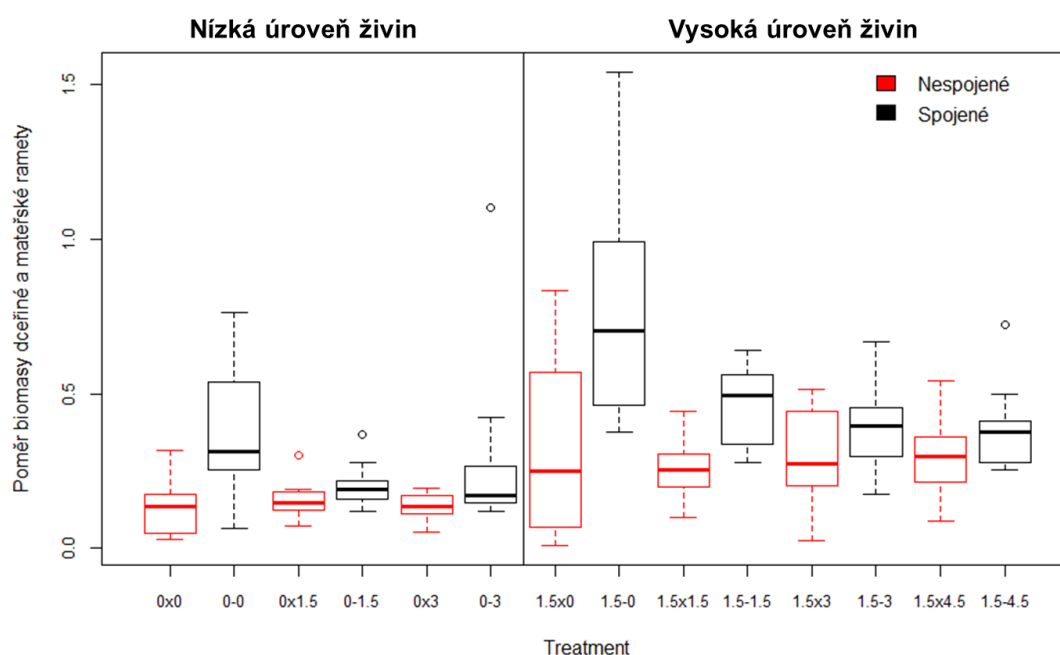


**Obrázek 22:** Vliv spojení na biomasu dceřiných ramet ve zpětném treatmentu (pravá dvojice boxplotů) v porovnání s rametami v nízké úrovni živin bez kontrastu (levá dvojice boxplotů), které pocházely z mateřských ramet ve stejných podmínkách.

### Poměr biomas dceřiných a mateřských ramet

#### 3.13. Lišila se relativní alokace biomasy do dceřiných a mateřských ramet v různých treatmentech?

Poměr biomasy dceřiných a mateřských ramet byl vyšší ve vysoké úrovni živin, tj. když byly dceřiné ramety pohnojné (velikost efektu 0,08,  $SE=$ 0,13,  $P_F<$ 0,001, 13,3 % variability). U nespojených dvojic se poměr neměnil s kontrastem v dostupnosti živin mezi rametami ( $P_F=$ 0,847). Relativní alokace do dceřiných ramet byla u spojených dvojic ramet větší (velikost efektu 0,58,  $SE=$ 0,17,  $P_F<$ 0,001, 17,3 % variability) a efekt spojení byl největší při nejnižším kontrastu – se zvyšujícím se kontrastem v dostupnosti živin se efekt spojení zmenšoval (interakce 0,98,  $SE=$ 0,44,  $P_F<$ 0,001, 6,2 % variability), ale efekt spojení se nelišil mezi úrovněmi živin ( $P_F=$ 0,465). Model celkově vysvětlil 38,8 % variability (adjusted  $R^2=$ 0,388,  $F_{15,176}=$  9,07,  $P<$ 0,001, model 3.13).



**Obrázek 23: Poměr biomasy dceřiných a mateřských ramet u spojených a nespojených dvojic ramet v jednotlivých treatmentech.** U spojených dvojic ramet byl tento poměr průkazně větší a rozdíl se s rostoucím kontrastem v dostupnosti živin (směrem zleva doprava) zmenšoval.

### 3.4 Morfologie ramet (Pokus č.3)

#### Mateřské ramety

##### 4.1. Liší se vztah délky nejdelšího šlahounu na velikosti ramety u různě hnojených ramet?

Délka nejdelšího šlahounu rostla s nadzemní biomasou ramet (velikost efektu 0,49,  $SE=0,05$ ,  $P_F<0,001$ , 73,1 % celkové variability, viz obrázek 24). U hnojených a nehnojených ramet se délka nejdelšího šlahounu nelišila ( $P_F=0,373$ , 0,1 % variability), ale u nehnojených (a zároveň i menších) ramet byla závislost délky na nadzemní biomase strmější (velikost interakce 0,27,  $SE=0,05$ ,  $P_F<0,001$ , 2,5 % variability). Model celkem vysvětlil 75,4 % variability (adjusted  $R^2=0,754$ ,  $F_{3,231}=239,8$ ,  $P<<0,001$ , model 4.1).

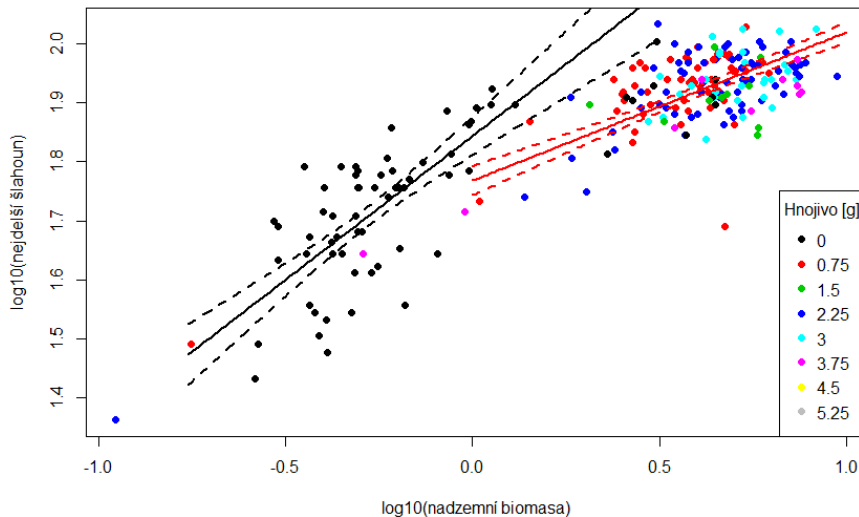
##### 4.2. Liší se vztah počtu šlahounů a velikosti ramety u různě hnojených ramet?

Počet šlahounů rostl s nadzemní biomasou (velikost efektu 0,46,  $SE=0,02$ ,  $P_F<0,001$ , 81,3 % celkové variability, viz obrázek 25), s vyšším množstvím hnojiva se počet šlahounů zvyšoval (velikost efektu 0,04,  $SE=0,01$ ,  $P_F<0,001$ , 1,3 % variability), ale sklon závislosti na nadzemní biomase byl s vyšším množstvím hnojiva menší (interakce -0,03,  $SE=0,01$ ,  $P_F=0,002$ , 0,7 % variability). Model celkem vysvětlil 83,1 % variability (adjusted  $R^2=0,831$ ,  $F_{3,232}=385,2$ ,  $P<<0,001$ , model 4.2).

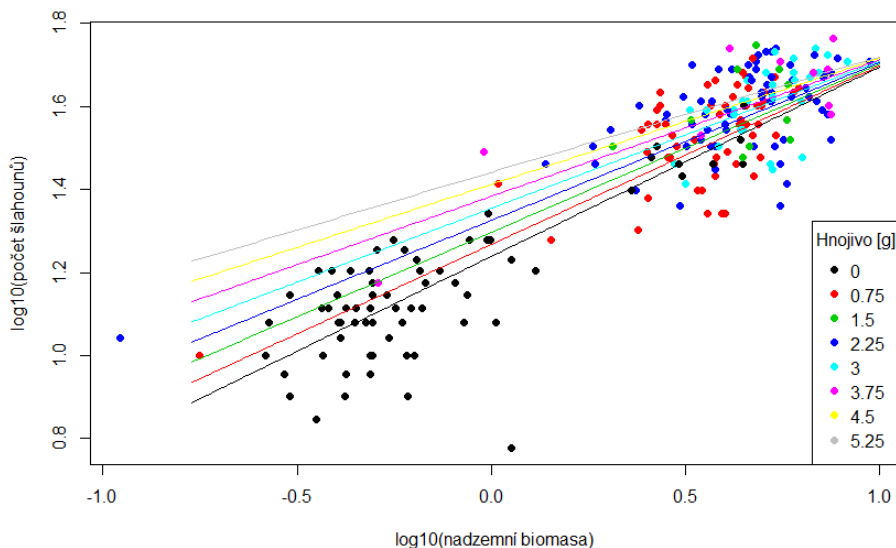
### 4.3. Jaký vliv má hnojivo na morfologické charakteristiky mateřských ramet?

V analýze RDA kanonická osa vysvětlila 7,5 % variability zbylé po odečtení vlivu nadzemní biomasy ( $P=0,002$ , viz obrázek 26). První osa v PCA (*principal component analysis*) s odpovídajícími kovariátami a morfologickými proměnnými vysvětlila 45,5 % variability.

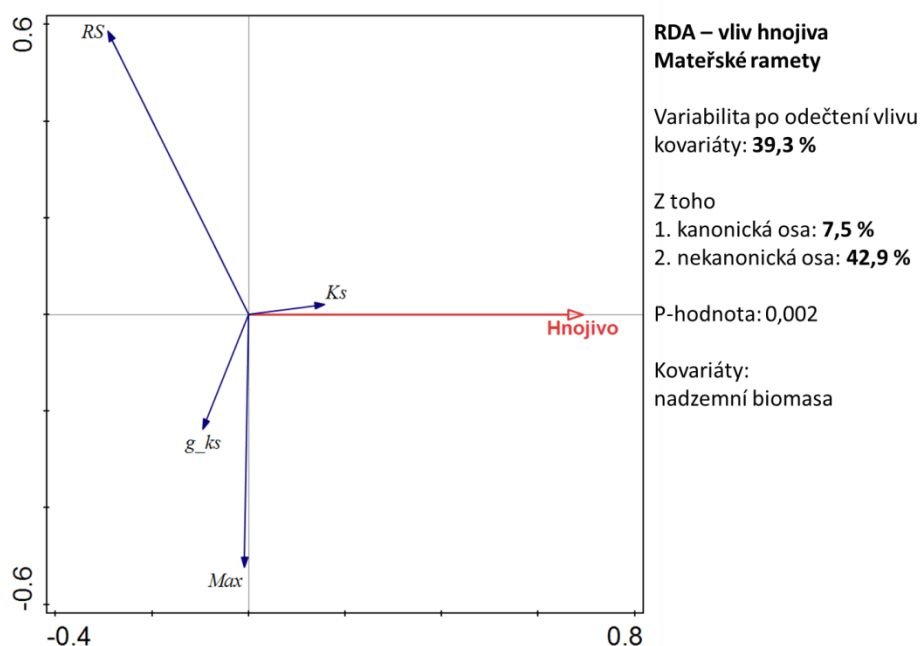
Přidáním spojení mezi prediktory v RDA se variabilita vysvětlená kanonickými osami zvýšila pouze o 0,2 %, efekt spojení byl neprůkazný.



