

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Obor: Experimentální biologie rostlin



Bc. Ondřej Gargoš

Mechanismy reakce exodermis na dostupnost živin v prostředí

Mechanisms of exodermal response to nutrient availability in the environment

Diplomová práce

Školitel: RNDr. Edita Tylová, Ph.D.

Konzultanti: Mgr. Zuzana Bauriedlová, RNDr. Aleš Soukup, Ph.D.

Praha, 2021

Prohlášení

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

V Praze, 26.4.2021

Bc. Ondřej Gargoš

Poděkování

Na tomto místě bych velice rád poděkoval RNDr. Editě Tylové Ph.D. za vedení mé diplomové práce. Chtěl bych jí poděkovat za nekonečnou trpělivost a za energii, kterou mi vlévala do žil během celého výzkumu. Moc rád bych jí poděkoval také za lidský přístup, za to, že jsem se na ní mohl obrátit prakticky se vším a ona byla vždy ochotna mi pomoci. Dále bych chtěl poděkovat Ing. Yvettě Šefrnové za její pomoc při práci v laboratoři a za to, že mi svou upovídaností a smyslem pro humor dokázala zlepšit celý den. Děkuji také Mgr. Zuzaně Bauriedlové.

Obrovské díky za to, že je můj život takový, jaký je, za zázemí, psychickou podporu, pomoc a vždy vlídná slova patří mé mamince, tatínkovi, sourozencům, Vojtovi Lopouroví, Adéle Varvažovské a všem mým blízkým.

Abstrakt v českém jazyce

Apoplastické bariéry kořene (endodermis a exodermis) představují důležitý regulační mechanismus pro příjem vody a látek z prostředí, zajišťující jeho selektivitu. Obě vrstvy navíc reagují na stresové faktory změnou rychlosti a stupně modifikací buněčných stěn, což ovlivňuje transportní vlastnosti kořene a představuje adaptaci rostliny na vysokou heterogenitu půdního prostředí. Apoplastické bariéry reagují také na dostupnost minerálních živin. Tato problematika je recentně intenzivně studována a stále zde trvá řada nejasností. Zajímavé je, že při deficienci některých minerálních živin se stimuluje diferenciace bariér, při deficienci jiných dochází naopak ke zpomalení diferenciace. Na deficienci stejného prvku navíc různé rostlinné druhy reagují odlišně. Dalším zajímavým aspektem je skutečnost, že je reakce endodermis a exodermis lokalizovaná a probíhá především v té části kořenového systému, která je stresovému faktoru přímo vystavena. Tento fenomén byl pozorován při působení toxicity kadmia, recentně však byl popsán také při lokálně působící deficienci minerálních živin (dusíku a draslíku) u *Zea mays*.

Tato diplomová práce se zabývá funkčním významem lokalizovaného urychlení nebo zpomalení diferenciace apoplastických bariér v reakci na deficienci dusíku a draslíku a redistribucí těchto prvků mezi jednotlivými částmi rostlinného těla u *Zea mays*. Dále bylo testováno, zdali je možno pozorovat lokalizovanou odpověď také u jiných rostlinných druhů než jen u *Zea mays*. Byly testovány vybrané druhy z čeledi *Poaceae*, konkrétně *Hordeum vulgare*, *Avena sativa* a *Sorghum bicolor*. Následně byla pozornost zaměřena na regulační mechanismy této odpovědi a byly měřeny hladiny vybraných fytohormonů v rostlinách pěstovaných v dělených (split-root) kultivacích. Souběžně byl testován vliv externě dodaných fytohormonů na diferenciaci apoplastických bariér.

Klíčová slova: exodermis, endodermis, apoplastické bariéry, lokalizovaná odpověď, split-root kultivace, deficienze, fytohormony, ABA, NAA, ACC, BAP, kukuřice, ječmen, oves, čirok, dusík, draslík

Abstract in English

The apoplastic barriers of the root (endodermis and exodermis) represent an important regulatory mechanism for the uptake of water and nutrients from the environment, ensuring its selectivity. In addition, both layers respond to stress factors by altering its rate and degree of cell wall modification, which affects the transport properties of the root and represents adaptive plants to high heterogeneity of the soil environment. Apoplastic barriers also respond to the availability of mineral nutrients. This issue has recently been intensively studied and a number of ambiguities persist. Interestingly, the deficiency of some mineral nutrients stimulates the differentiation of barriers, while the deficiency of other mineral nutrients delays the differentiation. In addition, different plant species react differently to the deficiency of the same element. Another interesting aspect is the fact that the reaction of the endodermis and exodermis is localized and takes place mainly in that part of the root system which is directly exposed to the stress factor. This phenomenon has been observed with cadmium toxicity, but more recently with local nutrient deficiencies (nitrogen and potassium) in *Zea mays*.

This diploma thesis deals with the functional significance of localized enhancing or delaying of differentiation of apoplastic barriers in response to nitrogen and potassium deficiency and redistribution of these nutrients between individual parts of the plant body in *Zea mays*. It was further tested whether a localized response could be observed in plant species other than *Zea mays*. Selected species from the family *Poaceae* were tested, namely *Hordeum vulgare*, *Avena sativa* and *Sorghum bicolor*. Subsequently, attention was focused on the regulatory mechanisms of this response and the levels of selected phytohormones in plants grown in split-root cultures were measured. Simultaneously, there was testing of the effect of externally supplied phytohormones on the differentiation of apoplastic barriers.

Key words: exodermis, endodermis, apoplastic barriers, localized answer, split-root cultivation, deficiency, phytohormones, ABA, NAA, ACC, BAP, corn, barley, oat, sorghum, nitrogen, potassium

Obsah

Seznam zkratk.....	8
1. Úvod.....	10
2. Literární úvod.....	13
2.1 Apoplastické bariéry.....	13
2.1.1 Endodermis.....	14
2.1.2 Exodermis.....	16
2.2 Vliv prostředí na vývoj apoplastických bariér.....	17
2.3 Příjem a transport živin v rostlině	20
2.3.1 Transport živin v kořeni a role apoplastických bariér	20
2.3.2 Diferenciace apoplastických bariér v reakci na deficienci živin	23
2.3.3 Lokalizovaná reakce kořenového systému na heterogenní dostupnost živin	25
2.3.4 Distribuce živin v rostlině, retranslokace živin	28
2.4 Role fytohormonů v regulaci diferenciace apoplastických bariér kořene v odpovědi na dostupnost živin v prostředí	31
3. Metodika.....	35
3.1 Diferenciace exodermis a endodermis v reakci na deficienci živin, distribuce živin v rostlině a změny hladin fytohormonů u <i>Zea mays</i> L.....	35
3.1.1 Experiment 1.1 – Lokalizovaná reakce kořenového systému <i>Zea mays</i> L. při deficienci dusíku	35
3.1.1.1 Rostlinný materiál a kultivace rostlin.....	35
3.1.2 Experiment 1.2 – Lokalizovaná reakce kořenového systému <i>Zea mays</i> L. při deficienci draslíku	38
3.1.3 Anatomická analýza kořenů z experimentu 1.1 a 1.2.....	38
3.1.4 Analýzy obsahu dusíku a draslíku v sušině z experimentu 1.1 a 1.2.....	40
3.1.5 Analýza obsahu fytohormonů v kořenech rostlin z experimentu 1.1 a 1.2	41
3.1.6 Statistické vyhodnocení experimentu 1.1 a 1.2	41
3.2 Analýza lokalizované odpovědi exodermis a endodermis na různou dostupnost živin u dalších rostlinných druhů.....	42
3.2.1 Experiment 2 – Lokalizovaná reakce kořenového systému vybraných druhů čeledi Poaceae na deficienci dusíku.....	42
3.2.1.1 Rostlinný materiál a kultivace rostlin.....	42
3.2.1.2 Anatomická analýza kořenů	43
3.2.1.3 Statistické vyhodnocení.....	43
3.3 Vliv externě dodaných fytohormonů na diferenciaci apoplastických bariér v kořenovém systému <i>Zea mays</i> L.	44
3.3.1 Experiment 3 – Analýza vlivu ABA, BAP, NAA a ACC na kořenový systém <i>Zea mays</i> L.....	44

3.3.1.1 Rostlinný materiál a kultivace rostlin.....	44
3.3.1.2 Anatomická analýza	45
3.3.1.3 Statistické vyhodnocení.....	45
4. Výsledky.....	47
4.1 Experiment 1.1 a 1.2 – Diferenciace exodermis a endodermis v reakci na různou dostupnost živin, distribuce živin v rostlině a změny hladin fytohormonů u <i>Zea mays</i> L.....	47
4.1.1 Růst rostlin <i>Zea mays</i> L. při deficienci dusíku a draslíku	47
4.1.1.1 Délky kořenů, obsah vody a hmotnosti sušiny prýtů.....	47
4.1.1.2 Analýza obsahu dusíku a draslíku v biomase rostlin.....	49
4.1.1.3 Anatomická analýza kořenů	52
4.1.1.4 Fytohormonová analýza kořenů	55
4.1.1.4 Analýza korelace mezi obsahem prvků, hladinou fytohormonů a stupněm diferenciace apoplastických bariér v kořenech <i>Zea mays</i>	61
4.2 Experiment 2 – Analýza lokalizované odpovědi diferenciace exodermis a endodermis v reakci na heterogenní dostupnost živin u dalších rostlinných druhů.....	64
4.3 Experiment 3 – Analýza vlivu ABA, BAP, NAA a ACC na kořenový systém <i>Zea mays</i>	68
4.3.1 Kyselina abscisová	68
4.3.2 Cytokininy	73
4.3.3 Auxiny	80
4.3.4 Etylen.....	91
5. Diskuse	103
5.1 Funkční význam lokalizované odpovědi apoplastických bariér.....	104
5.1.1 Lokalizovaná odpověď u jiných rostlinných druhů.....	107
5.2 Role fytohormonů v regulaci diferenciace apoplastických bariér v kořenech <i>Zea mays</i> při nedostatku dusíku a draslíku	107
5.2.1 Kyselina abscisová	108
5.2.2 Etylen.....	111
5.2.3 Auxiny, cytokininy a ostatní analyzované fytohormony.....	113
6. Závěr.....	114
7. Seznam literatury.....	116

Seznam zkratek

ABA	Kyselina abscisová (z angl. Absciscic Acid)
ACC	Kyselina 1-aminocyklopropan-1-karboxylová (z angl. 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylic Acid)
AKT1	Draselný kanál (z angl. K ⁺ Transport Channel)
AMT1;3	Transportér amonného iontu (z angl. Ammonium Transporter 1;3)
AUX1	Transportér auxinu (z angl. Auxin transporter protein 1)
BAP	6-benzylaminopurin
BOR1	Transportér boru (z angl. Boron Efflux Carrier 1)
BOR4	Transportér boru (z angl. Boron Efflux Carrier 4)
CASP	Proteiny membránové domény Casparyho proužku (z angl. Casparian Strip Membrane Domain Proteins)
CSD	Membránová doména Casparyho proužku (z angl. Casparian Strip Membrane Domain)
cZ	Cis-zeatin
DPA	Kyselina dihydrofazeová (z angl. Dihydrophaseis Acid)
ESB1	Dirigent protein ESB1 (z angl. Enhanced Suberin 1)
FRO2	Reduktáza FRO2 (z angl. Ferric Reductase Oxidase 2)
HAK1	Vysokoafinitní transportér draslíku (z angl. High Affinity K ⁺ 1)
HAK5	Vysokoafinitní transportér draslíku (z angl. High Affinity K ⁺ 5)
IAA	Kyselina indol-3-octová (z angl. Indole-3-Acetic Acid)
IAA-Asp	Indolyl-acetyl-aspartát (z angl. IAA-Aspartate)
IBA	Kyselina indol-3-máselná (z angl. Indole-3-Butyric Acid)
JA	Kyselina jasmonová (z angl. Jasmonic Acid)
IRT1	Transportér železa (z angl. Iron Regulated Rransporter 1)
LSI1	Transportér křemíku (z angl. Low Silicon Rice 1)
LSI2	Transportér křemíku (z angl. Low Silicon Rice 2)
MYB36	Transkripční faktor s MYB doménou (z angl. Myb Domain Protein 36)
NAA	Kyselina naftalen-1-octová (z angl. 1-naphthaleneacetic Acid)

NIP5;1	Kanál pro transport kyseliny borité (z angl. Nodulin26-Like Major Intrinsic Proteins 5;1)
NIP6;1	Kanál pro transport kyseliny borité (z angl. Nodulin26-Like Major Intrinsic Proteins 6;1)
NRAMP5	Transportér manganu (z angl. Natural Resistance Associated Macrophage Protein 5)
NRT1.1/CHL1	Transportér nitrátu (z angl. Nitrate Transporter 1.1/Chlorate Resistant 1)
NRT1.7	Nízkoafinitní transportér nitrátu (z angl. Nitrate Transporter 1.7)
OPT3	Transportér železa (z angl. Oligopeptide Transporter 3)
PAA	Kyselina fenylactová (z angl. Phenylacetic Acid)
PER64	Peroxidáza 64 (z angl. Peroxidase 64)
PHT1;1	Vysokoafinitní transportér fosfátu (z angl. Phosphate Transporter 1;1)
PIN	Transportéry auxinu (z angl. Pinformed Proteins)
PYL8	Receptor ABA (z angl. Pyrabactin Resistance1-Like8)
ROL	Radiální ztráty kyslíku (z angl. Radial Oxygen Loss)
SA	Kyselina salicylová (z angl. Salicylic Acid)
SGN4/RBOHF	Oxidáza podílející se na lignifikaci Casparyho proužků (z angl. Schengen4/Respiratory Burst Oxidase Homolog F)
SHR	Transkripční faktor (z angl. Short-Root)
SPAD	Polyalifatická doména suberinu (z angl. Suberin Polyaliphatic Domain)
SPPD	Polyfenolická doména suberinu (z angl. Suberin Polyphenolic Domain)
SULTR1;1	Transportér sulfátu (z angl. Sulphate Transporter 1;1)
SULTR1;2	Transportér sulfátu (z angl. Sulphate Transporter 1;2)
TIR1	Receptor auxinu (z angl. Transport Inhibitor Response 1)
tR	Trans-zeatin

1. Úvod

Tato diplomová práce se zabývá funkčními a regulačními mechanismy diferenciací apoplastických bariér v kořenech a navazuje na práci Mgr. Jiřího Namyslova (Namyslov *et al.*, 2020) a Mgr. Zuzany (Blascheové) Bauriedlové (Blascheová, 2016). Práce byla vypracována v laboratoři Fyziologické anatomie rostlin PřF UK ve spolupráci s GÚ PřF UK, ÚEB AV ČR a VÚRV.

V kořenech cévnatých rostlin se diferencují apoplastické bariéry, které se mohou nacházet ve dvou vrstvách. První vrstvou je endodermis, která je esenciální a najdeme ji v kořenech téměř všech cévnatých rostlin. Druhou vrstvou je exodermis, která se diferencuje především u rostlin krytosemenných (Damus *et al.*, 1997).

Apoplastické bariéry jsou důležitými činiteli při regulaci toku vody a látek pletivy kořene (Taiz, Zeiger and Moll, 2018). Endodermální i exodermální vrstva navíc reagují na změny podmínek prostředí a stresové faktory změnou rychlosti a míry diferenciací buněčných stěn, což bylo opakovaně demonstrováno (Reinhardt and Rost, 1995; Meyer, Seago and Peterson, 2009; Lux *et al.*, 2011). Stresovými faktory jsou ovlivněny obě vrstvy, ve větší míře však vrstva exodermální, která funguje jako přídatná apoplastická bariéra s ochrannou funkcí (Enstone, Peterson and Ma, 2003). Sucho, zasolení nebo přítomnost toxických látek v rhizosféře diferenciací apoplastických bariér urychlují (Zimmermann and Steudle, 1998; Ederli *et al.*, 2004; Meyer, Peterson and Steudle, 2011; Redjala *et al.*, 2011).

Silným stresovým faktorem je také deficiencie minerálních živin a jak již bylo prokázáno, i tento stres ovlivňuje rychlost a míru diferenciací apoplastických bariér (endodermis i exodermis), což ovlivňuje transportní vlastnosti kořene s dopadem na příjem živin i vody (Barberon *et al.*, 2016; Namyslov, 2018; Armand *et al.*, 2019; Namyslov *et al.*, 2020). Je nutno podotknout, že deficiencie některých prvků diferenciací apoplastických bariér urychluje, zatímco jiných ji zpomaluje (Barberon *et al.*, 2016; Armand *et al.*, 2019; Namyslov *et al.*, 2020). Reakce je tedy nejednotná a do jisté míry i druhově specifická. Vysvětlení tohoto jevu není jednoznačné a je stanoveno více hypotéz. Tyto hypotézy zdůrazňují např. rozdíly v pohyblivosti jednotlivých minerálních živin v rhizosféře a pletivech rostlin (Barberon *et al.*, 2016) nebo význam regulace toku vody v podmínkách deficiencie (Armand *et al.*, 2019).

Zrychlená diferenciace apoplastických bariér při deficienci může fungovat jako prevence zpětného toku minerálních iontů z kořene do rhizosféry, omezí však zároveň příjem vody i minerálních iontů z prostředí (Enstone, Peterson and Ma, 2003). To platí zvláště u vrstvy exodermální, u které vzhledem k její lokalizaci dojde při rychlejší diferenciaci k omezení vstupu látek do apoplastu primární kůry a zmenšení plochy membrán potenciálně zapojených v příjmu látek z prostředí (Kamula, Peterson and Mayfield, 1994). Prvním předpokladem tedy bylo, že rostlina bude v případě deficiencie zpomalovat diferenciaci exodermální vrstvy, což bylo pozorováno např. u *Ricinus communis* při deficienci dusíku (Schreiber, Franke and Hartmann, 2005). Tento předpoklad ale neplatí u všech rostlin, protože *Zea mays* vykazuje při deficienci dusíku signifikantně rychlejší diferenciaci exodermis i endodermis (Namyslov, 2018; Namyslov *et al.*, 2020). Stejná situace je také u *Hordeum vulgare* (Armand *et al.*, 2019), kde tento trend autor připisuje regulaci příjmu vody a poměru nadzemní a podzemní části (R/S poměru) ve prospěch růstu kořenů.

Recentně bylo navíc v našem týmu s pomocí dělené (split-root) kultivace ukázáno, že odpověď exodermální vrstvy na deficienci minerálních živin je u *Zea mays* i lokalizovaná, tj. probíhá pouze lokalizovaně v té části kořenového systému, která je deficienci přímo vystavena (Namyslov, 2018; Namyslov *et al.*, 2020). Otázkou je, jak důležitá tato lokalizovaná odpověď je, jaký je její funkční význam a jaké regulační mechanismy ji řídí. Lze předpokládat, že může přispět ke zvýšení celkové efektivity kořenového systému několika způsoby. Rychlejší diferenciace exodermis v deficientním prostředí může vést např. ke snížení příjmu vody z deficientní části půdy, a naopak stimulaci příjmu z části půdy bohatší na živiny. To podpoří hromadný tok vody k povrchu kořene a spolu s ním i pohyb nedostatkové živiny, která je tímto způsobem efektivněji přijímána. Druhou možností je zabránění úniku iontů z části kořenového systému rostoucího v deficienci zpět do rhizosféry (Barberon *et al.*, 2016).

V rámci této diplomové práce bylo analyzováno několik aspektů lokalizované odpovědi. V souvislosti s možností prevence úniku živin zpět do rhizosféry bylo analyzováno, kolik deficientního prvku je retranslokováno z části kořenového systému rostoucí v dostatku daného prvku do části rostoucí v deficienci. Dále bylo zjišťováno, zda se podobná lokalizovaná odpověď vyskytuje také u jiných rostlinných druhů (konkrétně *Hordeum vulgare*, *Avena sativa* a *Sorghum bicolor*).

Dalším cílem této práce byla analýza regulačních mechanismů této odpovědi. Z práce (Barberon *et al.*, 2016) vyplývá, že klíčovou roli by mohly hrát fytohormony, např. kyselina abscisová nebo ethylen. Hladiny vybraných fytohormonů byly v této práci měřeny v kořenech vystavených lokální deficienci minerálních živin a také byla analyzována rychlost a míra diferenciací apoplastických bariér při externím dodání vybraných fytohormonů.

Konkrétní cíle práce byly:

- Analyzovat postup diferenciací apoplastických bariér v kořenech vystavených lokální deficienci vybraných minerálních živin u několika druhů rostlin
- Sledovat distribuci nedostatkové živiny v rostlině, a především mezi jednotlivými částmi kořenového systému při vystavení lokální deficienci
- Analyzovat změny v hladinách fytohormonů v kořenech při vystavení lokální deficienci minerálních živin
- Testovat vliv externě dodaných fytohormonů na postup diferenciací apoplastických bariér

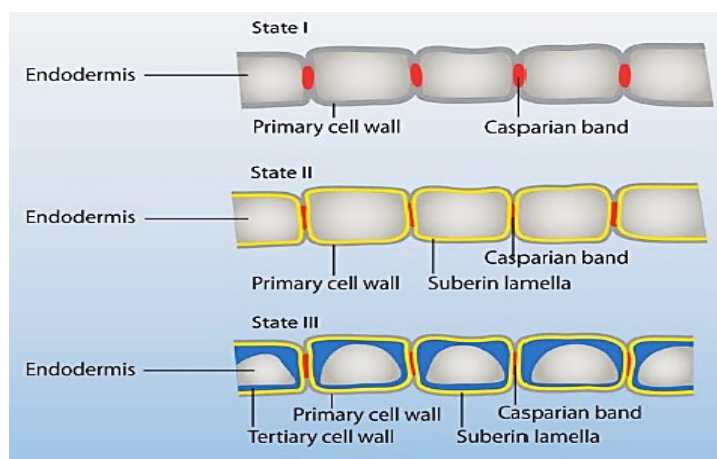
2. Literární úvod

2.1 Apoplastické bariéry

Látky přijímané z prostředí se pletivy kořene rostliny pohybují dvěma cestami – apoplastickou a symplastickou. V případě apoplastického transportu se roztok pohybuje pouze apoplastem, tj. skrze buněčné stěny a mezibuněčné prostory a nevstupuje do protoplastu buněk. V druhém případě, tedy u symplastického transportu, látky přecházejí přes plazmatickou membránu do buňky, pohybují se protoplastem a díky plasmodesmům je umožněn jejich průchod do dalších buněk. Apoplastický transport je energeticky méně náročný, představuje však riziko ve své neregulovatelnosti (Taiz, Zeiger and Moll, 2018).

Pro omezení apoplastického transportu jsou v kořenech rostlin přítomny tzv. apoplastické bariéry – endodermis a exodermis. Endodermis je vnitřní vrstva primární kůry a skládá se ze souvislé vrstvy živých buněk bez mezibuněčných prostor. Exodermis se vytváří ve svrchní vrstvě primární kůry kořene a v závislosti na konkrétním druhu rostliny může být tvořena jednou nebo více vrstvami stejnocenných i nestejnocenných buněk. Díky modifikacím buněčných stěn tvoří endodermis a exodermis efektivní bariéru pro volný vstup látek apoplastem (Caspary, 1865; von Höhnelt, 1878; Enstone, Peterson and Ma, 2003). Látky jsou nuceny přejít do protoplastu buněk a jsou během přechodu přes plazmatickou membránu selektovány. Rostlina tímto způsobem reguluje příjem vody a živin a zároveň brání vstupu nežádoucích látek (těžkých kovů, mikroorganismů, aj.). Apoplastické bariéry zároveň slouží pro zamezení zpětného toku vody a živin v momentě, kdy rostlina netranspiruje (Peterson, Murrmann and Steudle, 1993). Endodermis vytvářejí všechny cévnaté rostliny, výjimku tvoří *Lycopodium* (Damus *et al.*, 1997). Oproti tomu exodermis chybí u rostlin nahosemenných a většiny rostlin výtrusných, je však relativně častá u rostlin krytosemenných (Perumalla, Peterson and Enstone, 1990; Damus *et al.*, 1997). V endodermis a exodermis dochází k postupným modifikacím buněčných stěn. První stupeň vývoje představují Casparyho proužky, druhým stupněm jsou suberinové lamely a třetím stupněm jsou sekundární buněčné stěny. Rostliny mohou vytvářet všechny tři typy modifikací (obr. č. 1), ale mohou také v ontogenezi zůstat v prvním nebo druhém stupni vývoje apoplastických bariér. Nutno podotknout, že se apoplastické bariéry tvoří až v určité vzdálenosti za kořenovou špičkou, což je do značné míry variabilní, závisí na druhu a stavu rostliny, ale také na podmínkách

prostředí (Peterson, Murrmann and Steudle, 1993; Stasovski and Peterson, 1993; Damus *et al.*, 1997; Enstone, Peterson and Ma, 2003).



Obrázek č. 1, převzato ze Schreiber and Franke, 2011

Tři modifikace buněčných stěn v endodermis. Casparyho proužky v prvním (State I), suberinové lamely ve druhém (State II) a sekundárně ztloustlé buněčné stěny ve třetím stadiu (State III).

2.1.1 Endodermis

Casparyho proužky jsou oblasti příčných a radiálních buněčných stěn impregnované ligninem. Lignin je hydrofobní aromatický heteropolymer tvořený hydroxyskořicovými alkoholy tzv. monolignoly (Whetten and Sederoff, 1995; Campbell and Sederoff, 1996; Boerjan, Ralph and Baucher, 2003), popřípadě obsahuje další monomery (Zhao, 2016). Proces lignifikace zahrnuje syntézu a dopravení monolignolů do konkrétních oblastí, jejich následnou přeměnu na radikály a samotnou polymeraci. V případě endodermálního Casparyho proužku je pro přeměnu monolignolů na radikály klíčová peroxidáza PER64 (Peroxidase 64) a NADPH oxidáza SGN4/RBOHF (Schengen 4/Respiratory Burst Oxidase Homolog F) (Lee *et al.*, 2013). Správnou lokalizaci lignifikace do oblastí Casparyho proužků zajišťují CASP proteiny (Casparian Strip Membrane Domain Proteins), u *Arabidopsis* především AtCASP1 (Roppolo *et al.*, 2011), u rýže analogicky OsCASP1 (Wang *et al.*, 2019). Z počátku se CASP1 nachází v celé plazmatické membráně endodermální buňky difúzně, později se formuje do ostrůvkovitých útvarů, které připomínají perly na šňůrce. V posledním stadiu se CASP1 formuje do páskovitých útvarů v místě budoucího Casparyho proužku a vytváří tak membránovou doménu CSD (Casparian Strip Membrane Domain), membránové lešení pro lokalizovanou depozici ligninu (Roppolo *et al.*, 2011). Na správném uspořádání monolignolů do polymeru se podílejí dirigent proteiny DIR, jako příklad lze pro oblast Casparyho proužku uvést protein ESB1 (Enhanced Suberin 1) (Baxter *et al.*, 2009). V místě vzniklého Casparyho proužku dochází k silné asociaci buněčné stěny a plazmatické

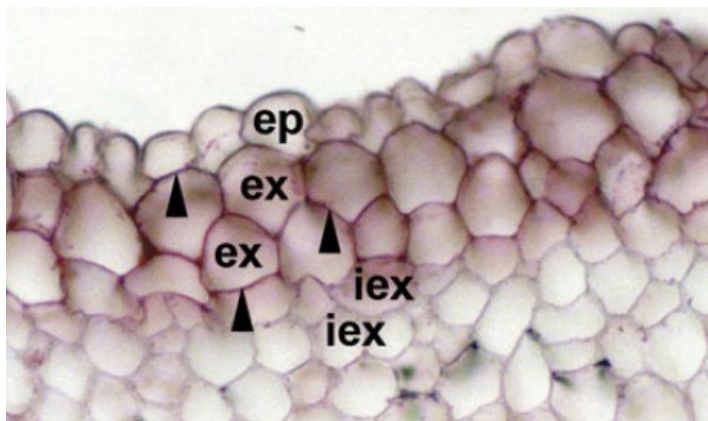
membrány. Pokud u rostlinné buňky dojde k plazmolýze a plazmatická membrána se odtrhne od buněčné stěny, v místě této asociace k odtržení nedojde. Tento jev se nazývá pásková plazmolýza (Haas and Carothers, 1975; Geldner, 2013). Casparyho proužky představují efektivní bariéru pro apoplastický transport. Jak již bylo zmíněno, hlavní složku Casparyho proužků je lignin (Naseer *et al.*, 2012), který může být u některých druhů doplněn i suberinem, který ale zřejmě není nezbytný (Zeier *et al.*, 1999).

Suberinové lamely jsou, jak již název napovídá, tvořeny suberinem (Zeier *et al.*, 1999). Suberin je hydrofobní polymer se dvěma doménami – polyfenolickou (Suberin Polyphenolic Domain, SPPD) a polyalifatickou (Suberin Polyaliphatic Domain, SPAD). Fenolickou doménu tvoří deriváty hydroxyskořicových kyselin, alifatickou doménu tvoří především glycerol a mastné kyseliny. Polymer může mít podobu rozvětveného nebo lineárního řetězce (Bernards, 2002). Suberinové lamely se ukládají mezi plazmatickou membránou a buněčnou stěnou po celé buňce kromě oblastí s plasmodesmy, aby nedošlo k přerušení symplastického toku (Clarkson *et al.*, 1987). Suberinové lamely tvoří pevnou asociaci s plazmatickou membránou (Haas and Carothers, 1975). Suberinové lamely se nejprve ukládají v endodermálních buňkách u floémových pólů, u xylémových pólů se neukládají vůbec, nebo později, ve starších částech kořene. Takové buňky bez suberinových lamel se označují jako propustné buňky (passage cells) a hrají roli v transportu živin (Peterson and Enstone, 1996). Suberinové lamely na rozdíl od Casparyho proužků tvoří bariéru pro apoplastický transport látek v radiálním směru přes vrstvu endodermis prostorem primární buněčné stěny. Spíše brání jejich přístupu k povrchu plazmatické membrány, čímž zamezují jejich vstup do buňky (Geldner, 2013; Andersen, Barberon and Geldner, 2015).

Uložení sekundárních buněčných stěn je posledním vývojovým stádiem buněčné stěny vyskytující se především u rostlin jednoděložných (Zeier and Schreiber, 1998). Představuje třetí stadium vývoje, proto jsou tyto stěny v literatuře často označovány jako terciární stěny. Díky uložení těchto stěn přednostně na periklinálních a radiálních buněčných stěnách se vytváří tvar “U“, proto se také často setkáváme s názvem U-ztlustliny. Mezi primární stěnu se suberinovými lamelami a plazmatickou membránou se ukládá sekundární buněčná stěna bohatá na celulózu, která může být následně impregnována ligninem (Zeier and Schreiber, 1998; Geldner, 2013). Pokud se zde vyskytuje suberin, tak pouze v minimálním množství (Zeier *et al.*, 1999). Předpokládá se, že hlavní funkcí těchto ztlustlin je mechanická opora (Enstone, Peterson and Ma, 2003).

2.1.2 Exodermis

Exodermis může mít, stejně jako endodermis, všechny tři výše zmíněné stupně vývoje modifikací buněčných stěn. Hlavní funkcí je regulace vstupu látek do primární kůry kořene. Ve srovnání s endodermis je více ovlivněna vnějšími podmínkami prostředí (Stasovski and Peterson, 1993; Enstone, Peterson and Ma, 2003). Oproti endodermis se většinou diferencuje dále za kořenovou špičkou. Tento vzorec vývoje se ale někdy může obrátit a exodermis se může diferencovat dříve než endodermis, a to například u mokřadních rostlin kořenících v zaplavovaném substrátu (Soukup, Votrubová and Čížková, 2002). U mokřadních rostlin exodermis také tvoří ochranu proti nežádoucímu úniku kyslíku z mezibuněčných prostor kořene do půdy, typicky například u některých zástupců čeledí *Cyperaceae*, *Poaceae*, atd. (Perumalla, Peterson and Enstone, 1990; Soukup *et al.*, 2007). Exodermis může být jednovrstevná, ale také vícevrstevná (obr. č. 2), a vyskytuje se ve dvou formách – uniformní a dimorfní (Enstone, Peterson and Ma, 2003). Uniformní exodermis je tvořena pouze stejnocennými buňkami. Suberinová lamela se ukládá do všech těchto buněk, jako je tomu v případě *Zea mays* (Enstone and Peterson, 1997) nebo *Pontederia cordata* (Seago, Peterson and Enstone, 2000). Oproti tomu dimorfní exodermis je tvořena dlouhými buňkami se suberinovou lamelou a krátkými buňkami bez ní. Krátké buňky suberinovou lamelu neukládají vůbec, nebo výrazně později, a slouží jako propustné buňky (Peterson and Enstone, 1996). Krátké a dlouhé buňky se pravidelně střídají. Tento typ exodermis najdeme např. u *Acorus calamus* (Soukup, Seago and Votrubová, 2005), *Asclepias tuberosa* (Sharda and Koide, 2008), *Allium cepa* (Perumalla, Peterson and Enstone, 1990; Stasovski and Peterson, 1993), nebo u *Hoya carnosa* (Olesen, 1978). Propustné buňky dimorfní exodermis slouží také jako vstupní brána pro mykorrhizní symbionty (Sharda and Koide, 2008).



Obrázek č. 2, převzato z Meyer *et al.* 2011

Suberinové lamely ve vícevrstevné exodermis u *Iris germanica*, barvené lipofilním barvivem Sudan Red7B.

Ep odpovídá buňkám epidermis, ex buňkám exodermis, iex nevyzrálým buňkám exodermis.

Exodermální Casparyho proužky zabírají téměř celý prostor radiálních stěn a na jejich tvorbu navazuje ukládání suberinových lamel bez časové prodlevy na rozdíl od endodermis, kde je tato prodleva běžná (Enstone and Peterson, 1997). Exodermální suberinové lamely se mohou ukládat i současně se vznikajícími Casparyho proužky, u některých rostlin lze dokonce jejich prekuzory detekovat ještě před vznikem samotných Casparyho proužků (Soukup, Votrubová and Čížková, 2002). V poslední fázi může nastat uložení sekundárních buněčných stěn, podobně jako v endodermis. Exodermis nemusí být souvislá vrstva, bývá přerušena v místech vzniku laterálních kořenů, které pronikají primární kůrou. V tomto místě se tvoří „okénka“, která usnadňují vynoření postranního kořene, zároveň však představují místo, kde je tok látek apoplastem do středního válce výraznější (Soukup, Votrubová and Čížková, 2002). Tato okénka nejsou superfinišovaná a chybí v nich i Casparyho proužky (Soukup, Votrubová and Čížková, 2002; Ejiri and Shiono, 2020).

2.2 Vliv prostředí na vývoj apoplastických bariér

Kořen je plastický orgán, který dokáže reagovat na dlouhodobé i krátkodobé změny v podmínkách prostředí. Jedná se například o nedostatek některých živin, vodní deficit, nebo naopak zaplavení kořenů, vysokou koncentraci solí a těžkých kovů, nízké nebo vysoké teploty a mnoho dalších. Kořenové systémy rostlin mají různé mechanismy, kterými reagují na podmínky prostředí. Jedním z mechanismů může být změna morfologie kořenového systému. Jako příklad lze uvést studii (Zhang *et al.*, 2020), kdy se *Tilia tomentosa* vyrovnává s nedostatkem vody prorůstáním kořenů do hlubších vrstev, zatímco *Tilia cordata* zvyšuje tvorbu kořenového vlášení ve svrchních částech horizontu. Tato studie také demonstruje fakt, že se odpovědi rostlin na nepříznivé podmínky mohou značně lišit jak na úrovni rodů, tak druhů. Dalším mechanismem může být zvýšená exprese genů pro transportéry při deficienci živin (Liu *et al.*, 1998; Misson *et al.*, 2004). Některé rostliny v odpovědi na změny zvyšují příjem a následně akumulují látky zmírňující dopady stresorů. Příkladem je křemík, který může zmírňovat následky způsobené vysokou salinitou nebo toxicitou některých prvků (Ma, 2004).

Důležitým a pro tuto práci stěžejním mechanismem je urychlení vývoje apoplastických bariér, a to především exodermis. Ta je v odpovědi na změny podmínek prostředí více plastická než endodermis, některé rostliny ji dokonce diferencují pouze v odpovědi na nepříznivé podmínky (Stasovski and Peterson, 1993; Reinhardt and Rost, 1995;

Taleisnik *et al.*, 1999; Hose *et al.*, 2001). V následujícím textu se, vzhledem k tématu diplomové práce, zaměřuji především na exodermis.

V souvislosti s dostupností vody v prostředí mohou nastat dvě stresové situace, a to nedostatek vody, nebo naopak zaplavení. Na sucho odpovídá kořenový systém urychlením diferenciací apoplastických bariér, jak potvrzují práce sledující exodermis *Iris germanica* (Meyer, Peterson and Steudle, 2011) nebo *Zea mays* (Zimmermann and Steudle, 1998). Zvýšená suberinizace a uložení bariér blíže kořenové špičce má za následek snížení hydraulické vodivosti kořene v závislosti na druhu rostliny, ale také na typu a stáří kořenů u jedince (North and Nobel, 1991). Exodermis zabraňuje zpětnému toku vody z kořene do půdy. Dle studie (Taleisnik *et al.*, 1999) jsou při nedostatku vody u rostlin, které exodermis netvoří (např. *Pisum sativum*, *Vicia faba*) evidovány vysoké ztráty vody zpět do půdy. Oproti tomu u *Zea mays* nebo *Helianthus annuus*, které exodermis tvoří, byly zaznamenány ztráty daleko nižší. V obou případech, tedy u rostlin tvořících i netvořících exodermis, však platí, že největší ztráty vody byly detekovány v oblasti kořenové špičky (Taleisnik *et al.*, 1999), což je část kořene, kde ještě nejsou apoplastické bariéry plně diferencovány.

Opačným extrémem je zaplavení, kdy se kořenový systém musí často vyrovnávat s nedostatkem kyslíku – tzv. hypoxií, popřípadě anoxií sedimentu (Pedersen, Perata and Voisenek, 2017). Jak již bylo zmíněno, hypoxii jsou nejlépe přizpůsobené mokřadní rostliny. Aerenchym zásobuje pletiva kořenů kyslíkem a exodermis efektivně brání jeho úniku do okolního prostředí, tzv. radiálním ztrátám kyslíku (ROL) (Soukup, Votrubová and Čížková, 2002; Pedersen *et al.*, 2020). Diferenciací exodermis může být v podmínkách hypoxie ve srovnání s endodermis výrazně urychlena, nebo je její diferenciací indukována u rostlin, které by za normálních podmínek exodermis nevytvořily. To však nevylučuje skutečnost, že ji některé mokřadní rostliny (např. *Phragmites australis*) tvoří s předstihem i v dobře provzdušněných podmínkách (Seago, Peterson and Enstone, 2000; Soukup, Votrubová and Čížková, 2002; Soukup *et al.*, 2007). Fakt, že rostliny reagují na hypoxii a další problémy spojené se zaplavením diferenciací exodermis potvrzují i recentní studie. Jako příklad lze uvést studii s *Echinochloa* (Ejiri and Shiono, 2019).

Exodermis je zapojena i v reakci na zasolení. Rostliny se značně liší mírou tolerance k vyšší koncentraci solí v půdě nebo ve vodě (Lauchi and Epstein, 1984; Hasanuzzaman and Tanveer, 2020). Zasolení představuje riziko především ve snížení dostupnosti vody v půdě pro příjem kořeny rostlin, ale také kvůli toxicitě iontů, které se na zasolení podílí (Lauchi and

Epstein, 1984; Parida and Das, 2005). Na zvýšenou koncentraci solí reagují rostliny opět zrychleným vývojem apoplastických bariér (Walker *et al.*, 1984; Reinhardt and Rost, 1995; Meyer, Peterson and Steudle, 2011). Ze studie zaměřené na *Avicennia marina* (Cheng *et al.*, 2020) vyplývá, že sazenice mangrovníku vystavované vyšším koncentracím NaCl vykazují rychlejší diferenciaci apoplastických bariér (endodermis i exodermis), především ukládání suberinových lamel. Tím se stávají více tolerantní vůči vysokým koncentracím solí než sazenice, které tímto způsobem ošetřené nebyly. V některých případech může dojít k diferenciaci exodermis, ke které by za příznivějších podmínek nedošlo. Tento jev demonstrovali (Reinhardt and Rost, 1995) na rostlinách *Gossypium hirsutum*. U mladých rostlin vystavených vysoké koncentraci NaCl (200 mM) byla exodermis v kořenech detekována blízko za kořenovou špičkou, zatímco u rostlin vystavených nižší koncentraci NaCl (100 mM) a rostlin kontrolních nebyla exodermis v kořenech detekována vůbec.