**Obrázek 24: Vztah délky nejdelšího šlahounu a nadzemní biomasy mateřských ramet u hnojených a nehnojených ramet.** Barvy bodů odlišují pozorování z různého množství hnojiva, plné čáry vyznačují hodnoty predikované modelem 4.1 pro nehnojené (černě) a hnojené (červeně) ramety. Čárkované čáry ohraničují 95% interval spolehlivosti pro predikované hodnoty.



**Obrázek 25: Závislost počtu šlahounů na nadzemní biomase u různě hnojených ramet.** Barvy bodů odlišují pozorování z různého množství hnojiva, plné čáry vyznačují hodnoty predikované modelem 4.2 pro různě hnojené ramety. S vyšším množstvím hnojiva roste počet šlahounů, ale sklon závislosti na nadzemní biomase klesá.



**Obrázek 26: Vliv hnojiva na morfologii mateřských ramet – výsledky RDA analýzy.** Prediktorem bylo množství hnojiva, závislými proměnnými počet šlahounů (Ks), poměr podzemní a nadzemní biomasy (RS), průměrná hmotnost šlahounu ( $g_{ks}$ ) a délka nejdelšího šlahounu (Max).

### Dceřiné ramety

#### 4.4. Liší se vztah délky nejdelšího šlahounu a velikosti ramety u různě hnojených ramet a u spojených a nespojených ramet?

Délka nejdelšího šlahounu dceřiných ramet rostla s nadzemní biomasou (velikost efektu 0,35,  $SE=0,04$ ,  $P_F<0,001$ , 71,1 % variability, viz obrázek 27), u hnojených ramet byla menší než u nehnojených (velikost efektu -0,04,  $SE=0,02$ ,  $P_F<0,001$ , 3,0 % variability), ale u spojených a nespojených ramet se nelišila ( $P_F=0,91$ , 0,0 % variability). Délka nejdelšího šlahounu rostla s biomasou rychleji u nehnojených ramet (velikost interakce -0,08,  $SE=0,04$ ,  $P_F=0,006$ , 1 % variability) a u nespojených ramet (velikost interakce 0,11,  $SE=0,05$ ,  $P_F=0,003$ , 1,2 % variability). Model celkem vysvětlil 75,9 % variability (adjusted  $R^2=0,759$ ,  $F_{7,183}=86,25$ ,  $P<<0,001$ , model 4.4).

#### 4.5. Liší se závislost počtu šlahounů na velikosti ramety u různě hnojených ramet a u spojených a nespojených ramet?

Počet šlahounů rostl s nadzemní biomasou ramet (velikost efektu 0,42,  $SE=0,06$ ,  $P_F<0,001$ , 75,9 % celkové variability, viz obrázek 28), u hnojených ramet byl počet šlahounů vyšší než u nehnojených (velikost efektu 0,12,  $SE=0,03$ ,  $P_F<0,001$ , 4,3 % variability). Spojení nemělo na průměrnou hmotnost průkazný vliv ( $P_F=0,707$ ) a efekt nadzemní biomasy se nelišil u různě



hnojených ( $P_F=0,918$ ), ani u spojených a nespojených ramet ( $P_F=0,400$ ). Model celkem vysvětlil 79,8 % variability (adjusted  $R^2=0,798$ ,  $F_{7,184}=108,9$ ,  $P<<0,001$ , model 4.5).

#### 4.6. Liší se závislost hmotnosti jednotkové délky šlahounu na velikosti ramety u různě hnojených ramet a u spojených a nespojených ramet?

Hmotnost jednotkové délky šlahounu rostla s nadzemní biomasou ramet (velikost efektu 0,46,  $SE=0,04$ ,  $P_F<0,001$ , 46,0 % celkové variability, viz obrázek 29), u hnojených ramet byla nižší než u nehnojených (velikost efektu -0,15,  $SE=0,02$ ,  $P_F<0,001$ , 13,5 %), ale spojení na ni nemělo průkazný vliv ( $P_F=0,34$ ). Sklon závislosti na nadzemní biomase byl u nehnojených ramet vyšší než u hnojených (velikost interakce -0,11,  $SE=0,04$ ,  $P_F=0,004$ , 1,7 % variability) a vyšší byl také u spojených ramet oproti nespojeným rametám (velikost interakce 0,16,  $SE=0,05$ ,  $P_F=0,029$ , 1 % variability). Model celkem vysvětlil 62,0 % variability (adjusted  $R^2=0,620$ ,  $F_{7,183}=45,22$ ,  $P<<0,001$ , model 4.6).

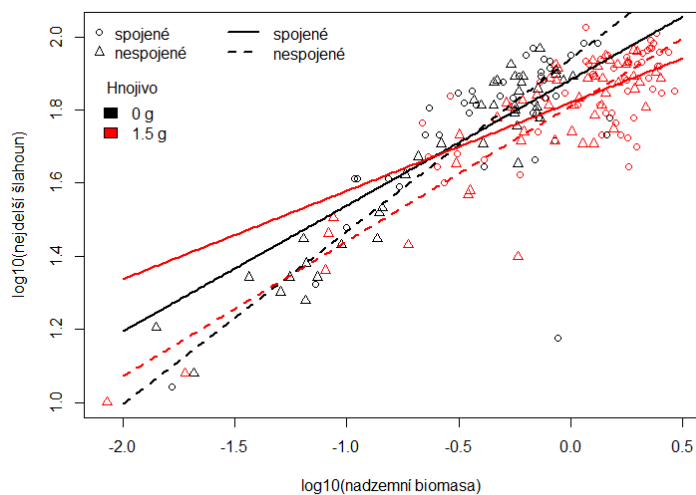
#### 4.7. Jaký vliv má hnojivo a spojení na morfologii dceřiných ramet?

Průměrná délka šlahounu vypadala podobně u hnojených i nehnojených ramet odpovídající velikosti, rozptyl délek šlahounů a šikmost rozdělení délek šlahounů se nicméně zdály být vyšší u nehnojených ramet než u hnojených ramet odpovídající velikosti (viz obrázek 30).

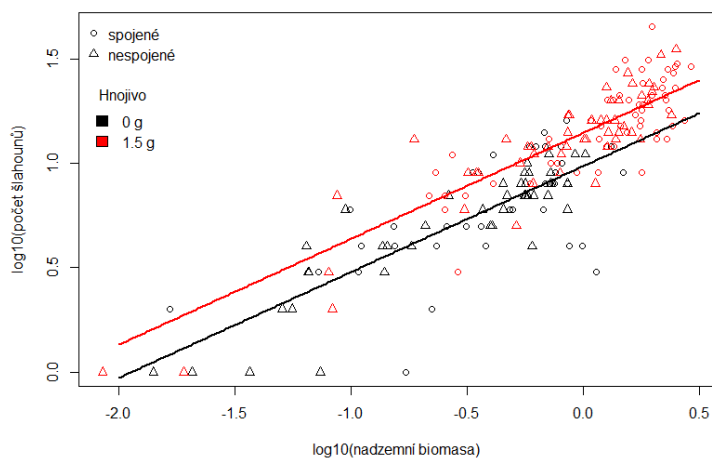
V analýze vlivu hnojiva na morfologické charakteristiky vysvětlila kanonická osa 12,2 % variability zbylé po odečtení vlivu kovariát ( $P=0,002$ , viz obrázek 31). Vliv spojení a interakce mezi hnojivem a spojením na morfologické charakteristiky byly neprůkazné. První osa v PCA (*principal component analysis*) s odpovídajícími kovariátami a morfologickými proměnnými vysvětlila 46,6 % variability.

V analýze zastoupení různých délek šlahounů s hnojivem jako prediktorem vysvětlila kanonická osa 2,4 % variability zbylé po odečtení vlivu kovariát ( $P=0,002$ , viz obrázek 32). Vliv spojení a interakce mezi hnojivem a spojením na zastoupení různých délek šlahounů byly neprůkazné. První osa v PCA s odpovídajícími kovariátami a morfologickými proměnnými vysvětlila 17,1 % variability.

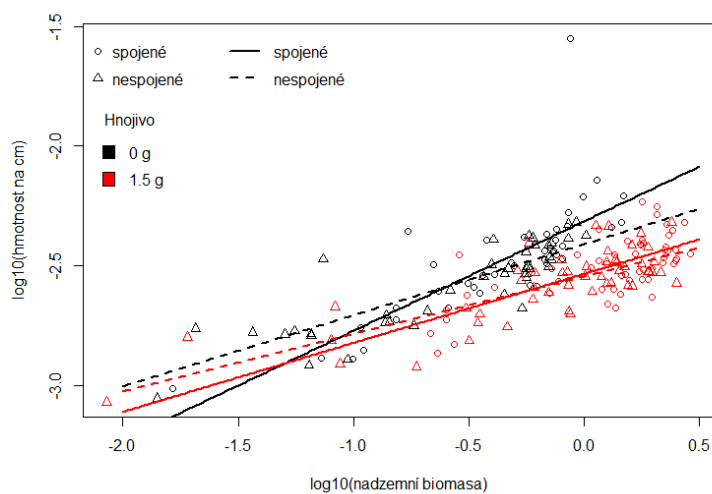
Také při optickém zhodnocení rozdělení délek šlahounů u spojených a nespojených ramet (obrázek 33) nebyl patrný žádný rozdíl ve tvaru rozdělení u spojených a nespojených ramet kromě celkového posunutí do vyšších hodnot u spojených ramet. Pro porovnání rozdělení délek šlahounů v jednotlivých treatmentech viz obrázek 7 v příloze.



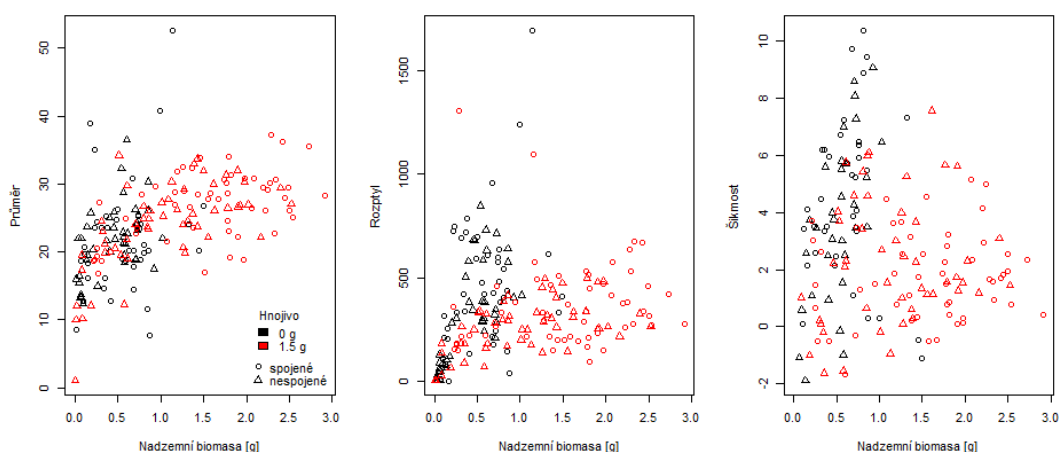
**Obrázek 27: Vztah délky nejdelšího šlahounu a nadzemní biomasy u různě hnojených ramet a u spojených a nespojených dceřiných ramet.**



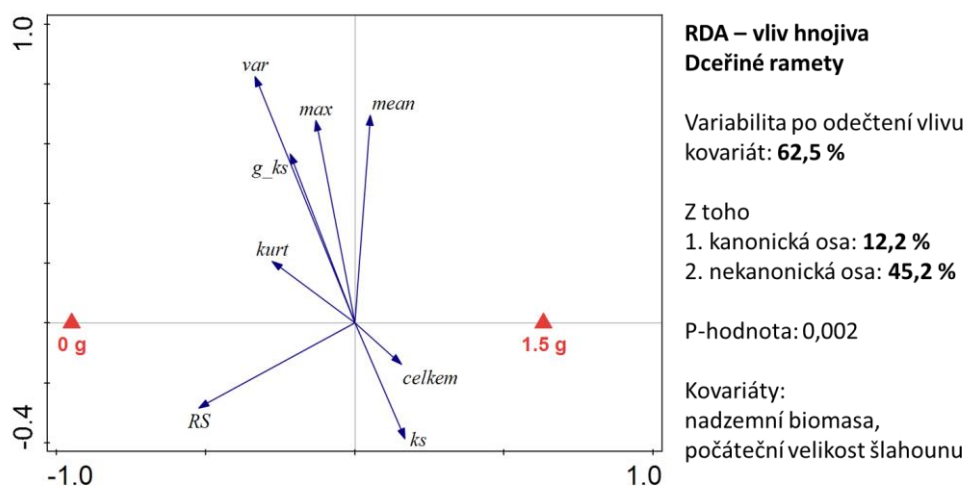
**Obrázek 28: Závislost počtu šlahounů na nadzemní biomase u různě hnojených dceřiných ramet.**



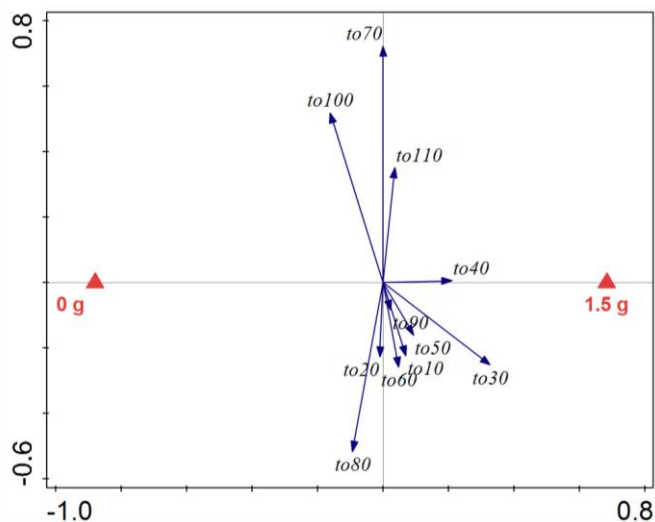
**Obrázek 29: Vztah hmotnosti jednotkové délky šlahounu („hustoty“) a nadzemní biomasy u různě hnojených ramet a u spojených a nespojených dceřiných ramet.**



**Obrázek 30:** Závislosti průměrné délky šlahounu (vlevo), rozptylu v délkách (uprostřed) a šikmosti rozdělení délek (vpravo) na nadzemní biomase ramet u hnojených (červeně), nehnojených (černě), spojených (kolečka) a nespojených (trojúhelníčky) ramet.



**Obrázek 31:** Vliv hnojiva na morfologické charakteristiky dceřiných ramet – výsledky RDA. Prediktorem bylo množství hnojiva, závislými proměnnými počet šlahounů (ks), celková délka šlahounů (celkem), průměrná délka šlahounu (mean), délka nejdelšího šlahounu (max), rozptyl délek šlahounů (var), průměrná hmotnost šlahounu (g\_ks), šikmost rozdělení délek šlahounů (kurt) a poměr podzemní a nadzemní biomasy ramet (RS).



**RDA – vliv hnojiva  
Dceřiné ramety**

Variabilita po odečtení vlivu kovariát: **77,9 %**

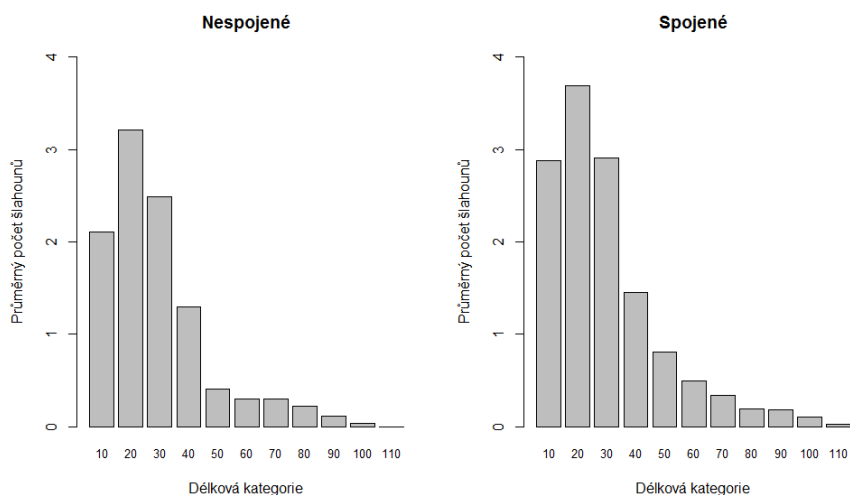
Z toho

- 1. kanonická osa: **2,4 %**
- 2. nekanonická osa: **16,9 %**

P-hodnota: 0,002

Kovariáty:  
nadměrná biomasa,  
počáteční velikost šlahounu

**Obrázek 32: Vliv hnojiva na počty různě dlouhých šlahounů u dceřiných ramet – výsledky RDA.** Jednotlivé kódy označují horní hranici intervalu, intervaly jsou po 10 cm. Například kód „to30“ tedy označuje počet šlahounů o délce mezi 20 a 30 cm.



**Obrázek 33: Porovnání průměrného zastoupení šlahounů v délkových kategoriích (po 10 cm) u nespojených (vlevo) a spojených (vpravo) ramet. Číslo pod sloupečkem udává horní hranici délky v cm.**

## 4 Diskuze

### 4.1 Diskuze metodiky

V prvním pokusu jsem zaznamenala několik metodických problémů. Rostliny měly vysokou úmrtnost, pravděpodobně zejména kvůli malé velikosti při sázení a poruchovosti zavlažovacího systému. V některých treatmentech v důsledku toho zbylo velmi málo opakování, což značně snižovalo šanci na statistické prokázání efektu treatmentů.

Rostliny následně během pokusu vyrostly natolik, že bylo při sklizení velmi obtížné šlahouny od sebe rozmotat, šlahouny navíc začaly zakořeňovat skrz netkanou textilií v okolním substrátu. Rostliny také prokořenily skrz dna květináčů do substrátu, neboť květináče byly postavené přímo na zemi (přikryté netkanou textilií). Všechny tyto faktory zřejmě zvyšovaly variabilitu a chybovost výsledků a stíraly efekt hnojiva a spojení na růst rostlin. Také pokud hnojení a integrace měly na ramety největší vliv v raných fázích vývoje, efekt mohl být na konci pokusu, kdy už byly rostliny velmi vzrostlé, zastřen působením dalších, náhodných vlivů.

V následujících experimentech jsem kvůli snížení celkové variability pracovala pouze s jedním klonem. Také jsem začala používat upravené květináče se „zářezy“, které umožňovaly vedení šlahounu mezi květináči bez jeho ohýbání přes hranu květináče (viz obrázek 6 v příloze). Ve třetím pokusu, který byl stejně jako první pokus proveden ve foliovém skleníku v zahradě, jsem květináče umístila na kovové rošty, které znemožňovaly prokořenení do substrátu a zakořeňování šlahounů (obrázek 5 v příloze). Rostliny jsem také častěji kontrolovala a pokus jsem zakončila dříve.

Po prvním pokusu jsem vzhledem k nejasným výsledkům pochybovala o tom, zda jsou dvojice stejně velkých ramet vhodné ke studiu integrace. Ačkoliv experimentální studie s takovými klonálními fragmenty často pracují (např. Friedman & Alpert 1991; Alpert et al. 2003), v přirozených podmínkách je určitě častější situace, kdy je jedna z ramet větší a dříve zakořeněná než druhá. Ještě přírodě podobnější uspořádání by samozřejmě bylo, pokud by byl místo dvojice ramet studován větší klonální fragment s více rametami (jako např. Janeček et al. 2007; Marshall & Anderson-Taylor 1992). Studie na systému tří ramet u *Eriophorum angustifolium* upozornila na to, že výsledky pokusů s dvojicí ramet nelze bez výhrad zobecňovat na složitější klonální systémy (Janeček et al. 2007).

Druhý pokus měl proto za cíl ověřit, zda vůbec hraje spojení u dvojic ramet vytvořených jako v prvním pokusu znatelnou roli. Hlavní otázkou zde bylo, zda a jak ovlivní nehnojené

ramety spojení s hnojenými rametami. V tomto pokusu, který na rozdíl od ostatních probíhal ve skleníku, jsem nicméně narazila na problém s odlišnou reakcí rostlin na dávkování hnojiva. Dávka, která byla v zahradních podmínkách pro rostliny optimální, se pro rostliny ve skleníku jevila jako toxická. Mohlo to být způsobeno například menší dostupností světla ve skleníku nebo odlišností dalších podmínek mezi skleníkem a zahradou.

Ve třetím pokusu jsem pak použila jiné uspořádání dvojic ramet – nejednalo se o podobně velké a vývojově staré ramety, ale o dříve zakořeněné mateřské ramety a jejich dceřiné ramety (podobně jako např. Noble & Marshall 1983). Počáteční velikost všech dceřiných ramet tak byla jednak menší než velikost mateřských ramet, a jednak byla výrazně ovlivněna hnojením mateřské ramety, které bylo aplikováno již před zahájením pokusu, což je třeba mít na paměti při interpretaci výsledků.