Diferenciaci exodermis výrazně ovlivňuje také přítomnost těžkých kovů v rhizosféře. Těžké kovy, například kadmium (Cd), měď (Cu), železo (Fe), zinek (Zn) a další, působí při vyšší koncentraci toxicky a tolerance k nim se mezidruhově liší. U rostlin existuje více strategií, jak se s vysokou koncentrací těžkých kovů vyrovnat (Hose *et al.*, 2001; Siqueira-Silva, Rios and Pereira, 2019). Některé druhy dokážou přijímat těžké kovy kořenovým systémem a akumulovat je v nadzemních částech bez viditelných projevů toxicity. V takovém případě mluvíme o hyperakumulátorech, příkladem je *Arabidopsis halleri* a jeho schopnost akumulovat zinek (Deinlein *et al.*, 2012). Některé rostliny při vysoké koncentraci těžkých kovů diferencují rychleji a blíže kořenové špičce apoplastické bariéry a brání se tak vstupu kovů do apoplastu kořene. Jako příklad lze uvést *Phragmites australis* (Ederli *et al.*, 2004) nebo *Zea mays*, u které bylo pozorováno, že tato odpověď může být také lokalizovaná, tzn. že se suberinové lamely ukládají rychleji a blíže kořenové špičce v té části kořene, která je vysokým koncentracím kadmia přímo vystavena (Lux *et al.*, 2011). Další důkaz o tom, že podmínky prostředí a tvorba apoplastických bariér sehrávají klíčovou roli v souvislosti s těžkými kovy přináší studie (Huang *et al.*, 2019). Ta porovnává dva kultivary *Oryza sativa*. Z výsledků vyplývá, že kultivar s rychlejší tvorbou exodermis obsahuje v zrnech méně kadmia. V současné době představuje akumulace toxického kadmia v rostlinách problém především proto, že se tímto způsobem kadmium dostává do potravního řetězce.

Dostupnost živin v prostředí diferenciaci apoplastických bariér ovlivňuje také, což bude rozebráno v následujícím textu.

2.3 Příjem a transport živin v rostlině

Rostlina přijímá minerální látky celým povrchem těla, převážně však svým kořenovým systémem z půdy. Příjem minerálních látek může rostlina aktivně regulovat dle aktuálních potřeb i podle aktuální dostupnosti daného prvku v prostředí. Jak již bylo zmíněno, ionty minerálních látek se z rhizosféry pohybují v radiálním směru až do středního válce kořene apoplastickou nebo symplastickou cestou. Během tohoto pohybu ionty překonávají apoplastické bariéry v primární kůře kořene, což je nezbytné pro selekci přijímaných látek. Při následné distribuci minerálních látek na delší vzdálenost, tedy z kořene do nadzemní části rostliny, se uplatňuje apoplastický tok – transpirační tok xylémem (Marschner, 2011; Taiz, Zeiger and Moll, 2018). Při redistribuci živin, např. ze starších částí prýtu do mladších, se uplatňuje tok floémem. Redistribuce živin v rámci rostliny představuje další důležitý způsob, jakým dokáže rostlina efektivně hospodařit s přijatými živinami (Marschner, 2011). V následujícím textu budou přiblíženy vybrané aspekty této rozsáhlé problematiky, které jsou významné pro tuto diplomovou práci, zaměřenou na diferenciaci apoplastických bariér v odpovědi na deficienci živin a na variabilitu této odpovědi v rámci kořenového systému v reakci na heterogenní dostupnost živin.

2.3.1 Transport živin v kořeni a role apoplastických bariér

Buněčná stěna kořenových buněk je pro ionty minerálních látek propustná, bariéru představuje plazmatická membrána. Důležitým místem selekce minerálních iontů přijímaných z půdy představují endodermální buňky. Ionty jsou zde nuceny vstoupit do symplastu, a to kvůli apoplastické bariéře Casparyho proužků. Po uložení suberinových lamel v endodermálních buňkách musí ionty přejít do symplastu již dříve v primární kůře. V případě, že je v rostlině přítomná plně vyvinutá exodermis, ionty musí vstoupit do symplastu již v buňkách rhizodermis (Enstone, Peterson and Ma, 2003; Marschner, 2011). Je nicméně důležité zmínit, že ionty mohou být do symplastu přijaty víceméně kdekoli v průběhu radiální dráhy pohybu kořenem, např. již v kořenových vláscích nebo v buňkách střední části primární kůry bez ohledu na stupeň diferenciaci apoplastických bariér.

Vstup látek přes plazmatickou membránu je proces aktivní nebo pasivní, podle toho, zdali je při transportu spotřebována energie či nikoliv. Ionty minerálních látek jsou přijímány převážně sekundárně aktivním transportem pomocí specifických transportérů, to se však může

měnit v závislosti na dostupnosti daného prvku. Rostliny mohou regulovat příjem iontů minerálních živin zapojením vysokoafinitních nebo nízkoafinitních transportérů (Marschner, 2011; Taiz, Zeiger and Moll, 2018). Pokud jsou ionty daného prvku v roztoku přítomny v nízkých koncentracích, rostlina může zvýšit expresi genů pro vysokoafinitní transportéry, při vyšších koncentracích iontů se zapojují nízkoafinitní přenašeče a iontové kanály, které zajišťují pasivní transport. Jako příklad vysokoafinitních transportérů lze uvést transportéry sulfátu SULTR1;1 a SULTR1;2 (Sulphate Transporter1;1, 1;2) (Takahashi *et al.*, 2000; Yoshimoto *et al.*, 2007), transportér pro draslík HAK5 (High Affinity K⁺ 5) (Rubio *et al.*, 2014) nebo transportér fosfátu PHT1;1 (Phosphate Transporter 1;1) (Mitsukawa *et al.*, 1997; Misson *et al.*, 2004) u *Arabidopsis thaliana*. U některých transportérů můžeme navíc pozorovat i duální charakter, tzn. mohou fungovat jako vysokoafinitní nebo nízkoafinitní dle potřeby. Jako příklad takových transportérů *Arabidopsis thaliana* lze uvést draselný kanál AKT1 (K⁺ Transport Channel) (Hirsch *et al.*, 1998) nebo transportér nitrátu NRT1.1/CHL1 (Nitrate Transporter1.1/Chlorate resistant 1) (Liu and Tsay, 2003).

Některé transportéry jsou lokalizované na plazmatické membráně všech buněk od rhizodermální vrstvy až do středního válce, některé transportéry se mohou vyskytovat převážně v určitých částech kořene a to např. v závislosti na stáří kořene, míry diferenciace apoplastických bariér, dostupnosti živin a dalších faktorech (Alassimone, Naseer and Geldner, 2010; Liu *et al.*, 2015). Transportéry mohou být lokalizovány po celé plazmatické membráně, tedy po celém obvodu buňky, nebo mohou být lokalizovány polarizovaně (Gordon-Weeks *et al.*, 2003). Polarizovaný výskyt, tedy výskyt jen v určité doméně plazmatické membrány, usnadňuje příjem daných iontů, a to především v endodermálních a exodermálních buňkách, ve kterých jsou vyvinuty Casparyho proužky (Alassimone, Naseer and Geldner, 2010). Příkladem polarizovaně lokalizovaných transportérů jsou některé transportéry boru (Alassimone, Naseer and Geldner, 2010), křemíku (Ma *et al.*, 2006; Chiba *et al.*, 2008), manganu (Sasaki *et al.*, 2012), fosforu (Gordon-Weeks *et al.*, 2003), železa (Barberon *et al.*, 2014) a dalších iontů. V případě boru jsou takovými transportéry NIP5;1 (Nodulin26-Like Major Intrinsic Proteins) a BOR1 (Boron Efflux Carrier 1), které vzájemně spolupracují. NIP5;1 je kanál, který usnadňuje vstup kyseliny borité z apoplastu do buňky a je lokalizován ve vnější doméně plazmatické membrány endodermálních buněk. Zajišťuje tak příjem kyseliny borité difundující apoplastem kořene směrem z rhizosféry. BOR1 se nachází v plazmatické membráně na opačné straně endodermální buňky a zajišťuje výdej borátového aniontu blíže ke střednímu válci (Alassimone, Naseer and Geldner, 2010). Podobně fungují i

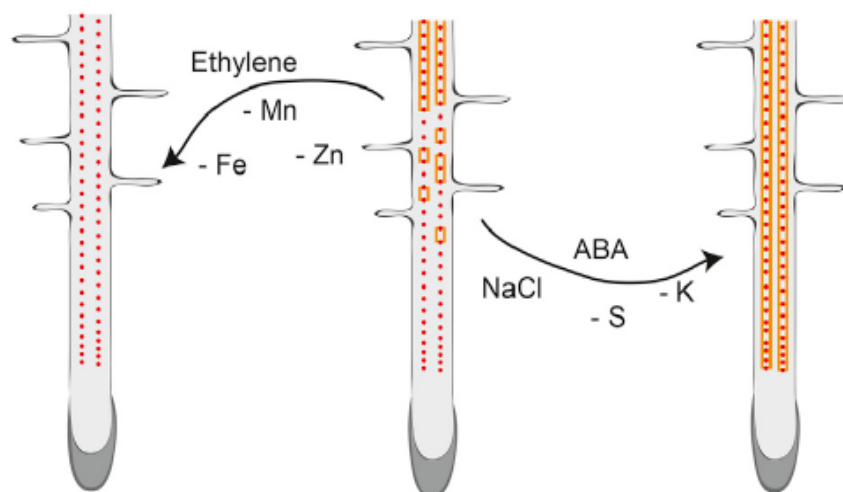
transportéry křemíku LSI1 a LSI2 (Low Silicon Rice 1, 2) u *Oryza sativa* (Ma *et al.*, 2006). LSI1 zajišťuje příjem kyseliny křemičité a LSI2 ji vydává na opačné straně buňky. U *Oryza sativa* se také setkáváme s polárně lokalizovaným transportérem NRAMP5 (Natural Resistance Associated Macrophage Protein 5) pro příjem manganového kationtu (Sasaki *et al.*, 2012). Některé transportéry se mohou u jednoho rostlinného druhu vyskytovat polarizovaně, ale u jiného druhu tomu tak být nemusí. Rozdíly zřejmě souvisí s tendencí daného druhu prvek hromadit, což bylo popsáno pro transportéry křemíku u obilnin s různou mírou akumulace tohoto prvku v pletivech (Mitani, Yamaji and Ma, 2009; Ma and Yamaji, 2015).

Jak již bylo naznačeno, apoplastické bariéry blokují apoplastickou cestu, výrazně ovlivňují propustnost kořene pro ionty minerálních látek a hydraulickou vodivost kořene (Zimmermann and Steudle, 1998). Pomocí tzv. apoplastických sond, tedy látek, které procházejí primárně apoplastickou cestou, můžeme ověřit propustnost apoplastu kořenů (Pecková, Tylová and Soukup, 2016). Jako apoplastická sonda byl v různých studiích použit například propidium jodid (Wang *et al.*, 2019), berberin (Meyer, Seago and Peterson, 2009) nebo kyselina ortoiodistá (Soukup, Votrubová and Čížková, 2002). U rostlin, které mají diferenciovanou apoplastickou bariéru pouze v endodermální vrstvě, je patrný průchod těchto látek apoplastickou cestou do celého prostoru primární kůry, a následně je zastaven endodermis. Oproti tomu u rostlin, které tvoří exodermis, se volný pohyb látek apoplastem z rhizosféry směrem do nitra kořene zastavuje právě v této vrstvě, tedy těsně za rhizodermis (Aloni, Enstone and Peterson, 1998). Funguje to i naopak – rostlina se pomocí exodermis brání únikům vody zpět do rhizosféry, což představuje ochranu proti vysychání (Steudle and Peterson, 1998). Exodermální vrstva také snižuje propustnost pro plyny a brání tak, jak již bylo zmíněno, úniku kyslíku ven z kořene. Toho využívají především mokřadní rostliny, např. *Phragmites australis* (Soukup *et al.*, 2007). Tato skutečnost je zjišťována mikroelektrodami, pomocí nichž lze změřit množství kyslíku v rostlinných pletivech (Armstrong *et al.*, 2000; Soukup *et al.*, 2007). Je pravděpodobné, že exodermis může bránit i úniku iontů minerálních živin zpět do rhizosféry. Tato možnost zatím nebyla příliš testována a je jednou z hypotéz zvažovaných v této diplomové práci.

2.3.2 Diferenciace apoplastických bariér v reakci na deficienci živin

Nedostatek živin nebo jejich špatná dostupnost v prostředí se projevují na kořenovém systému různými způsoby v závislosti na mnoha faktorech, kterými jsou například rostlinný druh, stáří rostliny nebo přítomnost více stresových faktorů najednou. Může jít o změny v morfologii kořene a architektuře kořenového systému, jakými jsou například prodlužování hlavního a postranních kořenů při mírné deficienci dusíku (Giehl and von Wirén, 2014) nebo zvýšená tvorba postranních kořenů vyšších řádů v reakci na nedostatek fosforu (Nibau, Gibbs and Coates, 2008). Deficience minerálních živin může také ovlivňovat hydraulickou vodivost kořene, jako je tomu např. u *Gossypium hirsutum* vystavenému deficienci dusíku nebo fosforu (Radin and Matthews, 1989). Hydraulická vodivost se může po dodání chybějících živin v některých buňkách částečně obnovit, jak bylo pozorováno u *Hordeum vulgare* (Armand *et al.*, 2019). Snížení hydraulické vodivosti souvisí s rychlostí a intenzitou diferenciace apoplastických bariér, konkrétně je vodivost nižší, čím jsou bariéry diferencovanější. Hydraulická vodivost nesouvisí pouze s mírou diferenciace apoplastických bariér, ale také například s aquaporiny (Hachez *et al.*, 2006; Coffey *et al.*, 2018).

Z dosavadních experimentů vyplývá, že reakce apoplastických bariér na deficienci je u jednoho rostlinného druhu rozdílná podle toho, o který konkrétní prvek se jedná. V práci (Barberon *et al.*, 2016) je tento fakt demonstrován na endodermální vrstvě *Arabidopsis thaliana*, kdy deficience některých prvků (železa, manganu a zinku) zpomalila ukládání suberinových lamel v endodermis, zatímco deficience jiných prvků (síry, draslíku) jejich ukládání urychlila (obr. č. 3). Casparyho proužky v tomto případě ovlivněny nebyly, respektive nebyly detailně sledovány.



Obrázek č. 3, převzato z Barberon *et al.* 2016

Diferenciace endodermální vrstvy Arabidopsis thaliana v závislosti na deficienci konkrétního prvku a role fytohormonů v regulaci této odpovědi.

Jak shrnuji v následujícím odstavci, rychlost a míra diferenciace apoplastických bariér v reakci na deficienci konkrétního prvku se také může lišit na úrovni rostlinných druhů.

Deficience železa zpomaluje suberinizaci v endodermální vrstvě u *Arabidopsis thaliana* (Barberon *et al.*, 2016), *Zea mays* (Namyslov, 2018; Namyslov *et al.*, 2020). U *Zea mays* deficience železa zpomaluje i diferenciaci exodermální vrstvy, a to vznik Casparyho proužků i ukládání suberinových lamel (Namyslov, 2018; Namyslov *et al.*, 2020). Deficience draslíku zpomaluje diferenciaci endodermální i exodermální vrstvy v kořenech *Zea mays* (Namyslov, 2018; Namyslov *et al.*, 2020), v endodermis *Arabidopsis thaliana* ale indukuje opačný trend, suberinizace je tedy rychlejší (Barberon *et al.*, 2016). Deficience fosforu výrazně urychluje diferenciaci endodermis i exodermis *Zea mays* (Namyslov, 2018; Namyslov *et al.*, 2020), *Leymus chinensis* (Li *et al.*, 2020) i *Hordeum vulgare*. (Janoušková, 2018; Armand *et al.*, 2019). Deficience dusíku urychluje diferenciaci endodermální i exodermální vrstvy *Zea mays* (Namyslov, 2018; Namyslov *et al.*, 2020) i *Hordeum vulgare* (Armand *et al.*, 2019). *Ricinus communis* vykazuje při deficienci dusíku naopak zpomalenou diferenciaci exodermální vrstvy (Schreiber, Franke and Hartmann, 2005). Deficience vápníku způsobuje zpožděnou maturaci apoplastických bariér *Sedum alfredii* (Liu *et al.*, 2020). Deficience hořčíku posiluje suberinizaci u *Zea mays* (Pozuelo, Espelie and Kolattukudy, 1984).

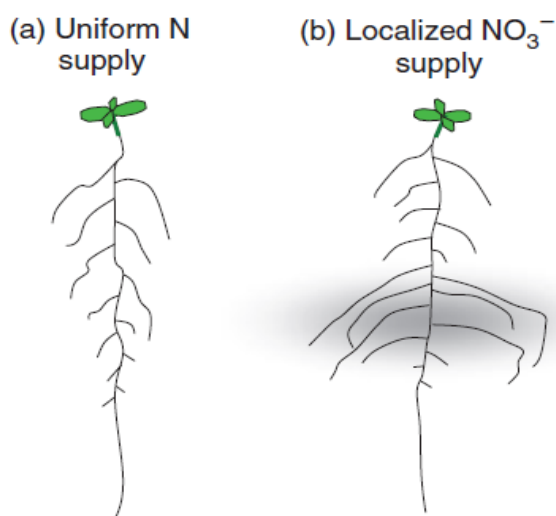
Rozdílné trendy při deficienci daného prvku ukazují na výraznou plasticitu a také na rozdílné strategie různých druhů rostlin. Samozřejmě je třeba brát zřetel na odlišné uspořádání experimentů. Vzhledem k rozdílným odpovědím na druhové úrovni není vyvození závěrů jednoduché. Rychlejší diferenciaci apoplastických bariér představuje výhodu v řadě stresových situací, např. omezuje vstup toxických látek do primární kůry, nebo omezuje ztráty vody při nadměrném suchu, jak již bylo uvedeno. Rychlejší diferenciaci a uzavření apoplastické cesty naopak snižuje hydraulickou vodivost kořene, znesnadňuje příjem vody a minerálních živin, a to zvláště v případě exodermální vrstvy, která je lokalizována těsně pod kořenovou pokožkou. Otázkou tedy je, proč některé rostliny v případě deficiencie urychlují diferenciaci apoplastických bariér. Jednou z hypotéz je regulace příjmu vody a tím pádem regulace poměru nadzemní a podzemní části (R/S poměru) (Armand *et al.*, 2019). V souvislosti s recentním prokázáním lokalizované odpovědi diferenciaci apoplastických bariér v kořenovém systému *Zea mays* se naskytly i jiné hypotézy. Jednou z nich je podpoření příjmu vody z části půdy bohaté na živiny. To by mohlo vést ke stimulaci hromadného toku vody k povrchu kořene a s ním i pohybu nedostatkové živiny směrem ke kořeni. Naopak v části půdy chudé na živiny by byl pohyb vody omezen, což by ve svém důsledku zvýšilo celkovou efektivitu čerpání živin z heterogenního půdního prostředí. Druhou hypotézou je prevence úniku iontů z kořene, který se nachází v deficientní části půdy, zpět do rhizosféry (Barberon *et al.*, 2016; Namyslov *et al.*, 2020).

2.3.3 Lokalizovaná reakce kořenového systému na heterogenní dostupnost živin

Půda představuje velice heterogenní prostředí, ve kterém je dostupnost minerálních živin i vody velmi nerovnoměrná a časově i prostorově proměnlivá. Jak již bylo naznačeno v předchozích kapitolách, rostlina se této heterogenitě dokáže aktivně přizpůsobovat. Jako příklady přizpůsobení lze uvést změny chemismu půdy v okolí kořenů vylučováním protonů nebo enzymů (Santi and Schmidt, 2009), změny architektury kořenového systému (López-Bucio, Cruz-Ramírez and Herrera-Estrella, 2003), změny v zastoupení nízkoafinitních a vysokoafinitních transportérů na membránách buněk kořene a jejich polarizovanou lokalizaci (Gordon-Weeks *et al.*, 2003; Misson *et al.*, 2004), změny distribuce biomasy mezi nadzemní a podzemní částí (Marschner, Kirkby and Cakmak, 1996), spolupráci s mikroorganismy (Azaizeh *et al.*, 1995) a v neposlední řadě změny rychlosti a míry diferenciaci apoplastických bariér (Barberon *et al.*, 2016; Armand *et al.*, 2019; Namyslov *et al.*, 2020). Vše také záleží na

aktuálním stavu, staří a zásobení rostliny daným prvkem. V následujícím textu se zabývám lokalizovanou odpovědí kořenového systému na heterogenitu půdního prostředí.

Lokalizovanou odpověď v reakci na různou dostupnost iontů minerálních živin můžeme pozorovat na změně architektury kořenového systému. Například kořenový systém *Hordeum vulgare* reaguje na lokální zvýšený obsah fosfátu, nitrátu nebo amonného iontu v substrátu stimulací růstu postranních kořenů v této oblasti a tím zvýší příjem daných iontů (Drew, 1975). Tato reakce je pozorována také u jiných rostlin, například u *Arabidopsis thaliana* v reakci na lokální dostupnost nitrátu (obr. č. 4) (Forde and Walch-Liu, 2009) nebo amonného iontu (Lima *et al.*, 2010) v médiu. Významnou roli v těchto reakcích hrají senzory daných iontů. Např. senzorem pro amonné ionty u *Arabidopsis thaliana* je s největší pravděpodobností vysokoafinitní transportér AMT1;3 (Ammonium Transporter 1;3) (Lima *et al.*, 2010) a pro nitrát transportér NRT1.1/CHL1, který je zároveň také transportérem pro auxin (Krouk *et al.*, 2010). Fytohormony sehrávají v souvislosti s lokalizovanou odpovědí také významnou roli, jejich funkcí se zabývám v samostatné kapitole níže.



Obrázek č. 4, převzato a upraveno z Forde and Walch-Liu 2009

Kořenový systém *Arabidopsis thaliana* při rovnoměrné dostupnosti nitrátu (a) a s lokálně zvýšenou dostupností nitrátu (b).

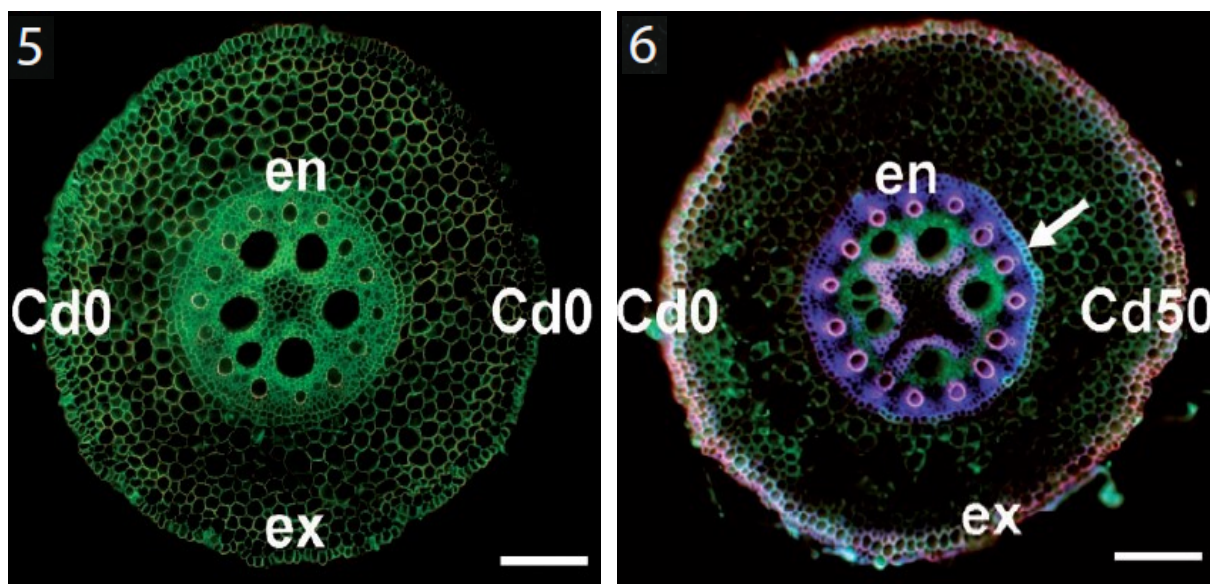
Lokalizované změny architektury kořenového systému byly pozorovány také u rostlin pěstovaných tzv. dělenou (split-root) metodou (Liu *et al.*, 2008; Namyslov *et al.*, 2020). Při této metodě je část kořenového systému jedné rostliny vložena do kontrolního média s kompletním zastoupením minerálních živin a druhá část kořenového systému stejné rostliny do média deficientního na daný prvek. Takto pěstovaná *Zea mays* v případě deficience dusíku

vykazuje výraznou lokalizovanou odpověď kořenového systému, co se týče růstu a větvení postranních kořenů. Kořeny vložené do kontrolního média vykazují po několika dnech kultivace masivní nárůst postranních kořenů s větší průměrnou i celkovou délkou (Liu *et al.*, 2008; Namyslov *et al.*, 2020).

Z našich recentních výzkumů plyne, že rostlina může lokálně reagovat na různou dostupnost živin také různou rychlostí diferenciací apoplastických bariér. To znamená, že se tato odpověď odehrává v té části kořene, která je bezprostředně deficienci dané minerální živiny vystavena (Namyslov *et al.*, 2020). Při použití dělené metody kultivace (split-root) s kontrolním médiem a s médiem deficientním na dusík nebo draslík *Zea mays* vykazuje rozdílnou diferenciací apoplastických bariér. Část kořenového systému rostoucí v médiu deficientním na dusík vykazuje silnější a rychlejší diferenciací exodermální i endodermální vrstvy oproti části rostoucí v kontrolním médiu. V dělené kultivaci s kontrolním a na draslík deficientním médiu detekujeme opačný trend, tedy část kořenového systému v deficientním médiu vykazuje zpomalení diferenciací apoplastických bariér oproti části v kontrolním médiu. Z těchto výsledků vyplývá, že kořenový systém reaguje na heterogenní dostupnost živin a zřejmě se tak snaží optimalizovat transportní vlastnosti.

Na úrovni jednoho kořene však lokalizovaná odpověď (nestejnoseměrná diferenciací apoplastických bariér) patrná není, což bylo dokázáno kultivací *Zea mays* pomocí sendvičové metody. Sendvičová kultivace byla prováděna pomocí dvou agarových ploten, jednou kontrolní a jednou deficientní na daný prvek. (Namyslov *et al.*, 2020).

S lokalizovanou změnou diferenciací apoplastických bariér v rámci jednoho kořene se nicméně setkáváme v reakci na toxicitu některých prvků. Při použití sendvičové metody reaguje kořenový systém *Zea mays* na zvýšený obsah kadmia v jedné z agarových ploten rychlejší lokalizovanou diferenciací apoplastických bariér (obr. č. 5 a 6) (Lux *et al.*, 2011; Líška *et al.*, 2016). Z těchto výsledků lze usuzovat, že toxicita, oproti deficienci dusíku nebo draslíku, u *Zea mays* vyvolává silnější lokalizovaný efekt na diferenciací apoplastických bariér v kořeni.



Obrázky č. 5 a 6, převzato a upraveno z Líška et al. 2016

Endodermální (en) a exodermální vrstva (ex) v kořenech *Zea mays*. Kontrolní rostliny (vlevo) pěstované mezi dvěma agarovými plotnami ($0 \mu\text{M}$ a $0 \mu\text{M}$ Cd) a rostliny pěstované mezi kontrolní agarovou plotnou ($0 \mu\text{M}$ Cd) a agarovou plotnou s obsahem $50 \mu\text{M}$ Cd) řezány ve stejné pozici. Bílá šipka ukazuje na vyvinuté suberinové lamely, které se nacházejí pouze v části endodermis, která je přivrácená k agarové plotně s kadmíem.

Měřítko = $200 \mu\text{m}$

2.3.4 Distribuce živin v rostlině, retranslokace živin

Ionty minerálních živin nebo produkty jejich asimilace, jsou v rostlině transportovány na dlouhé vzdálenosti xylémem i floémem. Živiny přijaté kořenovým systémem z vnějšího prostředí jsou do nadzemní části transportovány xylémem (Taiz, Zeiger and Moll, 2018). Nakládání iontů do xylému v kořenech a jejich koncentrace v xylémové šťávě je závislá na řadě faktorů, jakým je především aktuální potřeba daného prvku v nadzemní části rostliny a jeho dostupnost v prostředí (Marschner, Kirkby and Cakmak, 1996; Marschner, 2011). Minerální živiny také nemusí být vždy xylémem transportovány do nadzemní části ve formě anorganického iontu, který byl přijat z prostředí. Například u dusíku záleží na formě, v jaké je dostupný (Peuke and Jeschke, 1993; Peuke et al., 1996). Pokud je kořeny přijímán ve formě nitrátu, transportuje se jeho významná část v této formě xylémem do nadzemní části. Pokud je přijímán ve formě amonného iontu, zabudovává jej rostlina do organických sloučenin většinou již v kořenech a transportuje dusík xylémem do nadzemní části ve formě aminokyselin. Důvodem je riziko toxicity amonného iontu (Britto and Kronzucker, 2002).

Forma přijímaného dusíku také výrazně ovlivňuje složení xylémové šťávy a transport ostatních iontů. Transport dusíku ve formě aniontu (nitrátu) stimuluje pohyb kationtů xylémem, zatímco pokud je dusík přijímán převážně ve formě amonného kationtu, příjem a transport kationtů může být inhibován (Peuke and Jeschke, 1993; Peuke *et al.*, 1996).

Efektivita využití minerálních živin v rostlině je ovlivněna také jejich transportem mezi jednotlivými částmi rostliny floémem (retranslokace živin). Příkladem může být přesun živin z listů před opadem, přesun živin do semen během reprodukční fáze, retranslokace živin ze starých listů do mladých, které jsou významnější z hlediska fotosyntézy v případě deficiencie a také retranslokace iontů z nadzemní části do kořenového systému (Simpson, Lambers and Dalling, 1983; Del Arco, Escudero and Garrido, 1991; Wendler *et al.*, 1995). V některých případech dochází před samotnou retranslokací k mobilizaci dané živiny, např. rozkladem proteinů nebo chlorofylu (Gerendás, Zhu and Sattelmacher, 1998).

Z minerálních živin se u většiny rostlin hojně transportují floémem dusík, draslík, fosfor nebo hořčík, méně vápník, síra nebo železo (Uchida, 2000; Marschner, 2011). Pohyblivost daného prvku ve floému se zřejmě může mezidruhově lišit. Např. v případě vápníku, který je u většiny rostlinných druhů špatně pohyblivý, byla u *Hordeum vulgare* nebo *Triticum aestivum* pozorována jeho retranslokace ze senescentních listů (Maillard *et al.*, 2015). Kvůli rozdílné pohyblivosti jednotlivých prvků lze pozorovat různé projevy na listech při jejich deficienci, jak shrnuje např. (Uchida, 2000). Při deficienci dusíku, který se pohybuje floémem snadno, rostliny retranslokují živiny do nových listů, zatímco na starších listech je patrná chloróza (žloutnutí) a zasychání. Stejně je to i s deficiencí velmi mobilního draslíku a hořčíku. Oproti tomu deficiencie vápníku nebo železa vykazují opačný trend vzhledem k nízké mobilitě těchto prvků – chlorotické bývají mladší listy (Uchida, 2000).

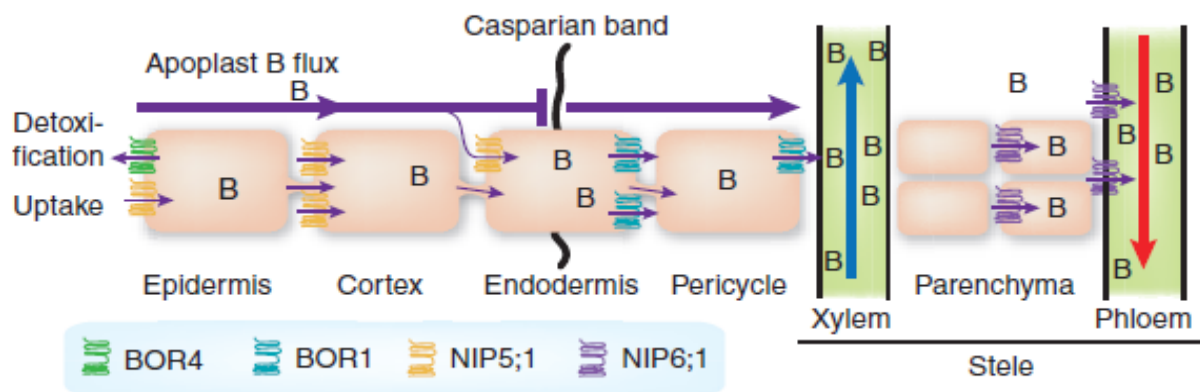
S ohledem na zaměření diplomové práce bude v následujícím textu pozornost věnována především retranslokaci živin z nadzemní části do kořenového systému a mezi jednotlivými částmi kořenového systému, který roste v heterogenním půdním prostředí s nerovnoměrnou dostupností živin. Tento fakt byl již mnohokrát demonstrován (Simpson, Lambers and Dalling, 1983; Peuke *et al.*, 1996). Některé živiny, především draslík, cyklují mezi prýtem a kořenovým systémem, což díky efektivní komunikaci umožňuje korelaci mezi poptávkou a nabídkou draselných iontů (Kochian, Xin-Zhi and Lucas, 1985). Snížený přísun draselných iontů z prýtu do kořenového systému je chápán jako signál pro jejich zvýšený příjem (White, 1997).

Pro demonstraci retranslokace živin z prýtu do kořenového systému je hojně využíváno metody dělené kultivace (split-root) (Lambers *et al.*, 1982; Cooper and Clarkson, 1989; Shen *et al.*, 2005; Valentinuzzi *et al.*, 2020). Souvislost mezi retranslokací a deficiencí dané živiny byla takto demonstrována např. u *Lupinus albus* (Shen *et al.*, 2005). *L. albus* je schopný přes nadzemní část retranslokovat fosfor z části kořenového systému, který roste v roztoku s fosfátem (+P), do části kořenového systému rostoucího v deficienci (-P). Konkrétně bylo do deficientní části kořenového systému retranslováno 19 % přijatého fosforu. S obsahem fosforu v kultivačním roztoku se také lišilo vylučování např. citrátu kořeny a také se lišil příjem jiných minerálních živin (Shen *et al.*, 2005).

Rostlina je v některých případech schopna translokovat minerální látky také z listů, kterým byla daná minerální živina externě dodána (Eddings and Brown, 1967; Dong *et al.*, 2002). Záleží však opět na pohyblivosti daného prvku ve floému a na formě, ve které je živina na list aplikována. Většina minerálních živin proniká přes kutikulu pomocí polárních pórů naplněných vodou (Schreiber, 2005), plynné formy mohou procházet prostřednictvím průduchů. Jak uvádí (Raimanová, 2009) ve své doktorské disertační práci, v případě aplikace nitrátu na listy *Triticum aestivum* zůstala většina nitrátu v exponovaném listu, oproti tomu amonné ionty byly ve velké míře translovány do vyvíjejících se částí. V obou případech byl však transport do kořenového systému nebo do starších listů minimální. Z výsledků studie (Koontz and Biddulph, 1957) vyplývá, že transport fosfátu externě aplikovaného na listy *Phaseolus* je závislý na stáří listu. Po aplikaci na mladý list se fosfát netranslovuje, mladý list je vnímán jako sink. Naproti tomu po aplikaci na starší listy se část fosfátu translovuje do mladších listů i do kořenů (Koontz and Biddulph, 1957).

V retranslokaci živin floémem jsou zapojeny specializované transportéry, např. v transportu dusičnanů do floému u *Arabidopsis thaliana* hraje roli nízkoafinitní transportér NRT1.7 (Nitrate Transporter 1.7). *NRT1.7* je ve velké míře exprimován ve starších listech a *nrt1.7* mutantní rostliny vykazují při deficienci dusíku snížený růst ve srovnání s kontrolními rostlinami a neschopnost remobilizace a retranslokace dusíkatých látek (Fan *et al.*, 2009). Dalším příkladem je NIP6;1 (Nodulin26-Like Major Intrinsic Proteins 6;1), který transportuje bor do floému *A. thaliana* (Tanaka *et al.*, 2008; Robert and Friml, 2009), lokalizace tohoto transportéru (společně s dříve zmíněnými transportéry boru) je znázorněna na obr. č. 7. Dále lze zmínit transportér OPT3 (Oligopeptide Transporter 3), který transportuje Fe^{2+} do floému *A. thaliana* nebo vysokoafinitní transportér draslíku HAK1 (High Affinity K^{+} 1), který hraje

roli při retranslokaci draslíku floémem *Zea mays* (Qin, Wu and Wang, 2019). Exprese genů kódujících transportéry zapojené při retranslokaci dané živiny floémem se zvyšuje v reakci na deficienci (Fan *et al.*, 2009).



Obrázek č. 7, převzato z Robert *et al.* 2009

Efektivní transport boru pomocí transportérů u Arabidopsis thaliana. Kanál pro příjem kyseliny borité do buňky NIP5;1 (Nodulin26-Like Intrinsic Protein 5;1) a transportér pro výdej borátové aniontu BOR1 (Boron Efflux Carrier 1). Transportér BOR4 (Boron Efflux Carrier 4) zapojující se při detoxifikaci. Transportér NIP6;1 (Nodulin26-Like Major Intrinsic Proteins 6;1) transportující bor do floému.

2.4 Role fytohormonů v regulaci diferenciaci apoplastických bariér kořene v odpovědi na dostupnost živin v prostředí

Role fytohormonů je v rostlinách zásadní v mnoha ohledech. Významnou funkci mají fytohormony i při utváření architektury kořenového systému v souvislosti s dostupností minerálních živin v prostředí, ale také při změnách v diferenciaci apoplastických bariér. Právě na tyto regulační role se s ohledem na téma diplomové práce zaměřuji v následujícím textu.

Jako jedním z nejdůležitějších fytohormonů je označován auxin, ve vyšších rostlinách se vyskytující především ve formě kyseliny indol-3-octové (IAA), nebo kyseliny indolyl-3-máselné (IBA), laboratorně se nejvíce využívá syntetická forma kyselina naftalen-1-octová (NAA) (Overvoorde, Fukaki and Beeckman, 2010; Enders and Strader, 2015). Auxin je stěžejní fytohormon pro regulaci větvení a elongace kořene, jak shrnuje např. (Overvoorde, Fukaki and Beeckman, 2010). Při transportu auxinu je velmi významná skupina proteinů PIN (Pinformed) a permeáza Auxin1 (AUX1) a její homology (AUX/LAX) (Bennett *et al.*, 1996; Blakeslee, Peer and Murphy, 2005; Petrášek *et al.*, 2006). PIN proteiny jsou označovány za

vynašeče auxinu, jsou specializovány na přenos auxinu z buňky, AUX1 je označován jako vnášeč auxinu, je tedy specializován pro přenos auxinu do buňky. PIN proteiny i AUX1 nejsou na membráně na jednom místě, ale neustále cyklují mezi cytoplazmatickou membránou a endozomálními kompartmenty (Geldner *et al.*, 2001; Kleine-Vehn *et al.*, 2006). Některé PIN proteiny a AUX1 vykazují v buňce apikálně-basální polaritu (Feraru and Friml, 2008), tato polarita se v buňce ustanovuje později než centrálně-periferní lokalizace, kterou vykazují např. některé transportéry boru (Alassimone, Naseer and Geldner, 2010), kterými jsem se zabýval v předchozích kapitolách.

Auxin je klíčovým hráčem v některých systémových i lokalizovaných odpovědích rostlin na dostupnost minerálních živin, např. nitrátu v případě *Arabidopsis thaliana* (Krouk *et al.*, 2010; Giehl and von Wirén, 2014). Již zmíněný transportér nitrátu NRT1.1/CHL1 je schopen transportovat také auxin, což je velmi důležité při lokalizované odpovědi na dostupnost nitrátu v prostředí (Krouk *et al.*, 2010; Mounier *et al.*, 2014). V místě zvýšeného obsahu nitrátu není auxin transportován z kořenové špičky postranních kořenů transportérem NRT1.1/CHL1 a hromadí se zde. Tím je stimulován růst postranních kořenů (Krouk *et al.*, 2010). Auxin se také podílí na stimulaci větvení postranních kořenů při deficienci fosfátu. P-deficientní *Arabidopsis thaliana* je na auxin citlivější díky zvýšené expresi *TIR1* (Transport Inhibitor Response 1; receptor auxinu) a degradaci represorů auxinové odpovědi Auxin/Indole-3-Acetic Acid (AUX/IAA) (Jain *et al.*, 2007; Pérez-Torres *et al.*, 2008). *Zea mays* také mění architekturu kořenového systému při deficienci fosfátu za účasti auxinu (Zhang *et al.*, 2019). Distribuce auxinu v kořenovém systému se mění také v souvislosti s deficiencí draslíku, kdy dochází k inhibici růstu postranních kořenů (Song *et al.*, 2015). Auxin se také podílí na reakci kořenového systému v případě deficiencie boru, kdy inhibuje růst hlavního kořene (Martín-Rejano *et al.*, 2011; Camacho-Cristóbal *et al.*, 2015). Co se týče role auxinu v regulaci diferenciaci apoplastických bariér, kořeny *Zea mays* vykazovaly po jeho externím dodání v pilotním experimentu zpomalenou diferenciaci apoplastických bariér v exodermis i v endodermis (Namyslov, 2018).

Dalším fytohormonem, který ovlivňuje větvení kořenového systému i diferenciaci bariér v odpovědi na deficienci, je kyselina abscisová (ABA). Ta se zapojuje v dlouhodobějších vývojových i růstových reakcích, účastní se však i stresových reakcí krátkodobějšího charakteru, jak shrnuje např. (Tuteja, 2007; Hong, Seah and Xu, 2013). ABA reaguje na více stresových faktorů, významná je např. v odpovědi na stres sucha nebo salinity.