## 4.2 Diskuze výsledků

### Mortalita

Úmrtnost byla celkově podpořena vyššími dávkami hnojiva (a to i takovými, které měly pozitivní vliv na biomasu) a spojení úmrtnost snižovalo. Zdá se tedy, že integrace s druhou rametou pomáhala rametám přestát stresové faktory, což bylo dokumentováno i u dalších klonálních druhů – např. pro stres ze sucha u *Fragaria orientalis* (Zhang et al. 2012) nebo pro osmotický stres způsobený vysokou salinitou u několika druhů (Salzman & Parker 1985; Pennings & Callaway 2000). Samozřejmě nelze zcela vyloučit traumatizující efekt přestřižení šlahounu na ramety, nicméně i u spojených ramet došlo na začátku pokusu k podobnému typu poranění jako u nespojených ramet – byly u nich přestřiženy šlahouny vedoucí směrem od druhé ramety z dvojice. Přinejmenším v druhém a třetím pokusu pak byly ramety při zahájení pokusu dostatečně velké, takže u nich nešlo očekávat výrazný efekt poranění.

Výraznou mortalitu ramet jsem zaznamenala pouze v prvním pokusu, což mohlo být způsobeno malou velikostí ramet při zahájení pokusu (u některých ramet ještě nebyly zcela vyvinuté listy), větší nespolehlivostí zavlažovacího systému a také použitím příliš vysokých dávek hnojiva. Struktura úmrtnosti byla ale v prvním pokusu podobná jako v ostatních pokusech, takže tyto faktory zřejmě neměly vliv na efekt hnojení a spojení na úmrtnost.

Efekt orientace ramety (tedy pozice ramety na původním šlahounu) na podpůrný efekt spojení nebyl konzistentní. Celkově spojení úmrtnost snižovalo výrazněji u bazálních, tj. vývojově starších ramet, ale nejcitlivější k vysokým dávkám hnojiva byly nespojené apikální ramety a v homogenních podmínkách byl efekt spojení silnější také u apikálních ramet.

### **Rozdíly mezi klony**

V prvním pokusu jsem použila 3 různé klony – hexaploidní klon A a tetraploidní klony B a C. Porovnání klonů potvrzuje obecné pravidlo, že rostliny vyšších ploidií často dosahují větších velikostí (Bennett 1972). Ramety z klonu A měly větší biomasu než ramety z klonů B a C, v reakci na hnojivo se ale klony nelišily. Poměr podzemní a nadzemní biomasy se mezi klony také nelišil.

Hexaploidi se navíc ukázali oproti tetraploidům méně náchylní k umírání ramet. Největší mortalitu měl klon B, střední klon C a nejmenší hexaploidní klon A. U spojených ramet byly rozdíly mezi klony menší, ale nejmenší mortalitu měl opět klon A. Mezi klony nebyly rozdíly v závislosti mortality na hnojivu.

Tato pozorování jsou v naprostém souladu s výsledky práce srovnávající fenotypové vlastnosti cytotypů *A. stolonifera* (Kubešová 2007). Autorka pěstovala rostliny tří ploidií v různých substrátech a ukázala, že rostliny s vyšší ploidií dosahují větší nadzemní biomasy, ale že se neliší reakcí na substrát.

### **Vliv hnojiva na růst (nespojených) ramet**

Hnojivo mělo pozitivní efekt na biomasu ramet, závislost nicméně nebyla lineární a měla konkávní tvar. Při vyšších dávkách hnojiva začal být růst rostlin zřejmě limitován jinými faktory než nedostatkem živin, a proto rychlost růstu závislosti klesala. V obou hlavních pokusech závislost přestávala růst kolem 3 g hnojiva a v nejvyšších hodnotách hnojiva mírně klesala. Nejvyšší dávky hnojiva tedy pravděpodobně dosahovaly toxických koncentrací. Pokles biomasy rostlin v substrátu s nejvyšší dávkou živin pozorovala ve své práci s *A. stolonifera* také Kubešová (2007), druh je tedy patrně na vysoké dávky hnojiva citlivý. V druhém, doplňujícím pokusu měly největší biomasu rostliny ze středního hnojení (1,5 g). Největší použité množství hnojiva (3 g) se jevílo jako toxické, ačkoliv stejné množství hnojiva bylo v pokusech 1 a 3 pro rostliny optimální. To bylo zřejmě způsobeno odlišností podmínek ve skleníku a v zahradě.

Tvar závislosti růstu ramet na množství hnojiva je důležitý pro teoretické předpovědi výhod integrace pro ramety (Caraco & Kelly 1991). Největší efekt integrace lze očekávat u dvojic ramet, kde se podporovaná rameta nachází v nejrychleji rostoucí části křivky a podporující rameta v ploché části křivky, tzn. při maximálním rozdílu mezi směnicemi růstové křivky. V nejvyšší úrovni živin, kde se všechny ramety nacházejí v ploché části křivky, naopak nelze očekávat žádný efekt integrace. V pokusu č. 1 můžeme tedy největší efekt integrace očekávat při nejvyšším kontrastu v nízké nebo ve střední úrovni živin.

V pokusu číslo 3, kde byly treatmenty nastaveny mírně odlišně, by integrace měla mít nejvyšší efekt na ramety ve vysokém kontrastu a nízké úrovni živin. Zároveň lze ve třetím pokusu oproti prvnímu očekávat menší negativní efekt na podporující ramety, které byly ve třetím pokusu oproti podporovaným rametám vývojově starší a výrazně větší.

V souladu s pravidlem, že rostlina investuje nejvíce energie do získávání nejvíce limitujícího zdroje (tzv. *optimal allocation pattern*, Bloom et al. 1985; de Kroon & Hutchings 1995), klesal s množstvím hnojiva poměr podzemní a nadzemní biomasy, tedy relativní investice do kořenů. Vliv spojení na poměr podzemní a nadzemní biomasy lze ale očekávat pouze u ramet v nižších množstvích hnojiva, protože při vyšších množstvích už poměr zůstával víceméně konstantní. Stejně jako u závislosti biomasy na hnojivu se křivka v pokusech č. 1 a 3 narovnávala asi ve 3 g hnojiva, v této dávce tedy patrně přestávaly být živiny pro rostliny limitujícím zdrojem. Podobně ve druhém pokusu měly nehnojené ramety větší poměr podzemní a nadzemní biomasy než hnojené ramety.

V prvním pokusu mělo hnojivo poměrně slabý vliv na biomasu i poměr podzemní a nadzemní biomasy ramet (16 a 30 % vysvětlené variability u nespojených ramet), což považuji za důsledek metodických problémů, které při prvním pokusu vznikly. Následkem toho mohl být setřen také vliv množství hnojiva na efekt integrace ramet.

### **Fyziologická integrace**

#### *První pokus:*

Vliv integrace na biomasu ramet v prvním pokusu byl pouze nepatrný, integrace se ale projevila na poměru podzemní a nadzemní biomasy ramet a síla i směr jejího efektu se lišily mezi úrovněmi živin. O dělbě práce mezi rametami (Alpert & Stuefer 1997) nicméně nelze mluvit vzhledem k tomu, že ke změnám v poměru podzemní a nadzemní biomasy došlo vždy pouze u méně hnojené ramety z dvojice. Za specializaci na příjem lokálně hojného zdroje by přitom šlo považovat zejména změny v alokaci do kořenů u více hnojených ramet (Birch & Hutchings 1994).

Vliv integrace na poměr podzemní a nadzemní biomasy ramet spolu se sníženou úmrtností integrovaných ramet značí, že spojení mezi rametami bylo funkční a mezi rametami docházelo k výměně látek. Nepatrný efekt integrace na výslednou biomasu ramet mohl být způsoben výše zmíněnými metodickými problémy. Integrace také mohla být pro růst ramet nejdůležitější v raných fázích vývoje a později, když si ramety vytvořily dostatečně velké struktury zajišťující dostatečný příjem zdrojů, se tok látek mezi rametami mohl zastavit



(Marshall 1990). Tento raný efekt integrace může být důležitý v přirozených podmínkách, ale nepozorovatelný v kontrolovaných experimentálních podmínkách. Pokud tomu tak bylo, počáteční vliv integrace na růst ramet mohl být do konce pokusu setřen jinými náhodnými vlivy.

Velmi malý efekt translokace živin na již zakořeněné ramety *A. stolonifera* pozorovali také Marshall & Anderson-Taylor (1992). Nehnojená rameta ze střední části šlahounu nedostávala znatelnou podporu od ostatních, hnojených ramet. Naproti tomu translokace měla výrazný vliv na nezakořeněné ramety ze střední části šlahounu a také na nezakořeněný apikální konec šlahounu. Autoři výsledky interpretují tak, že po zakořenění se rameta stane samostatnou v příjmu vody a tok vody a spolu s ní i minerálních živin mezi rametami ustane. Translokaci by tedy pravděpodobně bylo možné znovu nastolit vytvořením vodního gradientu směrem k nehnojené rametě, jak naznačuje také práce sledující tok značeného fosfátu (Anderson-Taylor 1982). V experimentech nicméně chybělo srovnání růstu nehnojených ramet s růstem ve zcela nehnojených podmínkách (kdy by byly nehnojené všechny ramety), a tím pádem není možné jednoznačně rozhodnout, zda mezi rametami docházelo k translokaci živin nebo ne.

Také studie na dalších klonálních druzích ukázaly nevýrazný efekt integrace na biomasu ramet (např. Stuefer & Hutchings 1994; Guo et al. 2011). Translokace z osvětlené části kapradiny *Diplopterygium glaucum* měla vliv pouze na alokaci biomasy do jednotlivých orgánů, nikoliv na celkovou biomasu (Guo et al. 2011). Absenci efektu reciproké výměny světla a živin na biomasu *Glechoma hederacea* autoři přičítají vývojovým omezením této rostliny, u které je největší energie věnována rychlému růstu nových ramet a šíření v prostoru, a jako další možné vysvětlení uvádějí taktéž nepřítomnost rozdílu ve vodním potenciálu mezi rametami (Stuefer & Hutchings 1994).

U integrovaných dvojic ramet můžeme v důsledku sdílení zdrojů očekávat stejnou celkovou biomasu při zachování celkové dávky hnojiva (tedy v rámci jedné úrovně živin), nebo dokonce rostoucí biomasu s vyšším kontrastem mezi rametami díky specializaci ramet (Hutchings & Wijesinghe 2008). Nepřítomnost efektu distribuce hnojiva na celkovou biomasu ramet však patrně nebyla způsobena integrací mezi rametami, ale spíše celkově malým efektem hnojení na biomasu ramet, protože biomasa dvojic spojených ramet se zároveň nelišila od biomasy odpovídajících nespojených ramet. V některých studiích srovnávajících biomasu celých klonálních fragmentů při homogenní a heterogenní distribuci zdroje ale chybí podobné srovnání s růstem neintegrovaných rostlin (Birch & Hutchings 1994; Hutchings & Wijesinghe 2008), a tudíž není zcela zřejmé, zda je vyšší biomasa v heterogenních

podmínkách opravdu způsobena klonální integrací a specializací ramet, jak bývá interpretováno.

Efekt spojení na méně hnojené ramety byl silnější u bazálních ramet (i když jen s marginální průkazností). To znamená, že translokace pravděpodobně nebyla fyziologicky omezena na akropetální směr, tedy tak, aby byly podporovány vývojově mladší ramety. V práci sledující tok značeného fosfátu šlahounem *A. stolonifera* přitom fosfát byl translokován převážně akropetálním směrem (Anderson-Taylor 1982). Směr translokace bylo nicméně možné obrátit pomocí změny směru vodního gradientu a je možné, že v systému dvojic ramet v mém pokusu byly poměry oproti přirozené situaci také změněny. Větší efekt spojení na bazální ramety mohl být způsoben jejich menší počáteční velikostí a tím pádem větší závislostí na druhé rametě v počátku vývoje.

Efekt spojení na poměr podzemní a nadzemní biomasy méně hnojených ramet se lišil u různých úrovní živin. Relativně menší investice do kořenů u spojených ramet v nízké úrovni hnojiva je v souladu s předpokladem, že tyto ramety dostávaly alespoň minimální množství živin od druhé ramety (nicméně takové, které se výrazně neprojevilo na jejich biomase) a směr efektu spojení tedy odpovídá dělbě práce mezi rametami (Alpert & Stuefer 1997; Alpert et al. 2003). Vzhledem k tomu, že závislost poměru podzemní a nadzemní biomasy na hnojivu byla s větším množstvím hnojiva čím dál méně strmá, je logické, že efekt spojení se s větším množstvím hnojiva zeslaboval. Největší efekt spojení na relativní investici do podzemních a nadzemních orgánů při nejvyšším absolutním kontrastu mezi rametami zároveň odpovídá teoretickým předpovědím (Ikegami et al. 2008) i výsledkům experimentu s *Potentilla anserina* (Wang et al. 2011).

Relativně větší podíl podzemní biomasy u spojených ramet ve střední úrovni živin ale není snadné vysvětlit – spojení působilo opačným směrem, než jsem očekávala. Spojené ramety se chovaly, jako by funkčně měly méně živin než nespojené, ale přitom byly spojené s ještě více hnojenými rametami. Jedním možným vysvětlením je, že koncentrace hnojiva více hnojených ramet byla příliš velká, a pro méně hnojené ramety bylo ve výsledku snazší živiny přijímat a translokace probíhala opačným směrem – tedy od méně hnojených k více hnojeným rametám. Vysoká koncentrace hnojiva mohla také způsobovat osmotický stres a od méně k více hnojeným rametám mohl probíhat transport vody. Na poměr podzemní a nadzemní biomasy více hnojených ramet ale nemělo spojení žádný vliv. S ohledem na výsledky třetího pokusu, kde integrace více ovlivnila hnojené ramety než nehnojené, se nabízí ještě druhé vysvětlení. Pokud hlavní translokovanou látkou nebyly minerální živiny, ale asimiláty – například proto, že mezi rametami nebyl rozdíl ve vodním potenciálu zajišťující

xylémový tok (Marshall 1990) – a méně hnojené ramety ve střední úrovni živin tedy dostávaly podporu převážně ve formě asimilátů, mohly díky tomu investovat větší množství energie do tvorby kořenů. Malá dávka minerálních živin, kterou případně dostaly, byla oproti živinám dostupným v substrátu zanedbatelná. U nehnojených ramet nicméně mohlo i minimální množství minerálních živin získaných od více hnojené ramety způsobit znatelné snížení investice do kořenové biomasy.

Ve vysoké úrovni živin podle očekávání nebyl efekt spojení na poměr podzemní a nadzemní biomasy ramet patrný.

*Druhý pokus:*

Cílem druhého, doplňujícího pokusu bylo ověřit, zda má integrace u stejně starých dvojic ramet znatelný vliv na jejich růst. Fyziologická integrace byla u takto vytvořených klonálních fragmentů patrně funkční, neboť spojené dvojice ramet měly větší biomasu než nespojené, a to bez ohledu na distribuci hnojiva. Při heterogenní distribuci hnojiva byl nicméně vliv spojení na biomasu dvojic silnější (tj. vysvětlil výrazně větší podíl variability), v souladu s očekáváním. Tento efekt ale není jednoznačně interpretovatelný jako výsledek podpory nehnojené ramety hnojenou rametou kvůli neočekávaným toxickým účinkům nejvyšší dávky hnojiva. Obě ramety při heterogenní distribuci hnojiva (0 a 3 g) tak na tom byly hůře než ramety při homogenní distribuci (po 1,5 g) a celková biomasa dvojic ramet byla tím pádem výrazně nižší při heterogenní než při homogenní distribuci hnojiva.

U jednotlivých ramet nebyl pozitivní efekt spojení na růst tak zřetelný jako u celých dvojic – u nehnojených ramet byl průkazný pouze při srovnání s nehnojenými rametami v homogenních podmínkách („0-0“), nikoliv při srovnání s nespojenými rametami. Toto platilo jak pro biomasu ramet, tak pro poměr podzemní a nadzemní biomasy ramet, a je to v rozporu s očekáváním, že srovnání s rametami v homogenních podmínkách bude efekt spojení spíše podhodnocovat a srovnání s nespojenými rametami nadhodnocovat (Song et al. 2013).

Efekt integrace na poměr podzemní a nadzemní biomasy byl opačný, než jsem očekávala (tj. ve směru odpovídajícímu dělbě práce mezi rametami), podobně jako v pokusu č.1 ve střední úrovni živin. Také zde lze uplatnit obě vysvětlení navrhovaná u prvního pokusu. Nehnojeným rametám mohly být teoreticky živiny (nebo případně voda) dostupnější než rametám v „toxických“ hnojených podmínkách, a translokace mohla tedy probíhat opačným směrem, než bylo očekáváno. Na rozdíl od prvního pokusu zde ale chudší ramety rostly v čistém písku a živin tedy měly k dispozici pouze minimální množství, pravděpodobněji je

tedy v tomto případě translokace vody. Na hnojené ramety ale nemělo spojení průkazný vliv. Nehnojené ramety mohly investovat více energie do kořenů také díky tomu, že očekávaným směrem, tedy od hnojených k nehnojeným rametám, probíhala translokace asimilátů. Pokud by byly asimiláty pro hnojené ramety velmi levné, neměla by na ně integrace výrazný vliv. Pro objasnění těchto výsledků by bylo potřeba otestovat, zda *A. stolonifera* translokuje spíše asimiláty, nebo minerální živiny či vodu, a to buď pomocí značených izotopů, nebo v experimentu se zkříženým vlivem stínění a hnojení.

Zdá se, že stejně jako v prvním pokusu mělo spojení výraznější vliv na bazální ramety, ačkoliv počáteční velikosti apikálních a bazálních ramet byly v tomto případě vyrovnané. V tomto pokusu ale nebylo dávkování hnojiva vyvážené pro apikální a bazální ramety, při heterogenní distribuci živin byly více hnojené vždy bazální a méně hnojené apikální ramety. Efekt orientace ramety tak zde není možné oddělit od efektu hnojiva.

#### *Třetí pokus:*

Ve třetím pokusu měla integrace pozitivní vliv na biomasu všech dceřiných ramet a zvyšovala u nich také poměr podzemní a nadzemní biomasy. Naproti tomu jsem nezaznamenala žádný efekt spojení na mateřské ramety, a to ani ve zpětném treatmentu, kde měly mateřské ramety horší podmínky než dceřiné, a tudíž mezi dceřinými a mateřskými rametami byly řádově menší absolutní rozdíly ve velikosti. Vliv spojení na růst dvojic ramet byl tedy celkově pozitivní.

Integrace nicméně ovlivňovala ramety zcela jinak, než jsem očekávala – vliv spojení na biomasu ramet byl silnější ve vysoké úrovni živin a velikost efektu spojení klesala s rostoucím kontrastem mezi rametami, což je v rozporu s výsledky dřívějších studií (Friedman & Alpert 1991; Zhang et al. 2008; Wang et al. 2011). Vliv spojení na poměr podzemní a nadzemní biomasy byl také silnější ve vysoké úrovni živin a v obou úrovních byl opačný, než by odpovídalo translokaci živin od více hnojené mateřské ramety k dceřiné rametě, případně dělbě práce mezi rametami.

V nízké úrovni živin měla největší vliv na biomasu ramet jejich počáteční velikost, oproti ní hrálo spojení jen minoritní roli. To zřejmě nebylo dáno pouze většími rozptyly počátečních velikostí než ve vysoké úrovni živin, protože efekt spojení byl slabší u nehnojených dceřiných ramet i při srovnání s hnojenými rametami s podobnými počátečními velikostmi. I když tedy měla integrace na ramety v živinově chudém prostředí pozitivní vliv, růst ramet byl z největší míry dán investicí mateřské ramety do šlahounu před jeho zakořeněním, podobně jako ve výše zmíněné studii na *A. stolonifera* (Marshall & Anderson-Taylor 1992).

Hnojené ramety ale byly, navzdory očekávání, schopné těžit z integrace s mateřskou rametou více než nehnojené ramety. Ve vysoké úrovni živin vysvětlilo spojení mezi rametami více než dvakrát větší podíl variability v biomase než počáteční velikost a také ve zpětném treatmentu, kde měly dcery více hnojiva než mateřské ramety, mělo spojení na dceřině ramety výrazný pozitivní efekt. To společně s vyšší relativní investicí do kořenů u spojených dceřiných ramet nasvědčuje tomu, že translokovaným zdrojem pravděpodobně nebyly živiny, ale asimiláty. Příjem asimilátů od mateřské ramety by se totiž na hnojených rametách mohl projevit více, než na nehnojených rametách limitovaných nedostatkem živin. Zároveň by všem dceřiným rametám umožnil větší investici do kořenové biomasy.

Ve studii s *Lolium perenne* autoři pozorovali ukončení podpory rametám, které byly příliš stresované vysokým zastíněním, zřejmě v rámci zachování zbytku klonálního fragmentu (Ong & Marshall 1979). Méně stíněné ramety nicméně podporovány byly – translokace mezi rametami byla tedy podmíněna celkovou prospěšností pro klonální fragment. Podobný mechanismus je ale v mém případě z několika důvodů poměrně nepravděpodobný. Za prvé podmínky v nízké úrovni živin nebyly pro rostliny tak stresující jako vysoké zastínění ve zmíněném pokusu, kde část ramet zastínění nepřežila. Potom jsem nezaznamenala žádnou cenu za integraci pro mateřské ramety, nedá se tedy čekat, že by je vyšší podpora dceřiných ramet výrazně ohrozila. A nakonec i ramety v nízké úrovni živin z integrace těžily, translokace látek tedy nebyla zastavena úplně.