Kromě regulace otevřenosti průduchů (Munns and King, 1988) ovlivňuje také růst kořenového systému – podporuje růst hlavního kořene, a naopak inhibuje vývoj postranních kořenů (Hose *et al.*, 2001; Guo, Liang and Li, 2009; Duan *et al.*, 2013). Ovlivňuje také hydraulickou vodivost kořenů (Kuromori, Seo and Shinozaki, 2018) a expresi genů pro transportéry minerálních živin, jako je tomu např. u transportéru křemíku LSI1 u *Oryza sativa* (Yamaji and Jian, 2007).

ABA je také důležitým činitelem při anatomických změnách v kořenech. Jak uvádí (Namyslov, 2018) ve své diplomové práci, ABA při externím podání výrazně urychluje diferenciaci exodermální vrstvy v případě kořenů *Zea mays*. ABA také urychluje diferenciaci apoplastických bariér v případě deficiencie některých minerálních živin u *Arabidopsis thaliana*, konkrétně stimuluje suberinizaci v endodermální vrstvě při deficienci draslíku a síry (Barberon *et al.*, 2016).

Ethylen je alken a představuje jediný fytohormon v plynném skupenství. Ethylen se zapojuje do různých stresových reakcí (např. na toxicitu nebo zaplavení) a účastní se odpovědi kořenového systému na deficienci živin (Marschner, 2011). Vyšší koncentrace ethylenu v rostlině obecně zpomaluje růst kořene, jako je tomu např. u *Phaseolus vulgaris* v deficienci fosforu (Borch *et al.*, 1999). Dále také ovlivňuje architekturu kořenového systému *Arabidopsis thaliana* při deficienci boru (Martín-Rejano *et al.*, 2011) nebo draslíku, kdy reguluje např. délku kořenů a kořenových vlásků. Zapojuje se také při regulaci exprese genů pro vysokoafinitní transportér draslíku HAK5 při deficienci draslíku (Jung, Shin and Schachtman, 2009).

Po externím podání ethylenu v podobě ACC (kyseliny 1-aminocyklopropanu-1-karboxylové, prekursoru syntézy ethylenu) bylo v pilotním experimentu pozorováno zpomalené ukládání apoplastických bariér v kořenovém systému *Zea mays* (Namyslov, 2018). U *Arabidopsis thaliana* ethylen inhibuje suberinizaci endodermální vrstvy v podmínkách deficiencie železa, zinku nebo manganu (Barberon *et al.*, 2016). Ethylen hraje důležitou roli také při inhibici diferenciaci apoplastických bariér u hyperakumulátorů těžkých kovů, jakým je např. hyperakumulátor kadmia *Sedum alfredi* (Liu *et al.*, 2021).

Do regulace utváření morfologické a anatomické stavby kořenového systému se samozřejmě zapojují i jiné fytohormony. Jako příklad lze uvést cytokininy, které obecně inhibují růst kořene (Werner and Schmülling, 2009; Ramireddy, Chang and Schmülling, 2014). Zdá se, že hladina cytokininů v souvislosti s deficiencí minerálních živin klesá

(Korobova *et al.*, 2016) a přítomnost např. nitrátu zvyšuje jejich biosyntézu (Miyawaki, Matsumoto-Kitano and Kakimoto, 2004). Cytokininy jsou spjaty s expresí genů pro transport minerálních živin. Jsou např. represory genů, kódujících reduktázou FRO2 (Ferric Reductase Oxidase 2) a transportér Fe^{2+} IRT1 (Iron Regulated-Transporter 1) (Séguéla *et al.*, 2008) důležitých pro příjem železa, nebo represory transportérů pro sulfát SULTR1;2 a SULTR1;1 (Maruyama-Nakashita *et al.*, 2004). Ovlivňují však i řadu dalších transportérů pro minerální živiny (Geßler, Kopriva and Rennenberg, 2004; Nam *et al.*, 2012). Jak cytokininy ovlivňují diferenciaci apoplastických bariér není zatím prozkoumáno. Dále lze zmínit strigolaktony, které také ovlivňují architekturu kořenového systému a zapojují se v případě mykorrhizních vztahů (Umehara, 2011; Marzec, Muszynska and Gruszka, 2013), nebo kyselinu jasmínovou (Armengaud, Breitling and Amtmann, 2004).

3. Metodika

V rámci diplomové práce bylo provedeno několik experimentů, jejichž cílem bylo analyzovat vliv nedostatku živin na diferenciaci apoplastických bariér v kořenech, význam této reakce a roli fytohormonů v její regulaci. Důraz byl kladen především na bližší vysvětlení významu lokalizované odpovědi kořenů na nedostatek živin. Schopnost kořenů lokalizovaně reagovat na nedostatek živin změnou v rychlosti diferenciaci apoplastických bariér byla popsána v předchozích experimentech (Namyslov, 2018; Namyslov *et al.*, 2020).

3.1 Diferenciace exodermis a endodermis v reakci na deficienci živin, distribuce živin v rostlině a změny hladin fytohormonů u *Zea mays* L.

Tato část práce zahrnovala dva experimenty zaměřené na lokalizovanou reakci kořenů *Zea mays* na nedostatek živin v rhizosféře. Konkrétně byl v experimentu 1.1 testován vliv deficiencie dusíku, v experimentu 1.2 vliv deficiencie draslíku. Tyto prvky byly pro bližší analýzu vybrány na základě předchozích výsledků jako dvě kontrastní situace, protože kořeny *Zea mays* vykazují při nedostatku dusíku zrychlení diferenciaci apoplastických bariér, při nedostatku draslíku naopak zpomalení (Namyslov, 2018; Namyslov *et al.*, 2020).

V obou experimentech byly rostliny pěstovány v dělené (split-root) kultuře a podrobeny anatomické analýze kořenů. Dále u nich byla provedena analýza hladin fytohormonů v kořenech za účelem vyhodnocení jejich možné regulační role v lokalizované odpovědi. V jednotlivých částech rostlin byl také stanoven obsah nedostatkové živiny, což umožnilo zjistit, do jaké míry je deficientní prvek transportován do části kořenového systému, která je přímo vystavena deficienci. To přispěje k vyjasnění platnosti hypotézy, že je zrychlení diferenciaci apoplastických bariér v kořenech při deficienci některých makroprvků prevencí úniku deficientního prvku z kořenů rostoucích v deficientní části půdy.

3.1.1 Experiment 1.1 – Lokalizovaná reakce kořenového systému *Zea mays* L. při deficienci dusíku

3.1.1.1 Rostlinný materiál a kultivace rostlin

Jako rostlinný materiál byla použita *Zea mays* L. kultivar Cefran (Oseva Bzenec a.s.).

Obilky kukuřice byly nejprve namočeny na 30 minut do teplé vody a následně byly propláchnuty od mořidla. Pro vyklíčení byly obilky vyskládány na fotomisku vyloženou mokrým filtračním papírem do řádků a byly překryty dalším mokrým papírem pro zabránění vysychání. Fotomiska byla pro lepší orientaci růstu kořenů postavena do šikmé polohy a uložena do termostatu, kde byla za stálé teploty (26 °C) ponechána 72 hodin.

Po vyklíčení byly vybrány semenáčky o podobné délce kořene (tj. kolem 3 cm) a byly umístěny na plovoucí síťku do plastové nádoby o objemu 15 litrů pro předpěstování. Jako kultivační roztok byl použit modifikovaný roztok Hoagland 3 (Hoagland and Arnon, 1950), zředěný na $\frac{1}{4}$ a s přidavkem mikroprvků (Laštůvka and Minář, 1967). Složení tohoto roztoku (kontrolní roztok) je uvedeno v tabulce č. 1. Hladina byla pokryta mirelonovými ústřížky pro zamezení růstu řas a do nádoby bylo zavedeno vzduchování. V této nádobě byly semenáčky ponechány v kultivační místnosti 48 hodin při konstantních podmínkách. Denní fotoperioda trvala 16 hodin konstantního ozáření (PAR 400 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) a teplota byla 22 °C. Noční perioda trvala 8 hodin a teplota byla 18 °C. Relativní vlhkost vzduchu byla v obou případech 50-75 %.

Po dvoudenním předpěstování byly rostliny vyňaty z nádoby a pro potřeby dělené kultivace vyselektovány na jedince s přibližně stejnou délkou adventivních kořenů. Hlavní kořen byl odstraněn nůžkami. Dělené nádoby byly celkem tři, každá o objemu 13 litrů (2x6,5), v půlce rozdělené přepážkou. Jedna nádoba byla kontrolní (KONT/KONT), tj. v obou polovinách byl kontrolní roztok o identickém složení jako v předpěstovací nádobě. Druhá nádoba byla dělená, tj. v jedné polovině byl roztok kontrolní a v druhé roztok deficientní na N (KONT/-N). Třetí nádoba byla deficientní, tj. v obou polovinách byl roztok N deficientní (-N/-N). Složení kultivačního roztoků je uvedeno v tabulce č. 1.

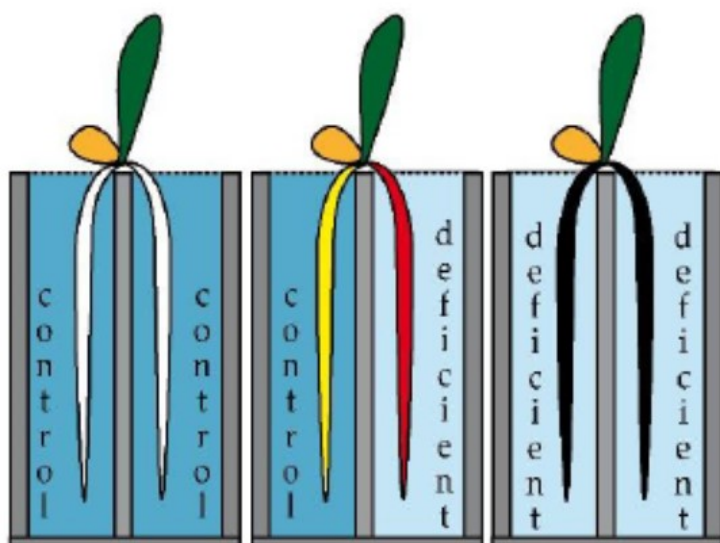
Do -N roztoku nebyly dodány sloučeniny $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ a KNO_3 . Proto bylo nutno dodat jiné sloučeniny obsahující Ca a K. Potřebných 51 mg/l Ca bylo dodáno ve formě $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Potřebných 48,8 mg/l K bylo dodáno ve formě K_2SO_4 .

Makroprvky	Kontrolní roztok	N deficientní roztok	K deficientní roztok
Ca(NO ₃) ₂ . 4H ₂ O	295,5	0	442,7
KNO ₃	126,5	0	0
KH ₂ PO ₄	34	34	0
MgSO ₄ . 7H ₂ O	61,4	61,4	61,4
CaCl ₂ . 2H ₂ O	0	162,1	0
K ₂ SO ₄	0	108,8	0
NaH ₂ PO ₄ . 2H ₂ O	0	0	38,7
Mikroprvky	Kontrolní roztok	N deficientní roztok	K deficientní roztok
Fe citrát	5	5	5
H ₃ BO ₄	0,715	0,715	0,715
MnCl ₂ . 4H ₂ O	0,453	0,453	0,453
ZnSO ₄	0,056	0,056	0,056
(NH ₄) ₂ Mo ₇ O ₂₄	0,019	0,019	0,019
CuSO ₄	0,020	0,020	0,020

Tabulka č. 1. Složení kultivačních roztoků – kontrolního, deficientního na dusík a deficientního na draslík (mg/l).

Do každé nádoby bylo vloženo 6 rostlin *Zea mays* s přibližně stejnou délkou adventivních kořenů (okolo 5 cm) tak, že obilka byla položena na dělicí přepážku, jeden adventivní kořen byl ponořen do jedné části dělené nádoby a druhý adventivní kořen byl ponořen do druhé části dělené nádoby (obr. č. 8). Obilky byly připevněny mirelonovými ústřižky pro zamezení pohybu nebo jejich vypadnutí. Do všech nádob (obou částí) bylo zavedeno vzduchování, aby se předešlo případné hypoxii. Takto byly rostliny pěstovány 10 dní za dolévání destilované vody a za stejných konstantních podmínek v kultivační místnosti jako v případě jejich předpěstování. Poté byly rostliny sklizeny, byla provedena anatomická

analýza kořenů a byly odebrány vzorky pro potřebu prvkové analýzy (obsahu dusíku a uhlíku) a fytohormonové analýzy (viz dále).



Obrázek č. 8, převzato a upraveno z Namyslov et al. 2020

Schéma dělených kultivací, kontrolní varianta (A), dělená varianta (B), deficientní varianta (C)

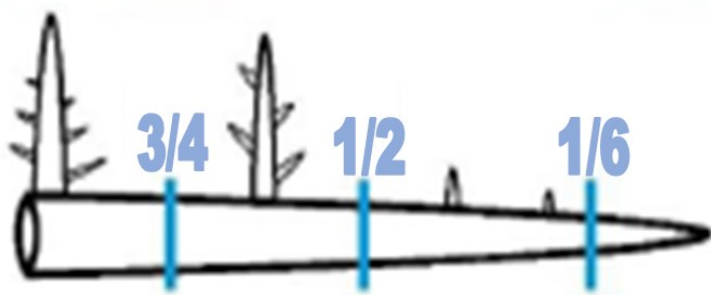
3.1.2 Experiment 1.2 – Lokalizovaná reakce kořenového systému *Zea mays* L. při deficienci draslíku

Celý experiment 1.2 byl proveden analogicky jako experiment 1.1 jen s tím rozdílem, že deficiencie dusíku v dělených kulturách byla nahrazena deficiencí draslíku. Složení roztoku deficientního na draslík (-K) je uvedeno v tabulce č. 1. V -K roztoku nebyly přítomny sloučeniny KNO_3 a KH_2PO_4 . 17,5 mg/l N bylo dodáno ve formě $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ a 7,7 mg/l P bylo dodáno ve formě $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

3.1.3 Anatomická analýza kořenů z experimentu 1.1 a 1.2

Po deseti dnech kultivace byly kořeny odebrány, byla změřena jejich délka a byly uloženy do 4% formaldehydu. K anatomické analýze bylo vybráno 5 reprezentativních kořenů, které byly nařezány pomocí břitvy a ručního mikrotomu v pozici $\frac{3}{4}$ (v některých případech v $\frac{1}{2}$) délky kořene od špičky (obr. č. 9). Stupeň diferenciací apoplastických bariér v kořenech byl detekován pomocí histochemického barvení. Pro obarvení daných buněčných struktur v řezech byla použita barviva. Pro obarvení a detekci suberinových lamel byla část řezů ponořena na 60 minut do Sudan Red 7B (0,01 %) (Brundrett, Kendrick and Peterson, 1991) a následně opláchnuta 1% SDS (sodiumdodecylsulfát) a destilovanou vodou. Barvicí roztok Sudan Red 7B byl připraven dle (Soukup, 2014). Pro obarvení a následnou detekci

lignifikovaných Casparyho proužků byla část řezů ponořena na 60 minut do roztoku berberin hemisulfátu (0,1 % aq.) (Brundrett, Enstone and Peterson, 1988), poté 10 minut dobarvena genciánovou violetí (0,05 % aq.) a nakonec opláchnuta destilovanou vodou. Tímto způsobem nabarvené řezy byly montovány do 65% glycerolu na podložních sklíčkách.



Obrázek č. 9, převzato a upraveno z Namyslov et al. 2020

Schéma řezaných pozic kořene.

Řezy byly pozorovány mikroskopem Olympus BX51 vybaveným filtrem UV Olympus U-MWU a foceny digitální kamerou Apogee U4000. Má pozornost byla upřena na Casparyho proužky a suberinové lamely nejprve v endodermální a v exodermální vrstvě. Dle stupně diferenciacce jsem jednotlivé vzorky zařazoval do 5 kategorií, které charakterizovaly přibližný počet buněk s vyvinutými Casparyho proužky nebo suberinovými lamelami v rámci dané vrstvy, tj. endodermis nebo exodermis (tabulka č. 2).

Kategorie	
0	žádné buňky dané vrstvy neobsahovaly detekovatelné CP nebo SL
I	přibližně 25 % buněk s vyvinutými CP nebo SL v rámci dané vrstvy
II	přibližně 50 % buněk s vyvinutými CP nebo SL v rámci dané vrstvy
III	přibližně 75 % buněk s vyvinutými CP nebo SL v rámci dané vrstvy
IV	všechny buňky dané vrstvy obsahovaly CP nebo SL

Tabulka č. 2. 5 kategorií popisujících rozsah diferenciacce Casparyho proužků nebo suberinových lamel v exodermální nebo endodermální vrstvě.

3.1.4 Analýzy obsahu dusíku a draslíku v sušině z experimentu 1.1 a 1.2

Pro sledování retranslokace minerální živiny mezi kontrolní a deficientní části kořenového systému u rostlin v dělených (split-root) kultivacích byl proveden odběr vzorků rostlinné biomasy, jejich homogenizace a odeslání na prvkovou analýzu vždy toho minerálního prvku, který byl v deficienci (tedy dusík a draslík). Kořeny a prýty rostlin byly vysušeny (při teplotě 60 °C), zváženy a následně homogenizovány v homogenizačním mlýnku (Retsch MM301). Do kovových patron byl umístěn vzorek spolu s kovovými kuličkami a byl homogenizován 5 minut. Patrona byla před umístěním dalšího vzorku vypláchnuta ethanolem, destilovanou vodou a vytřena do sucha.

Zhomogenizované vzorky z experimentu 1.1 byly následně odeslány do VÚRV (Výzkumného ústavu rostlinné výroby, v.v.i) za účelem provedení analýzy obsahu dusíku a uhlíku ve spolupráci s RNDr. Ivanou Raimanovou, Ph.D. z Laboratoře produkční fyziologie a výživy rostlin VÚRV. Konkrétně se jednalo o vzorky 4 prýtů z kontrolní varianty (KONT/KONT), deficientní varianty (-N/-N), i dělené varianty (KONT/-N). Co se týče kořenů, byly odeslány vzorky 4 kořenů z kontrolní (KONT/KONT), i deficientní varianty (-N/-N) a 8 kořenů z dělené varianty (KONT/-N), tzn. 4 kořeny kontrolní (KONT/-N KONT) a 4 kořeny deficientní na dusík (KONT/-N -N). Analýza obsahu C a N v biomase byla provedena na elementárním analyzátoru Vario PYROcube (Elementar Analysensysteme GmbH, Germany).

Za účelem analýzy obsahu draslíku u materiálu z experimentu 1.2 byly vzorky odeslány do Laboratoře plamenové atomové absorpční spektrometrie Geologického ústavu PřF UK. Konkrétně se jednalo o vzorky 5 prýtů z kontrolní varianty (KONT/KONT), 5 prýtů z deficientní varianty (-K/-K) a 5 prýtů z dělené varianty (KONT/-K). Co se týče kořenů, byly odeslány vzorky 5 kořenů z kontrolní varianty (KONT/KONT), 5 kořenů z deficientní varianty (-K/-K) a 10 kořenů z dělené varianty (KONT/-K), tzn. 5 kořenů kontrolních (KONT) a 5 kořenů deficientních na draslík (-K). Analýza obsahu draslíku byla provedena atomovou absorpční spektrometrií na přístroji SpectrAA 280 FS (Varian, Palo Alto, CA, USA).

3.1.5 Analýza obsahu fytohormonů v kořenech rostlin z experimentu 1.1 a 1.2

Pro sledování hladin jednotlivých fytohormonů v kořenech v různých variantách dělených kultivací z experimentů 1.1 a 1.2 byly odebrány vzorky, které byly následně podrobeny fytohormonové analýze na ÚEB AV ČR (Ústavu experimentální botaniky Akademie věd České republiky) a byly vyhodnoceny ve spolupráci s doc. RNDr. Radomírou Vaňkovou, CSc. z Laboratoře hormonálních regulací rostlin. Fytohormony byly extrahovány směsí metanolu, vody a kyseliny mravenčí (Ivanov Dobrev and Kamínek, 2002; Dobrev and Vankova, 2012; Djilianov *et al.*, 2013) a analyzovány kapalnou chromatografií za pomoci Ultimate 3000, Dionex a 3200 Q TRAP (Prerostova *et al.*, 2020).

Pro analýzu byly odbírány apikální části kořene vždy do pozice 1/6 délky kořene od špičky, ale špička kořene (segment v délce 1 cm) byla odstraněna. Takto byla odebrána část kořene, kde by mohly být zaznamenány rozdíly v hladinách fytohormonů související s rozdílnou rychlostí diferenciací apoplastických bariér, protože již v 1/6 kořene je patrný rozdíl ve stupni diferenciací v závislosti na dostupnosti živin (Namyslov, 2018; Namyslov *et al.*, 2020). Rostlinný materiál byl během odběru rychle zvážen, okamžitě vložen do tekutého dusíku, zmrazen a následně uchováván při teplotě -80 °C.

V experimentu 1.1 byly takto analyzovány segmenty 3 kořenů z kontrolní (KONT/KONT) a deficientní varianty (-N/-N) a 6 kořenů z dělené varianty (KONT/-N), tzn. 3 segmenty KONT/-N -N kořenů a 3 segmenty KONT/-N KONT kořenů. V experimentu 1.2 byly takto analyzovány segmenty 3 kořenů z kontrolní (KONT/KONT) a deficientní varianty (-K/-K) a 6 kořenů z dělené varianty (KONT/-K), tzn. 3 segmenty KONT/-K -K kořenů a 3 segmenty KONT/-K KONT kořenů.

3.1.6 Statistické vyhodnocení experimentu 1.1 a 1.2

Data byla vyhodnocena pomocí statistického programu NCSS 9 (Hintze, J. 2013. NCSS, LLC. Kaysville, UT, USA). Signifikantní rozdíly mezi variantami byly hodnoceny Analýzou variance (One-way ANOVA) a Kruskal-Wallis multiple comparison testem nebo Tukey-Kramer multiple comparison testem, vždy po kontrole splnění předpokladů testu. Analýza korelací byla provedena pomocí Correlation matrix a ve výsledcích jsou uvedeny hodnoty Pearsonova korelačního koeficientu.

3.2 Analýza lokalizované odpovědi exodermis a endodermis na různou dostupnost živin u dalších rostlinných druhů

V této části práce bylo testováno, zda lokalizovanou změnu v rychlosti diferenciaci apoplastických bariér v kořenech v odpovědi na lokálně působící deficienci živin lze kromě *Zea mays* pozorovat i u jiných rostlinných druhů. Tyto výsledky pomohou odpovědět na otázku, jak významná je tato reakce kořenů pro celkovou efektivitu kořenového systému v příjmu živin z heterogenního půdního prostředí.

3.2.1 Experiment 2 – Lokalizovaná reakce kořenového systému vybraných druhů čeledi *Poaceae* na deficienci dusíku

3.2.1.1 Rostlinný materiál a kultivace rostlin

Pro tento experiment byly vybrány tři druhy čeledi *Poaceae*, konkrétně ječmen setý *Hordeum vulgare* L. (kultivar Bojos), oves setý *Avena sativa* L. a čirok dvoubarevný *Sorghum bicolor* (L.) Moench (kultivar Ruzrok).

Všechny tři druhy byly kultivovány v dělené kultuře (split-root) se stejným uspořádáním jako kukuřice v experimentu 1.1.

V případě *Hordeum vulgare* byly obilky namočeny do teplé vody a poté byly vyskládány na mokrým filtračním papírem vyloženou Petriho misku. Obilky byly překryty dalším mokrým filtračním papírem a přiklopeny druhou polovinou Petriho misky. Miska byla postavena do šikmé polohy a uložena na temné místo, vzhledem k lepší klíčivosti *Hordeum vulgare* ve tmě. U ječmene byla vzhledem k dobré klíčivosti a rychlému růstu vynechána fáze dvoudenního předpěstování v plastových nádobách s kontrolním roztokem jako tomu bylo u obilky *Zea mays*.

Klíční rostliny byly vybrány podle přibližně stejné délky adventivních kořenů a pěstovány po dobu 10 dní stejným způsobem jako *Zea mays* v experimentu 1.1, tj. ve třech dělených nádobách s variantou kontrolní (KONT/KONT), deficientní (-N/-N) a dělenou (KONT/-N) (obr. č. 10 a 11). Vzhledem k tomu, že odebrané kořeny 10 dní starých rostlin neměly vůbec diferencovanou exodermis, byla následně provedena druhá kultivace.

Druhá kultivace ječmene probíhala ve třech dělených nádobách pouze v děleném uspořádání (KONT/-N), odběr kořenů pro anatomickou analýzu byl z jednotlivých nádob

naplánován po 14, 21 a 28 dnech. Vždy po týdnu byl vyměněn kultivační roztok. Průběžně byly u těchto rostlin odstraňovány nově se objevující adventivní kořeny, aby bylo možno hodnotit srovnatelně staré kořeny, které byly podmínkám kultivace vystaveny po celou dobu. Sklizeny byly pouze kořeny po 14 a 21 dnech, kořeny po 28 dnech nebylo možné sklídit z důvodu masivního růstu kořenového systému a nemožnosti jednotlivé kořeny uspokojivě oddělit.

Klíčení obilek *Avena sativa* probíhalo stejně, jako v případě *Hordeum vulgare*, tedy byla vynechána fáze dvoudenního předpěstování v plastových nádobách s kontrolním roztokem jako tomu bylo u obilek *Zea mays*. Desetidenní kultivace v dělených nádobách měla stejné uspořádání jako v případě druhé kultivace ječmene, tedy pouze ve variantě dělené (KONT/-N).

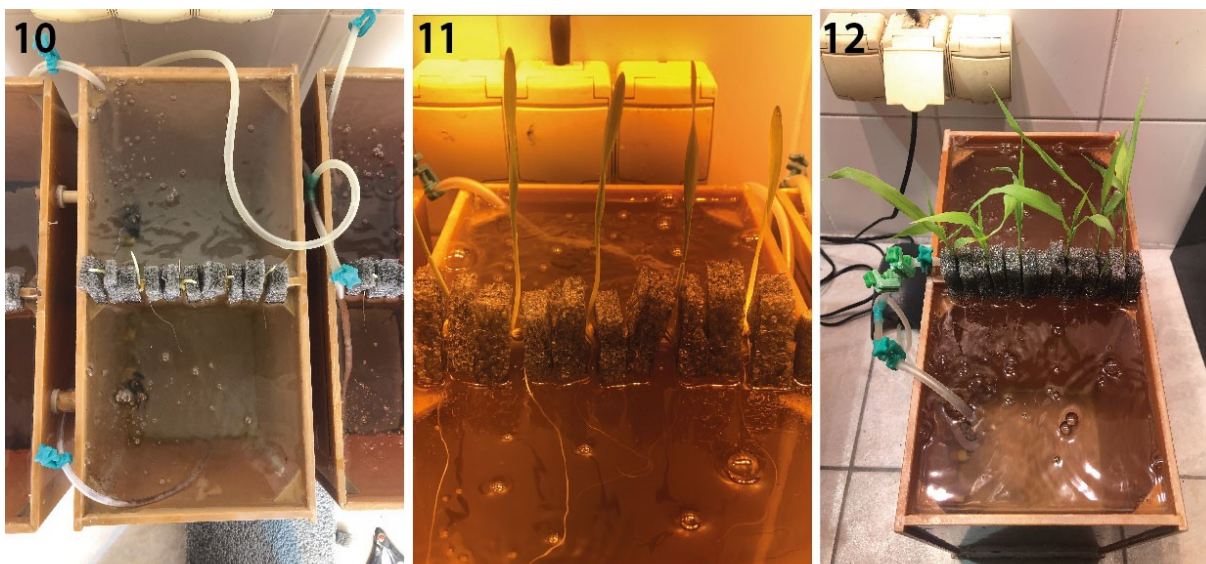
Petriho misky s obilkami *Sorghum bicolor* kultivar Ruzrok byly umístěny do termostatu, kde klíčily při teplotě 26 °C, byla vynechána fáze dvoudenního předpěstování v plastových nádobách s kontrolním roztokem a následně probíhala desetidenní kultivace (obr. č. 12) stejným způsobem, ve variantě dělené (KONT/-N), jako v případě druhé kultivace ječmene a kultivace ovsa.

3.2.1.2 Anatomická analýza kořenů

Anatomická analýza probíhala stejným způsobem jako v experimentu 1.1 a 1.2. Při nedetekovaných rozdílech v pozici 3/4 od kořenové špičky byly provedeny ještě řezy v pozici 7/8 od kořenové špičky.

3.2.1.3 Statistické vyhodnocení

Statistické vyhodnocení probíhalo stejným způsobem jako v experimentu 1.1 a 1.2.



Obrázky č. 10, 11 a 12. Fotografie uspořádání dělených kultivací *Hordeum vulgare* (10 a 11) a *Sorghum bicolor* (12). Nádoby s přepážkou uprostřed pro umožnění jejich rozdělení na dvě poloviny.

3.3 Vliv externě dodaných fytohormonů na diferenciaci apoplastických bariér v kořenovém systému *Zea mays* L.

Cílem této části práce bylo testovat vliv vybraných fytohormonů na postup diferenciacie endodermis a exodermis v kořenech kukuřice a doplnit tak výsledky fytohormonové analýzy provedené v experimentu 1.1 a 1.2. Fytohormony byly přidány do kultivačního média hydroponicky pěstovaných semenáčků kukuřice vždy na dobu tří dnů.

3.3.1 Experiment 3 – Analýza vlivu ABA, BAP, NAA a ACC na kořenový systém *Zea mays* L.

3.3.1.1 Rostlinný materiál a kultivace rostlin

Semena *Zea mays* L. (cv. Cefran) byla naklíčena a následně předpěstována v 15 litrové nádobě stejným způsobem jako v případě experimentu 1.1 a 1.2. Následně byli vybráni reprezentativní jedinci o přibližně stejné délce hlavního kořene a umístěni do kultivačních nádob o objemu 5,5 litru s kultivačním roztokem o složení odpovídajícím kontrolní variantě (tabulka č. 1). Tyto nádoby byly opatřeny vzduchováním a plovoucí sítkou, do které byly rostliny umístěny do řady po 8 (obr. č. 13 a 14). Na hladinu byly opět nasypány mirelonové ústřížky pro zamezení růstu řas. V první nádobě nebyl žádný přírůstek fytohormonu (kontrolní varianta), v následujících byl vždy fytohormon přidán v definované koncentraci.

Bylo použito vždy několik koncentrací daného fytohormonu, a to především proto, že příliš silná koncentrace může inhibovat růst kořene a výsledky z anatomické analýzy apoplastických bariér by tak byly zkreslené. Snaha byla vždy najít takovou koncentraci, která ještě nepůsobí příliš inhibičně na růst kořene. Použité koncentrace jsou uvedeny v tabulce č. 3. Fytohormony byly do kultivačních roztoků aplikovány ze zásobních roztoků (ABA, BAP a NAA byly při přípravě zásobního roztoku rozpuštěny v 1nM NaOH, ACC v destilované vodě). Vzhledem k tomu, že některé zásobní roztoky fytohormonů ovlivnily pH kultivačního roztoku, muselo být pH kontrolováno a vždy bylo upraveno pomocí 1M HCl nebo 1M KOH, aby bylo stejné s kontrolní variantou bez přídavku fytohormonu. Takto byly rostliny pěstovány 72 hodin, poté byly sklizeny.

Fytohormon	Koncentrace použité v kultivačních roztocích (nM)
ABA	0; 250; 500; 750; 1000
BAP	0; 0,1; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5
NAA	0; 2,5; 5; 7,5; 10; 15; 20; 25; 50; 80; 100; 500
ACC	0; 80; 125; 250; 500; 750; 1000; 2000

Tabulka č. 3. Koncentrace fytohormonů přidávaných do hydroponických kultur Zea mays (v nM).

3.3.1.2 Anatomická analýza

Anatomická analýza probíhala stejným způsobem jako v případě experimentu 1.1 a 1.2. Diferenciace apoplastických bariér byla analyzována v pozici 3/4 od kořenové špičky.

3.3.1.3 Statistické vyhodnocení

Statistické vyhodnocení probíhalo stejným způsobem jako u experimentu 1.1 a 1.2.



Obrázky č. 13 a 14. Hydroponické kultivace Zea mays s rozdílnými koncentracemi fytohormonů v roztoku.

4. Výsledky

4.1 Experiment 1.1 a 1.2 – Diferenciace exodermis a endodermis v reakci na různou dostupnost živin, distribuce živin v rostlině a změny hladin fytohormonů u *Zea mays* L.

Jak již bylo řečeno v úvodu a metodice, cílem této části experimentů bylo přispět k vysvětlení významu lokalizované odpovědi kořenového systému (konkrétně lokalizované změny v rychlosti diferenciace apoplastických bariér) na rozdílnou dostupnost minerálních živin a analýza role fytohormonů v regulaci této odpovědi.

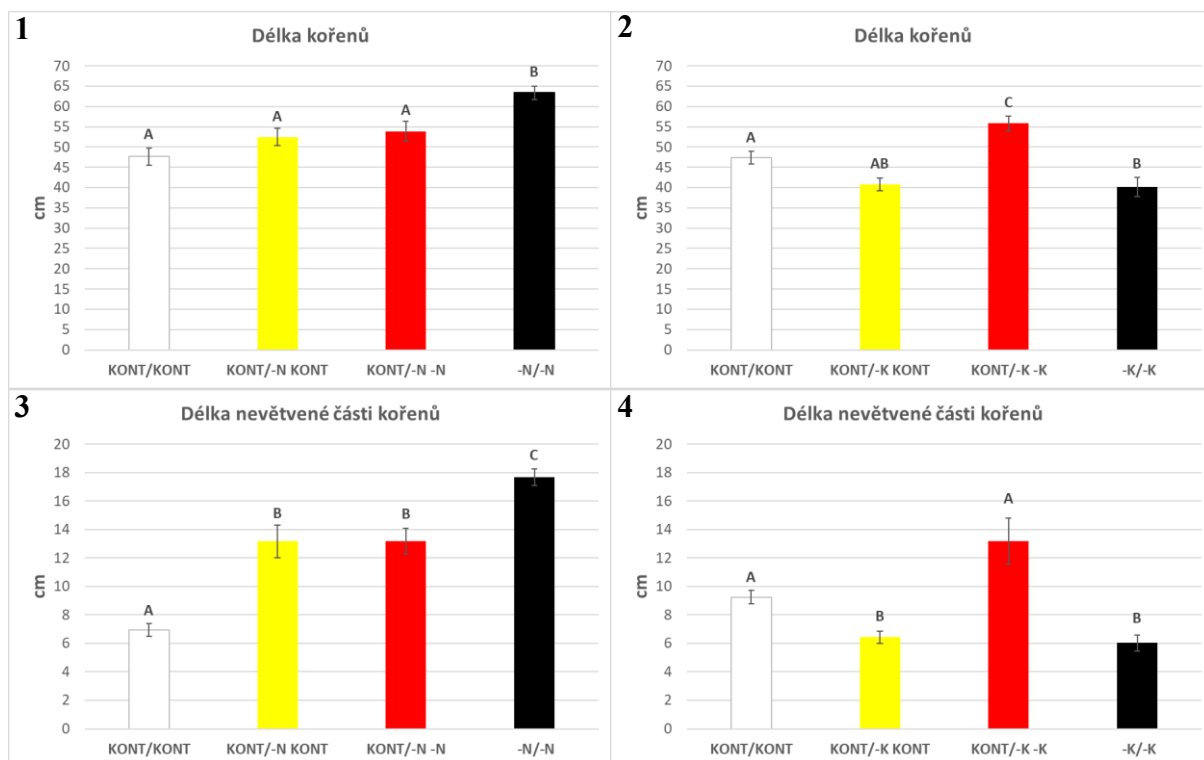
V těchto experimentech byly rostliny *Zea mays* pěstovány 10 dní ve třech variantách dělených kultivací. V experimentu 1.1 ve variantě kontrolní (KONT/KONT), deficientní na dusík (-N/-N) a dělené (KONT/-N). V experimentu 1.2 ve variantě kontrolní (KONT/KONT), deficientní na draslík (-K/-K) a dělené (KONT/-K).

4.1.1 Růst rostlin *Zea mays* L. při deficienci dusíku a draslíku

4.1.1.1 Délky kořenů, obsah vody a hmotnosti sušiny prýtů

Kořeny rostlin v experimentu 1.1 byly po 10 dnech kultivace signifikantně nejdelší v deficientní variantě (-N/-N) oproti variantám ostatním (graf č. 1). Průměrná délka kořenů v deficientní variantě (-N/-N) byla 63,3 cm, ve variantě kontrolní (KONT/KONT) 47,7 cm. Nevětvené apikální části kořenů byly opět nejdelší u varianty deficientní (-N/-N), která se signifikantně lišila od ostatních variant (graf č. 3). Průměrná délka nevětvené části kořenů u deficientní varianty (-N/-N) byla 17,7 cm, u varianty kontrolní (KONT/KONT) jen 6,9 cm. U dělené varianty (KONT/-N) se kořen kontrolní (KONT/-N KONT) a kořen deficientní (KONT/-N -N) v celkové délce ani délce nevětvené části nelišily.

V experimentu 1.2 byly mezi jednotlivými variantami také rozdíly. Nejdelší kořeny byly pozorovány u kořenů deficientních v dělené variantě (KONT/-K -K), jejichž průměrná délka byla 55,8 cm a signifikantně se tak lišily od všech ostatních variant (graf č. 2). Nevětvené části byly v tomto experimentu průměrně nejdelší ve variantě kontrolní (KONT/KONT), kde se délka pohybovala okolo 9,3 cm a v kořenech deficientních v dělené variantě (KONT/-K -K) s délkou 13 cm (graf č. 4).



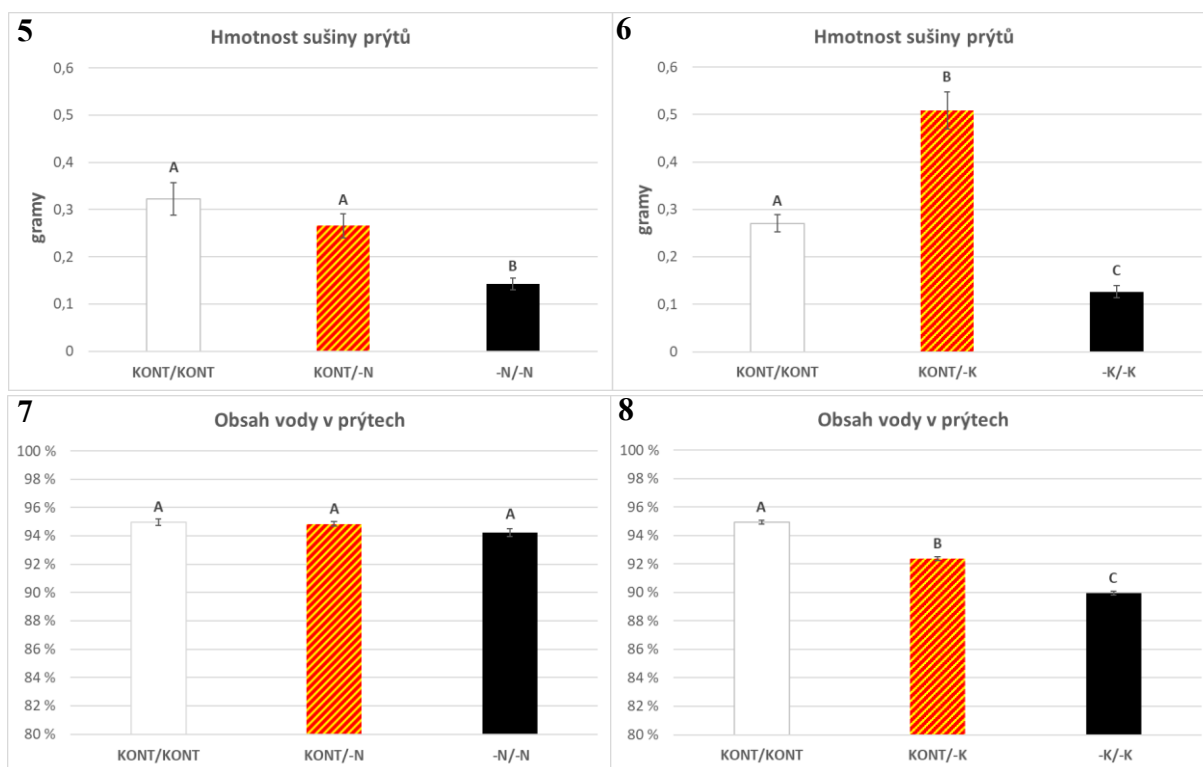
Grafy 1-4. Délka kořenů a délka jejich apikálních nevětvených částí u *Zea mays* v experimentu 1.1 (grafy č. 1 a 3) a 1.2 (grafy č. 2 a 4).

Barvy v grafu odpovídají barevnému uspořádání dělených kultivací na obr. č. 8 (str. 38). Kontrolní varianta (KONT/KONT) znázorněna bílou barvou, kontrolní kořen dělené varianty (KONT/-N KONT) v případě experimentu 1.1 a (KONT/-K KONT) v případě experimentu 1.2 znázorněn žlutou barvou, deficientní kořen dělené varianty (KONT/-N -N) nebo (KONT/-K -K) znázorněn červenou barvou, deficientní varianta (-N/-N) nebo (-K/-K) znázorněna černou barvou.

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p < 0,05$, $n = 6-12$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).