Efekt spojení při celkové analýze navzdory předpokladům klesal s rostoucím kontrastem mezi rametami a největší podíl variability vysvětlilo spojení ve vysoké úrovni živin a nulovém kontrastu. Zároveň v rámci jedné úrovně živin s kontrastem výrazně klesal poměr biomas spojených dceřiných a mateřských ramet – relativní alokace do dceřiných ramet byla tedy největší při nejnižším hnojení mateřské ramety, tj. když byla dceřiná rameta vůči mateřské rametě v relativně nejlepších podmínkách. Nabízející se „záměrné“ podporování dceřiných ramet v co nejlepších podmínkách nicméně nelze odlišit od efektu počáteční velikosti – v menším kontrastu měly dceřině ramety zároveň menší počáteční velikost, protože jejich mateřské ramety byly méně hnojené. Je tedy možné, že stejná podpora od mateřských ramet byla účinnější pro menší dceřině ramety. Výsledek, tj. největší vliv integrace na růst dceřiných ramet v relativně nejlepších podmínkách, nicméně zůstává v obou případech stejný.

U nespojených ramet naproti tomu zůstával při dané úrovni živin poměr biomas ramet stejný, bez ohledu na hnojení mateřské ramety a celkovou velikost ramet. Poměr byl zřejmě

zachován díky tomu, že počáteční velikost dceřiných ramet byla přímo úměrná velikosti mateřských ramet.

Jak už bylo řečeno, pozorovaný efekt kontrastu je v protikladu k výsledkům většiny předchozích studií. Jedinou mně známou výjimkou je výše zmíněný pokus s *Lolium perenne*, kde nebyly podporovány příliš zastíněné ramety (Ong & Marshall 1979). Pokus č. 3 v mé práci se nicméně od předchozích experimentů liší – vyšší kontrast byl vytvořen zvýšením dostupnosti živin pro bohatší (mateřskou) rametu, podmínky chudší (dceřiné) ramety se naopak v rámci jedné úrovně živin s kontrastem neměnily. V předchozích studiích ale buď zůstalo zachováno celkové množství zdroje a s velikostí kontrastu se tedy měnily jak bohatší, tak chudší podmínky (Hutchings & Wijesinghe 2008), nebo byla konstantní dostupnost zdroje v bohatších podmínkách a s rostoucím kontrastem se snižovala jeho dostupnost v chudších podmínkách (Friedman & Alpert 1991; Zhang et al. 2008; Guo et al. 2011; Wang et al. 2011). V experimentech druhého typu (tedy s měnicemi se chudšími podmínkami) lze předpokládat, že bohatší rameta byla zdrojem saturována a nacházela se tedy v ploché části naší teoretické křivky (viz obrázek 1), zatímco chudší rameta se se zvyšujícím se kontrastem posouvala směrem ke strměji rostoucímu počátku křivky. Nejvyšší efekt spojení ve vysokém kontrastu je zde tedy v naprostém souladu s teorií. Naopak s vlivem počáteční velikosti ramet, který považuji za příčinu pozorovaného pattern v mém pokusu, se zmíněné práce nemohly setkat, protože do experimentálních podmínek uvedly obě ramety z dvojice současně a dvojice se na počátku mezi sebou nelišily. Obě experimentální uspořádání mají nicméně své opodstatnění. Relativně stálé prostředí je lépe napodobeno uspořádáním použitým v pokusu č. 3, kdy velikost vývojově starší ramety v okamžiku zakořenění mladší ramety odpovídá bohatosti jejího stanoviště. Toto uspořádání odpovídá na otázku, jak integrace pomáhá rametám vrústat do různě bohatých stanovišť v závislosti na tom, odkud rostou. Podobně vypadal např. pokus s *Carex arenaria*, ve kterém ale nebylo manipulováno s velikostí kontrastu (Noble & Marshall 1983). Druhé uspořádání, tj. stejně veliké dvojice ramet zasazené do experimentálních podmínek, naopak může ukázat vliv integrace ve více proměnlivém prostředí, kde vývojově starší rameta mohla vyrústat v jiných podmínkách, než jaké jsou studovány. Proměnlivost prostředí na druhou stranu snižuje výhody specializace ramet (Alpert & Stuefer 1997). Odstranění efektu počáteční velikosti ale přinejmenším zjednodušuje interpretaci výsledků (Friedman & Alpert 1991).

## Shrnutí

Neočekávaný efekt integrace na poměr podzemní a nadzemní biomasy ve všech pokusech a zároveň na biomasu dceřiných ramet ve třetím pokusu nejvíce napovídá tomu, že ačkoliv bylo v pokusech manipulováno s dostupností živin, převážně translokovaným zdrojem byly nejspíše asimiláty. Transport minerálních živin právě přijatých kořenem probíhá xylémovým tokem, který je tažen rozdíly ve vodním potenciálu (Marshall 1990). Vodní potenciál mezi již zakořeněnými rametami s vlastním vodním režimem může být poměrně vyrovnaný, a xylémový tok spolu s primární translokací minerálních živin mezi rametami tím pádem minimální. Spřaženost translokace vody a dusíku sledovala studie na *Carex flacca* – dusík byl mezi rametami translokován i bez vytvořeného vodního gradientu, nicméně pokud byla voda translokována opačným směrem, k translokaci dusíku nedocházelo (de Kroon et al. 1998). Translokace živin tím pádem může být vodním gradientem silně ovlivněna (Anderson-Taylor 1982; de Kroon et al. 1998), nicméně nemusí být zcela závislá na rozdílech v dostupnosti vody v prostředí. Floémem jsou minerální živiny transportovány v menší míře například při jejich redistribuci ze zásobních orgánů (Marshall 1990), floémový tok v rostlině je tažen zejména aktivitou sinků – pletiv spotřebovávajících asimiláty a další transportované látky. Translokace mezi rametami *A. stolonifera* tedy možná probíhá zejména pomocí floémového toku, což by vysvětlovalo i malou míru translokace živin pozorovanou u tohoto druhu v předchozích studiích (Marshall & Anderson-Taylor 1992; Anderson-Taylor 1982). Tuto hypotézu by ovšem bylo potřeba ověřit například sledováním pohybu značených izotopů dusíku a uhlíku mezi rametami.

Není mi známa žádná studie ukazující, že by klonální druh translokoval pouze jeden typ zdroje. Je ovšem teoreticky možné, že převážně typ translokovaného zdroje závisí na typu prostředí, kde daný druh roste. Živiny a voda by pak mohly být zdrojem translokovaným hlavně v chudém a vysychavém prostředí, kdežto asimiláty zase spíše v produktivnějším prostředí, kde se soutěží hlavně o světlo.

Zatímco v prvním a druhém pokusu měla integrace větší vliv spíše na bazální ramety, ve třetím pokusu se projevila pouze u dceřiných, tedy apikálních ramet, a to i v případě, že apikální ramety měly více hnojiva než bazální (mateřské) ramety. Pevně apikální translokace u *A. stolonifera* za normálních podmínek byla pozorována i dříve (Anderson-Taylor 1982). Experimentální uspořádání třetího pokusu bylo podle mého názoru přirozenější než u prvních dvou pokusů, i když rozdíly ve velikostech starších a mladších ramet možná obvykle nejsou tak velké. Systém pouze dvou ramet je samozřejmě také velmi zjednodušující a při aplikování výsledků na složitější systémy je třeba opatrnosti (Janeček et al. 2007).

## Morfologie

Délka nejdelšího šlahounu může odrážet investici rostliny do vegetativního šíření v prostoru, či dokonce do snahy „uniknout“ co nejdál ze stávajícího stanoviště. Počet šlahounů nám dává představu o jakémisi zahuštění trsu a hmotnost jednotkové délky šlahounu pak pravděpodobně zejména o větvenosti šlahounů. Dohromady mohou tyto charakteristiky poskytnout obraz o způsobu obsazování prostoru rostlinou a jeho případné plasticitě (Benot et al. 2010).

Délka nejdelšího šlahounu, počet šlahounů i větvení šlahounů (hmotnost jednotkové délky šlahounu) rostly s nadzemní biomasou ramet a tyto alometrické závislosti se měnily s hnojením ramet. Zdá se, že *A. stolonifera* reaguje na změny podmínek změnami v morfologii, které víceméně odpovídají konceptu klonálního pátrání (Slade & Hutchings 1987b; de Kroon & Hutchings 1995). Nehnojené ramety více investovaly do růstu nejdelšího šlahounu, ale měly celkově menší počet šlahounů o menší celkové délce. Minimálně u dceřiných ramet se nicméně šlahouny nehnojených ramet více větvaly, tj. hmotnost jednotkové délky šlahounu byla vyšší, rozptyl délek šlahounů nehnojených ramet byl vyšší a měly také relativně více šlahounů extrémních délek (tj. pozitivněji šikmé rozdělení).

Závislost délky nejdelšího šlahounu na biomase byla strmější u nehnojených ramet. Velikosti nehnojených a hnojených mateřských ramet se nicméně téměř nepřekrývaly, a tak je možné, že pro obě množství hnojiva platila stejná alometrická závislost, která ale nebyla ani v log-log měřítku lineární. To by znamenalo, že rostliny při dosažení určité optimální délky nejdelšího šlahounu už tolik neinvestují do jeho dalšího prodlužování.

U dceřiných ramet ale byla zároveň délka nejdelšího šlahounu při stejné velikosti ramety menší u hnojených ramet než u nehnojených, což odpovídá tomu, že nehnojené ramety relativně více investovaly do „průzkumného“ šlahounu ve snaze dostat se na lepší stanoviště (Slade & Hutchings 1987b). Rychleji rostla délka nejdelšího šlahounu s biomasou také u nespojených ramet oproti spojeným. Čím horší podmínky tedy ramety měly, tím byla závislost strmější, v souladu s teorií aktivního „pátrání“.

Větší investici nehnojených ramet do několika málo dlouhých šlahounů odpovídají také větší rozptyl a pozitivnější šikmost rozdělení délek šlahounů, ale přitom stejná průměrná délka šlahounu jako u hnojených ramet. Podobně byla například u *Scirpus olneyi* pozorována produkce dlouhých, „průzkumných“ výběžků za každých okolností, ale krátkých jen v dostatku živin (Ikegami et al. 2007).

Pozitivní vliv na počet šlahounů mělo hnojivo u mateřských ramet zejména při střední velikosti ramet, u velkých ramet se rozdíl stíraly. Malých velikostí dosahovaly pouze



nehnojené ramety, a tak zde nelze efekt hnojiva dobře posoudit. U dceřiných ramet se na druhou stranu pozitivní efekt hnojení s velikostí neměnil. V mnohorozměrné analýze s hnojením nejvíce korelovaly počty šlahounů mezi 20 a 40 cm, nejkratší a nejdelší šlahouny byly na hnojivu víceméně nezávislé, na zahuštění trsu v úživných podmínkách se tedy minimálně u dceřiných ramet patrně nejvíce podílely šlahouny těchto středních délek.

Nehnojené ramety měly naproti tomu více větvené šlahouny, závislost větvení na biomase byla u nich navíc strmější. Naopak například u *Cynodon dactylon* se šlahouny více větvlily s přibývajícím hnojivem (Dong & de Kroon 1994) a vyšší míra větvení v bohatších podmínkách se považuje za jeden z projevů aktivního klonálního „pátrání“ (Slade & Hutchings 1987b). Více větvené šlahouny s kratšími internodii tvořil také *Agrostis stolonifera* v reakci na vyšší dostupnost světla (Dong & Pierdominici 1995). Je ale možné, že v mém pokusu byl mezi hnojenými a nehnojenými rametami rozdíl zejména v místě větvení šlahounů – zatímco u hnojených se šlahouny větvlily hned u báze, a byly tedy změřeny a započítány samostatně, u nehnojených ramet se větvlily až dál od místa zakořenění ramety. To může souviset s měnícím se způsobem obsazování a „prozkoumávání“ prostoru v závislosti na úživnosti stanoviště (Slade & Hutchings 1987b; de Kroon & Hutchings 1995). Zatímco počet šlahounů u *A. stolonifera* možná koresponduje s vyšší intenzitou větvení na bohatších stanovištích uváděnou v literatuře, větvenost šlahounů (dále od báze šlahounů) může spíše odrážet investici rostliny do dalšího šíření. Použitá míra větvení (tj. hmotnost jednotkové délky šlahounu) je ale velmi hrubá a pro ověření způsobu klonálního „pátrání“ v reakci na dostupnost živin u *Agrostis stolonifera* by bylo potřeba přesnější měření morfologických charakteristik.

Spojení nemělo žádný vliv na morfologické charakteristiky mateřských ramet, u dceřiných ramet ovlivňovalo pouze sklon závislostí – u spojených ramet byl oproti nespojeným rychlejší nárůst hmotnosti jednotkové délky šlahounu s biomasou (zřejmě se tedy více větvlily nebo na nich byly vyvinutější nody s většími listy), délka nejdelšího šlahounu u nich naopak rostla s biomasou méně. Morfologická odpověď dceřiných ramet tak v omezené míře integrovala lokální podmínky a signály od zbytku rostliny (Louâpre et al. 2012), lokální podmínky ale hrály větší roli.

Práce srovnávající morfologii *A. stolonifera* ukázala, že populace pocházející z různých typů stanovišť se liší délkou, počtem a hmotností šlahounů i relativní investicí do reproduktivních struktur (Kik, Van Andel & Joenjes 1990) a že je tento druh morfologicky plastický. V souladu s mým pozorováním, že *A. stolonifera* v chudých podmínkách investuje

větší energii do tvorby dlouhých šlahounů, pozorovali autoři malý počet dlouhých šlahounů u rostlin pocházejících z chudého prostředí písečné duny.

## 5 Závěr

Ve všech třech pokusech s *Agrostis stolonifera* měla integrace na ramety pozitivní dopad. Výsledky experimentů nicméně nepotvrdily teoretickou předpověď, že integrace bude přinášet dvojici ramet nejvyšší výhody, pokud se bude podporovaná rameta nacházet v nejstrmější části závislosti růstu na dostupných živinách, tj. při co nejmenší dostupnosti živin, a podporující rameta naopak bude živinami saturovaná (Caraco & Kelly 1991). Integrace měla naopak větší efekt na podporované ramety ve vyšší dávce hnojiva a efekt se zmenšoval s rostoucím kontrastem. Integrace navíc ovlivňovala poměr podzemní a nadzemní biomasy ramet jiným způsobem, než by se dalo očekávat, tj. ve směru dělby práce mezi rametami (Alpert & Stuefer 1997). Neočekávaný výsledek si vysvětlují tím, že zdrojem translokovaným v největší míře pravděpodobně nebyly minerální živiny, ale asimiláty, které nehnojené ramety limitované dostupností živin nedokázaly plně využít. Tuto hypotézu by bylo nicméně potřeba ověřit například sledováním pohybu značených izotopů mezi rametami. Opačný efekt kontrastu, než je uváděn v literatuře (např. Friedman & Alpert 1991; Wang et al. 2011) považují za důsledek experimentálního uspořádání – v mém pokusu totiž velikost dvojice ramet od začátku pokusu odpovídala experimentálním podmínkám, v nichž se nacházely vývojově starší ramety, kdežto v jiných studiích jsou obvykle do experimentálních podmínek zasazeny stejně velké dvojice ramet. Použité uspořádání přitom považují za bližší přirozeným podmínkám. Opačný vliv kontrastu v mém pokusu tak mohl být efektem počáteční velikosti, která se v předchozích experimentech mezi treatmenty nelišila.

*A. stolonifera* reagoval na změny dostupnosti živin změnou morfologických parametrů, jako je délka nejdelšího šlahounu, počet šlahounů nebo větvení šlahounů. Tyto změny odpovídaly konceptu klonálního „pátrání“ – rostliny tvořily menší počet šlahounů extrémnějších délek v chudých podmínkách a naopak větší počet kratších šlahounů v bohatších podmínkách. Nicméně pro potvrzení projevů „pátrání“ u tohoto druhu by bylo potřeba přesnějšího měření morfologických parametrů, zejména míry větvení.

## 6 Literatura

- Alpert, P., 1996. Nutrient sharing in natural clonal fragments of *Fragaria chiloensis*. *Journal of Ecology*, 84(3), pp.395–406.
- Alpert, P., Holzappel, C. & Slominski, C., 2003. Differences in performance between genotypes of *Fragaria chiloensis* with different degrees of resource sharing. *Journal of Ecology*, 91(1), pp.27–35.
- Alpert, P. & Mooney, H., 1986. Resource sharing among ramets in the clonal herb, *Fragaria chiloensis*. *Oecologia*, 70(2), pp.227–233.
- Alpert, P. & Stuefer, J., 1997. Division of labour in clonal plants. *The ecology and evolution of clonal plants*, pp.137–154.
- Anderson-Taylor, G., 1982. *Physiological aspects of tiller-root interrelationships in *Hordeum distichum* and *Agrostis stolonifera**. University of Wales.
- Bennett, M., 1972. Nuclear DNA content and minimum generation time in herbaceous plants. *Proceedings of the Royal Society Series B-Biological Sciences*, 181(1063), p.109.
- Benot, M.-L., Bonis, A. & Mony, C., 2010. Do spatial patterns of clonal fragments and architectural responses to defoliation depend on the structural blue-print? An experimental test with two rhizomatous Cyperaceae. *Evolutionary Ecology*, 24(6), pp.1475–1487.
- Birch, C. & Hutchings, M., 1994. Exploitation of patchily distributed soil resources by the clonal herb *Glechoma hederacea*. *Journal of Ecology*, 82(3), pp.653–664.
- Bloom, A., Chapin, F. & Mooney, H., 1985. Resource limitation in plants - an economic analogy. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 16, pp.363–392. Available at: <http://www.jstor.org/stable/2097053> [Accessed August 6, 2014].
- Ter Braak, C. & Šmilauer, P. 2012. *Canoco Reference Manual and User's Guide: Software for Ordination (version 5.0)*. Microcomputer power, Itaka. [www.canoco.com](http://www.canoco.com)
- Cain, M., 1994. Consequences of foraging in clonal plant species. *Ecology*, 75(4), pp.933–944.
- Caraco, T. & Kelly, C., 1991. On the Adaptive Value of Physiological Integration in Clonal Plants. *Ecology*, 72(1), pp.81–93.
- Clayton, W. et al., 2006. GrassBase - The Online World Grass Flora. Available at: <http://www.kew.org/data/grasses-db.html>.
- Colvill, K. & Marshall, C., 1981. The patterns of growth, assimilation of 14 CO<sub>2</sub> and distribution of 14 C-assimilate within vegetative plants of *Lolium perenne* at low and high density. *Annals of Applied Biology*, 99(2), pp.179–190. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1744-7348.1981.tb05145.x> [Accessed May 7, 2012].
- Crick, J. & Grime, J., 1987. Morphological plasticity and mineral nutrient capture in two herbaceous species of contrasted ecology. *New phytologist*, 107(2), pp.403–414. Available at: <http://www.jstor.org/stable/10.2307/2433065> [Accessed April 23, 2012].
- Dong, M., During, H. & Werger, M., 1997. Clonal plasticity in response to nutrient availability in the pseudoannual herb, *Trientalis europaea* L. *Plant Ecology*, 131(2), pp.233–239. Available at: <http://link.springer.com/article/10.1023/A:1009783921753> [Accessed August 5, 2014].

- Dong, M. & de Kroon, H., 1994. Plasticity in morphology and biomass allocation in *Cynodon dactylon*, a grass species forming stolons and rhizomes. *Oikos*, 70, pp.99–106. Available at: <http://www.jstor.org/stable/3545704> [Accessed August 4, 2014].
- Dong, M. & Pierdominici, M.G., 1995. Morphology and growth of stolons and rhizomes in three clonal grasses, as affected by different light supply. *Vegetatio*, 116(1), pp.25–32.
- Eriksson, O. & Jerling, L., 1990. Hierarchical selection and risk spreading in clonal plants. In *Clonal growth in plants: regulation and function*. pp. 79–94.
- Fahrig, L. et al., 1994. The advantage of long-distance clonal spreading in highly disturbed habitats. *Evolutionary Ecology*, 8(2), pp.172–187.
- Friedman, D. & Alpert, P., 1991. Reciprocal transport between ramets increases growth of *Fragaria chiloensis* when light and nitrogen occur in separate patches but only if patches are rich. *Oecologia*, 86(1), pp.76–80.
- Gao, Y. et al., 2012. Foraging responses of clonal plants to multi-patch environmental heterogeneity: spatial preference and temporal reversibility. *Plant Soil*, 359(1-2), pp.137–147.
- Guo, W., Song, Y.-B. & Yu, F.-H., 2011. Heterogeneous light supply affects growth and biomass allocation of the understory fern *Diplopterygium glaucum* at high patch contrast. *PloS one*, 6(11), p.e27998.
- He, W.-M. et al., 2011. Reciprocal and coincident patchiness of multiple resources differentially affect benefits of clonal integration in two perennial plants. *Journal of Ecology*, 99(5), pp.1202–1210.
- Huber, H. & Stuefer, J., 1997. Shade-induced changes in the branching pattern of a stoloniferous herb: functional response or allometric effect? *Oecologia*, 110(4), pp.478–486.
- Hutchings, M. & Wijesinghe, D., 2008. Performance of a clonal species in patchy environments: effects of environmental context on yield at local and whole-plant scales. *Evolutionary Ecology*, 22(3), pp.313–324.
- Chapman, D., Robson, M. & Snaydon, R., 1992. Physiological integration in the clonal perennial herb *Trifolium repens* L. *Oecologia*, 89(3), pp.338–347. Available at: <http://link.springer.com/article/10.1007/BF00317411> [Accessed August 9, 2014].
- Ikegami, M., Whigham, D. & Werger, J., 2008. Optimal biomass allocation in heterogeneous environments in a clonal plant - spatial division of labor. *Ecological Modelling*, 213(2), pp.156–164.
- Ikegami, M., Whigham, D. & Werger, M., 2007. Responses of rhizome length and ramet production to resource availability in the clonal sedge *Scirpus olneyi* A. Gray. *Plant Ecology*, 189(2), pp.247–259. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s11258-006-9181-9> [Accessed August 5, 2014].
- Janeček, Š. et al., 2007. Integration in the clonal plant *Eriophorum angustifolium*: an experiment with a three-member-clonal system in a patchy environment. *Evolutionary Ecology*, 22(3), pp.325–336.
- Jonsdottir, I. & Callaghan, T., 1996. Resource dynamics within arctic clonal plants. *Ecological Bulletins*, 45, pp.53–62. Available at: <http://www.jstor.org/stable/10.2307/20113183> [Accessed May 4, 2012].