Hmotnost sušiny prýtlů byla v experimentu 1.1 signifikantně nejnižší u varianty deficientní (-N/-N), a to 0,14 g. Naopak varianta kontrolní (KONT/KONT) a varianta dělená (KONT/-N) se od sebe signifikantně nelišily (graf č. 5) a hmotnost sušiny u nich byla 0,32 a 0,27 g. Průměrný obsah vody v prýtech se v jednotlivých variantách v experimentu 1.1 signifikantně nelišil (graf č. 7) a pohyboval se v rozmezí od 94-95 %.

Průměrná hmotnost sušiny se v experimentu 1.2 signifikantně lišila mezi všemi variantami (graf č. 6). Největší (0,51 g) byla detekována u varianty dělené (KONT/-N). Nejnižší (0,13 g) u varianty deficientní (-K/-K). V obsahu vody se vzájemně lišily všechny varianty (graf č. 8). Nejvyšší obsah vody (94,93 %) byl detekován u varianty kontrolní (KONT/KONT), nejnižší (89,95 %) u varianty deficientní (-K/-K).



Grafy č. 5-8. Délka kořenů a délka jejich apikálních nevětvených částí u *Zea mays* v experimentu 1.1 (grafy č. 1 a 3) a 1.2 (grafy č. 2 a 4).

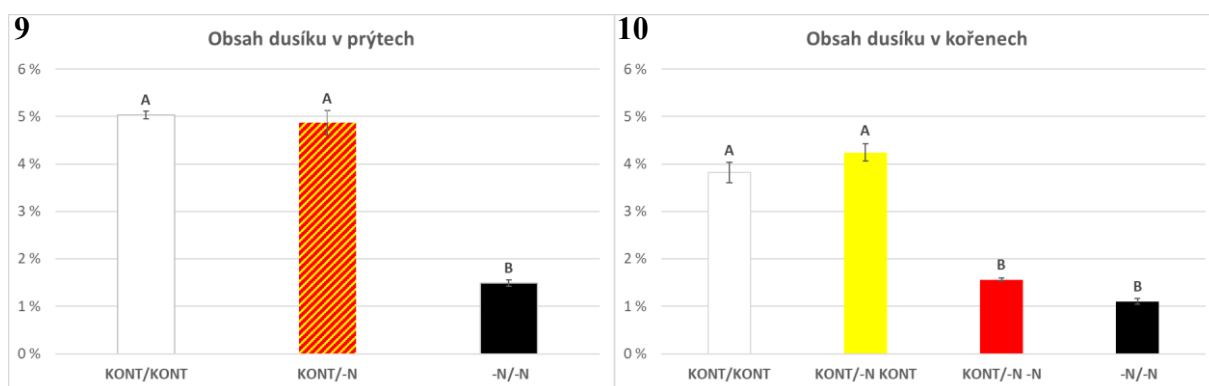
Barvy v grafu odpovídají barevnému uspořádání dělených kultivací na obr. č. 8 (str. 38). Kontrolní varianta (KONT/KONT) znázorněna bílou barvou, kontrolní kořen dělené varianty (KONT/-N KONT) v případě experimentu 1.1 a (KONT/-K KONT) v případě experimentu 1.2 znázorněn žlutou barvou, deficientní kořen dělené varianty (KONT/-N -N) nebo (KONT/-K -K) znázorněn červenou barvou, deficientní varianta (-N/-N) nebo (-K/-K) znázorněna černou barvou.

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p < 0,05$, $n = 6-12$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).

4.1.1.2 Analýza obsahu dusíku a draslíku v biomase rostlin

Z výsledků prvkové analýzy v experimentu 1.1 vyplývá, že varianta deficientní (-N/-N) měla obsah dusíku v sušině prýtů signifikantně nižší než ostatní varianty (graf č. 9). Bylo zde detekováno pouze 1,49 % dusíku. Oproti tomu ve variantě kontrolní (KONT/KONT) 5,03 % a ve variantě dělené (KONT/-N) 4,87 % dusíku. Tyto dvě varianty se navzájem nelišily (graf č. 9).

V kořenech byl nejvyšší obsah dusíku detekován u varianty kontrolní (KONT/KONT) 3,82 % a u kořenů kontrolních ve variantě dělené (KONT/-N KONT) 4,24 %. Signifikantně se od sebe tyto dvě varianty nelišily (graf č. 10). Podstatně méně dusíku (1,56 %) bylo detekováno v kořenech deficientních v dělené variantě (KONT/-N -N), signifikantně se tato varianta nelišila od varianty deficientní (-N/-N), kde byl obsah 1,1 %.

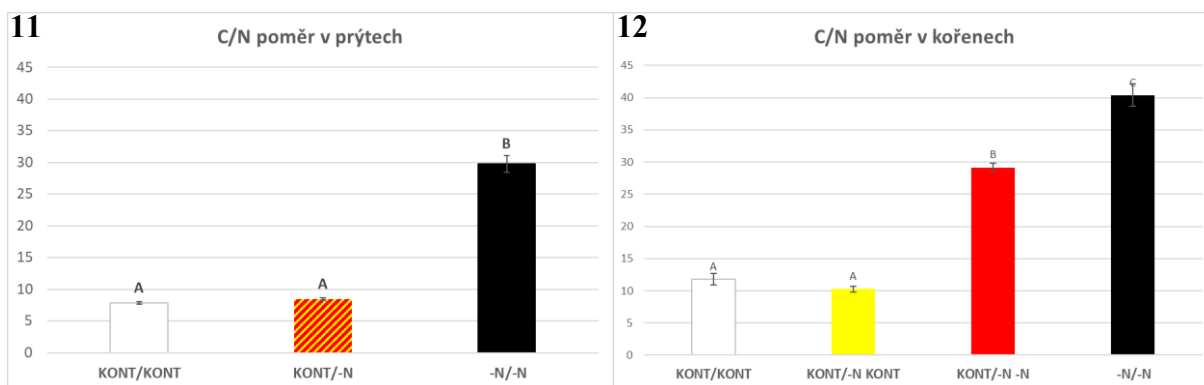


Grafy č. 9 a 10. Průměrný obsah dusíku (% suché hmotnosti) v prýtech a kořenech rostlin z experimentu 1.1.

Barvy v grafu odpovídají barevnému uspořádání dělených kultivací na obr. č. 8 (str. 38). Kontrolní varianta (KONT/KONT) znázorněna bílou barvou, kontrolní kořen dělené varianty (KONT/-N KONT) znázorněn žlutou barvou, deficientní kořen dělené varianty (KONT/-N -N) znázorněn červenou barvou, deficientní varianta (-N/-N) znázorněna černou barvou.

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p < 0,05$, $n = 4$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).

Poměr C/N byl v případě prýtů i kořenů signifikantně nejvyšší u deficientní varianty (-N/-N) (grafy č. 11 a 12). Signifikantní rozdíl byl tedy i mezi kořenem deficientním v dělené variantě (KONT/-N -N), kde byl poměr C/N 29,16, a kořenem z varianty deficientní (-N/-N), kde byl poměr C/N 40,76. Z těchto výsledků vyplývá, že v případě dělené varianty (KONT/-N) dochází k částečné retranslokaci dusíku z kořenů kontrolních (KONT/-N KONT) do kořenů deficientních (KONT/-N -N).



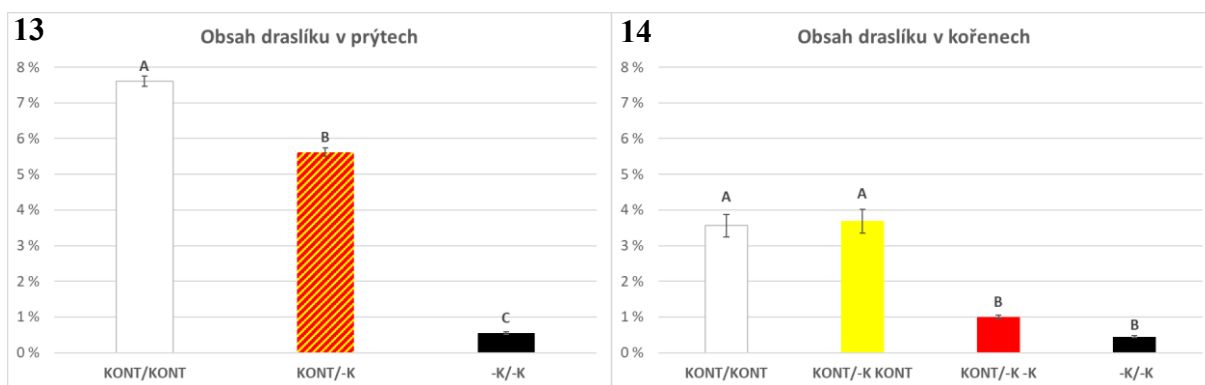
Grafy č. 11 a 12. Poměr C/N v prýtech a kořenech rostlin z experimentu 1.1.

Barvy v grafu odpovídají barevnému uspořádání dělených kultivací na obr. č. 8 (str. 38). Kontrolní varianta (KONT/KONT) znázorněna bílou barvou, kontrolní kořen dělené varianty (KONT/-N KONT) znázorněn žlutou barvou, deficientní kořen dělené varianty (KONT/-N -N) znázorněn červenou barvou, deficientní varianta (-N/-N) znázorněna černou barvou.

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p < 0,05$, $n = 4$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).

Z výsledků analýzy obsahu draslíku v biomase rostlin v experimentu 1.2 vyplývá, že na rozdíl od obsahu dusíku v prýtech z experimentu 1.1 se průměrný obsah draslíku v prýtech signifikantně lišil mezi všemi variantami (graf č. 13). Nejvyšší obsah (7,61 %) byl detekován u varianty kontrolní (KONT/KONT), nejnižší (0,55 %) u varianty deficientní (-K/-K).

Obsah draslíku v kořenech byl nejvyšší u varianty kontrolní (KONT/KONT), tj. 3,56 % a u kořene kontrolního v dělené variantě (KONT/-K KONT), tj. 3,69 %. Signifikantně se tyto dvě varianty od sebe nelišily (graf č. 14). U varianty deficientní (-K/-K) byl detekován nejnižší průměrný obsah draslíku v kořenech, a to jen 0,45 %. Signifikantně se od této varianty nelišil v průměrném obsahu draslíku kořen deficientní v dělené kultuře (KONT/-K -K), který obsahoval okolo 1 % draslíku. Retranslokace draslíku v dělené variantě (KONT/-K) mezi kořenem kontrolním (KONT/-K KONT) a kořenem deficientním (KONT/-K -K) byla tedy poměrně malá.



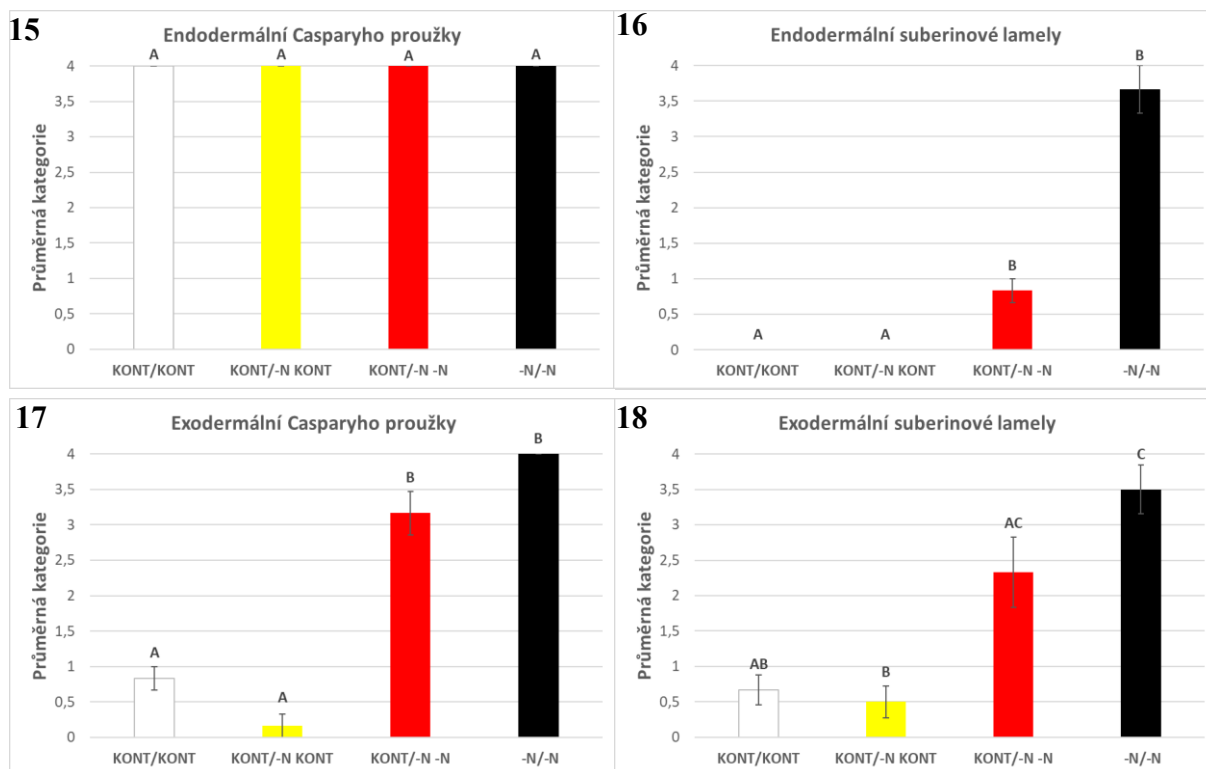
Grafy č. 13 a 14. Průměrný obsah draslíku (% suché hmotnosti) v prýtech a kořenech rostlin z experimentu 1.2.

Barvy v grafu odpovídají barevnému uspořádání dělených kultivací na obr. č. 8 (str. 38). Kontrolní varianta (KONT/KONT) znázorněna bílou barvou, kontrolní kořen dělené varianty (KONT/-K KONT) znázorněn žlutou barvou, deficientní kořen dělené varianty (KONT/-K -K) znázorněn červenou barvou, deficientní varianta (-K/-K) znázorněna černou barvou.

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p < 0,05$, $n = 5$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).

4.1.1.3 Anatomická analýza kořenů

Kořeny z experimentu 1.1 byly řezány v pozici 1/6 od kořenové špičky, kde se již deficiencie dusíku na diferenciaci apoplastických bariér projevuje (Namyslov *et al.*, 2020). Výsledky potvrzují závěry práce (Namyslov *et al.*, 2020), kořenový systém *Zea mays* reaguje lokalizovaným urychlením diferenciaci bariér v reakci na deficienci dusíku. Endodermální Casparyho proužky byly plně vyvinuty ve všech variantách (graf č. 15). Suberinové lamely v endodermální vrstvě nebyly detekovány v kontrolní variantě (KONT/KONT) a v kořenech kontrolních v dělené variantě (KONT/-N KONT). Kořen kontrolní v dělené variantě (KONT/-N KONT) se tak významně lišil od deficientního kořene stejné rostliny (KONT/-N -N), kde již suberinové lamely detekované byly (graf č. 16). Největší výskyt byl pozorován u deficientní varianty (-N/-N). V exodermální vrstvě byly Casparyho proužky i suberinové lamely detekovány v nejvyšším počtu u kořene deficientního v dělené variantě (KONT/-N -N) a ve variantě deficientní (-N/-N) a lišily se tak od varianty kontrolní (KONT/KONT) a kořene kontrolního v dělené variantě (KONT/-N KONT) (grafy č. 17 a 18).



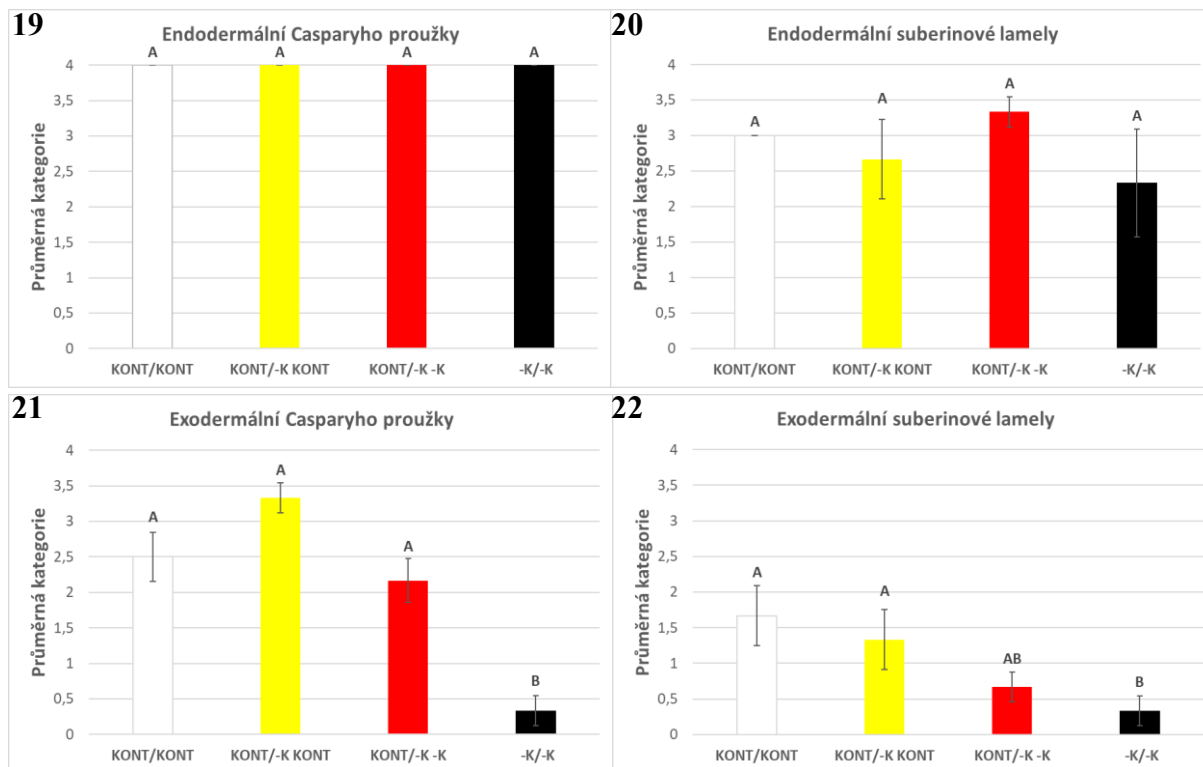
Grafy č. 15-18 Průměrné kategorie vývoje apoplastických bariér v kořenech *Zea mays* z experimentu 1.1 pěstovaných ve split-root kultivaci. Bariéry analyzovány v pozici 1/6 od kořenové špičky. Kategorie: 0 (žádné CP nebo SL), 1 (<30 % buněk s CP nebo SL), 2 (50 % buněk s CP nebo SL), 3 (>70 % buněk s CP nebo SL), 4 (100 % buněk s CP nebo SL).

Barvy v grafu odpovídají barevnému uspořádání dělených kultivací na obr. č. 8 (str. 38). Kontrolní varianta (KONT/KONT) znázorněna bílou barvou, kontrolní kořen dělené varianty (KONT/-N KONT) znázorněn žlutou barvou, deficientní kořen dělené varianty (KONT/-N -N) znázorněn červenou barvou, deficientní varianta (-N/-N) znázorněna černou barvou.

Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test, $p < 0,05$, $n = 6$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).

Kořeny z experimentu 1.2 byly řezány v pozici 3/4 od kořenové špičky a to proto, že deficiencie draslíku diferenciaci apoplastických bariér zpomaluje (Namyslov *et al.*, 2020). V pozici 1/6 od kořenové špičky by nebylo možné detekovat žádné modifikace buněčných stěn v exodermální vrstvě a nešlo by varianty porovnat. Výsledky opět potvrzují závěry z práce (Namyslov *et al.*, 2020), kořenový systém reaguje lokalizovaným zpomalením diferenciaci apoplastických bariér při působení deficiencie draslíku. Endodermální Casparyho proužky byly detekovány ve všech variantách (graf č. 19). Ve výskytu suberinových lamel v endodermis se od sebe jednotlivé varianty lišily, rozdíly však nebyly signifikantní (graf č. 20). V exodermální vrstvě se od sebe v počtu Casparyho proužků odlišovaly kořeny

v dělené variantě (KONT/-K), rozdíl však nebyl signifikantní. Od ostatních se signifikantně odlišovala pouze varianta deficientní (-K/-K), u které byl detekován nejmenší počet Casparyho proužků (graf č. 21). Podobná situace byla pozorována i u suberinových lamel v exodermis (graf č. 22).



Grafy č. 19-22 Průměrné kategorie vývoje apoplastických bariér v kořenech *Zea mays* z experimentu 1.2 pěstovaných ve split-root kultivaci. Bariér analyzovány v pozici 3/4 od kořenové špičky. Kategorie: 0 (žádné CP nebo SL), 1 (<30 % buněk s CP nebo SL), 2 (50 % buněk s CP nebo SL), 3 (>70 % buněk s CP nebo SL), 4 (100 % buněk s CP nebo SL).

Barvy v grafu odpovídají barevnému uspořádání dělených kultivací na obr. č. 8 (str. 38). Kontrolní varianta (KONT/KONT) znázorněna bílou barvou, kontrolní kořen dělené varianty (KONT/-K KONT) znázorněn žlutou barvou, deficientní kořen dělené varianty (KONT/-K -K) znázorněn červenou barvou, deficientní varianta (-K/-K) znázorněna černou barvou.

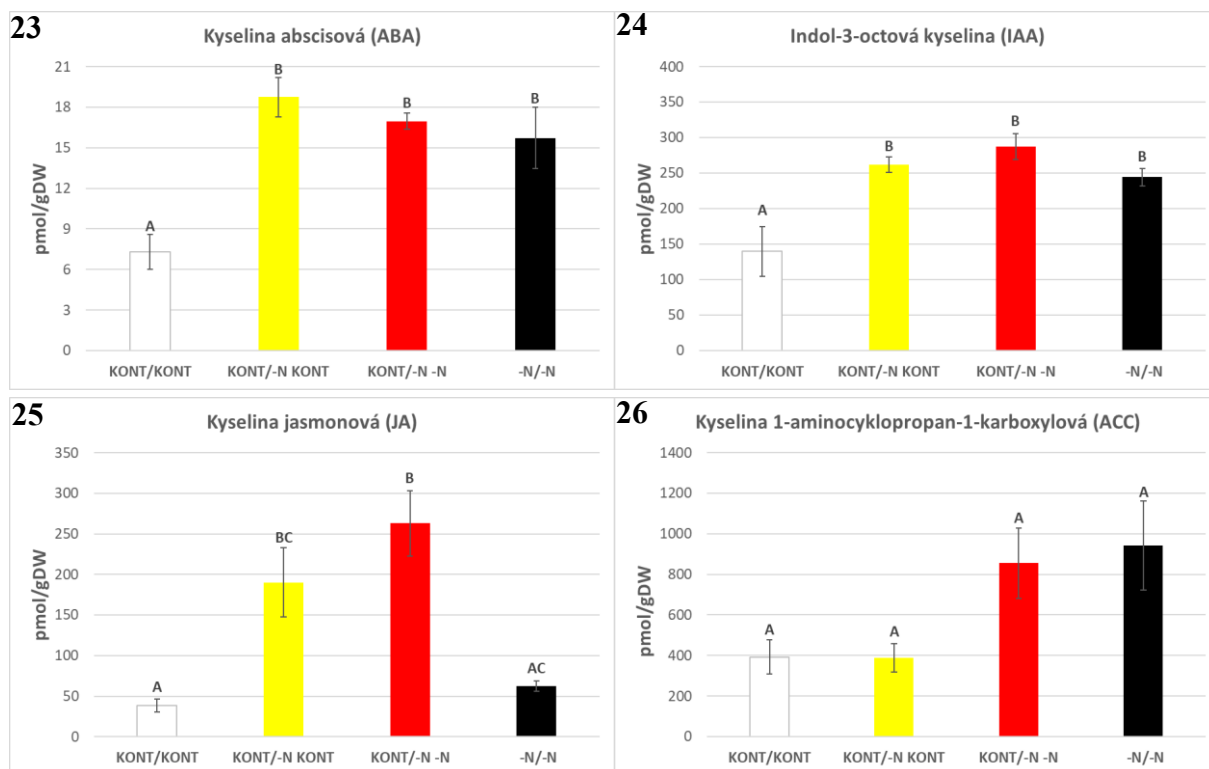
Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test, $p < 0,05$, $n = 6$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).

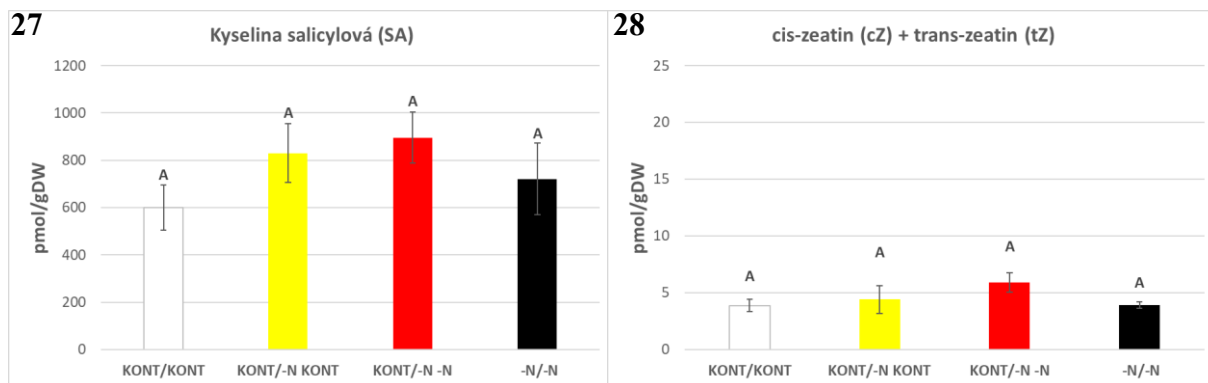
Tato anatomická analýza byla provedena za účelem ověření lokalizované odpovědi apoplastických bariér na deficienci minerálních živin v kořenech *Zea mays*. Především však proto, aby mohl být stupeň diferenciacce bariér korelován s výsledky prvkových a fytohormonových analýz.

4.1.1.4 Fytohormonová analýza kořenů

Hladiny jednotlivých fytohormonů byly měřeny v segmentech kořenů z experimentu 1.1 a 1.2.

V kořenech rostlin z experimentu 1.1 byly signifikantně rozdílné hladiny kyseliny jasmonové (JA), kyseliny indol-3-octové (IAA) a kyseliny abscisové (ABA). Nejvyšší hladina ABA byla detekována v obou kořenech dělené varianty (KONT/-N) a v deficientní variantě (-N/-N), signifikantně se tyto varianty lišily od varianty kontrolní (KONT/KONT) (graf č. 23). Stejný trend byl pozorován také v případě IAA, nejnižší hladina byla detekována u kontrolní varianty (KONT/KONT) a signifikantně se tak lišila od variant ostatních (graf č. 24). Hladina kyseliny jasmonové byla nejvyšší v deficientním kořeni z dělené varianty (KONT/-N -N), který se však nelišil od kořene kontrolního z této varianty (KONT/-N KONT) (graf č. 25). Hladiny kyseliny 1-aminocyklopropan-1-karboxylová (ACC), kyseliny salicylové (SA), a cis-zeatinu (cZ) + trans-zeatinu (tZ) se mezi jednotlivými variantami ve svých hladinách signifikantně nelišily (grafy č. 26-28, tabulky č. 4 a 5).



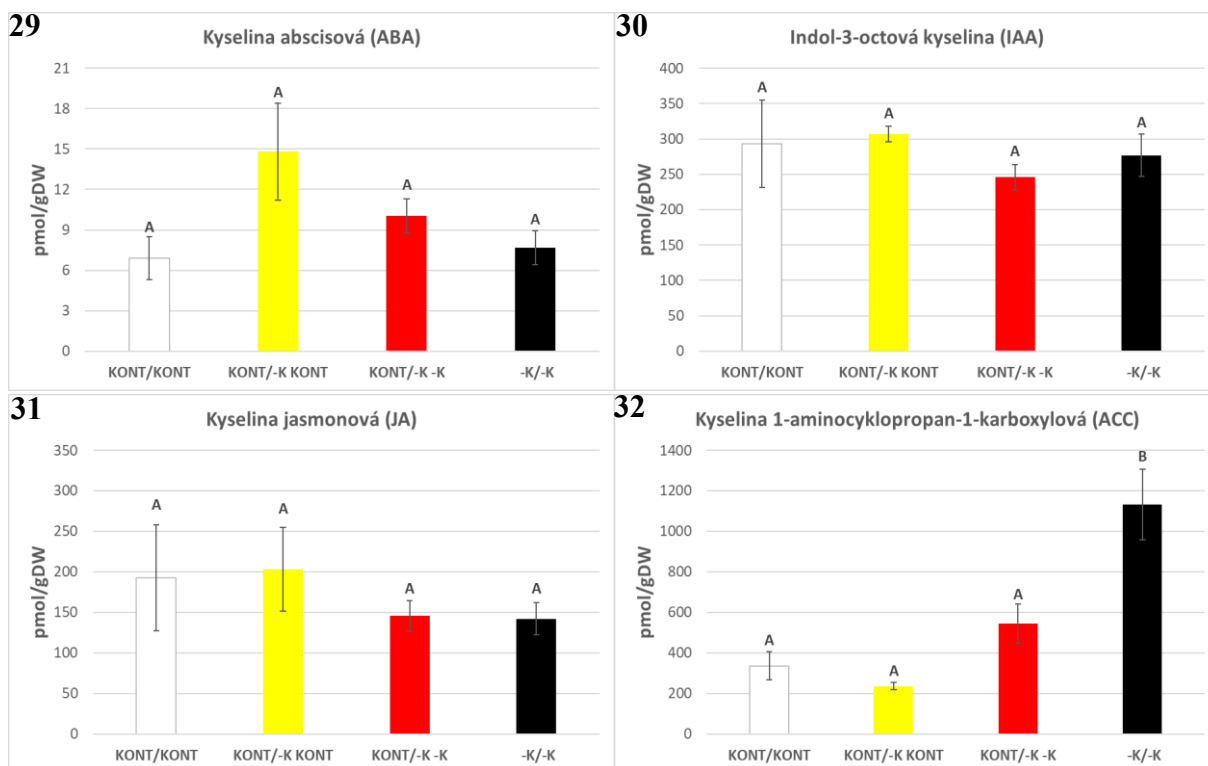


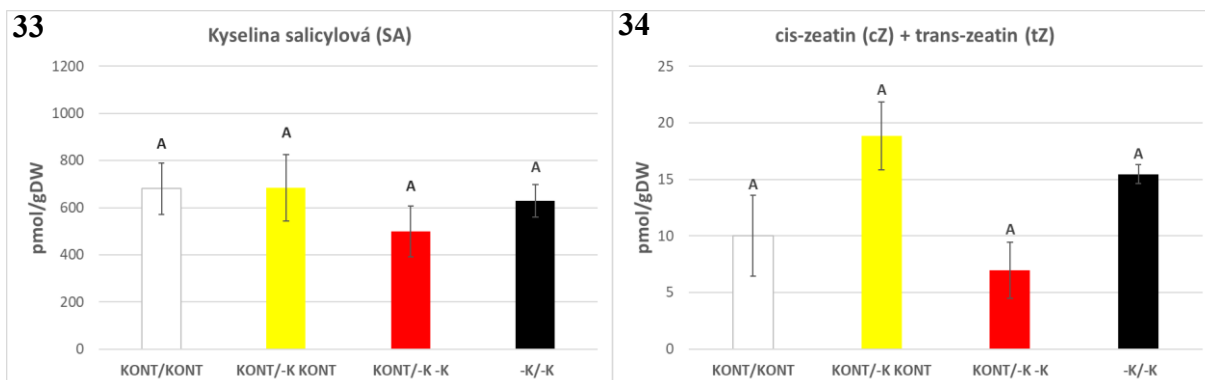
Grafy č. 22-28. Hladiny fytohormonů (pmol/gDW) v kořenech rostlin *Zea mays* z experimentu 1.1.

Barvy v grafu odpovídají barevnému uspořádání dělených kultivací na obr. č. 8 (str. 38). Kontrolní varianta (KONT/KONT) znázorněna bílou barvou, kontrolní kořen dělené varianty (KONT/-N KONT) znázorněn žlutou barvou, deficientní kořen dělené varianty (KONT/-N -N) znázorněn červenou barvou, deficientní varianta (-N/-N) znázorněna černou barvou.

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p < 0,05$, $n = 3$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).

V kořenech rostlin z experimentu 1.2 byla situace rozdílná. Signifikantní rozdíly mezi variantami byly detekovány pouze v případě AAC, nejvyšší hladina byla signifikantně nejvyšší u varianty deficientní (-K/-K) (graf č. 32). U ostatních fytohormonů byly hladiny mezi jednotlivými variantami různé, nelišily se však signifikantně (graf 29-31, 33, 34, tabulky č. 4 a 6).





Grafy č. 29-34. Hladiny fytohormonů (pmol/gDW) v kořenech rostlin *Zea mays* z experimentu 1.2.

Barvy v grafu odpovídají barevnému uspořádání dělených kultivací na obr. č. 8 (str. 38). Kontrolní varianta (KONT/KONT) znázorněna bílou barvou, kontrolní kořen dělené varianty (KONT/-K KONT) znázorněn žlutou barvou, deficientní kořen dělené varianty (KONT/-K -K) znázorněn červenou barvou, deficientní varianta (-K/-K) znázorněna černou barvou.

Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p < 0,05$, $n = 3$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).

V experimentu 1.1 byly detekovány větší rozdíly mezi hladinami fytohormonů mezi variantami. U experimentu 1.2 se od sebe varianty lišily pouze u ethylenu.

Kompletní přehled měřených fytohormonů, jejich prekurzorů a metabolitů je uveden v tabulce č. 4. Konkrétní naměřené hodnoty jsou v případě experimentu 1.1 v tabulce č. 5, v případě experimentu 1.2 v tabulce č. 6.

Zkratka	Název	Aktivita
ABA	kyselina abscisová	bioaktivní hormon
DPA	kyselina dihydrofazeová	metabolit ABA
PA	kyselina fazeová	metabolit ABA
9OH-ABA	9-hydroxy-ABA	metabolit ABA
IAA	kyselina indol-3-octová	bioaktivní hormon
IAA-Asp	indolyl-acetyl-aspartát	metabolit IAA
OxIAA	kyselina oxindol-3-octová	metabolit IAA
PAA	kyselina fenylactová	slabá auxinová aktivita
SA	kyselina salicylová	bioaktivní hormon
BzA	kyselina benzoová	fenolová kyselina
JA	kyselina jasmonová	bioaktivní hormon
JA-Ileu	jasmonát-isoleucin	metabolit JA bioaktivní
cisOPDA	kyselina oxofytodienová	prekurzor JA
tZ	trans-zeatin	bioaktivní hormon
cZ	cis-zeatin	bioaktivní hormon
tZ + cZ	součet tZ a cZ	bioaktivní hormony
tZR	trans-zeatinribosid	metabolit CK
iPR	isopentenyladenosid	metabolit CK
cZR	cis-zeatinribosid	metabolit CK
tZR + iPR + cZR	součet iPR a cZR	metabolity CK
cZOG	cis-zeatin-O-glukosid	metabolit CK
cZROG	cis-zeatin ribosid-O-glukosid	metabolit CK
cZOG + cZROG	součet cZOG a cZROG	metabolity CK
iPRMP	isopentenyladenosin monofosfát	prekurzor CK
cZRMP	cis-zeatinribosid monofosfát	prekurzor CK
iPRMP + cZRMP	součet iPRMP a cZRMP	prekurzory CK
ACC	kyselina 1-aminocyklopropan-1-karboxylová	prekurzor ethylenu

Tabulka č. 4. Celkový přehled měřených fytohormonů, prekurzorů a metabolitů. Tabulka také obsahuje sumy některých hodnot, které byly také statisticky hodnoceny v tabulkách č. 5 a 6.

	KONT/KONT		KONT/-N KONT		KONT/-N -N		-N/-N	
ABA	7,29	A	18,75	B	16,96	B	15,73	B
DPA	86,49	AB	108,17	A	30,33	AB	5,60	B
PA	10,51	A	9,24	A	11,09	A	5,04	A
9OH-ABA	11,19	A	10,65	A	19,32	A	10,79	A
IAA	139,66	A	261,55	B	287,30	B	244,37	B
IAA-Asp	24,70	A	14,05	AB	3,93	B	6,47	AB
OxIAA	621,45	A	1347,22	B	962,02	AB	512,04	A
PAA	31,13	A	79,03	AB	95,35	AB	180,48	B
SA	600,44	A	830,27	A	895,85	A	720,56	A
BzA	1267,30	A	2160,09	A	2199,09	A	3026,64	A
JA	38,60	A	190,24	BC	262,88	C	62,12	AB
JA-Ileu	0,48	A	0,98	A	3,25	B	0,90	A
cisOPDA	33,09	A	27,46	A	17,78	A	34,72	A
tZ	3,87	A	4,42	A	4,54	A	X	X
cZ	X	X	X	X	2,05	A	3,91	B
tZ + cZ	3,87	A	4,42	A	5,91	A	3,91	A
tZR	2,85	A	10,12	A	2,26	A	1,63	A
iPR	X	X	6,96	A	3,35	B	2,08	B
cZR	22,82	A	14,55	A	25,24	A	11,73	A
tZR + iPR + cZR	25,67	A	31,64	A	27,86	A	13,51	A
cZOG	17,65	A	8,16	AB	7,54	B	9,52	AB
cZROG	31,87	A	26,19	A	15,07	A	29,60	A
cZOG + cZROG	49,52	A	34,35	A	22,61	A	39,12	A
iPRMP	2,53	A	13,44	B	5,59	A	3,65	A
cZRMP	3,79	A	4,49	A	4,91	A	0,64	A
iPRMP + cZRMP	6,32	AB	14,93	A	10,50	AB	3,86	B
ACC	392,38	A	387,17	A	854,85	A	941,86	A

Tabulka č. 5. Průměrné hodnoty hladin (pmol/gDW) naměřených v kořenech rostlin *Zea mays* z dělené kultivace z experimentu I.1.

Barvy v grafu odpovídají barevnému uspořádání dělených kultivací na obr. č. 8 (str. 38). Kontrolní varianta (KONT/KONT) znázorněna bílou barvou, kontrolní kořen dělené varianty (KONT/-N KONT) znázorněn žlutou barvou, deficientní kořen dělené varianty (KONT/-N -N) znázorněn červenou barvou, deficientní varianta (-N/-N) znázorněna černou barvou.

Rozdílná písmena značí signifikantní rozdíly mezi variantami (Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p < 0,05$, $n = 3$).

	KONT/KONT		KONT/-K KONT		KONT/-K -K		-K/-K	
ABA	6,92	A	14,81	A	10,04	A	7,66	A
DPA	61,16	A	24,78	B	22,76	B	50,66	AB
PA	9,34	A	9,18	A	15,44	A	12,87	A
9OH-ABA	16,50	A	17,57	A	18,33	A	15,85	A
IAA	293,48	A	306,64	A	245,73	A	276,94	A
IAA-Asp	31,23	A	36,91	A	21,19	A	15,62	A
OxIAA	72,98	A	771,70	B	175,00	A	1195,54	C
PAA	106,71	A	43,62	A	55,20	A	74,30	A
SA	680,44	A	683,36	A	499,24	A	629,87	A
BzA	1754,80	A	1217,21	AB	1051,71	B	1286,23	AB
JA	192,68	A	203,45	A	145,59	A	141,96	A
JA-Ileu	1,85	A	1,26	A	1,38	A	3,43	A
cisOPDA	98,65	A	49,13	AB	39,95	B	43,01	AB
tZ	6,03	A	9,37	A	4,59	A	4,09	A
cZ	3,99	A	9,47	A	5,83	A	11,35	A
tZ + cZ	10,01	A	18,83	A	6,95	A	15,44	A
tZR	7,81	A	4,18	A	5,21	A	6,87	A
iPR	13,60	A	6,20	A	11,24	A	8,97	A
cZR	31,10	A	63,09	B	58,46	AB	103,80	C
tZR + iPR + cZR	52,51	A	72,07	A	74,91	A	117,36	B
cZOG	5,95	A	9,58	A	5,81	A	17,26	A
cZROG	7,15	A	31,20	BC	15,88	AB	41,91	C
cZOG + cZROG	13,10	A	40,78	AB	21,68	A	59,18	B
iPRMP	15,26	A	7,25	A	15,41	A	4,59	A
cZRMP	1,98	A	15,54	A	6,66	A	9,82	A
iPRMP + cZRMP	16,25	A	22,78	A	22,08	A	12,88	A
ACC	336,09	A	236,39	A	544,77	A	1132,50	B

Tabulka č. 6. Průměrné hodnoty hladin (pmol/gDW) naměřených v kořenech rostlin *Zea mays* z dělené kultivace z experimentu 1.2.

Barvy v grafu odpovídají barevnému uspořádání dělených kultivací na obr. č. 8 (str. 38). Kontrolní varianta (KONT/KONT) znázorněna bílou barvou, kontrolní kořen dělené varianty (KONT/-K KONT) znázorněn žlutou barvou, deficientní kořen dělené varianty (KONT/-K -K) znázorněn červenou barvou, deficientní varianta (-K/-K) znázorněna černou barvou.