- Jonsdottir, I. & Watson, M., 1997. Extensive physiological integration: an adaptive trait in resource-poor environments. *The ecology and evolution of clonal plants*, pp.109–136.
- Kalamees, R. & Zobel, M., 2002. The role of the seed bank in gap regeneration in a calcareous grassland community. *Ecology*, 83(4), pp.1017–1025. Available at: [http://www.esajournals.org/doi/abs/10.1890/0012-9658\(2002\)083%5B1017:TROTSB%5D2.0.CO%3B2](http://www.esajournals.org/doi/abs/10.1890/0012-9658(2002)083%5B1017:TROTSB%5D2.0.CO%3B2) [Accessed August 3, 2014].
- Kik, C., Van Anandel, J., Van Delden, W., et al., 1990. Colonization and differentiation in the clonal perennial *Agrostis stolonifera*. , 78(4), pp.949–961. Available at: <http://www.jstor.org/stable/2260945>.
- Kik, C., Van Anandel, J. & Joenjes, W., 1990. Life-history variation in ecologically contrasting populations of *Agrostis stolonifera*. , 78(4), pp.962–973. Available at: <http://www.jstor.org/stable/2260946>.
- Klimeš, L. et al., 1997. Clonal plant architecture: a comparative analysis of form and function. In *The ecology and evolution of clonal plants*. pp. 1–29.
- Koubek, T. & Herben, T., 2007. Effect of systemic diseases on clonal integration: modelling approach. *Evolutionary Ecology*, 22(3), pp.449–460. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s10682-007-9219-z> [Accessed August 10, 2014].
- De Kroon, H. et al., 1998. The interaction between water and nitrogen translocation in a rhizomatous sedge (*Carex flacca*). *Oecologia*, 116(1-2), pp.38–49. Available at: <http://link.springer.com/article/10.1007/s004420050561> [Accessed August 10, 2014].
- De Kroon, H., Franssen, B. & van Rheenen, J., 1996. High levels of inter-ramet water translocation in two rhizomatous *Carex* species, as quantified by deuterium labelling. *Oecologia*, 106(1), pp.73–84. Available at: <http://link.springer.com/article/10.1007/BF00334409> [Accessed August 9, 2014].
- De Kroon, H. & Hutchings, M., 1995. Morphological plasticity in clonal plants: the foraging concept reconsidered. *Journal of Ecology*, pp.143–152.
- Kubát, K. et al. eds., 2002. *Klíč ke květeně České republiky* 1st ed., Praha: Academia.
- Kubešová, M., 2007. *Fenotypová plasticita a cytotypy Agrostis stolonifera v České republice*. Jihočeská universita v Českých Budějovicích.
- Louâpre, P. et al., 2012. How past and present influence the foraging of clonal plants? *PloS one*, 7(6), p.e38288. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3365891&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed July 20, 2014].
- Macek, P. & Lepš, J., 2003. The effect of environmental heterogeneity on clonal behaviour of *Prunella vulgaris* L. *Plant ecology*, 168(1), pp.31–43. Available at: <http://link.springer.com/article/10.1023/A:1024460525317> [Accessed August 9, 2014].
- Mágori, K. & Oborny, B., 2003. Cooperation and competition in heterogeneous environments: the evolution of resource sharing in clonal plants. *Evolutionary ecology research*, 5(6), pp.787–817. Available at: [http://izt.ciens.ucv.ve/ecologia/Archivos/Referencias/\\_iiasa/IR-03-027.pdf](http://izt.ciens.ucv.ve/ecologia/Archivos/Referencias/_iiasa/IR-03-027.pdf) [Accessed August 10, 2014].
- Marshall, C., 1990. Source-sink relations of interconnected ramets. In *Clonal growth in plants: regulation and function*. SPB Academic Publishing, The Hague.

- Marshall, C. & Anderson-Taylor, G., 1992. Mineral nutritional inter-relations amongst stolons and tiller ramets in *Agrostis stolonifera* L. *New Phytologist*, 122(2), pp.339–347. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1469-8137.1992.tb04239.x>.
- Noble, J. & Marshall, C., 1983. The population biology of plants with clonal growth: II. The nutrient strategy and modular physiology of *Carex arenaria*. *The Journal of Ecology*, 71(3), pp.865–877.
- Oborny, B., 1994. Growth rules in clonal plants and environmental predictability - a simulation study. *Journal of Ecology*, 82(2), pp.341–351.
- Ong, C. & Marshall, C., 1979. The growth and survival of severely-shaded tillers in *Lolium perenne* L. *Annals of Botany*, 90(2002), pp.1–2.
- Pennings, S. & Callaway, R., 2000. The advantages of clonal integration under different ecological conditions: a community-wide test. *Ecology*, 81(3), pp.709–716.
- R Core Team, 2013. R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Roiloa, S. et al., 2007. Greater capacity for division of labour in clones of *Fragaria chiloensis* from patchier habitats. *Journal of Ecology*, 95(3), pp.397–405. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2745.2007.01216.x> [Accessed March 10, 2012].
- Roiloa, S. & Retuerto, R., 2006. Small-scale heterogeneity in soil quality influences photosynthetic efficiency and habitat selection in a clonal plant. *Annals of botany*, 98(5), pp.1043–52.
- Roiloa, S.R. & Retuerto, R., 2011. Clonal integration in *Fragaria vesca* growing in metal-polluted soils: parents face penalties for establishing their offspring in unsuitable environments. *Ecological Research*, 27(1), pp.95–106. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s11284-011-0876-6> [Accessed August 3, 2014].
- Salzman, A. & Parker, M., 1985. Neighbors ameliorate local salinity stress environment plant in a heterogeneous for a rhizomatous. *Oecologia*, 65(2), pp.273–277.
- Slade, A. & Hutchings, M., 1987a. Clonal integration and plasticity in foraging behaviour in *Glechoma hederacea*. *The Journal of Ecology*, 75(4), pp.1023–1036.
- Slade, A. & Hutchings, M., 1987b. The effects of light intensity on foraging in the clonal herb *Glechoma hederacea*. *The Journal of Ecology*, 75(3), pp.639–650. Available at: <http://www.jstor.org/stable/2260196> [Accessed August 4, 2014].
- Slade, A. & Hutchings, M., 1987c. The effects of nutrient availability on foraging in the clonal herb *Glechoma hederacea*. *The Journal of Ecology*, 75(1), pp.95–112.
- Song, M., Dong, M. & Jiang, G., 2002. Importance of clonal plants and plant species diversity in the Northeast China Transect. *Ecological Research*, 17(6), pp.705–716. Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1440-1703.2002.00527.x/full> [Accessed May 4, 2012].
- Song, Y.-B. et al., 2013. United we stand, divided we fall: a meta-analysis of experiments on clonal integration and its relationship to invasiveness. *Oecologia*, 171(2), pp.317–27. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22915332> [Accessed July 28, 2014].
- Stuefer, J., Gómez, S. & van Mólken, T., 2004. Clonal integration beyond resource sharing: implications for defence signalling and disease transmission in clonal plant networks. *Evolutionary Ecology*, 18(5-6), pp.647–667. Available at:

- <http://www.springerlink.com/index/10.1007/s10682-004-5148-2> [Accessed April 4, 2012].
- Stuefer, J. & Hutchings, M., 1994. Environmental heterogeneity and clonal growth: a study of the capacity for reciprocal translocation in *Glechoma hederacea* L. *Oecologia*, 100(3), pp.302–308. Available at: <http://www.springerlink.com/index/P7W147520V626266.pdf> [Accessed March 21, 2012].
- Stuefer, J., de Kroon, H. & During, H., 1996. Exploitation of environmental heterogeneity by spatial division of labour in a clonal plant. *Functional Ecology*, 10(3), pp.328–334.
- Sun, X.-L., Niu, J.-Z. & Zhou, H., 2011. Buffalograss decreases ramet propagation in infertile patches to enhance interconnected ramet proliferation in fertile patches. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 206(4), pp.380–386. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0367253011000065> [Accessed March 17, 2012].
- Wang, Z. et al., 2011. Do clonal plants show greater division of labour morphologically and physiologically at higher patch contrasts? *PloS one*, 6(9), p.e25401. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3184135&tool=pmcentrez&endertype=abstract> [Accessed March 17, 2012].
- Wang, Z. et al., 2013. Root foraging increases performance of the clonal plant *Potentilla reptans* in heterogeneous nutrient environments. *PloS one*, 8(3), p.e58602. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3589344&tool=pmcentrez&endertype=abstract> [Accessed August 5, 2014].
- Wijesinghe, D. & Handel, S., 1994. Advantages of clonal growth in heterogeneous habitats: an experiment with *Potentilla simplex*. *Journal of Ecology*, 82(3), pp.495–502. Available at: <http://www.jstor.org/stable/10.2307/2261258> [Accessed March 26, 2012].
- Wijesinghe, D. & Hutchings, M., 1997. The effects of spatial scale of environmental heterogeneity on the growth of a clonal plant: an experimental study with *Glechoma hederacea*. *Journal of Ecology*, 85(1), pp.17–28. Available at: <http://www.jstor.org/stable/10.2307/2960624> [Accessed March 17, 2012].
- Yu, F.-H. & Dong, M., 2003. Effect of light intensity and nutrient availability on clonal growth and clonal morphology of the stoloniferous herb *Halerpestes ruthenica*. *Acta Botanica Sinica*, 45(4), pp.408–416. Available at: [http://www.jjpb.net/.%5Cpubsoft%5Ccontent%5C2%5C2327%5CX020015\(PS2\).pdf](http://www.jjpb.net/.%5Cpubsoft%5Ccontent%5C2%5C2327%5CX020015(PS2).pdf) [Accessed August 9, 2014].
- Yu, F.-H., Chen, Y. & Dong, M., 2001. Clonal integration enhances survival and performance of *Potentilla anserina*, suffering from partial sand burial on Ordos plateau, China. *Evolutionary Ecology*, 15(4-6), pp.303–318.
- Zhang, Y. et al., 2008. Clonal integration of *Fragaria orientalis* driven by contrasting water availability between adjacent patches. *Botanical Studies*, 49(4), pp.373–383.
- Zhang, Y., Zhang, Q. & Sammul, M., 2012. Physiological integration ameliorates negative effects of drought stress in the clonal herb *Fragaria orientalis*. *PloS one*, 7(9), p.e44221. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3434211&tool=pmcentrez&endertype=abstract> [Accessed July 21, 2014].