Rozdílná písmena značí signifikantní rozdíly mezi variantami (Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p < 0,05$, $n = 3$).

4.1.1.4 Analýza korelace mezi obsahem prvků, hladinou fytohormonů a stupněm diferenciací apoplastických bariér v kořenech *Zea mays*

Pro bližší vyhodnocení spojitostí mezi obsahem deficientního prvku, hladinami jednotlivých fytohormonů a stupněm diferenciací apoplastických bariér v kořenech byla u dat z experimentu 1.1. i 1.2 provedena analýza korelací.

Nejprve byla analyzována korelace mezi stupněm diferenciací bariér a obsahem deficientního prvku. Ta ukázala signifikantní negativní korelaci mezi stupněm diferenciací exodermis i endodermis a obsahem dusíku v kořenech, a naopak pozitivní korelaci mezi obsahem draslíku a stupněm diferenciací exodermálních Casparyho proužků (tabulka č. 7). To je v souladu s výsledky anatomické analýzy (kap. 4.1.1.3) - v podmínkách deficiencie dusíku se bariéry diferencovaly rychleji, tj. blíže za kořenovou špičkou, při deficienci draslíku později.

	Obsah prvku v kořenech	
	N (%) experiment 1.1	K (%) experiment 1.2
Stupeň diferenciací apoplastických bariér		
exodermální Casparyho proužky	-0,94	0,78
exodermální suberinové lamely	-0,75	0,45
endodermální suberinové lamely	-0,76	-0,38

Tabulka č. 7. Korelace mezi obsahem prvku (% suché hmotnosti kořenů) a stupněm diferenciací apoplastických bariér u *Zea mays* při deficienci N (experiment 1.1) a deficienci K (experiment 1.2). Hodnoty ukazují Pearsonův korelační koeficient, červená barva signifikantní pozitivní korelaci, modrá barva signifikantní negativní korelaci ($p < 0,05$), šedá barva bez signifikantní korelace ($p > 0,05$; Correlation matrix).

Dále byla analyzována korelace mezi obsahem deficientního prvku a hladinou jednotlivých fytohormonů v kořenech (tabulka č. 8). Společný trendem mezi experimentem 1.1 a 1.2. byla negativní korelace u ACC, jehož hladina byla vyšší v N-deficientních i K-deficientních kořenech oproti kořenům kontrolním. Opačný trend byl patrný u IAA-Asp (metabolit IAA), jehož hladina byla v obou experimentech vyšší v kontrolních kořenech. Hladiny kys. abscisové, kys. indolyl-3-octové, zeatinu, kys. jasmonové a kys. salicylové nevykazovaly signifikantní korelaci s obsahem dusíku ani s obsahem draslíku (tabulka č. 8).

Obsah prvku v kořenech				
	N (%)	K (%)		
	experiment 1.1	experiment 1.2		
Kyselina abscisová				
ABA	-0,26	0,10	kys. abscisová	bioaktivní hormon
DPA	0,84	0,14	kys. dihydrofazeová	metabolit ABA
PA	0,21	-0,46	kys. fazeová	metabolit ABA
9OH-ABA	-0,35	0,03	9-hydroxy-ABA	metabolit ABA
Auxiny				
IAA	-0,41	0,39	kys. indol-3-octová	bioaktivní hormon
IAA-Asp	0,69	0,78	indolyl-acetyl-aspartát	metabolit IAA
OxIAA	0,39	-0,37	kys. oxindol-3-octová	metabolit IAA
PAA	-0,66	0,18	kys. fenylactová	slabá auxinová aktivita
Kyselina salicylová				
SA	-0,13	0,42	kys. salicylová	bioaktivní hormon
Jasmonáty				
JA	-0,12	0,45	kys. jasmonová	bioaktivní hormon
JA-Ileu	-0,45	-0,45	jasmonát-isoleucin	metabolit JA bioaktivní
cisOPDA	0,15	0,58	kys. oxofytodienová	prekurzor JA
Cytokinin				
tZR+cZR	-0,25	0,25	suma trans-zeatin+cis-zeatin	bioaktivní hormon
tZR	0,52	-0,05	trans-zeatinribosid	metabolit CK
cZR	0,98	-0,06	cis-zeatinribosid	metabolit CK
tZR+iPR+cZR	0,09	-0,66	suma tZR+iPR+cZR	metabolity CK
cZOG	0,48	-0,71	cis-zeatin-O-glukosid	metabolit CK
cZROG	0,40	-0,37	cis-zeatin ribosid-O-glukosid	metabolit CK
cZOG+cZROG	0,26	-0,35	suma cZOG+cZROG	metabolity CK
iPRMP	0,42	-0,09	isopentenyladenosin monofosfát	prekurzor CK
iPRMP+cZRMP	0,41	0,11	suma iPRMP+cZRMP	prekurzory CK
Ethylen				
ACC	-0,76	-0,77	kys. 1-aminocyklopropan-1-karboxylová	prekurzor ethylen

Tabulka č. 8. Korelace mezi obsahem prvku (% suché hmotnosti kořenů) a hladinou jednotlivých fytohormonů u *Zea mays* při deficienci N (experiment 1.1) a deficienci K (experiment 1.2). Hodnoty ukazují Pearsonův korelační koeficient, červená barva signifikantní pozitivní korelaci, modrá barva signifikantní negativní korelaci ($p < 0,05$), šedá barva bez signifikantní korelace ($p > 0,05$; Correlation matrix).

Korelace mezi stupněm diferenciací bariér a hladinou jednotlivých fytohormonů v kořenech ukázala překvapivě málo společných trendů mezi experimentem 1.1 a 1.2 (tabulka č. 9). V experimentu 1.1, kdy byly rostliny vystaveny deficienci dusíku, byla nalezena signifikantní negativní korelace mezi obsahem kys. dihydrofazeové (DPA; metabolit ABA) a stupněm diferenciací endodermis i exodermis, dále negativní korelace u některých metabolitů cytokininů a pozitivní korelace u ACC a kys. fenylactové (PAA; tabulka č. 9).

N-deficientní kořeny, které vykazovaly rychlejší diferenciaci bariér, tedy obsahovaly méně DPA, více ACC a PAA.

V experimentu 1.2, kdy byly rostliny vystaveny deficienci draslíku, byla pro ACC naopak pozorována negativní korelace (tabulka č. 9). K-deficientní kořeny, které vykazovaly méně diferencovanou exodermis, měly vyšší hladinu ACC než kořeny kontrolní. Stejný trend byl patrný pro některé metabolity cytokininů a pro kys. oxindol-3-octovou (tabulka č. 9).

	Deficiencie N (experiment 1.1)			Deficiencie K (experiment 1.2)				
	Exodermis Casp. proužky	Exodermis Suber. lamely	Endodermis Suber. lamely	Exodermis Casp. proužky	Exodermis Suber. lamely	Endodermis Suber. lamely		
Kyselina abscisová								
ABA	0,11	0,12	0,18	0,31	0,41	0,29	kys. abscisová	bioaktivní hormon
DPA	-0,83	-0,62	-0,70	-0,22	0,17	0,14	kys. dihydrofazeová	metabolit ABA
PA	-0,31	-0,31	-0,48	-0,15	0,27	0,23	kys. fazeová	metabolit ABA
9OH-ABA	0,40	0,20	-0,18	-0,04	0,17	0,10	9-hydroxy-ABA	metabolit ABA
Auxiny								
IAA	0,25	0,20	0,20	0,25	0,45	0,20	kys. indol-3-octová	bioaktivní hormon
IAA-Asp	-0,59	-0,33	-0,42	0,64	0,58	-0,35	indolyl-acetyl-aspartát	metabolit IAA
OxIAA	-0,51	-0,41	-0,56	-0,58	-0,64	0,48	kys. oxindol-3-octová	metabolit IAA
PAA	0,59	0,76	0,76	-0,07	0,57	-0,09	kys. fenyloctová	slabá auxinová aktivita
Kyselina salicylová								
SA	0,06	0,08	-0,09	0,17	0,11	-0,22	kys. salicylová	bioaktivní hormon
Jasmonáty								
JA	0,09	-0,38	-0,35	0,18	0,52	0,15	kys. jasmonová	bioaktivní hormon
JA-Ileu	0,40	-0,08	-0,09	-0,56	0,00	0,57	jasmonát-iso-leucin	metabolit JA bioaktivní
cisOPDA	-0,04	0,07	0,25	0,32	0,49	-0,09	kys. oxofytodienová	prekurzor JA
Cytokiny								
tZ+cZ	0,22	-0,06	-0,23	0,20	-0,45	0,23	suma trans-zeatin+cis-zeatin	bioaktivní hormon
tZR	-0,63	-0,40	-0,45	-0,10	0,06	0,13	trans-zeatinribosid	metabolit CK
cZR	-0,05	-0,23	-0,48	-0,73	-0,76	0,62	cis-zeatinribosid	metabolit CK
tZR+iPR+cZR	-0,51	-0,56	-0,67	-0,77	-0,71	0,70	suma tZR+iPR+cZR	metabolity CK
cZOG	-0,18	-0,30	-0,19	-0,45	-0,61	0,48	cis-zeatin-O-glukosid	metabolit CK
cZROG	-0,23	0,00	0,15	-0,59	-0,70	0,48	cis-zeatin ribosid-O-glukosid	metabolit CK
cZOG+cZROG	-0,23	-0,11	0,03	-0,58	-0,72	0,51	suma cZOG+cZROG	metabolity CK
iPRMP	-0,57	-0,45	-0,36	0,10	0,15	-0,03	isopentenyladenosin monofosfát	prekurzor CK
iPRMP+cZRMP	-0,61	-0,39	-0,51	0,26	-0,05	0,10	suma iPRMP+cZRMP	prekurzory CK
Ethylen								
ACC	0,74	0,69	0,55	-0,84	-0,55	0,59	kys. 1-aminocyklopropan-1-karboxylová	prekurzor ethylen

Tabulka č. 9. Korelace mezi hladinami fytohormonů v kořenech a stupněm diferenciaci apoplastických bariér u *Zea mays* při deficienci N (experiment 1.1) a deficienci K (experiment 1.2). Hodnoty ukazují Pearsonův korelační koeficient, červená barva signifikantní pozitivní korelaci, modrá barva signifikantní negativní korelaci ($p < 0,05$), šedá barva bez signifikantní korelace ($p > 0,05$). V jednotlivých sloupcích jsou vyneseny korelace pro exodermální Casparyho proužky, exodermální suberinové lamely a endodermální suberinové lamely.

4.2 Experiment 2 – Analýza lokalizované odpovědi diferenciaci exodermis a endodermis v reakci na heterogenní dostupnost živin u dalších rostlinných druhů

Cílem tohoto experimentu bylo testování lokalizované odpovědi apoplastických bariér v reakci na různou dostupnost dusíku i u jiných rostlinných druhů. Rostlinné druhy byly vybrány z čeledi *Poaceae* a to konkrétně *Hordeum vulgare*, *Avena sativa* a *Sorghum bicolor*. Tyto druhy byly vybrány z důvodu snadné kultivace a jejich schopnosti tvořit exodermální vrstvu.

Rostliny *Hordeum vulgare* byly pěstovány ve třech variantách dělených kultivací, tedy kontrolní (KONT/KONT), dělené (KONT/-N) a deficientní (-N/-N) po dobu 10 dní. Anatomická analýza kořenů byla provedena v pozici 3/4 a 7/8 od kořenové špičky. V obou pozicích byly detekovány u všech variant pouze endodermální Casparyho proužky a suberinové lamely. Exodermální vrstva nebyla detekována, proto byla kultivace zopakována s prodlouženou dobou kultivování.

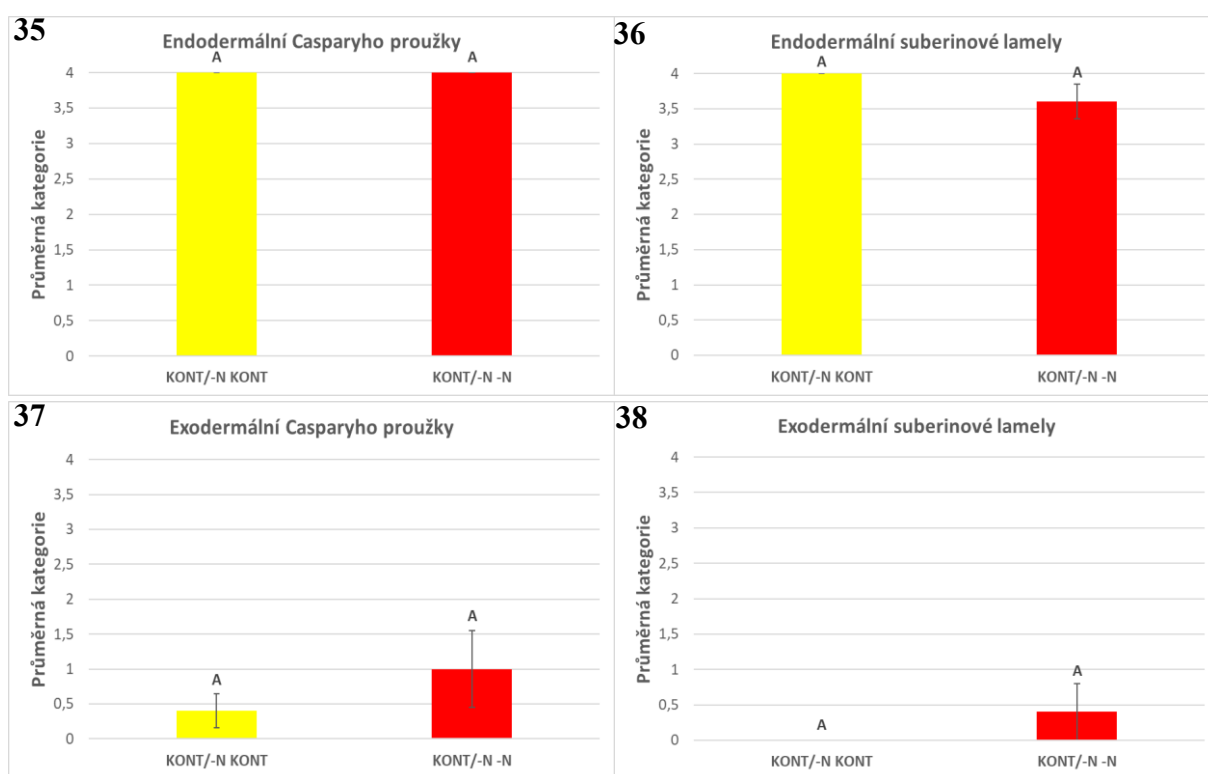
Druhá kultivace *Hordeum vulgare* byla provedena pouze s variantou dělenou (KONT/-N), lišila se jen doba sklizně a rostliny byly sklizeny po 14 a 21 dnech. Byla provedena anatomická analýza vývoje apoplastických bariér v pozici 3/4 a 7/8 od kořenové špičky, diferencované exodermální Casparyho proužky nebo suberinové lamely opět nebyly detekovány.

Byla však pozorována rozdílná morfologická stavba kořenů v dělené variantě (KONT/-N). U deficientních kořenů (KONT/-N -N) byl inhibován růst postranních kořenů oproti kořenům kontrolním (KONT/-N KONT) (tabule č. 1).

Rostliny *Avena sativa* byly pěstovány v dělené variantě (KONT/-N) po dobu 10 dní. Situace s vývojem apoplastických bariér byla stejná jako u rostlin *Hordeum vulgare*, byly tedy detekovány pouze Casparyho proužky a suberinové lamely v endodermální vrstvě v pozici 3/4 a 7/8. Exodermální vrstva nebyla detekována vůbec. U *Avena sativa* se na rozdíl od *Hordeum vulgare* nebyly mezi jednotlivými variantami viditelné ani rozdíly v morfologické stavbě kořenů.

Rostliny *Sorghum bicolor* byly také pěstovány v dělené variantě (KONT/-N) po dobu 10 dní. V případě *Sorghum bicolor* byly pozorovány morfologické rozdíly mezi kořeny

kontrolními (KONT/KONT) a deficientními (KONT/-N) (tabule č. 1). V pozici 7/8 od kořenové špičky byla detekována částečně diferenciovaná exodermis a byly pozorovány mírné rozdíly ve stupni diferenciacie apoplastických bariér mezi kořenem deficientním (KONT/-N -N) a kořenem kontrolním (KONT/-N KONT) (grafy č. 35-38), nebyly však statisticky průkazné. V endodermální vrstvě nebyl pozorován žádný rozdíl v Casparyho prouzcích (které byly vyvinuty u všech buněk) (graf č. 35). Průměrné kategorie v případě suberinových lamel v endodermis, Casparyho proužků a suberinových lamel v exodermis se mezi jednotlivými variantami lišily, rozdíly však nebyly ani v jednom případě po statistickém vyhodnocení signifikantní (grafy č. 36-38). Fotografie řezů jednotlivých variant z této kultivace jsou v tabuli č. 2.

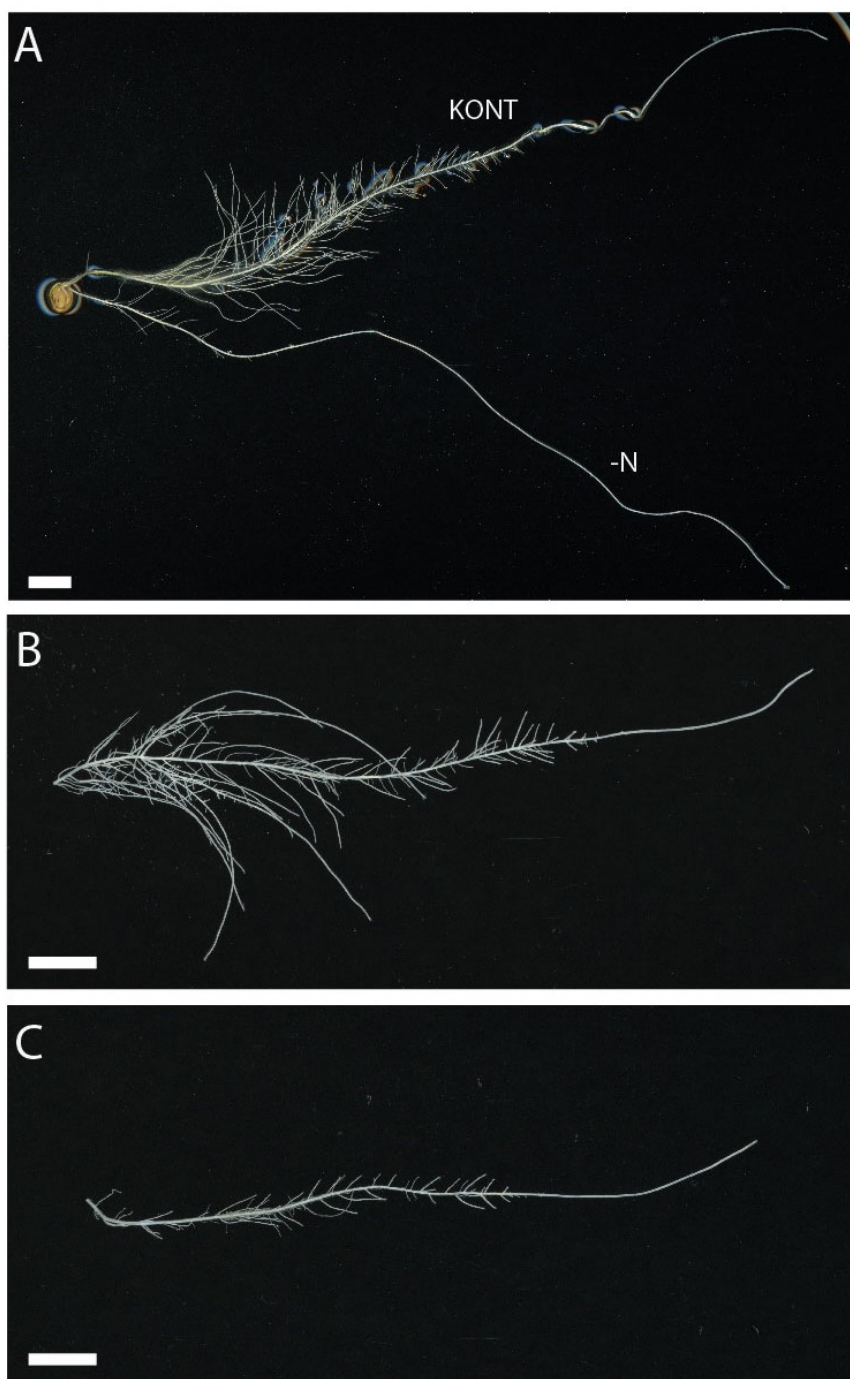


Grafy č. 35-38. Průměrné kategorie vývoje apoplastických bariér v kořenech *Sorghum bicolor* pěstovaných ve split-root kultivaci s deficiencí dusíku. Bariéry byly analyzovány v pozici 7/8 od kořenové špičky. Kategorie: 0 (žádné CP nebo SL), 1 (<30 % buněk s CP nebo SL), 2 (50 % buněk s CP nebo SL), 3 (>70 % buněk s CP nebo SL), 4 (100 % buněk s CP nebo SL).

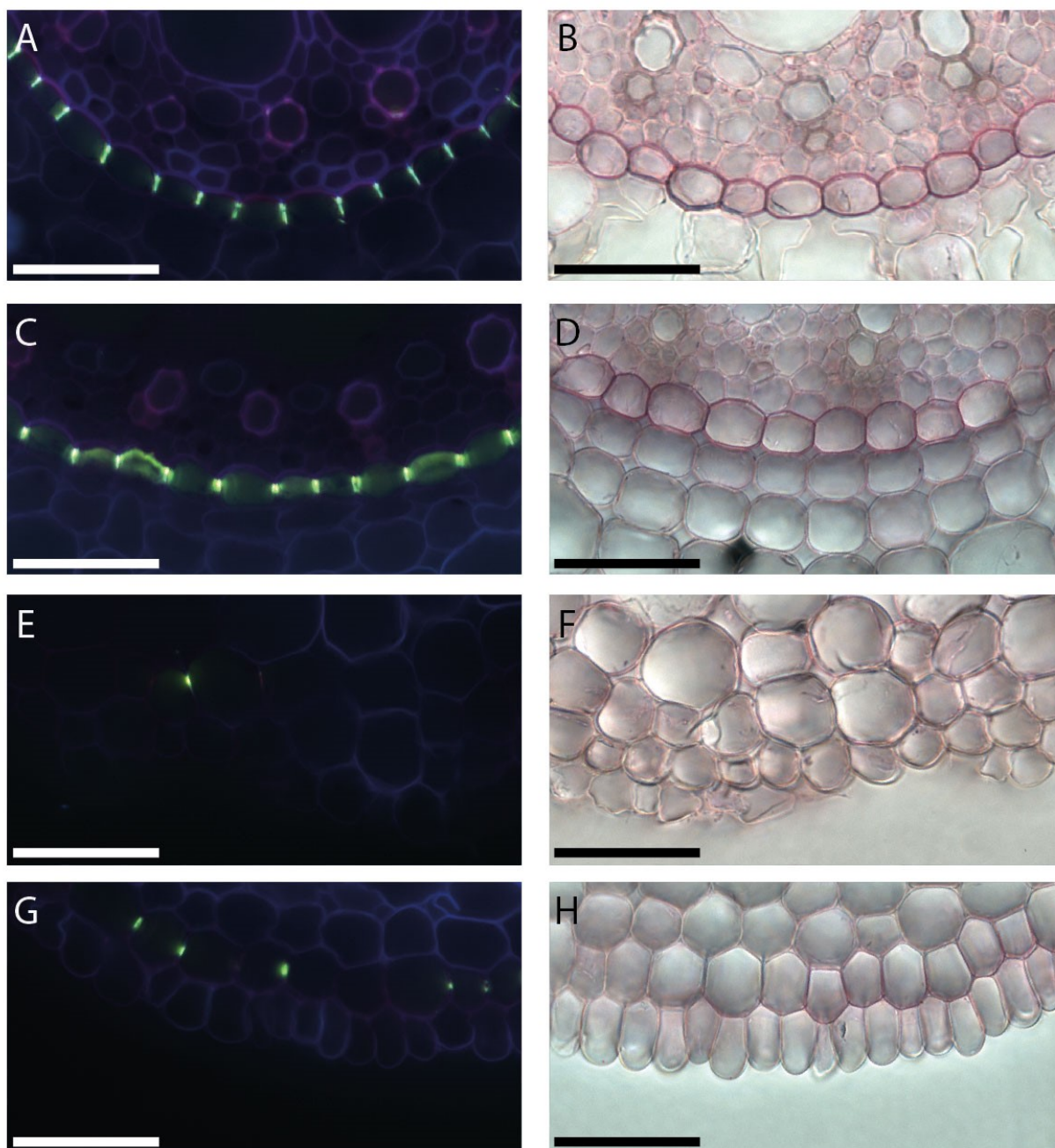
Barvy v grafu odpovídají barevnému uspořádání dělených kultivací na obr. č. 8 (str. 38). Kontrolní kořen dělené varianty (KONT/-K KONT) je znázorněn žlutou barvou, deficientní kořen dělené varianty (KONT/-K -K) je znázorněn červenou barvou.

Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test, $p < 0,05$, $n = 5$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).

Náznak lokalizované odpovědi byl tedy detekován pouze u *Sorghum vulgare*, pro přesnější výsledky však bude nutno tuto kultivaci zopakovat s delší dobou kultivování.



Tabule č. 1. Ukázka morfologicky rozdílných kořenů rostlin pěstovaných ve split-root kultivaci s deficiencí dusíku po dobu 10 dní (KONT/-N). (A) Kořeny *Hordeum vulgare*, (B) kontrolní kořen *Sorghum bicolor* (KONT/-N KONT) a (C) deficientní kořen *Sorghum bicolor* (KONT/-N -N), měřítko = 1 cm.



Tabule č. 2. Diferenciace endodermis a exodermis *Sorghum bicolor* ve variantě (KONT/-N). Řezy v pozici 7/8 kořene od kořenové špičky barvené berberinem a genciánovou violetí (A, C, E, G) pro zvýraznění Casparyho proužků a Sudan Red (B, D, F, H) pro zvýraznění suberinových lamel, měřítko = 50 μ m

Endodermální vrstva kontrolního (A, B) a deficientního (C, D) kořene. Exodermální vrstva kontrolního (E, F) a deficientního (G, H) kořene.

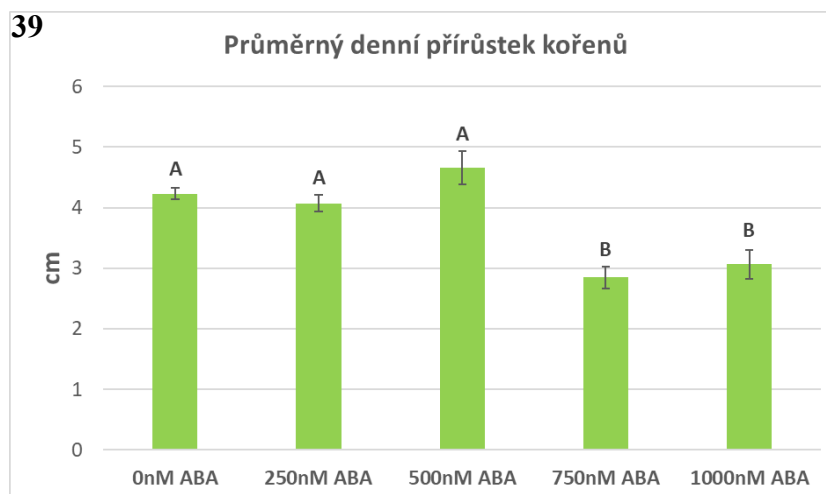
4.3 Experiment 3 – Analýza vlivu ABA, BAP, NAA a ACC na kořenový systém *Zea mays*

V tomto experimentu byly rostliny *Zea mays* vystavovány různým koncentracím vybraných fytohormonů za účelem analýzy vlivu na diferenciaci apoplastických bariér. Rostliny byly pěstovány v roztoku s fytohormonem vždy 3 dny. Metodika tohoto experimentu je podrobněji popsána v kapitole 2.3.1.

4.3.1 Kyselina abscisová

Nejsilnější vliv na diferenciaci apoplastických bariér měl univerzální stresový hormon kyselina abscisová (ABA). ABA stimulovala diferenciaci apoplastických bariér v kořenech i v koncentraci, která neinhibovala růst kořene.

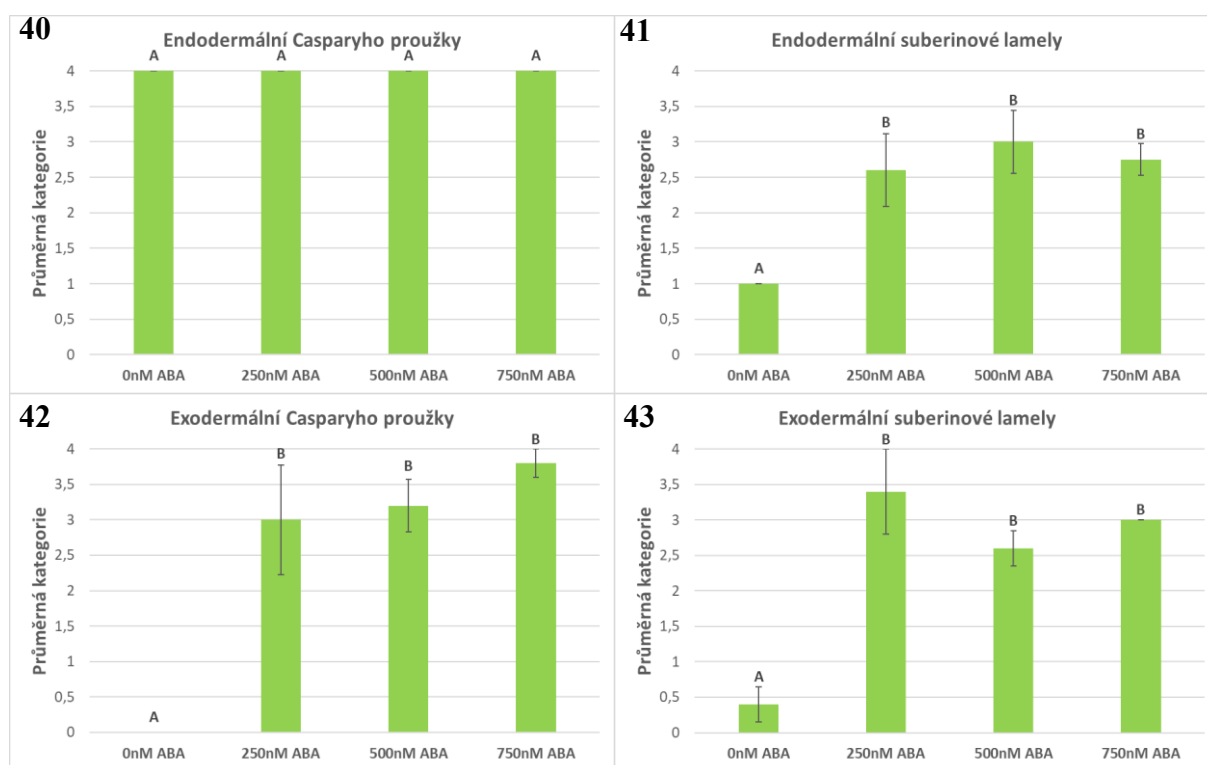
Rostliny byly vystaveny působení 0, 250, 500, 750, 1 000nM ABA. Kořeny ošetřené 0, 250 a 500nM ABA se od sebe nelišily v rychlosti růstu kořenů (graf č. 39), ale významně se lišily v míře diferenciaci apoplastických bariér (grafy č. 40-43). Varianty s vyššími koncentracemi (750 a 1 000nM ABA) již byly inhibovány v růstu (graf č. 39).



Graf č. 39. Průměrné denní přírůstky kořenů *Zea mays* v průběhu třídenního působení různých koncentrací ABA.

Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test, $p < 0,05$, $n = 7-8$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).

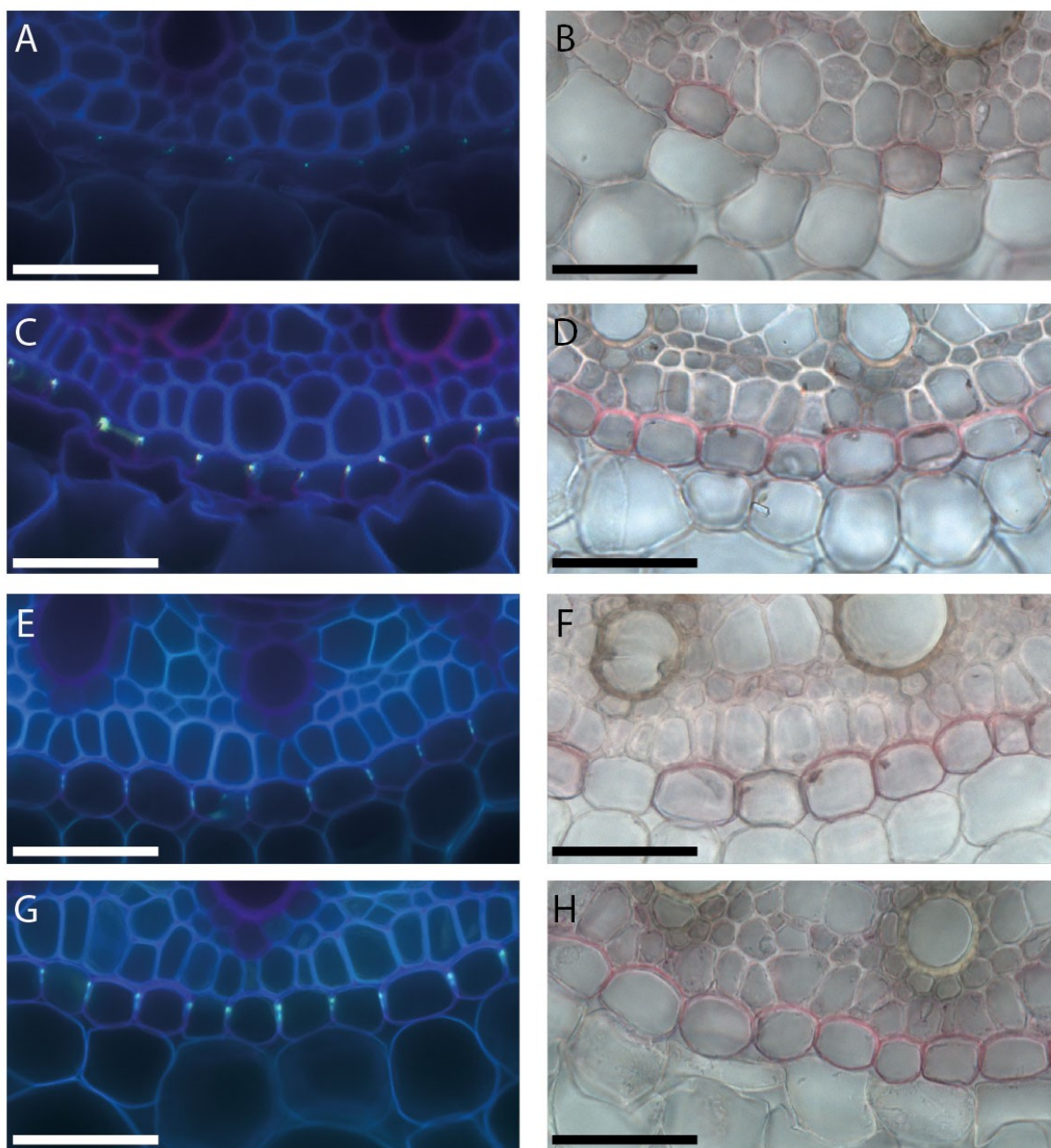
Anatomická analýza v pozici 3/4 od kořenové špičky a statistické vyhodnocení bylo provedeno s variantami 0, 250, 500 a 750nM ABA. Endodermální Casparyho proužky byly pozorovány u všech buněk (kategorie 4) všech variant (graf č. 40). V případě suberinových lamel v endodermální vrstvě byl detekován signifikantní rozdíl již mezi variantou s 0nM ABA (průměrná kategorie 1, graf č. 41) a 250nM ABA (průměrná kategorie 2,6, graf č. 41). V exodermální vrstvě nebyly v případě koncentrace 0nM ABA pozorovány žádné Casparyho proužky (průměrná kategorie 0, graf č. 42), již u varianty s 250nM ABA byl pozorován výrazný posun (průměrná kategorie 3, graf č. 42). Podobná situace je také u exodermálních suberinových lamel. Varianta s 0nM ABA se signifikantně lišila od ostatních (graf č. 43). Fotografie řezů jednotlivých variant z této kultivace jsou v tabuli č. 3-5.



Grafy č 40-43. Průměrné kategorie vývoje apoplastických bariér v pozici 3/4 od kořenové špičky při působení ABA. Kategorie: 0 (žádné CP nebo SL), 1 (<30 % buněk s CP nebo SL), 2 (50 % buněk s CP nebo SL), 3 (>70 % buněk s CP nebo SL), 4 (100 % buněk s CP nebo SL).

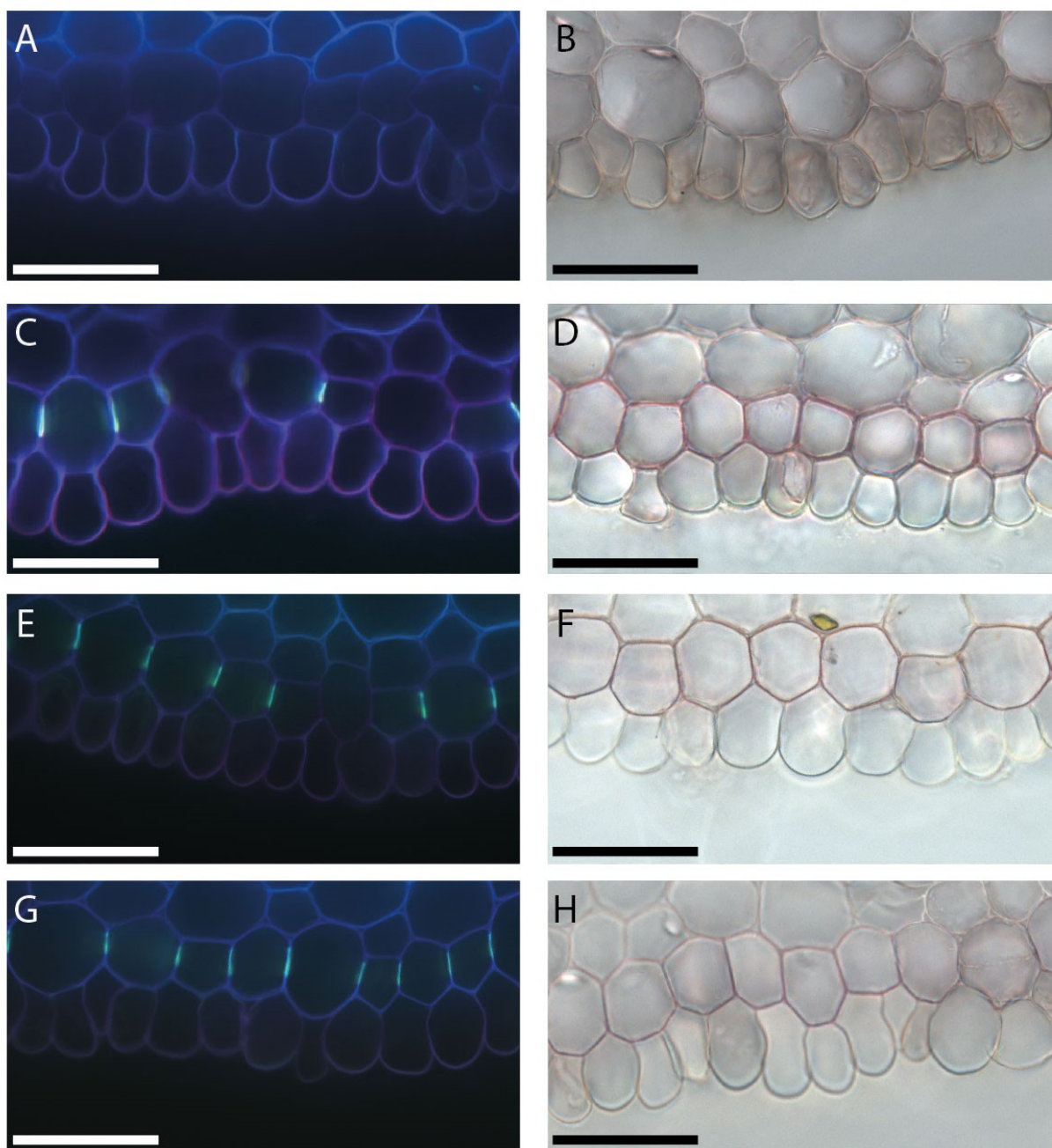
Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test, $p < 0,05$, $n = 5$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).

U varianty 1 000nM ABA byla provedena anatomická analýza, nebyla však pro silný inhibiční efekt na růst kořene zařazena mezi zbylé varianty a statisticky vyhodnocena. Při této koncentraci byla v některých místech kořene detekována vícevrstevná exodermis (tabule č. 5).



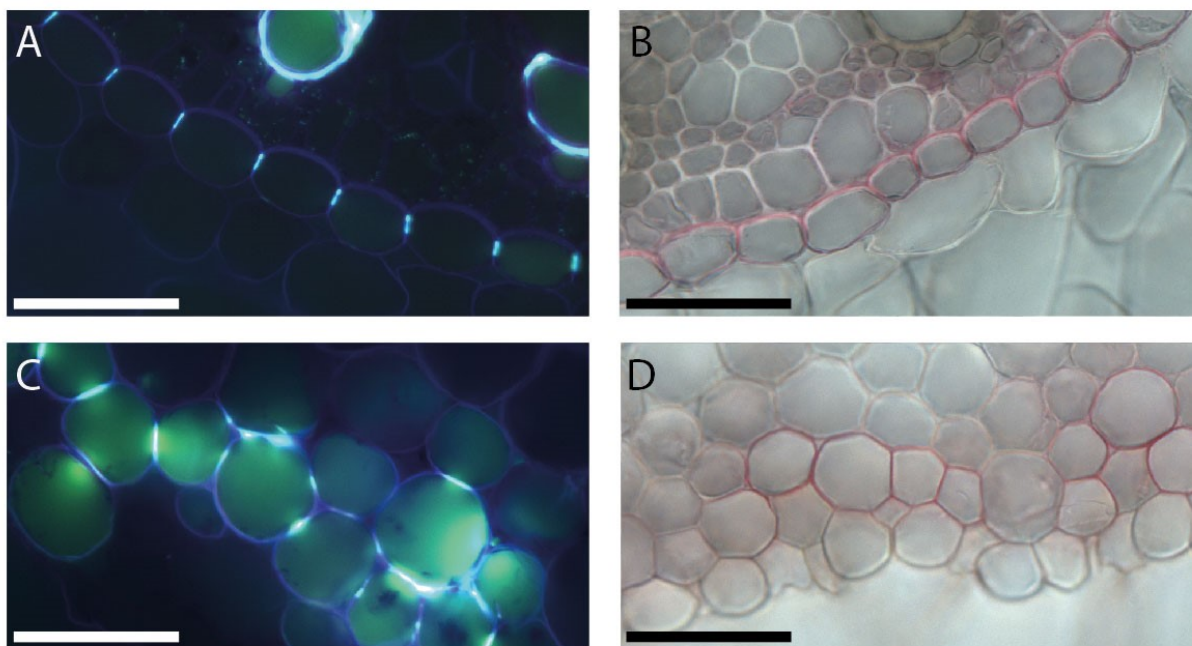
Tabule č. 3. Diferenciace endodermis *Zea mays* při působení ABA. Řezy v pozici 3/4 kořene od kořenové špičky barvené berberinem a genciánovou violetí (A, C, E, G) pro zvýraznění Casparyho proužků a Sudan Red (B, D, F, H) pro zvýraznění suberinových lamel, měřítko = 50 μ m.

Endodermální vrstva s různým stupněm diferenciace Casparyho proužků a suberinových lamel u rostlin ošetřených 0 (A, B); 250 (C, D); 500 (E, F) a 750nM ABA (G, H).



Tabule č. 4. Diferenciace exodermis *Zea mays* při působení ABA. Řezy v pozici 3/4 kořene od kořenové špičky barvené berberinem a genciánovou violetí (A, C, E, G) pro zvýraznění Casparého proužků a Sudan Red (B, D, F, H) pro zvýraznění suberinových lamel, měřítko = 50 μm .

Exodermální vrstva s různým stupněm diferenciace Casparého proužků a suberinových lamel u rostlin ošetřených 0 (A, B); 250 (C, D); 500 (E, F) a 750 nM ABA (G, H).



Tabule č. 5. Diferenciace endodermis *Zea mays* při působení ABA. Řezy v pozici 3/4 kořene od kořenové špičky barvené berberinem a genciánovou violetí (A, C) pro zvýraznění Casparyho proužků a Sudan Red (B, D) pro zvýraznění suberinových lamel, měřítko = 50 μm.

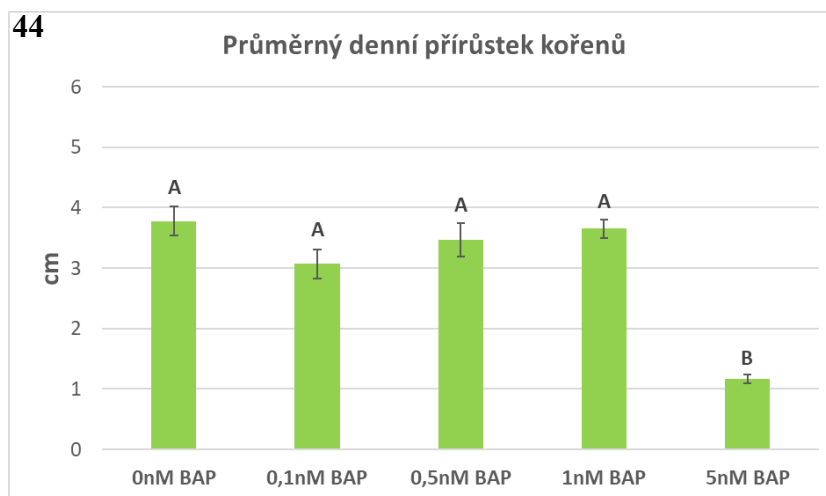
Endodermální (A, B) a exodermální vrstva (C, D) s různým stupněm diferenciace Casparyho proužků a suberinových lamel u rostlin ošetřených 1 000nM ABA.

4.2.2 Cytokinin

Vliv cytokininů byl testován pomocí aplikace BAP (6-benzylaminopurin) do kultivačního média. BAP je biologicky aktivní aromatický cytokinin (Kieber, 2002). Jeho aplikace vyvolala v kořenech podobné změny jako ABA, to znamená, že došlo ke stimulaci diferenciaci apoplastických bariér. Tato stimulace byla ale mírnější ve srovnání s efektem ABA, protože byla pozorována pouze v kořenech, které již byly signifikantně inhibovány v růstu.

Celkově byly provedeny dvě kultivace. V první kultivaci byl kořenový systém ošetřen 0, 0,1, 0,5, 1 a 5nM BAP. Z důvodu minimálního efektu nízkých koncentrací na diferenciaci apoplastických bariér (grafy č. 45-47) a vysoké míře inhibice růstu při koncentraci 5nM BAP (graf č. 44) byla provedena druhá kultivace, ve které byly použity koncentrace 0, 1, 2, 3 a 4nM BAP.

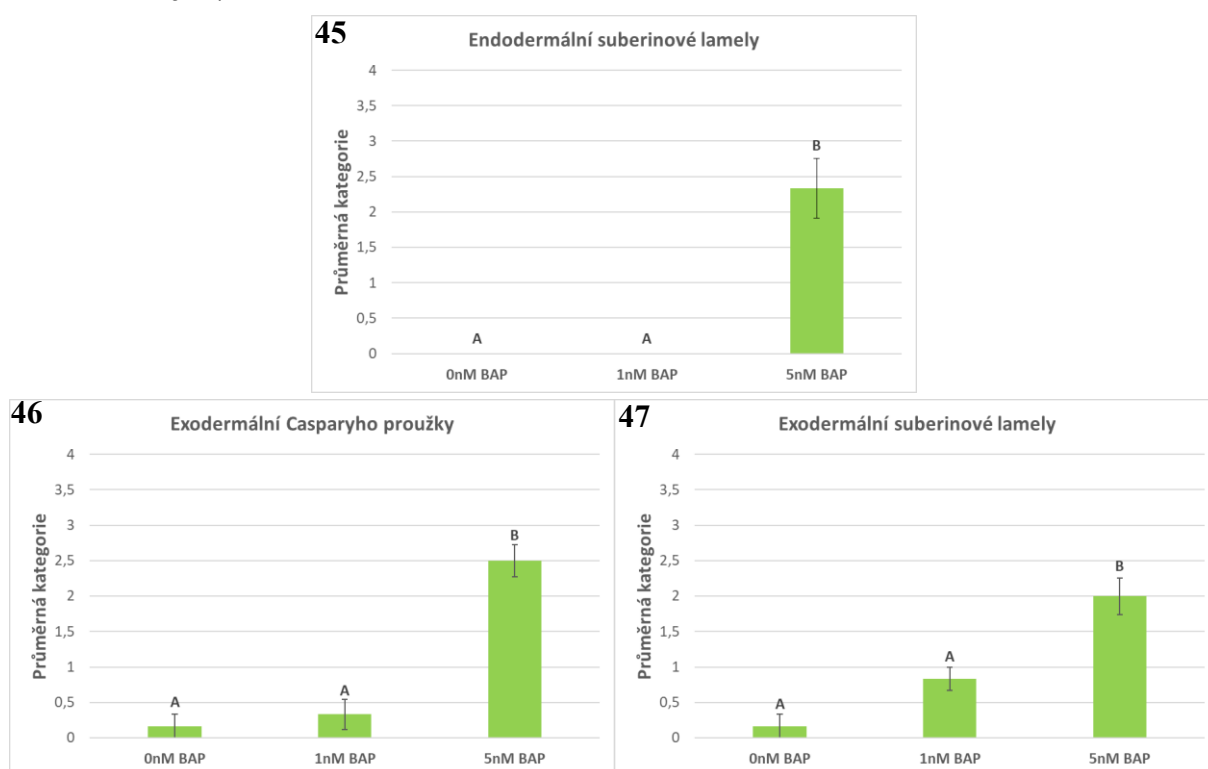
V první kultivaci byla patrná signifikantní inhibice růstu kořenů při aplikaci 5nM BAP, nižší koncentrace BAP rychlost růstu kořenů neovlivnily (graf č. 44).



Graf č. 44. Průměrné denní přírůstky kořenů *Zea mays* v průběhu třídenního působení různých koncentrací BAP v první kultivaci.

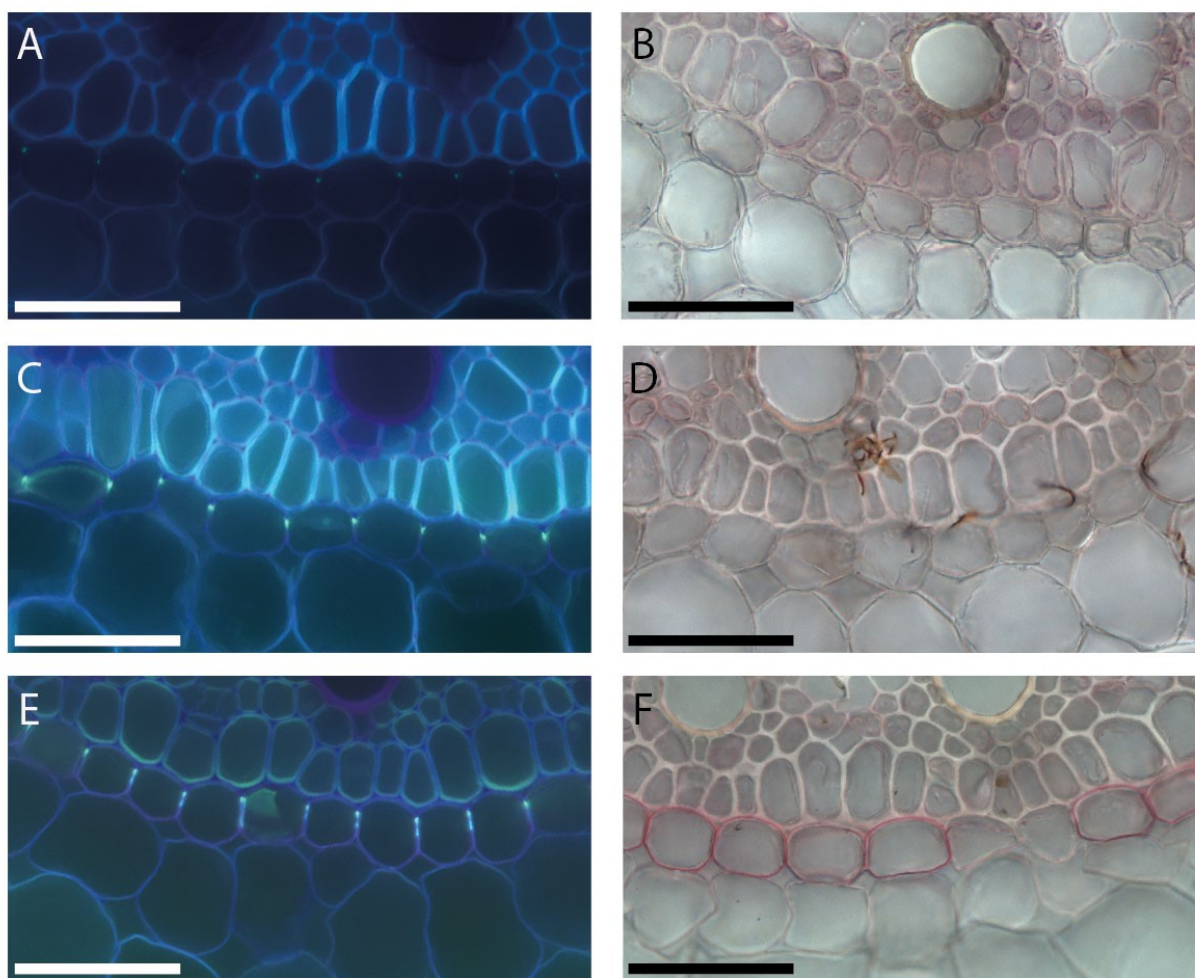
Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test, $p < 0,05$, $n = 7-8$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).

Anatomická analýza v pozici 3/4 od kořenové špičky byla proto v této kultivaci provedena pouze u tří variant – u koncentrace 0, 1 a 5nM BAP. Z výsledků vyplývá, že koncentrace 1nM BAP má na diferenciaci apoplastických bariér minimální vliv, přesto však mírně stimuluje ukládání suberinových lamel v exodermální vrstvě (průměrná kategorie 0,83, graf č. 47), i když rozdíl oproti 0nM BAP nebyl signifikantní. Co se týče koncentrace 5nM BAP, tam byl patrný výrazný vliv na diferenciaci jak endodermální i exodermální vrstvy. Zatímco v 0 a 1nM BAP nebyly ve 3/4 kořene v endodermální vrstvě patrné žádné suberinové lamely (průměrná kategorie 0, graf č. 45), ve variantě s 5nM BAP byly diferencovány u více než 50 % buněk (průměrná kategorie 2,33, graf č. 45). V exodermální vrstvě se zvýšil výskyt suberinových lamel (průměrná kategorie 2, graf č. 47) a Casparyho proužků (průměrná kategorie 2,5, graf č. 46) v porovnání s koncentracemi 0 a 1nM BAP (graf č. 46). Ve statistických vyhodnoceních vynechávám výskyt Casparyho proužků v endodermální vrstvě. Ty se diferencují blízko za kořenovou špičkou a byly proto ve 3/4 kořene vždy přítomny u všech endodermálních buněk. Fotografie řezů jednotlivých variant z této kultivace jsou v tabulích č. 6 a 7.



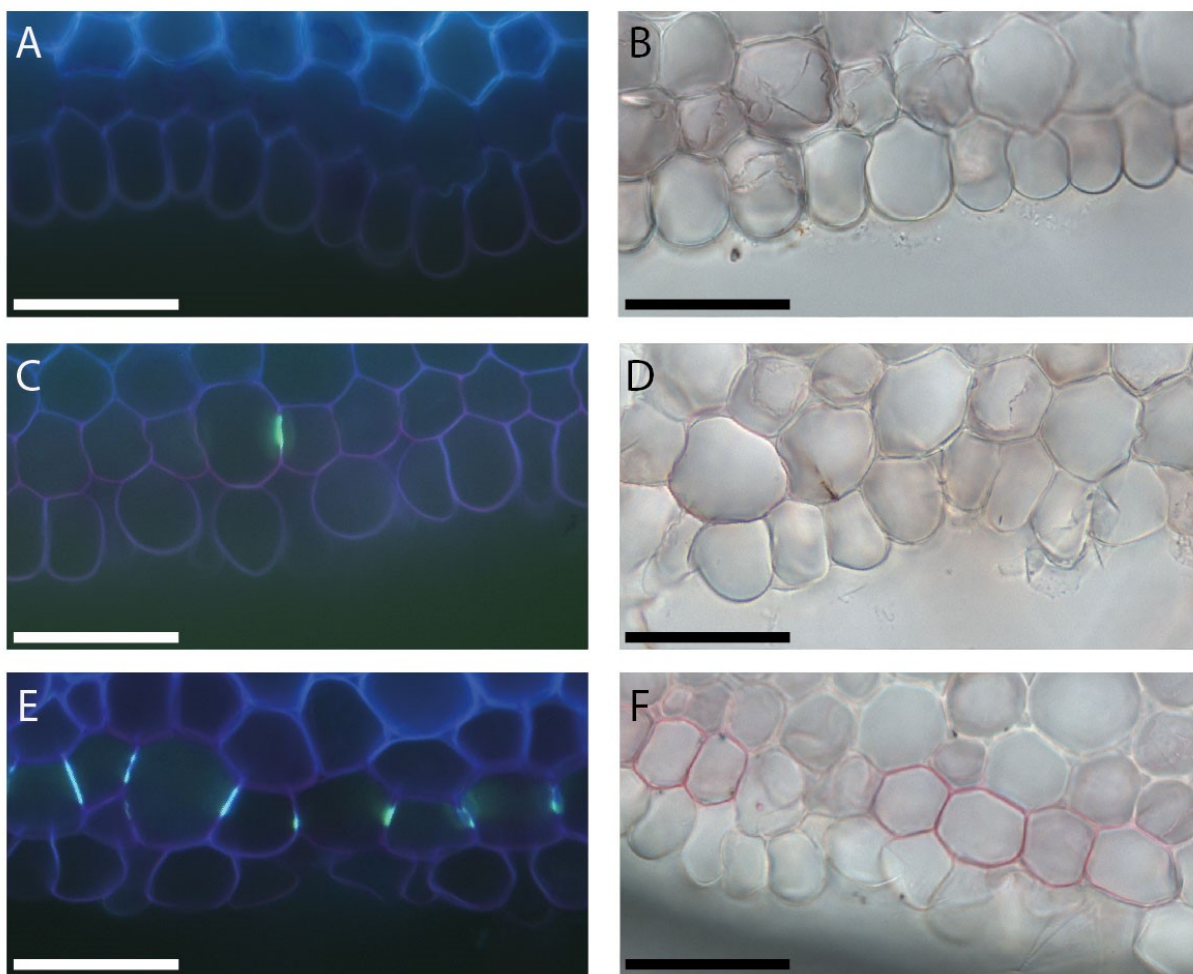
Grafy č. 45-47. Průměrné kategorie vývoje apoplastických bariér v pozici 3/4 od kořenové špičky při ošetření BAP. Kategorie: 0 (žádné CP nebo SL), 1 (<30 % buněk s CP nebo SL), 2 (50 % buněk s CP nebo SL), 3 (>70 % buněk s CP nebo SL), 4 (100 % buněk s CP nebo SL).

Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test, $p < 0,05$, $n = 6$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).



Tabule č. 6. Diferenciace endodermis *Zea mays* při působení BAP. Řezy v pozici 3/4 kořene od kořenové špičky barvené berberinem a genciánovou violetí (A, C, E) pro zvýraznění Casparého proužků a Sudan Red (B, D, F) pro zvýraznění suberinových lamel, měřítko = 50 μm .

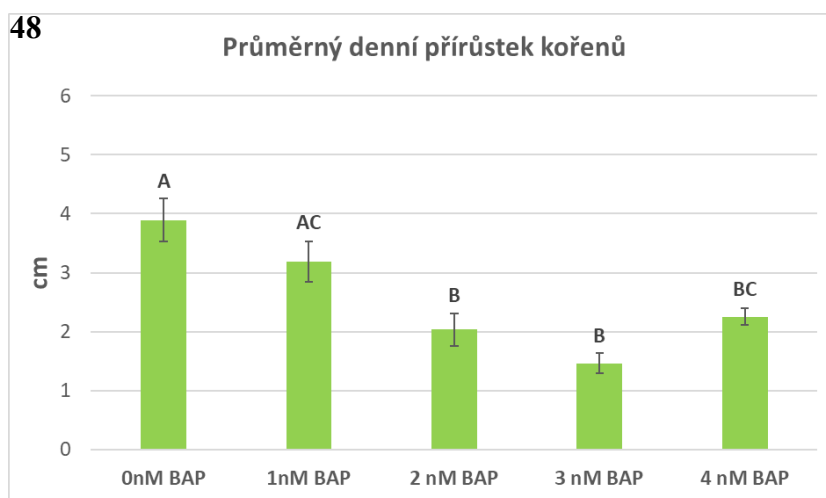
Endodermální vrstva s různým stupněm diferenciace Casparého proužků a suberinových lamel u rostlin ošetřených 0 (A, B); 1 (C, D) a 5nM BAP (E, F).



Tabule č. 7. Diferenciace exodermis *Zea mays* při působení BAP. Řezy v pozici 3/4 kořene od kořenové špičky barvené berberinem a genciánovou violetí (A, C, E) pro zvýraznění Casparého proužků a Sudan Red (B, D, F) pro zvýraznění suberinových lamel, měřítko = 50 μ m.

Exodermální vrstva s různým stupněm diferenciace Casparého proužků a suberinových lamel u rostlin ošetřených 0 (A, B); 1 (C, D) a 5nM BAP (E, F).

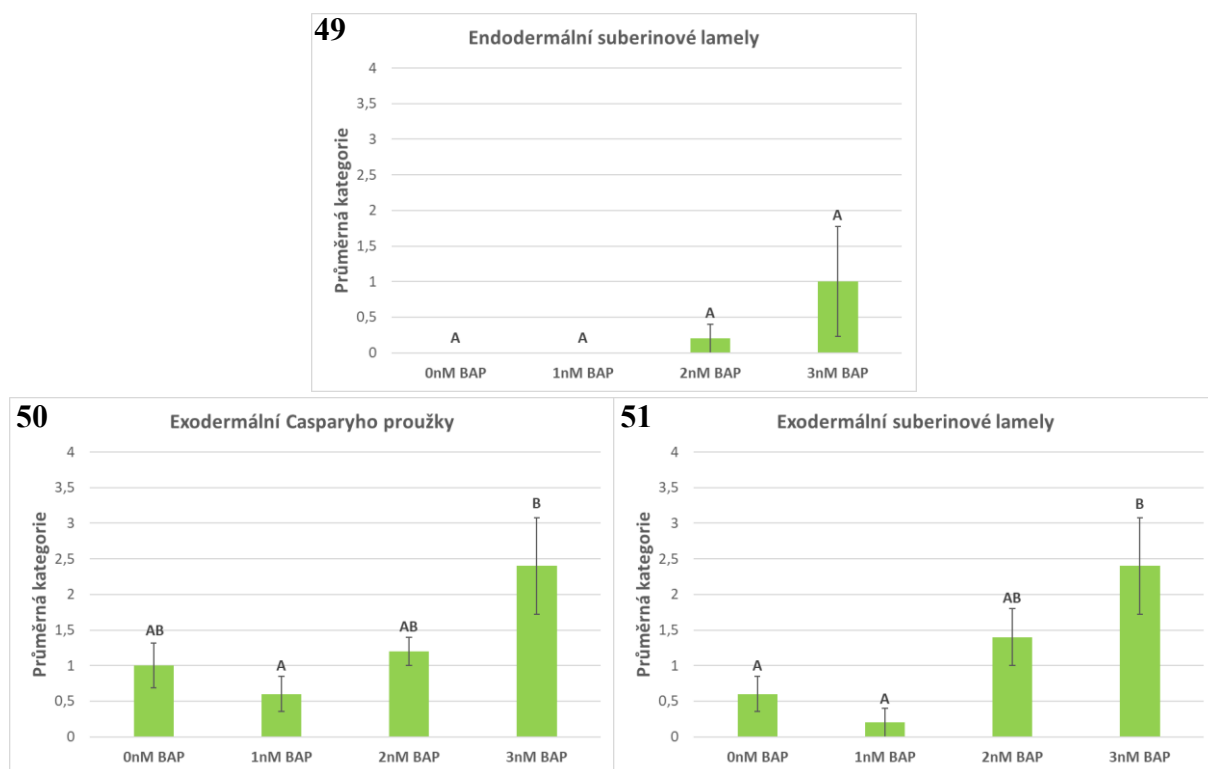
V druhé kultivaci byly kořeny *Zea mays* ošetřeny koncentracemi 0, 1, 2, 3 a 4nM BAP. Rychlost růstu kořenů byla v této kultivaci signifikantně snížena u variant 2, 3 a 4nM BAP, varianta s 1nM BAP se od kontroly nelišila (graf č. 48).



Graf č. 48. Průměrné denní přírůstky kořenů *Zea mays* v průběhu třídenního působení různých koncentrací BAP ve druhé kultivaci.

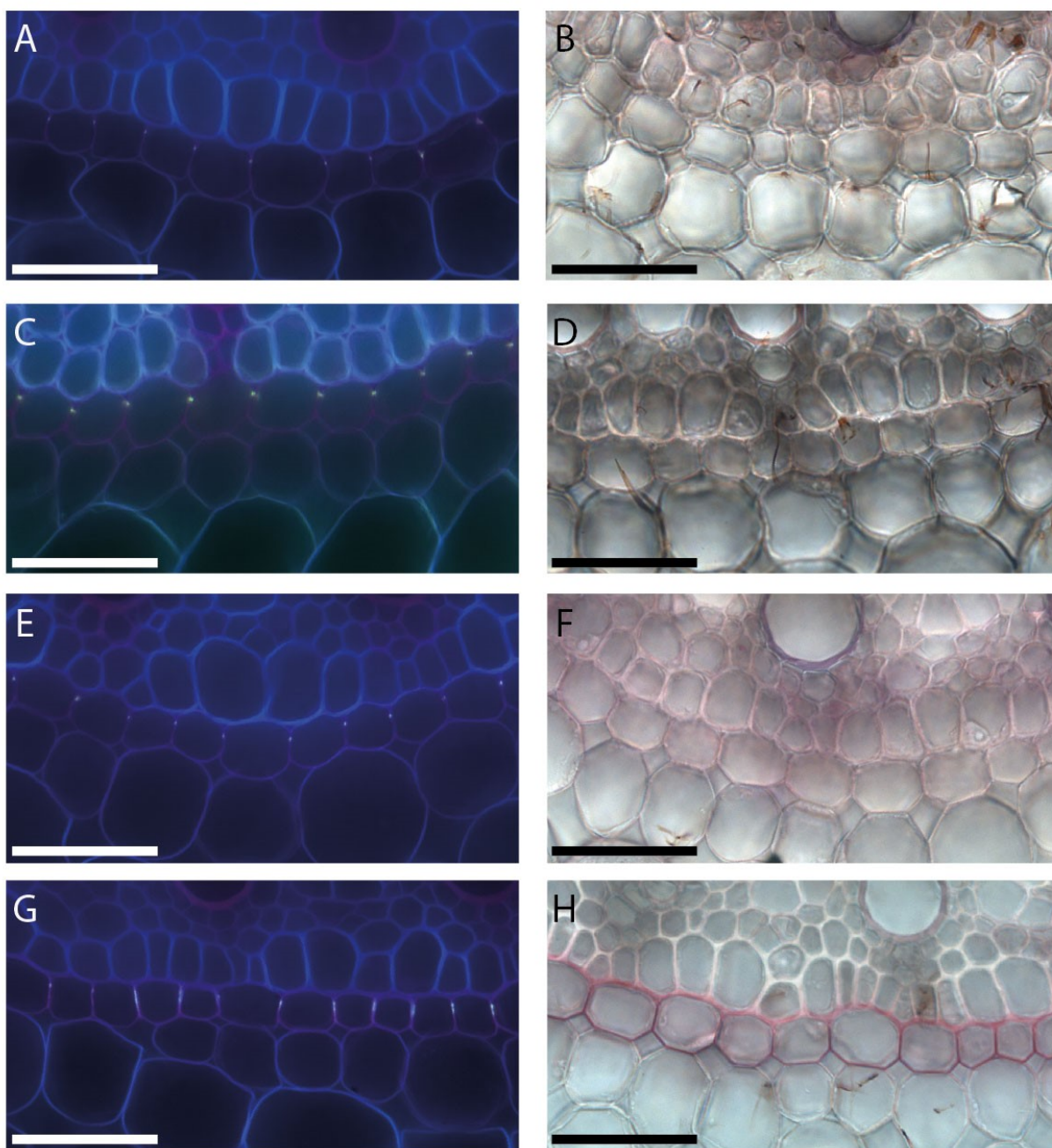
Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test, $p < 0,05$, $n = 7-8$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).

Byla opět provedena anatomická analýza v pozici $\frac{3}{4}$ délky od kořenové špičky. Také u této kultivace byl prokázán stimulační efekt cytokininu BAP na diferenciaci apoplastických bariér. Výskyt exodermálních Casparyho proužků byl nejvyšší při koncentraci 3nM BAP (průměrná kategorie 2,4, graf č. 50). V endodermální vrstvě mírně vzrostl výskyt suberinových lamel u koncentrace 3nM BAP (průměrná kategorie 1, graf č. 49), signifikantně se však tato varianta nelišila od ostatních. Suberinové lamely vykazovaly vzestupný trend také v exodermální vrstvě, nejvyšší počet byl detekován u koncentrace 3nM BAP (průměrná kategorie 2,4, graf č. 51). Endodermální Casparyho proužky se opět vždy vyskytovaly u všech buněk (průměrná kategorie 4), nebyly proto statisticky hodnoceny. Fotografie řezů jednotlivých variant z této kultivace jsou v tabulích č. 8 a 9.



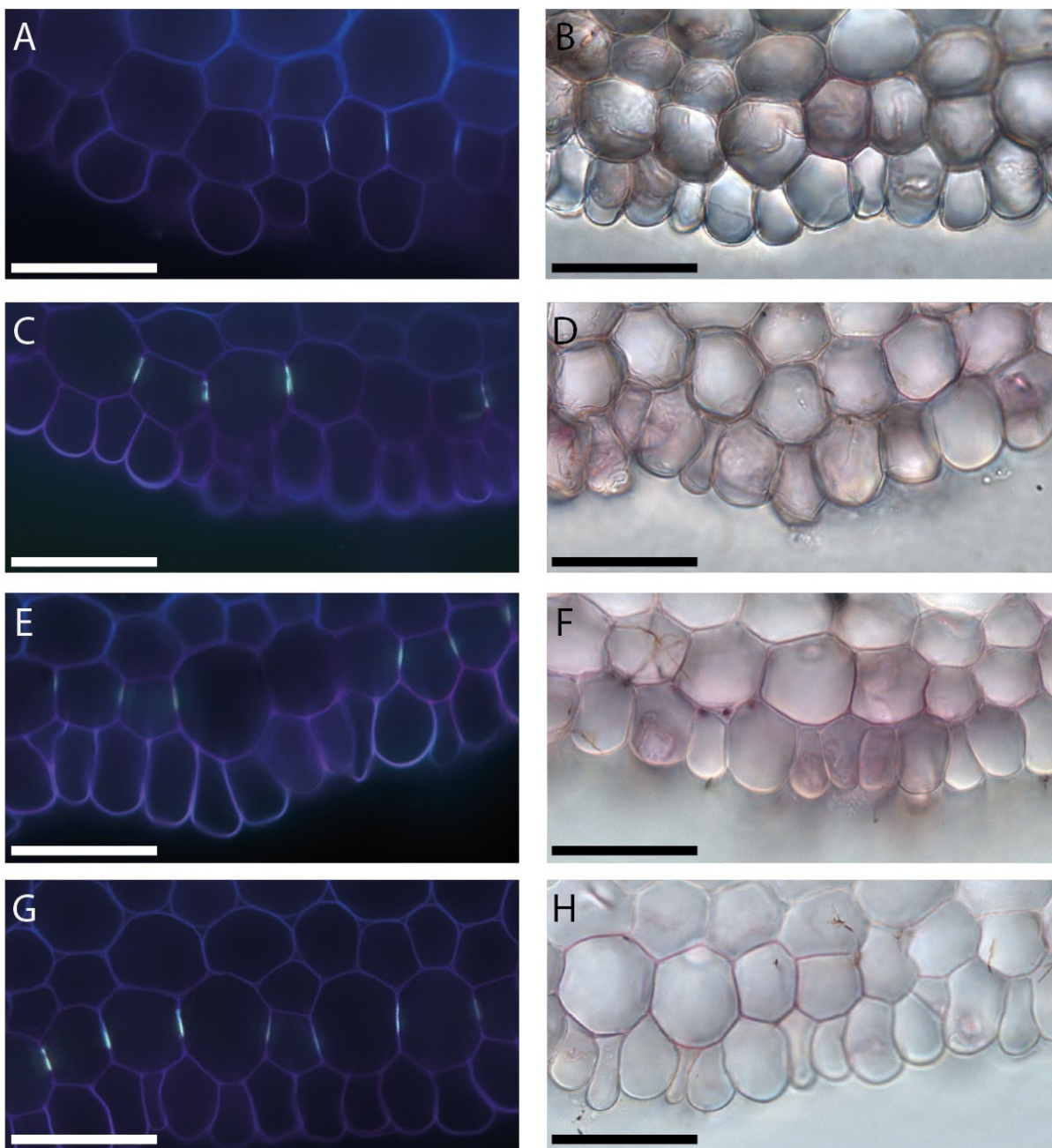
Grafy č. 49-51. Průměrné kategorie vývoje apoplastických bariér v pozici 3/4 od kořenové špičky při ošetření BAP. Kategorie: 0 (žádné CP nebo SL), 1 (<30 % buněk s CP nebo SL), 2 (50 % buněk s CP nebo SL), 3 (>70 % buněk s CP nebo SL), 4 (100 % buněk s CP nebo SL).

Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test, $p < 0,05$, $n = 5$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).



Tabule č. 8. Diferenciace endodermis *Zea mays* při působení BAP. Řezy v pozici 3/4 kořene od kořenové špičky barvené berberinem a genciánovou violetí (A, C, E, G) pro zvýraznění Casparyho proužků a Sudan Red (B, D, F, H) pro zvýraznění suberinových lamel, měřítko = 50 μm .

Endodemální vrstva s různým stupněm diferenciace Casparyho proužků a suberinových lamel u rostlin ošetřených 0 (A, B); 1 (C, D); 2 (E, F) a 3nM BAP (G, H).



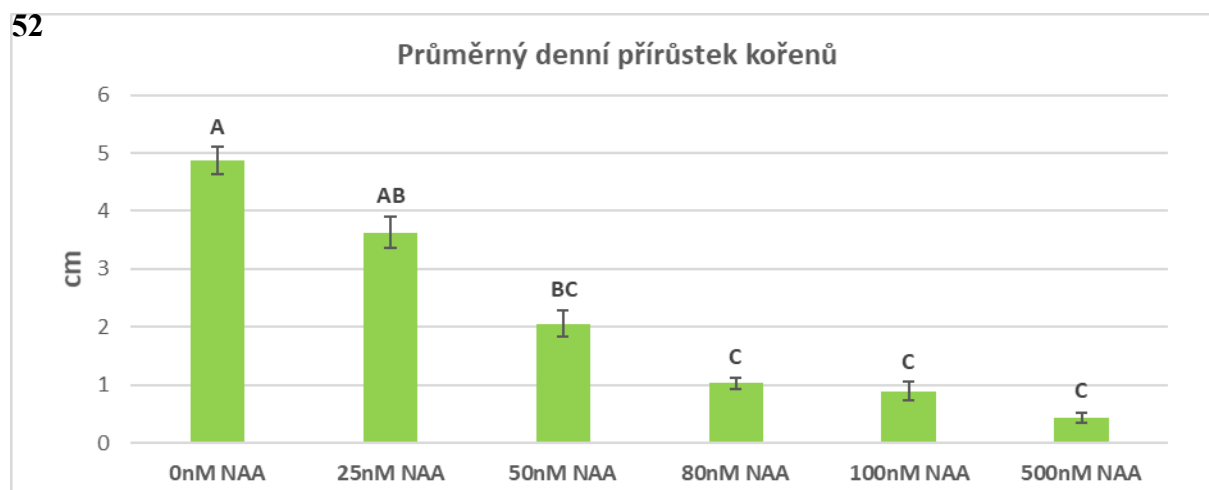
Tabule č. 9. Diferenciace exodermis *Zea mays* při působení BAP. Řezy v pozici 3/4 kořene od kořenové špičky barvené berberinem a genciánovou violetí (A, C, E, G) pro zvýraznění Casparyho proužků a Sudan Red (B, D, F, H) pro zvýraznění suberinových lamel, měřítko = 50 μm .

Exodermální vrstva s různým stupněm diferenciace Casparyho proužků a suberinových lamel u rostlin ošetřených 0 (A, B); 1 (C, D); 2 (E, F) a 3nM BAP (G, H).

4.3.3 Auxiny

Hydroponické kultivace s přidáním syntetického auxinu, kyseliny naftalen-1-octová (NAA) byly provedeny tři.

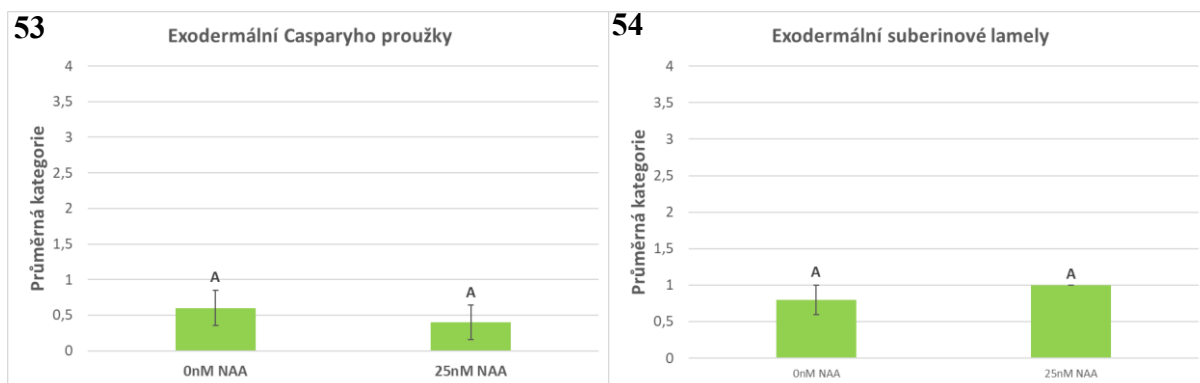
V první kultivaci byly rostliny ošetřeny 0, 25, 50, 80, 100 a 500nM NAA. Při ošetření 50nM NAA a vyššími koncentracemi byla patrná vysoká míra inhibice růstu kořenů a tyto kořeny se v rychlosti růstu signifikantně lišily od kontrolních rostlin (graf č. 52).



Graf č. 52. Průměrné denní přírůstky kořenů *Zea mays* v průběhu třídenního působení různých koncentrací NAA v první kultivaci.

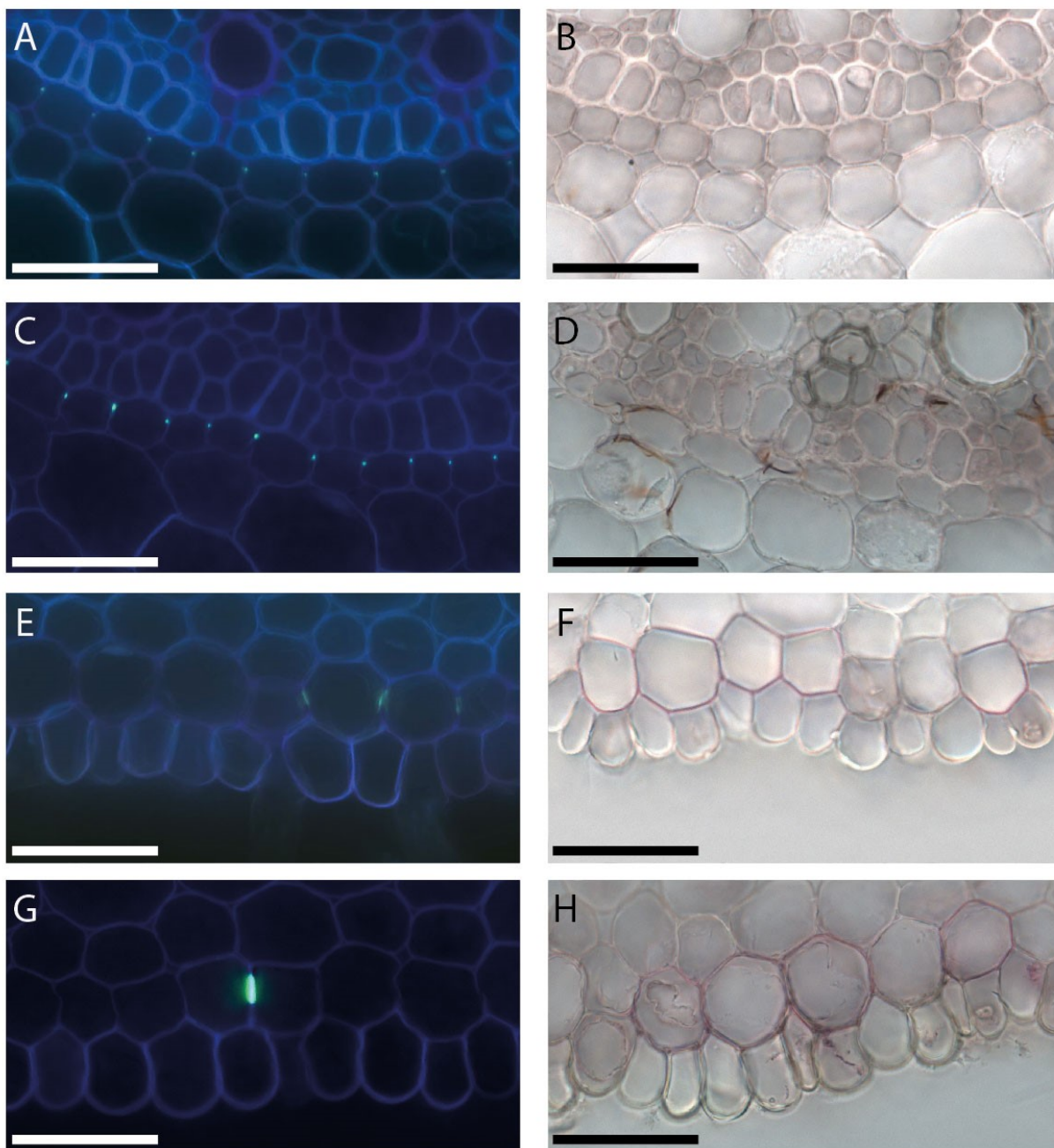
Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test, $p < 0,05$, $n = 7-8$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).

Vzhledem k vysoké míře inhibice růstu kořenů byla pro anatomickou analýzu vybrána pouze varianta kontrolní (0nM NAA) a varianta s 25nM NAA. V pozici $\frac{3}{4}$ od kořenové špičky byly opět ve všech buňkách endodermální vrstvy vyvinuty Casparyho proužky a suberinové lamely se nevyskytovaly ani v jedné z buněk této vrstvy, proto v následujícím statistickém vyhodnocení endodermální vrstvu neuvádím. Co se týče vrstvy exodermální, výskyt Casparyho proužků ani suberinových lamel se signifikantně mezi těmito dvěma variantami nelišil (grafy č. 53 a 54). Fotografie řezů jednotlivých variant z této kultivace jsou v tabuli č. 10.



Grafy č. 53 a 54. Průměrné kategorie vývoje apoplastických bariér v pozici 3/4 od kořenové špičky při ošetření NAA. Kategorie: 0 (žádné CP nebo SL), 1 (<30 % buněk s CP nebo SL), 2 (50 % buněk s CP nebo SL), 3 (>70 % buněk s CP nebo SL), 4 (100 % buněk s CP nebo SL).

Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test, $p < 0,05$, $n = 5$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).

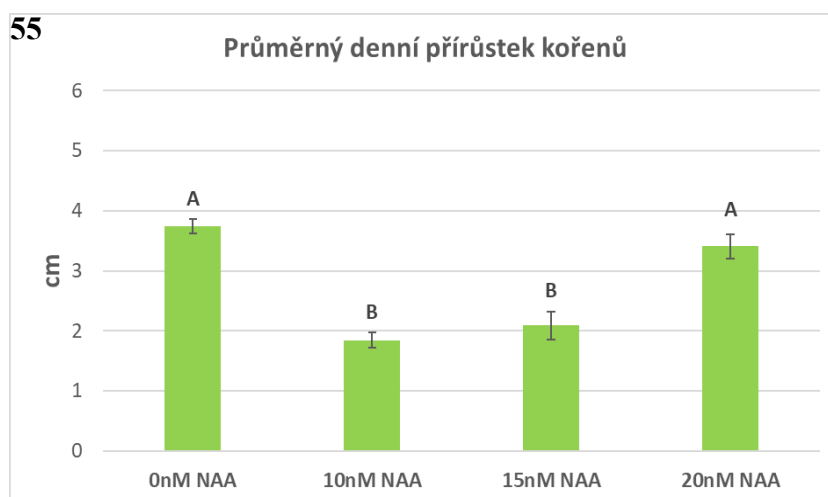


Tabule č. 10. Diferenciace endodermis a exodermis *Zea mays* při působení NAA. Řezy v pozici 3/4 kořene od kořenové špičky barvené berberinem a genciánovou violetí (A, C, E, G) pro zvýraznění Casparého proužků a Sudan Red (B, D, F, H) pro zvýraznění suberinových lamel, měřítko = 50 μm .

Endodermální vrstva s různým stupněm diferenciace Casparého proužků a suberinových lamel u rostlin ošetřených 0 (A, B) a 25 nM NAA (C, D).

Exodermální vrstva s různým stupněm diferenciace Casparého proužků a suberinových lamel u rostlin ošetřených 0 (E, F) a 25 nM NAA (G, H).

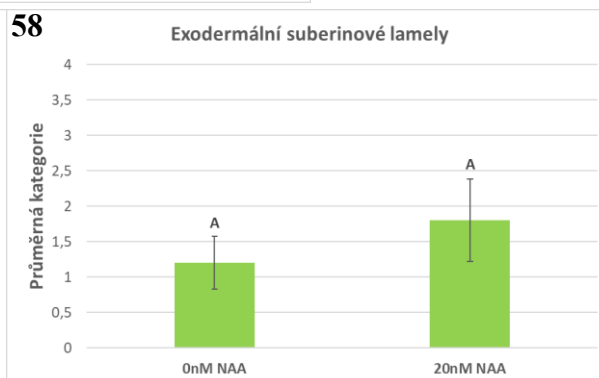
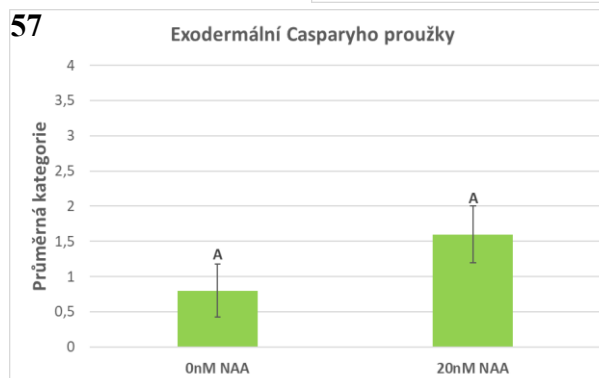
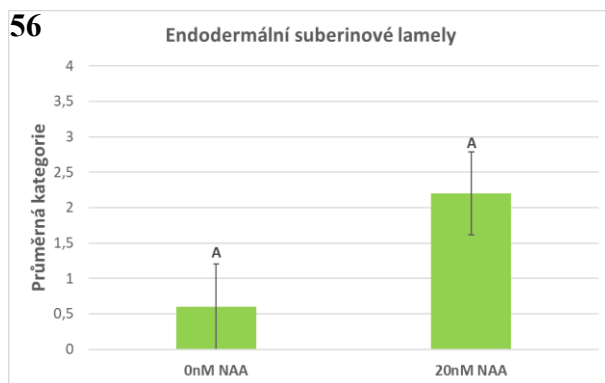
V druhé kultivaci byly vzhledem k velké míře inhibice růstu v první kultivaci vybrány nižší koncentrace NAA, tj. 0, 10, 15 a 20nM NAA. V případě této kultivace se v růstu kořenů signifikantně nelišila kontrolní varianta od varianty 20nM NAA, ale signifikantní rozdíl od 0nM NAA vykazovaly varianty 10 a 15nM NAA (graf č. 55). Vzhledem k tomu mohou být výsledky z této kultivace do jisté míry zkreslené.



Graf č. 55. Průměrné denní přírůstky kořenů *Zea mays* v průběhu třídenního působení různých koncentrací NAA ve druhé kultivaci.

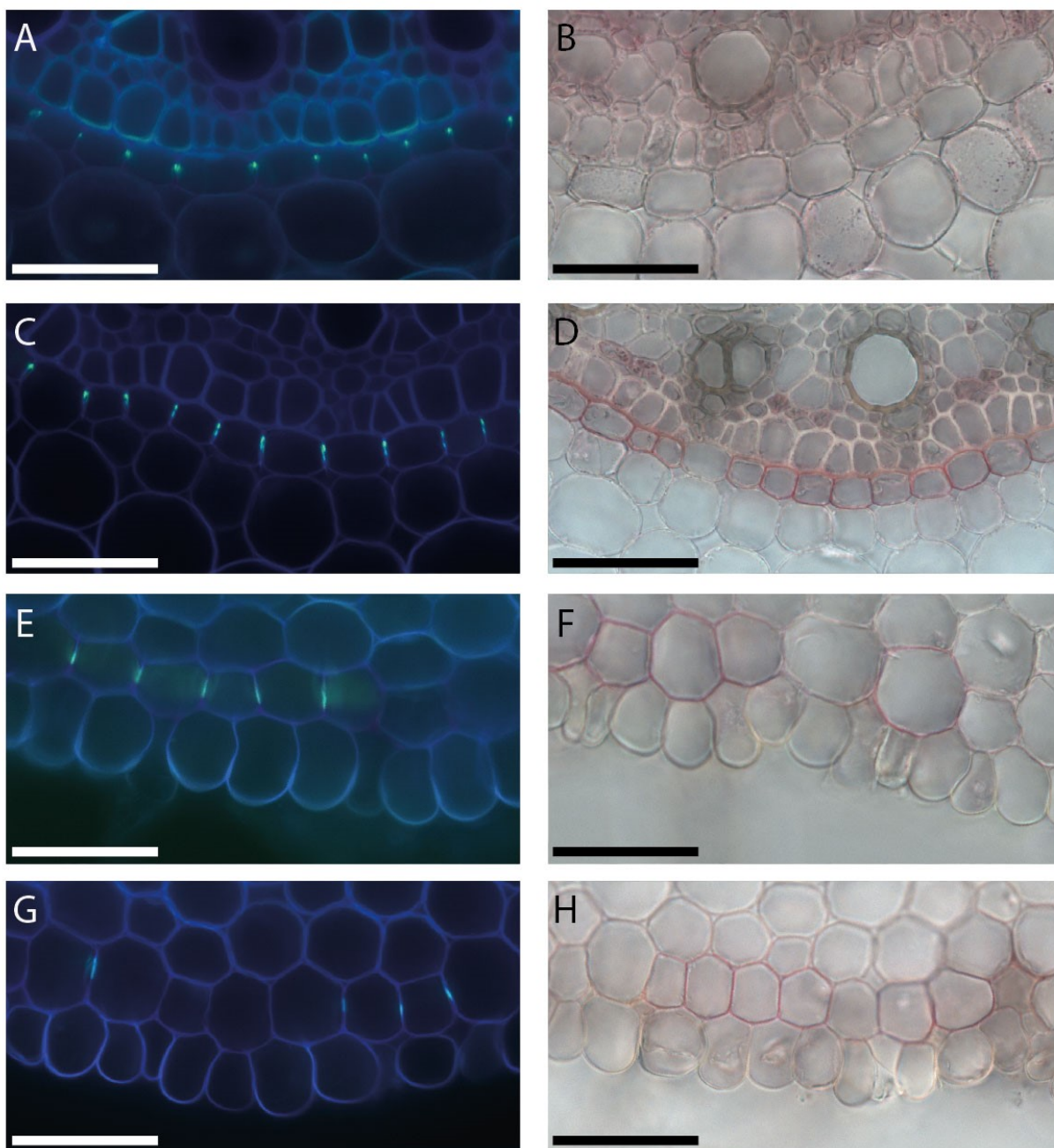
Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test, $p < 0,05$, $n = 7-8$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).

Pro anatomickou analýzu byly vybrány pouze varianty s 0 a 20nM NAA, které se od sebe signifikantně nelišily v rychlosti růstu kořenů. V řezech v pozici $\frac{3}{4}$ od kořenové špičky je ve variantě 20nM NAA mírně zvýšen výskyt suberinových lamel v endodermální vrstvě (průměrná kategorie 2,2, graf č. 56), signifikantně se však tato varianta nelišila od kontrolní varianty (průměrná kategorie 0,6, graf č. 56). V exodermální vrstvě byl ve variantě s 20nM NAA mírně zvýšen výskyt Casparyho proužků i suberinových lamel, ani v jednom případě však nebyl rozdíl signifikantní (grafy č. 57 a 58). Casparyho proužky se nacházely ve všech buňkách endodermální vrstvy, proto nejsou uvedeny v následujícím statistickém vyhodnocení. Fotografie řezů jednotlivých variant z této kultivace jsou v tabuli č. 11.



Grafy č. 56-58. Průměrné kategorie vývoje apoplastických bariér v pozici 3/4 od kořenové špičky při ošetření NAA. Kategorie: 0 (žádné CP nebo SL), 1 (<30 % buněk s CP nebo SL), 2 (50 % buněk s CP nebo SL), 3 (>70 % buněk s CP nebo SL), 4 (100 % buněk s CP nebo SL).

Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test, $p < 0,05$, $n = 5$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).

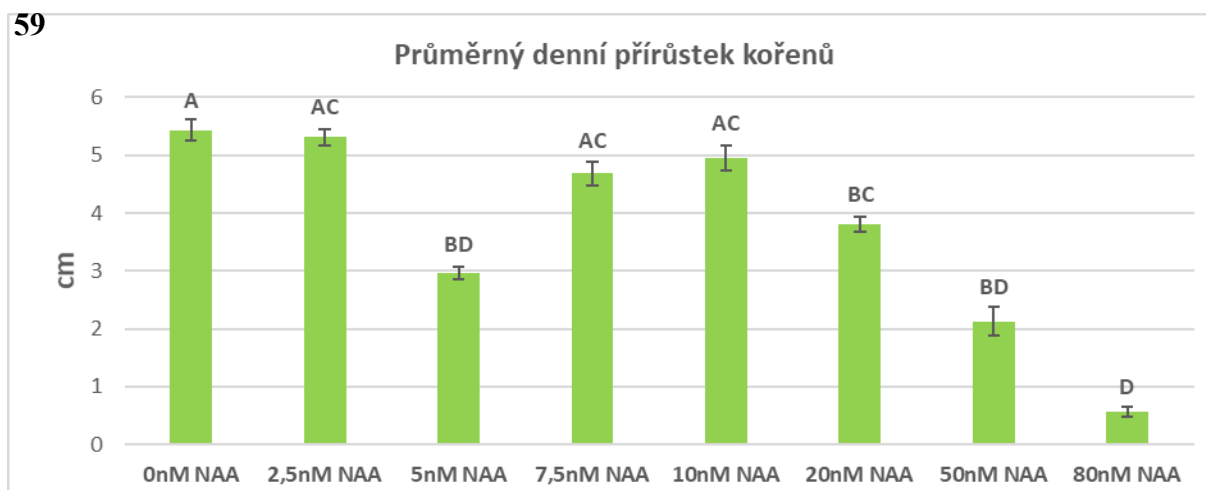


Tabule č. 11. Diferenciace endodermis a exodermis *Zea mays* při působení NAA. Řezy v pozici 3/4 kořene od kořenové špičky barvené berberinem a genciánovou violetí (A, C, E, G) pro zvýraznění Casparého proužků a Sudan Red (B, D, F, H) pro zvýraznění suberinových lamel, měřítko = 50 μm .

Endodermální vrstva s různým stupněm diferenciace Casparého proužků a suberinových lamel u rostlin ošetřených 0 (A, B) a 20nM NAA (C, D).

Exodermální vrstva s různým stupněm diferenciace Casparého proužků a suberinových lamel u rostlin ošetřených 0 (E, F) a 20nM NAA (G, H).

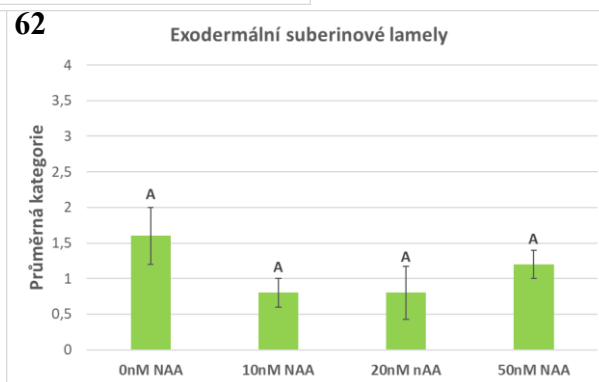
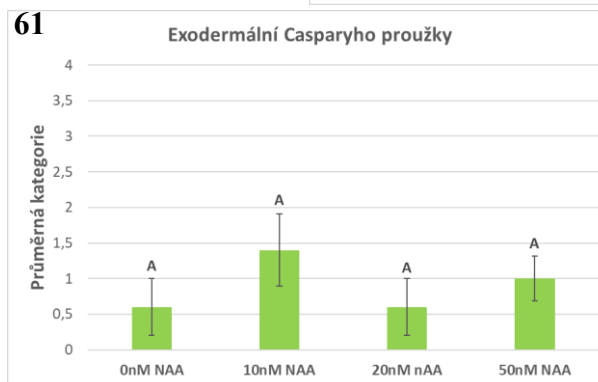
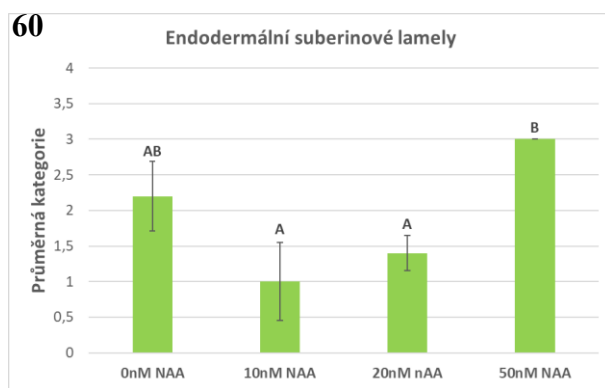
Vzhledem k nejednoznačným výsledkům z předchozích dvou kultivací byla provedena pro ověření ještě kultivace třetí. Rostliny byly ošetřeny 0, 2,5, 5, 7,5, 10, 20, 50 a 80nM NAA. V růstové rychlosti se od sebe signifikantně nelišily varianty s 0, 2,5, 7,5 a 10nM NAA (graf č. 59).



Graf č. 59. Průměrné denní přírůstky kořenů *Zea mays* v průběhu třídenního působení různých koncentrací NAA ve třetí kultivaci.

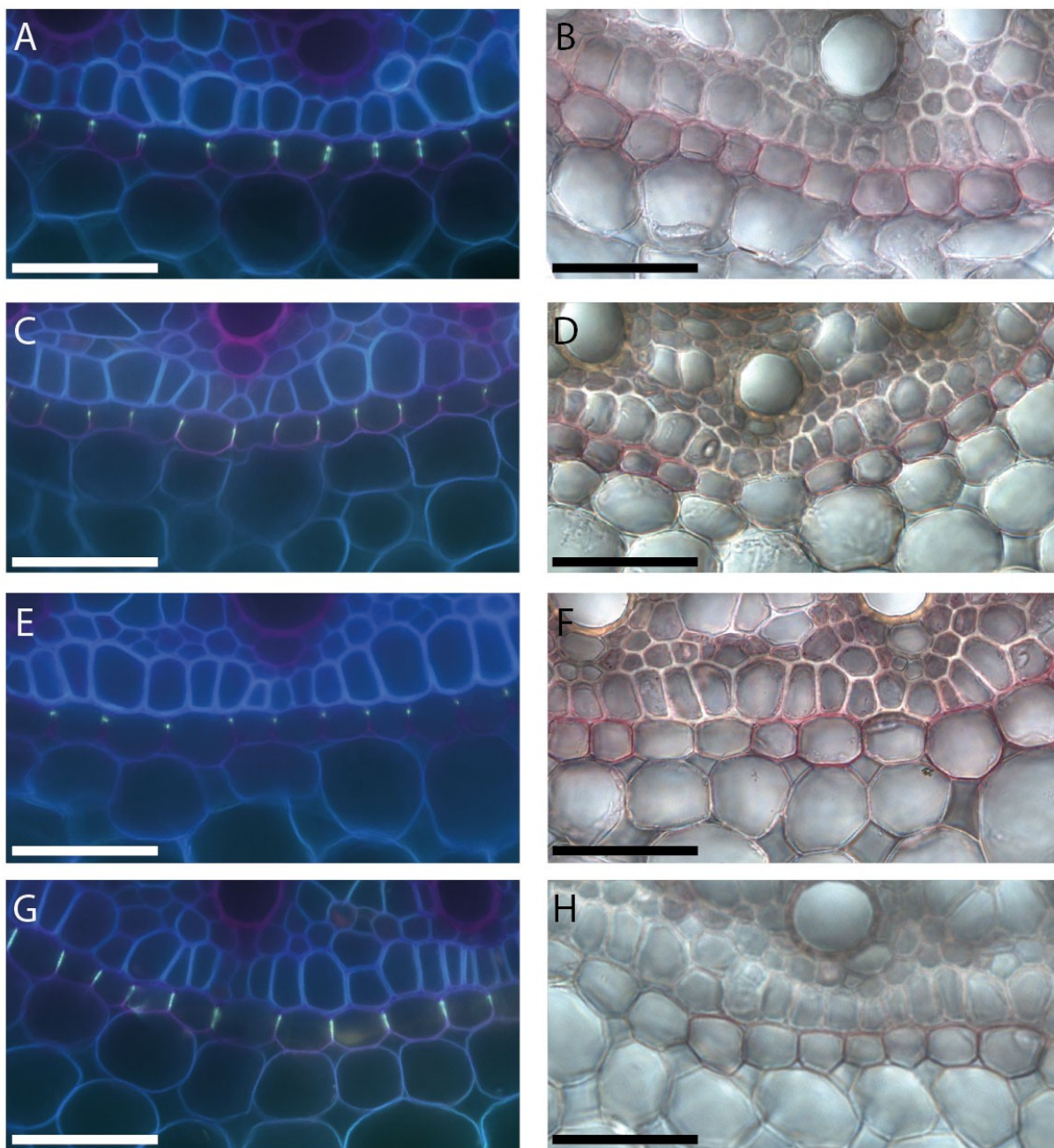
Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test, $p < 0,05$, $n = 5-7$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).

V případě této kultivace byla provedena anatomická analýza v pozici $\frac{3}{4}$ od kořenové špičky pro varianty s 0, 10, 20 a 50nM NAA. V endodermální vrstvě byl výskyt Casparyho proužků stejný u všech variant (průměrná kategorie 4), suberinové lamely se ale v této vrstvě mezi jednotlivými variantami lišily. Nejvyšší výskyt byl při koncentraci 50nM NAA (průměrná kategorie 3, graf č. 60), tato varianta se však signifikantně nelišila od varianty kontrolní (průměrná kategorie 2,2, graf č. 60). V exodermální vrstvě se od sebe jednotlivé varianty nelišily ani v případě suberinových lamel, ani Casparyho proužků (graf č. 61 a 62). Fotografie řezů jednotlivých variant z této kultivace jsou v tabulích č. 12 a 13.



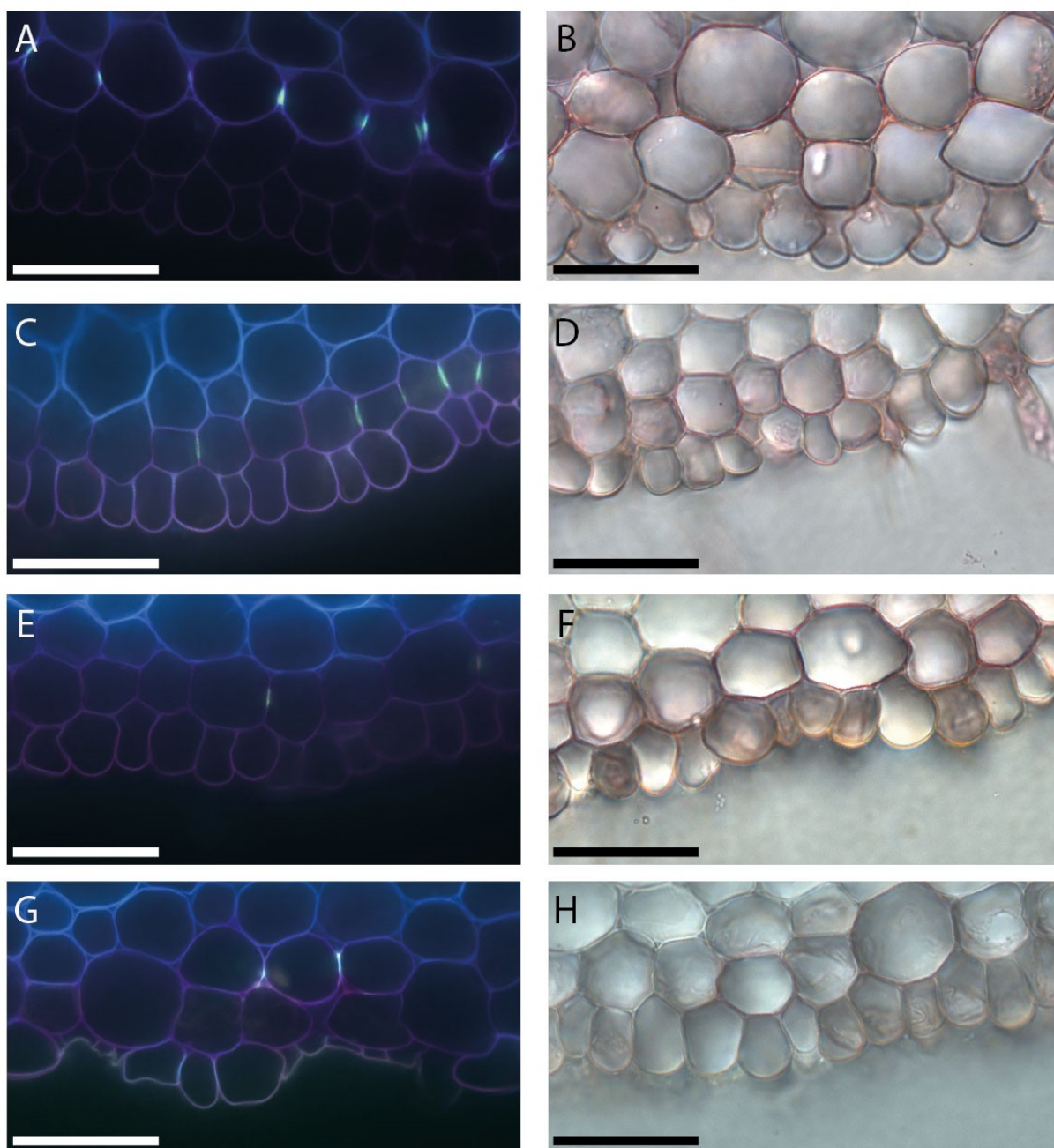
Grafy č. 60-62 Průměrné kategorie vývoje apoplastických bariér v pozici $\frac{3}{4}$ od kořenové špičky při ošetření auxinem NAA. Kategorie: 0 (žádné CP nebo SL), 1 (<30 % buněk s CP nebo SL), 2 (50 % buněk s CP nebo SL), 3 (>70 % buněk s CP nebo SL), 4 (100 % buněk s CP nebo SL).

Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test, $p < 0,05$, $n = 5$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).



Tabule č. 12. Diferenciace endodermis *Zea mays* při působení NAA. Řezy v pozici 3/4 kořene od kořenové špičky barvené berberinem a genciánovou violetí (A, C, E, G) pro zvýraznění Casparyho proužků a Sudan Red (B, D, F, H) pro zvýraznění suberinových lamel, měřítko = 50 μm .

Endodermální vrstva s různým stupněm diferenciace Casparyho proužků a suberinových lamel u rostlin ošetřených 0 (A, B); 10 (C, D); 20 (E, F) a 50nM NAA (G, H).



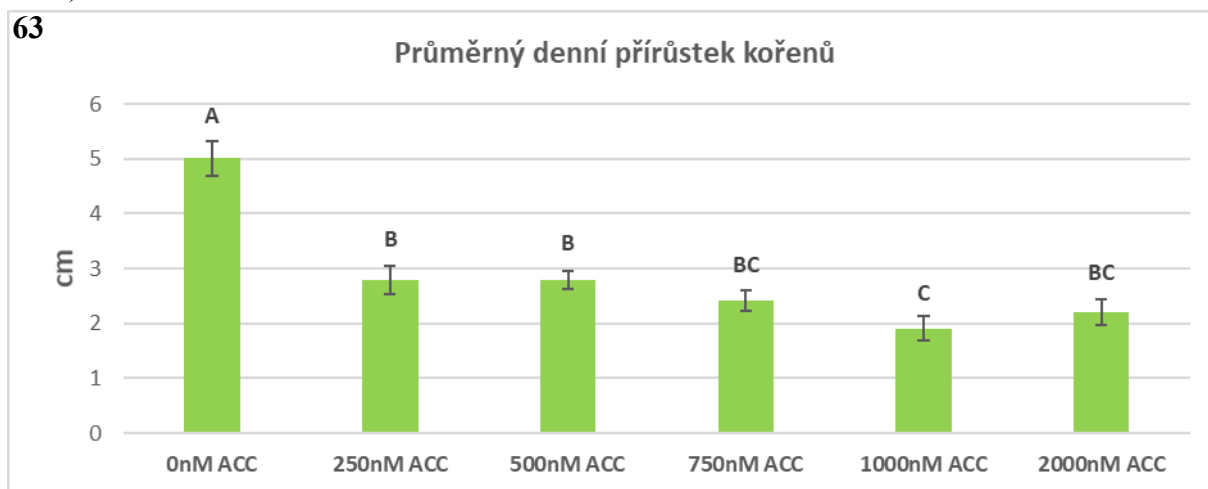
Tabule č. 13. Diferenciace exodermis *Zea mays* při působení NAA. Řezy v pozici 3/4 kořene od kořenové špičky barvené berberinem a genciánovou violetí (A, C, E, G) pro zvýraznění Casparého proužků a Sudan Red (B, D, F, H) pro zvýraznění suberinových lamel, měřítko = 50 µm.

Exodermální vrstva s různým stupněm diferenciace Casparého proužků a suberinových lamel u rostlin ošetřených 0 (A, B); 10 (C, D); 20 (E, F) a 50nM NAA (G, H).

4.3.4 Ethylen

Vliv ethylenu byl testován přidavkem prekurzoru jeho syntézy – kyseliny 1-aminocyklopropan-1-karboxylové (ACC) do kultivačního roztoku. Vliv ACC na diferenciaci apoplastických bariér byl testován ve třech hydroponických kultivacích.

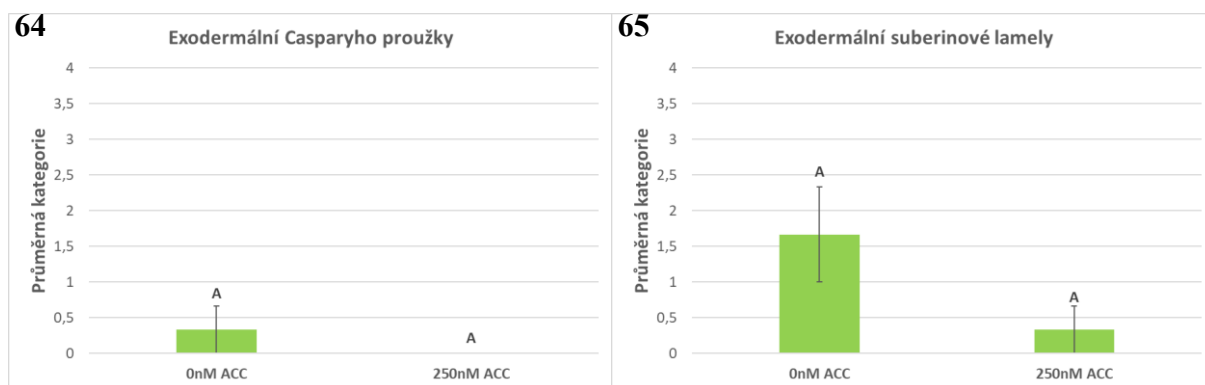
V první kultivaci byly rostliny ošetřeny 0, 250, 500, 750, 1000 a 2000nM ACC. Již koncentrace 250nM ACC se signifikantně lišila v růstové rychlosti od kontrolní varianty (graf č. 63).



Graf č. 63. Průměrné denní přírůstky kořenů *Zea mays* v průběhu tří denního působení různých koncentrací ACC v první kultivaci.

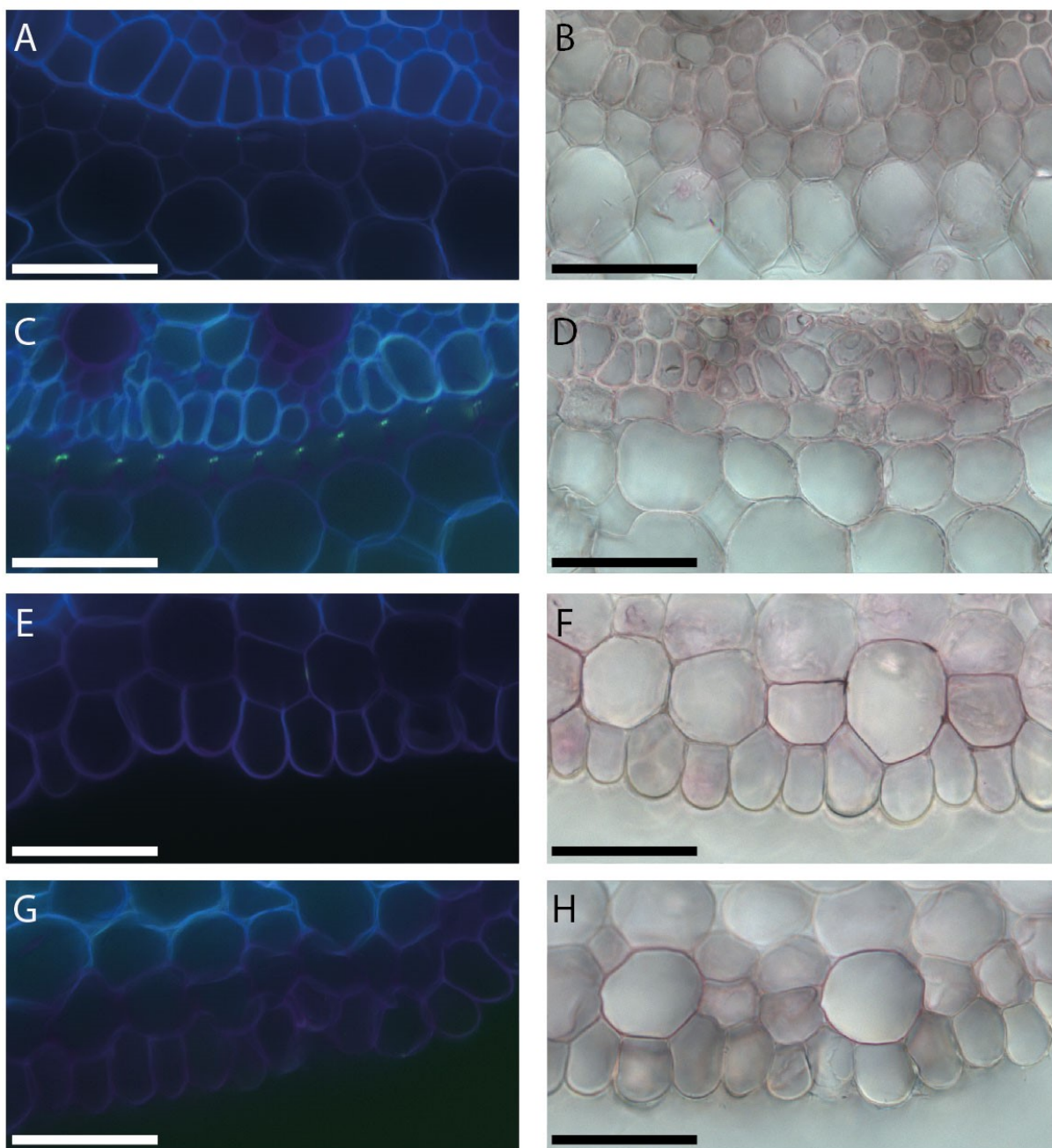
Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test, $p < 0,05$, $n = 7-8$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).

Vzhledem k vysoké míře inhibice růstu byly pro anatomickou analýzu vybrány pouze varianty s 0 a 250nM ACC. V pozici $\frac{3}{4}$ od kořenové špičky se v obou variantách vyskytovaly v endodermální vrstvě vyvinuté Casparyho proužky (průměrná kategorie 4), oproti tomu suberinové lamely se v této vrstvě a této pozici nevyskytovaly vůbec (průměrná kategorie 0), proto byla endodermální vrstva při statistickém vyhodnocení vynechána. V exodermální vrstvě se vyskytovaly Casparyho proužky v nepatrném množství v kontrolní variantě (průměrná kategorie 0,33, graf č. 64), signifikantně se tato varianta nelišila od varianty s 250nM ACC, ve které se nevyskytovaly vůbec (průměrná kategorie 0, graf č. 64). Stejná situace je také u suberinových lamel. Signifikantně se od sebe obě varianty nelišily (průměrná kategorie 1,67 u koncentrace 0nM NAA a 0,33 u koncentrace 250nM ACC, graf č. 65). Fotografie řezů jednotlivých variant z této kultivace jsou v tabuli č. 14.



Grafy č. 64 a 65. Průměrné kategorie vývoje apoplastických bariér v pozici 3/4 od kořenové špičky při působení ACC. Kategorie: 0 (žádné CP nebo SL), 1 (<30 % buněk s CP nebo SL), 2 (50 % buněk s CP nebo SL), 3 (>70 % buněk s CP nebo SL), 4 (100 % buněk s CP nebo SL).

Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test, $p < 0,05$, $n = 5$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).

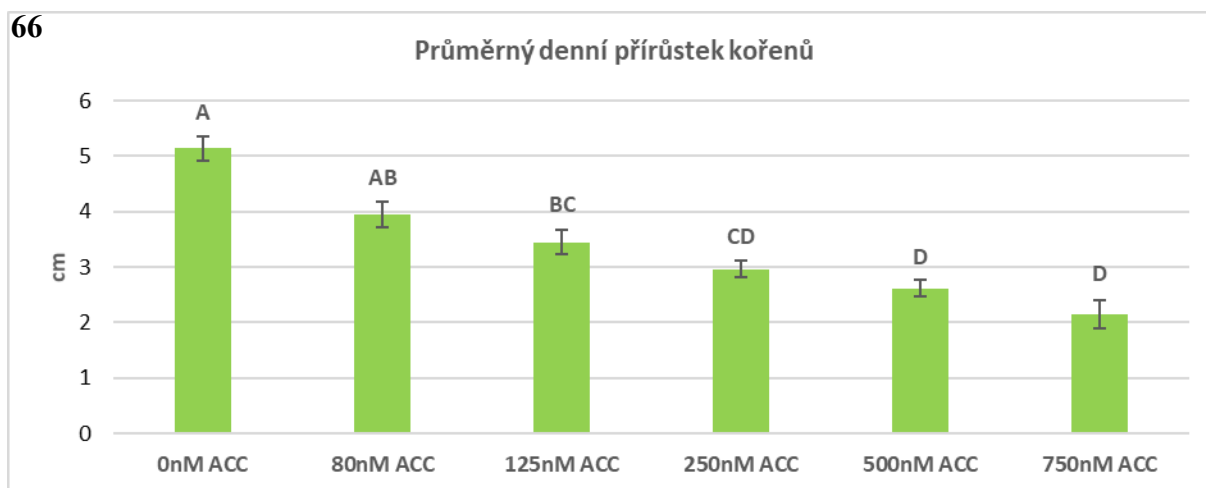


Tabule č. 14. Diferenciace endodermis a exodermis *Zea mays* při působení ACC. Řezy v pozici 3/4 kořene od kořenové špičky barvené berberinem a genciánovou violetí (A, C, E, G) pro zvýraznění Casparyho proužků a Sudan Red (B, D, F, H) pro zvýraznění suberinových lamel, měřítko = 50 μm .

Endodermální vrstva s různým stupněm diferenciace Casparyho proužků a suberinových lamel u rostlin ošetřených 0 (A, B) a 250nM ACC (C, D).

Exodermální vrstva s různým stupněm diferenciace Casparyho proužků a suberinových lamel u rostlin ošetřených 0 (E, F) a 250nM ACC (G, H).

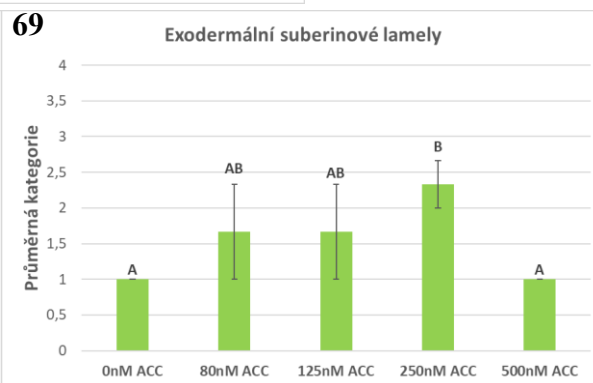
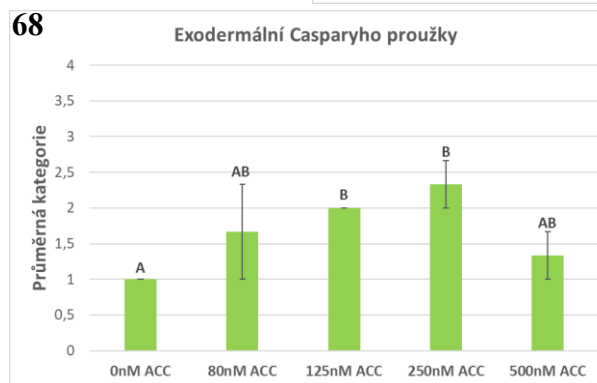
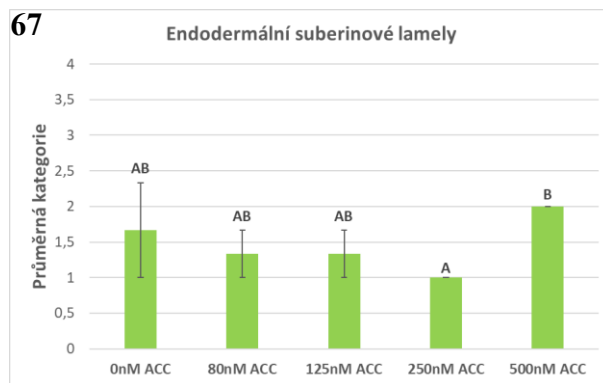
Vzhledem k vysoké míře inhibice růstu v první kultivaci byly ve druhé kultivaci rostliny ošetřeny 0, 80, 125, 250, 500 a 750nM ACC. I zde byla pozorována vysoká míra inhibice růstu, signifikantně se od kontroly (0nM ACC) nelišila pouze varianta s 80nM ACC (graf č. 66).



Graf č. 66. Průměrné denní přírůstky kořenů *Zea mays* v průběhu tří denního působení různých koncentrací ACC ve druhé kultivaci.

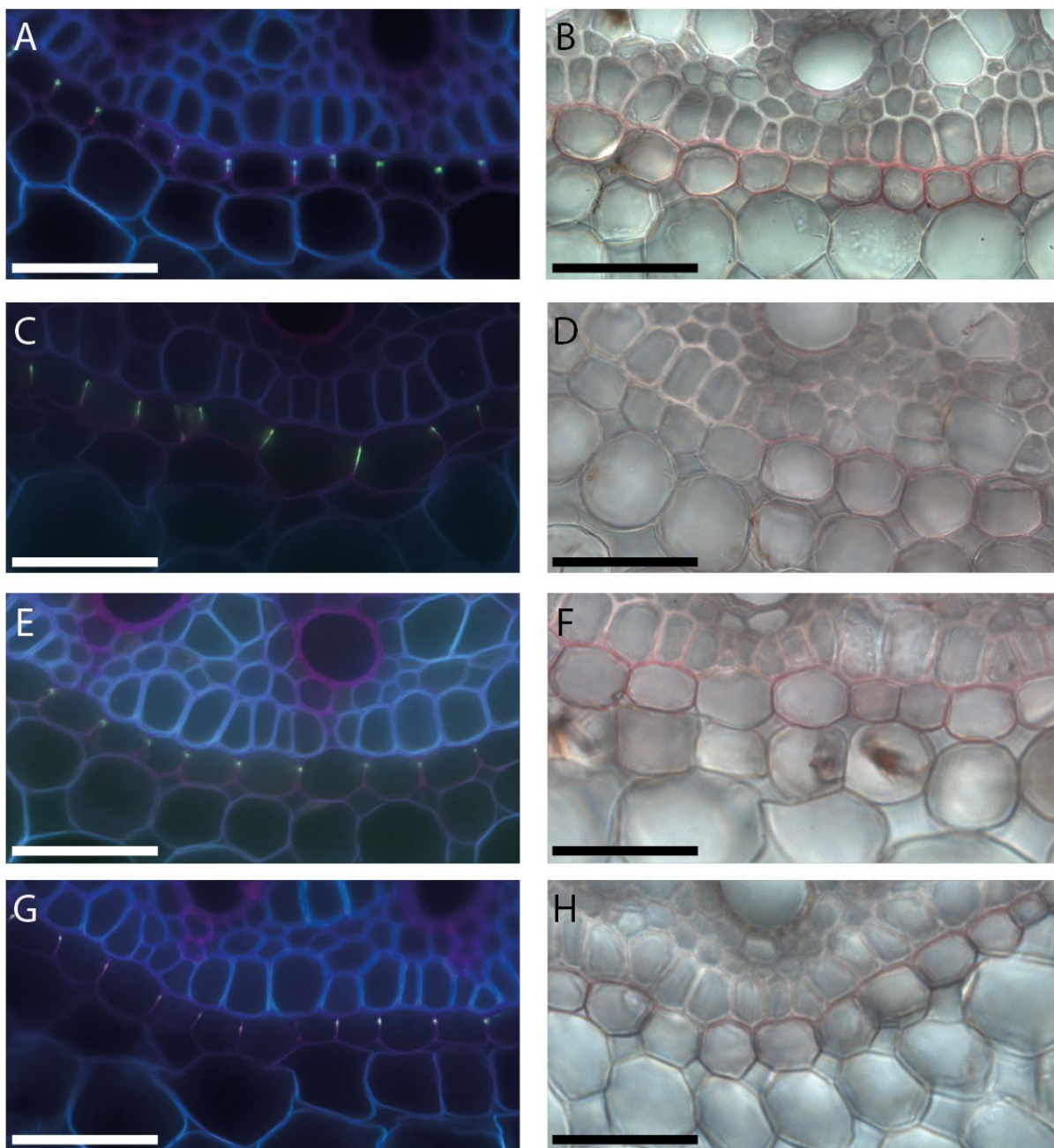
Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test, $p < 0,05$, $n = 7-8$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).

Pro anatomickou analýzu byly vybrány varianty s 0, 80, 125, 250 a 500nM ACC. Endodermální suberinové lamely se vyskytovaly v nejvyšším počtu ve variantě s 500nM ACC (průměrná kategorie 2, graf č. 67), ale signifikantní rozdíl byl pouze s variantou s 250nM ACC (průměrná kategorie 1, graf č. 67). V exodermální vrstvě se Casparyho proužky vyskytovaly v nejvyšším počtu při koncentraci 250nM ACC (průměrná kategorie 2,33, graf č. 68), signifikantně se ale tato varianta lišila pouze od varianty s 0nM ACC (průměrná kategorie 1, graf č. 68). Suberinové lamely v této vrstvě měly nejvyšší výskyt opět u varianty s 250nM ACC (průměrná kategorie 2,33, graf č. 69), signifikantně se lišila od varianty s 0nM a 500nM ACC (průměrné kategorie 1 u obou variant, graf č. 69). Fotografie řezů jednotlivých variant z této kultivace jsou v tabulích č. 15 a 16.



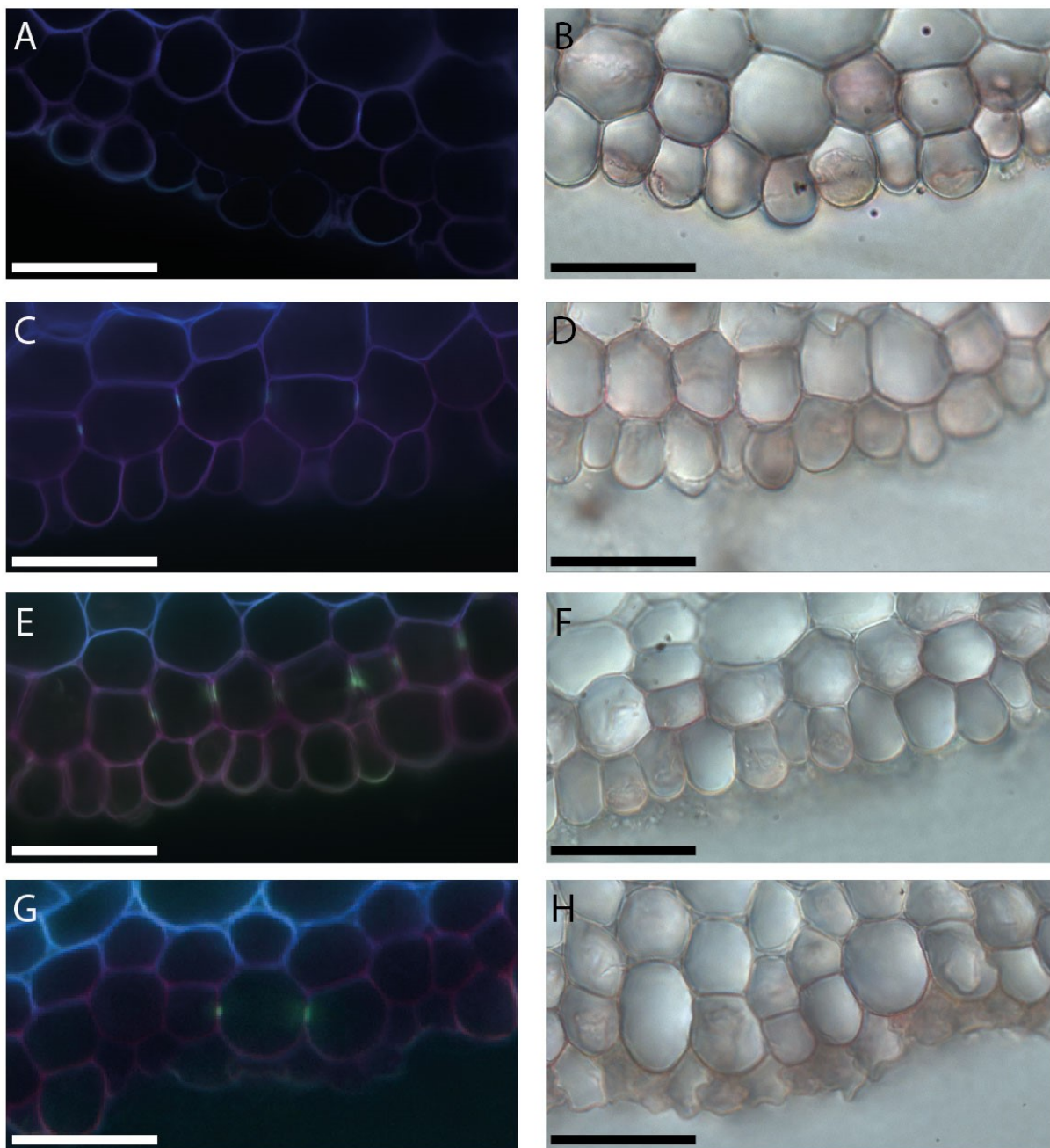
Grafy č. 67-69. Průměrné kategorie vývoje apoplastických bariér v pozici 3/4 od kořenové špičky při působení ACC. Kategorie: 0 (žádné CP nebo SL), 1 (<30 % buněk s CP nebo SL), 2 (50 % buněk s CP nebo SL), 3 (>70 % buněk s CP nebo SL), 4 (100 % buněk s CP nebo SL).

Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test, $p < 0,05$, $n = 3$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).



Tabule č. 15. Diferenciace endodermis *Zea mays* při působení ACC. Řezy v pozici 3/4 kořene od kořenové špičky barvené berberinem a genciánovou violetí (A, C, E, G) pro zvýraznění Casparyho proužků a Sudan Red (B, D, F, H) pro zvýraznění suberinových lamel, měřítko = 50 μm .

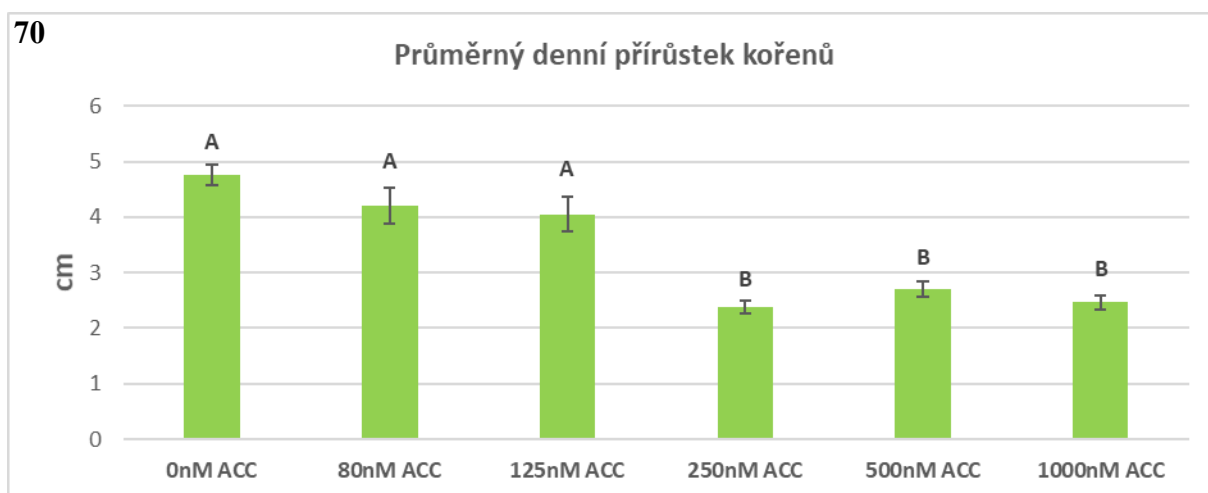
Endodemální vrstva s různým stupněm diferenciace Casparyho proužků a suberinových lamel u rostlin ošetřených 0 (A, B); 80 (C, D); 125 (E, F) a 250nM ACC (G, H).



Tabule č. 16. Diferenciace exodermis *Zea mays* při působení ACC. Řezy v pozici 3/4 kořene od kořenové špičky barvené berberinem a genciánovou violetí (A, C, E, G) pro zvýraznění Casparyho proužků a Sudan Red (B, D, F, H) pro zvýraznění suberinových lamel, měřítko = 50 μm .

Exodermální vrstva s různým stupněm diferenciace Casparyho proužků a suberinových lamel u rostlin ošetřených 0 (A, B); 80 (C, D); 125 (E, F) a 250nM ACC (G, H).

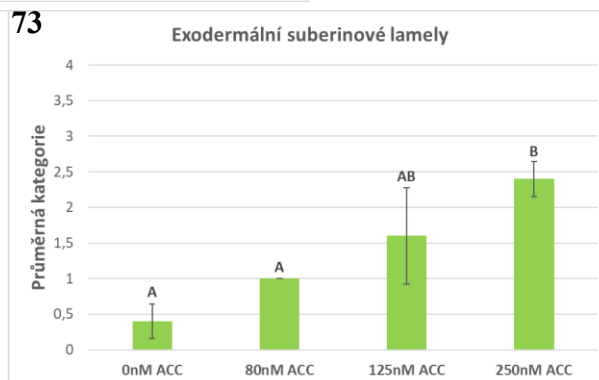
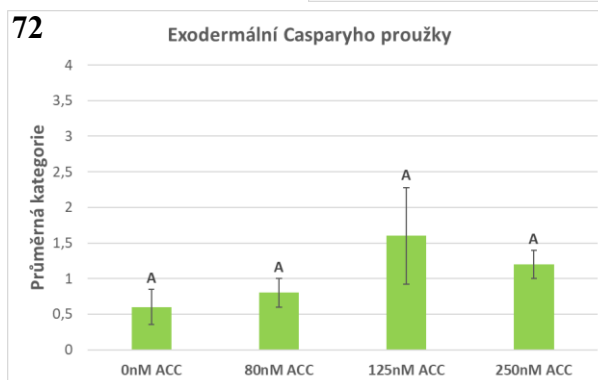
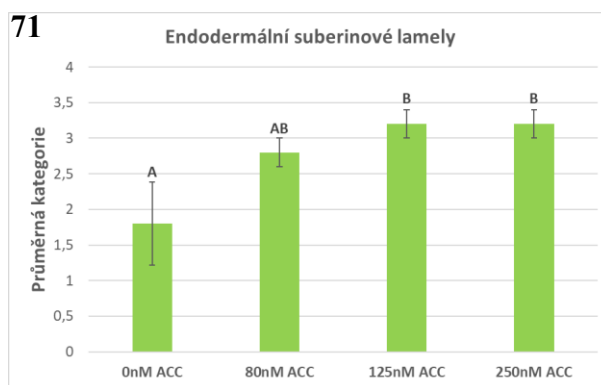
Z důvodu protichůdných trendů v předchozích dvou kultivacích byla provedena ještě třetí kultivace, ve které byly rostliny znovu ošetřeny 0, 80, 125, 250, 500 a 1000nM ACC. V této kultivaci nebyl signifikantní rozdíl v růstu mezi prvními třemi variantami (tj. s 0, 80 a 125nM ACC, graf č. 70).



Graf č. 70. Průměrné denní přírůstky kořenů *Zea mays* v průběhu třídenního působení různých koncentrací ACC.

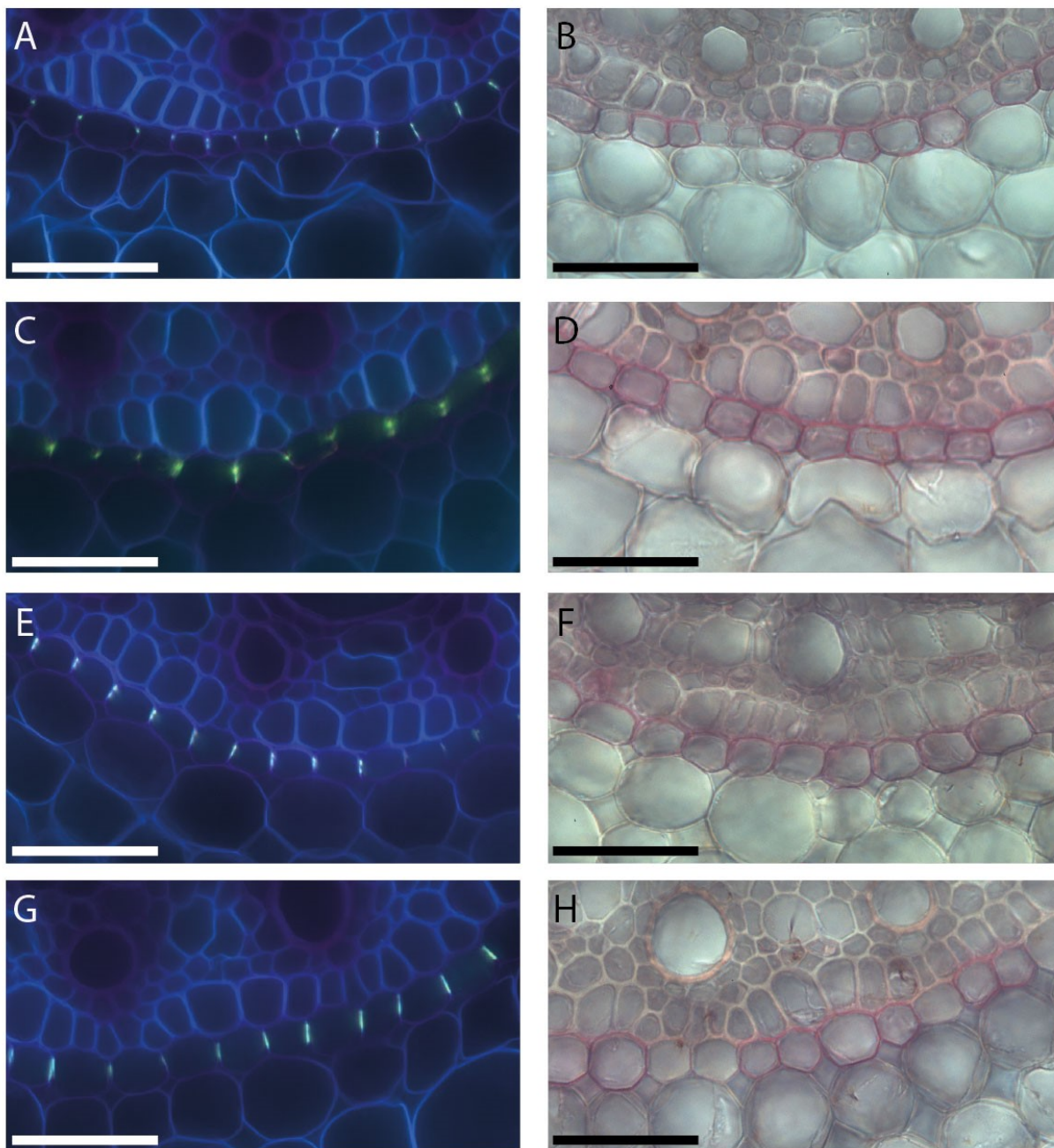
Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test, $p < 0,05$, $n = 8$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).

Pro anatomickou analýzu ve $\frac{3}{4}$ od kořenové špičky byly vybrány varianty s 0, 80, 125 a 250nM ACC. Co se týče Casparyho proužků v exodermální vrstvě, byl jejich výskyt největší při koncentraci 125nM ACC (průměrná kategorie 1,6, graf č. 72), signifikantně se však jednotlivé varianty nelišily. Suberinové lamely v endodermální vrstvě se vyskytovaly nejvíce u variant s 125 a 250nM ACC (průměrná kategorie 3,2 u obou variant, graf č. 71), signifikantně se ale lišily pouze od varianty s 0nM ACC (průměrná kategorie 1,8, graf č. 71). V exodermální vrstvě frekvence výskytu suberinových lamel rostla se zvyšující se koncentrací ACC, signifikantně se od kontrolní varianty lišila varianta s 250nM ACC (průměrná kategorie 2,4, graf č. 73). Fotografie řezů jednotlivých variant z této kultivace jsou v tabulích č. 17 a 18.



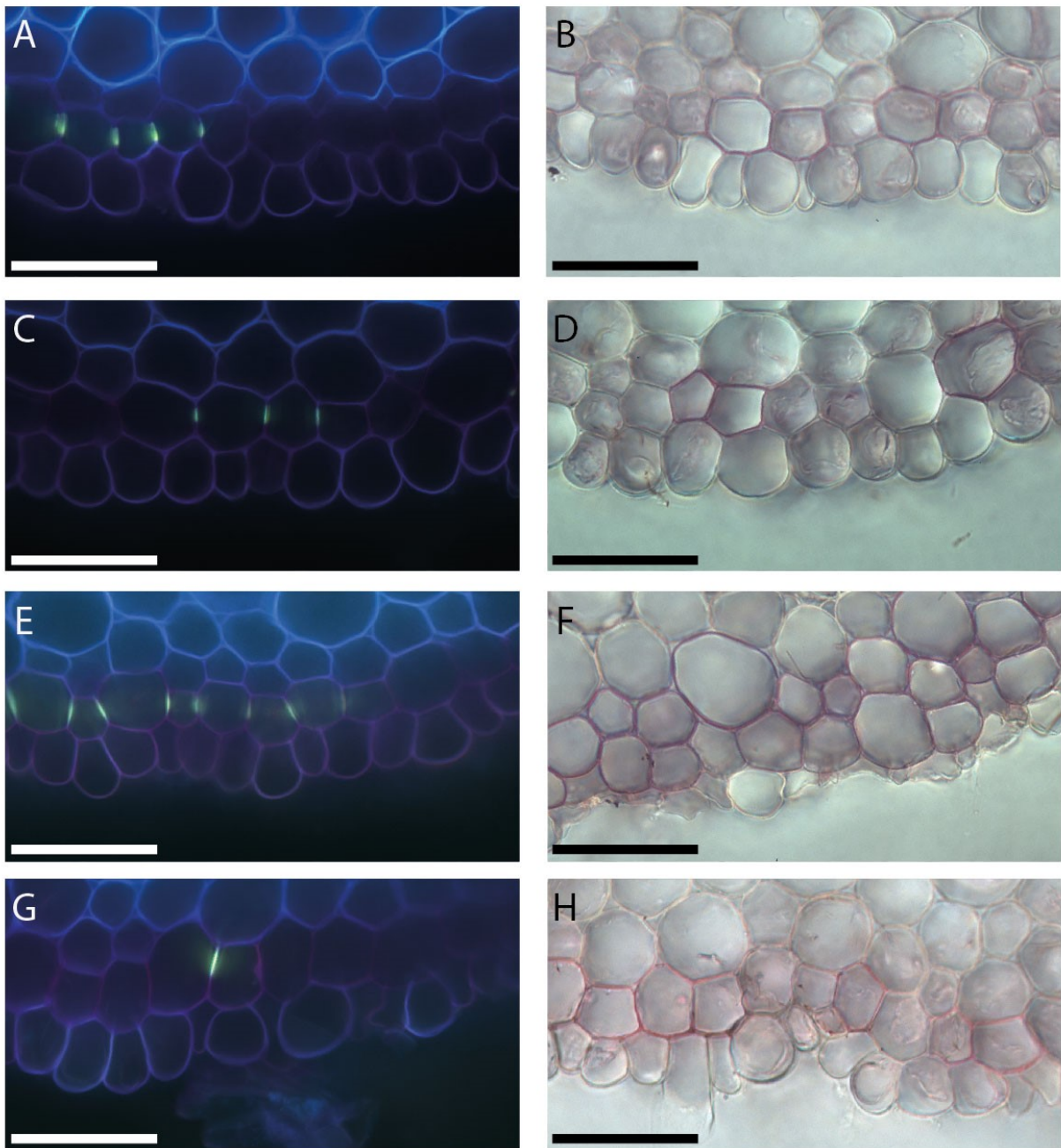
Grafy č 71-73. Průměrné kategorie vývoje apoplastických bariér v pozici 3/4 od kořenové špičky při působení ACC. Kategorie: 0 (žádné CP nebo SL), 1 (<30 % buněk s CP nebo SL), 2 (50 % buněk s CP nebo SL), 3 (>70 % buněk s CP nebo SL), 4 (100 % buněk s CP nebo SL).

Kruskal-Wallis Multiple-Comparison Z-Value Test, $p < 0,05$, $n = 5$, chybové úsečky = střední chyby průměru (SE).



Tabule č. 17. Diferenciace endodermis *Zea mays* při působení ACC. Řezy v pozici 3/4 kořene od kořenové špičky barvené berberinem a genciánovou violetí (A, C, E, G) pro zvýraznění Casparyho proužků a Sudan Red (B, D, F, H) pro zvýraznění suberinových lamel, měřítko = 50 μm .

Endodemální vrstva s různým stupněm diferenciace Casparyho proužků a suberinových lamel u rostlin ošetřených 0 (A, B); 80 (C, D); 125 (E, F) a 250nM ACC (G, H).



Tabule č. 18. Diferenciace exodermis *Zea mays* při působení ACC. Řezy v pozici 3/4 kořene od kořenové špičky barvené berberinem a genciánovou violetí (A, C, E, G) pro zvýraznění Casparyho proužků a Sudan Red (B, D, F, H) pro zvýraznění suberinových lamel, měřítko = 50 μ m.

Exodermální vrstva s různým stupněm diferenciace Casparyho proužků a suberinových lamel u rostlin ošetřených 0 (A, B); 80 (C, D); 125 (E, F) a 250nM ACC (G, H).

Shrnutí výsledků experimentu 3:

Výsledky anatomických analýz kořenů *Zea mays* ošetřených jednotlivými fytohormony lze shrnout takto:

1. Nejsilnější vliv má kyselina abscisová (ABA), která silně stimuluje diferenciaci apoplastických bariér, a to i v koncentraci, která nezpůsobuje inhibici růstu kořene.
2. Cytokinin BAP také stimuluje diferenciaci apoplastických bariér, ale vzhledem k tomu, že je tato stimulace pozorována u kořenů, na kterých je již patrná inhibice jejich růstu, lze označit vliv BAP na diferenciaci apoplastických bariér za mírnější, než je tomu u ABA.
3. Ethylen (ACC) spíše diferenciaci apoplastických bariér stimuluje, ale signifikantní vliv je patrný především u kořenů, které již vykazovaly inhibici růstu, podobně jako u cytokininu BAP.
4. Vliv auxinu (NAA) na diferenciaci apoplastických bariér není signifikantní, i přes více opakování a snahy optimalizovat jeho koncentrace.

5. Diskuse

Tato diplomová práce navazuje na výsledky Mgr. Jiřího Namyslova (Namyslov, 2018), Mgr. Zuzany (Blascheové) Bauriedlové (Blascheová, 2016) a Mgr. Jany Janouškové (Janoušková, 2018) a jejím cílem bylo přispět k vysvětlení funkčního významu a regulačních mechanismů recentně objevené lokalizované odpovědi apoplastických bariér v kořenech *Zea mays* v reakci na deficienci minerálních živin (Namyslov *et al.*, 2020). V rámci práce bylo především sledováno, jak změna v postupu diferenciaci apoplastických bariér koresponduje s distribucí deficientního prvku v rostlině a jaká je regulační role fytohormonů v této odpovědi. Bylo také testováno, zdali lze detekovat lokalizovanou odpověď na dostupnost živin také u jiných druhů rostlin. Práce se zaměřovala především na exodermis, která je v reakci na stresové podmínky více plastická než endodermis (Enstone, Peterson and Ma, 2003) a zároveň díky lokalizaci těsně pod pokožkou ovlivňuje radiální transport látek apoplastem již při vstupu do primární kůry (Taiz, Zeiger and Moll, 2018).

Dostupnost minerálních živin je v heterogenní půdě velmi proměnlivá a kořenový systém rostliny se snaží maximalizovat efektivnost jejich příjmu. Rostlina na stresové podmínky, jakými jsou sucho, zasolení nebo toxicita, většinou reaguje rychlejší diferenciací apoplastických bariér (Redjala *et al.*, 2011). V případě deficiencie minerálních živin však omezení apoplastického transportu a zmenšení plochy membrán, potenciálně zapojených do příjmu deficientního prvku, nemusí představovat výhodu. V souladu s tímto předpokladem byla v některých případech skutečně pozorována pozdější diferenciaci bariér, endodermis a exodermis (Schreiber, Franke and Hartmann, 2005; Barberon *et al.*, 2016; Namyslov *et al.*, 2020). Přesto však např. při deficienci dusíku nebo fosforu můžeme detekovat výraznou stimulaci diferenciaci exodermis i endodermis u některých druhů rostlin (Janoušková, 2018; Armand *et al.*, 2019; Namyslov *et al.*, 2020). Trendy se však mohou u deficiencie stejného prvku na druhové úrovni odlišovat, a tento fakt ukazuje na rozdílné strategie nebo regulační mechanismy napříč druhy. Zjištěním, že tato odpověď může být lokalizovaná a může probíhat pouze v té části kořenového systému, která je deficienci přímo vystavena, vyvstalo několik nových pohledů, které jsou v této diplomové práci diskutovány.

5.1 Funkční význam lokalizované odpovědi apoplastických bariér

Proč se tedy v případě deficiencie některých prvků diferencují apoplastické bariéry rychleji, když tato reakce vede ke snížení hydraulické vodivosti, omezení příjmu vody a s ní i látek z rhizosféry (Carvajal, Cooke and Clarkson, 1996; Zimmermann and Steudle, 1998; Redjala *et al.*, 2011), mezi kterými mohou potenciálně být i ionty prvku, kterého má rostlina nedostatek? Na tuto otázku zatím nelze odpovědět zcela jednoznačně. (Armand *et al.*, 2019) tento trend popisuje jako snahu rostliny o snížení hydraulické vodivosti, což by mohlo pomoci k regulaci poměru biomasy podzemní a nadzemní části (R/S poměru) ve prospěch kořenů. To se ale úplně neshoduje se zjištěním publikovaným o rok později, že změna v rychlosti diferenciaci bariér je lokalizovaná. To znamená vyskytující se jen v té části kořenového systému, který je deficienci přímo vystaven (Namyslov *et al.*, 2020).

V rámci diplomové práce jsem se proto na lokalizovanou odpověď apoplastických bariér zaměřil. V první fázi jsem reakci znovu ověřil u rostlin *Zea mays* pěstovaných ve split-root kulturách s deficiencí dusíku a draslíku, které byly vybrány jako dvě kontrastní situace na základě předchozích výsledků (Namyslov *et al.*, 2020). V kořenech těchto rostlin jsem provedl anatomickou analýzu stupně vývoje apoplastických bariér, která potvrdila rychlejší diferenciaci endodermis a exodermis při deficienci dusíku, a naopak pomalejší (pozdější) diferenciaci při deficienci draslíku, i když v případě nedostatku draslíku byl pozorován slabší efekt než v předchozí práci (Namyslov *et al.*, 2020). Rychlejší diferenciaci bariér v kořenech přímo vystavených deficienci by mohla představovat určitou výhodu v tom, že v části kořenového systému nacházejícího se v deficienci by nedocházelo k únikům iontů ze starších částí kořenů do rhizosféry. Výdej iontů minerálních živin z kořenů do okolního roztoku byl opakovaně detekován (Elliott, Lynch and Lauchli, 1984; Teyker *et al.*, 1988; Colmer and Bloom, 1998). Zároveň je popsáno, že vysokoafinitní transportéry, zajišťující příjem iontů minerálních živin v podmínkách jejich nízké externí dostupnosti, jsou často přítomné především v mladších částech kořene blíže kořenové špičce (Kanno *et al.*, 2016; Janoušková, 2018; Namyslov *et al.*, 2020). Zajímavým příkladem je transportér fosfátu, lokalizovaný dokonce přímo v kořenové špičce (Kanno *et al.*, 2016). To koresponduje s vyšší pravděpodobností výskytu deficientního iontu v nových, potenciálně nevyčerpaných oblastech půdy, do kterých kořen roste. Zároveň je možno si představit, že v případě deficiencie kratšího charakteru je pro rostlinu výhodnější kořeny v deficientním substrátu nebo oblasti substrátu po nějakou dobu udržet aktivní a retranslokovat do nich část živin přijatých kořeny rostoucími

v dostatku daného prvku (Shen *et al.*, 2005), popřípadě aplikovaných na listy (Dong *et al.*, 2002). Energie a živiny na jejich růst již totiž byly investovány. Rychlejší diferenciací apoplastických bariér v těchto kořenech by umožnila, aby nedocházelo ke ztrátě živin zpětným tokem iontů ven z kořenů v této části. Fakt, že jsou deficientní kořeny po určitou dobu udržovány a podporovány v růstu, jsem s pomocí split-root kultivací pozoroval u *Hordeum vulgare* vystaveného deficienci dusíku. *H. vulgare* po určitou dobu podporoval růst kořene rostoucího v deficienci, při déle trvající deficienci jsem však pozoroval výrazné upřednostnění investice do kořene rostoucího v médiu s dostatkem dusíku (kořeny byly delší a více větvené). Stejně morfologické rozdíly byly pozorovány i u *Sorghum bicolor* a *Zea mays* v této práci i v dřívějších experimentech (Liu *et al.*, 2008; Namyslov *et al.*, 2020) a korespondují s lokalizovanou růstovou odpovědí kořenového systému na heterogenní dostupnost živin v substrátu (Drew, 1975; Forde and Walch-Liu, 2009). Retranslokace různých minerálních prvků (v různé míře v závislosti na jejich mobilitě po rostlině) byla opakovaně pozorována např. u fosforu v případě *Lupinus albus* (Shen *et al.*, 2005) nebo u železa v případě *Cucumis sativus* (Valentinuzzi *et al.*, 2020). V tomto případě autor uvádí, že u rostlin ve split-root kultivacích s deficiencí železa je nejprve detekováno plné zásobení železem prýty, až následně poté je železo retranslokováno do deficientního kořene.

Otázkou vyplývající ze stanovených hypotéz pro mě tedy bylo, zdali je retranslokace nedostatkové živiny do deficientní části kořenového systému tak velká, abych mohl podpořit teorii o prevenci úniku iontů z těchto kořenů. Ve spolupráci s VÚRV jsem měřil hladiny deficientních prvků v prýtech a kořenech rostlin *Zea mays*, které byly pěstovány ve split-root kulturách s deficiencí dusíku (experiment 1.1) a s deficiencí draslíku (experiment 1.2). Prýty rostlin *Z. mays*, pěstovaných v dělené variantě s deficiencí dusíku, se v obsahu dusíku signifikantně nelišily od kontrolní varianty. Z toho vyplývá, že kořen rostoucí v médiu v dělené variantě byl schopen sám zásobit dusíkem prýt na hladinu srovnatelnou s prýty rostlin kontrolních, tedy těch, které netrpěly žádnou deficiencí. Jiná situace nastala u split-root kultivací s deficiencí draslíku. Tam se již obsah draslíku mezi prýty dělené a kontrolní varianty signifikantně lišil, byl zhruba o 2 % nižší. Co se týče situace v kořenech, pozornost jsem zaměřil především na rozdíly mezi kořeny v dělené variantě. Z výsledků lze vyvodit, že dusík se mezi kořeny retranslokuje, protože deficientní kořeny v dělené variantě měly signifikantně nižší C/N poměr než rostliny v plně deficientní variantě. Retranslokace dusíku však není tak výrazná, abych mohl jednoznačně potvrdit hypotézu o prevenci úniku iontů. Lze nicméně předpokládat, že u kořenů, které obsahují pouze 1,56 % N v sušině, což je hodnota

detekovaná v deficientních kořenech v dělené variantě, nebude riziko úniku NO_3^- nebo NH_4^+ do rhizosféry příliš vysoké. Pro potvrzení tohoto závěru by bylo vhodné stanovit obsahy obou iontů v pletivech a zároveň provést experimenty sledující příjem, translokaci a únik dusíku z kořenů v závislosti na podmínkách rhizosféry a stupni diferenciaci bariér v kořenech pomocí ^{15}N značených sloučenin. Tyto experimenty jsou předběžně plánovány ve spolupráci s Výzkumným ústavem rostlinné výroby v Ruzyni (VÚRV).

Vzhledem k pozorovaným změnám hydraulické vodivosti kořenů při deficienci (Carvajal, Cooke and Clarkson, 1996; Armand *et al.*, 2019) vyvstává ještě další možné vysvětlení významu urychlení diferenciaci bariér přednostně v deficientní části kořenového systému. V případě, že rostlina sníží hydraulickou vodivost v části kořenového systému rostoucí v deficienci, upřednostnila by příjem vody, a tedy i její hromadný tok v rhizosféře v oblasti půdy bohatší na živiny. Tím by mohl být stimulován i příjem nedostatkových minerálních iontů kořeny rostoucími v části substrátu s jejich vyšší dostupností. Tato hypotéza nebyla testována, ale mohla by se uskutečnit v budoucnu opět ve spolupráci s Laboratoří integrované výživy rostlin VÚRV.

Výše zmíněné hypotézy však neodpovídají vlivu deficienci draslíku na diferenciaci bariér u *Zea mays*, u které jsem pozoroval pomalejší diferenciaci, přestože (Barberon *et al.*, 2016) uvádí, že při deficienci draslíku je suberinizace v endodermální vrstvě u *Arabidopsis thaliana* stimulována. Na otázku, jaký má pro *Zea mays* význam zpomalení diferenciaci bariér v souvislosti s touto deficiencí nemohu s určitostí odpovědět. Draslík je prvek v rostlině velmi mobilní (Wang and Wu, 2013) a jeho únik z deficientních kořenů je proto minimálně stejně pravděpodobný, jako je tomu u iontů dusíku nebo fosforu. S prevencí úniku proto korespondují spíše výše zmíněná pozorování u *A. thaliana* (Barberon *et al.*, 2016). Reakce *Zea mays* tomuto neodpovídá. V této souvislosti mě napadá spojitost s nedostatečným vyžráváním pletiv, rozpadem parenchymu a poléháním stébel při deficienci draslíku, jak shrnuje např. (Murrel, 2010), na což jsou konkrétně obilniny velmi náchylné. Zvýšená pružnost a poléhavost stébel byly popsány např. u rostlin *Zea mays* (Liebhardt and Murdock, 1965; Welch and Flannery, 1985), *Triticum aestivum* (Beaton and Sekhon, 1985) nebo *Oryza sativa* (De Datta and Mikkelsen, 1985). Zpomalení diferenciaci bariér by tedy nemusela být funkčně významná adaptace na deficienci draslíku, ale mohl by to být jen výsledek problému s diferenciací buněk nebo jiného problému, který tato deficienci přináší.

5.1.1 Lokalizovaná odpověď u jiných rostlinných druhů

Dále jsem testoval, zdali je možné lokalizovanou odpověď apoplastických bariér na deficienci dusíku pozorovat i u jiných druhů a není to jen anomálie pozorovatelná u *Zea mays*. Pro tuto práci jsem vybral tři modelové rostliny, všechny z čeledi *Poaceae*, *Hordeum vulgare*, *Avena sativa* a *Sorghum bicolor*, které jsem vybíral dle schopnosti tvorby exodermis (Perumalla, Peterson and Enstone, 1990; Bathoova *et al.*, 2018; Janoušková, 2018) a pro snadné kultivování. *H. vulgare* dle (Ranathunge *et al.*, 2017) v hydroponii za normálních podmínek exodermis netvoří, (Janoušková, 2018) ve svém experimentu exodermis pozorovala při působení deficiencie fosforu. V rámci mých experimentů, kde jsem rostliny vystavil působení deficiencie dusíku, jsem nicméně u ječmene ani ovsa téměř nepozoroval diferencovanou exodermální vrstvu v žádné z variant, proto nemohu ani jejich možnou lokalizovanou odpověď na nedostatek živin hodnotit. U ječmene jsem pozoroval rozdílnou morfologickou stavbu kořenového systému mezi kořeny deficientními a kontrolními v dělené variantě, u ovsa nikoli. U rostlin čiroku jsem také pozoroval rozdílnou morfologii kořenů v dělené variantě, u nich jsem už pozoroval náznaky lokalizované odpovědi, konkrétně byla v kořenech pěstovaných v deficienci dusíku stimulována diferenciace bariér, stejně jako u *Zea mays*. Pro zpřesnění výsledků je ještě nutno prodloužit dobu kultivování čiroku a provést anatomickou analýzu kořenů ve větším množství pozic. Všechny rostlinné druhy byly pěstovány ve split-root kultivacích s deficiencí dusíku, do budoucna by také bylo vhodné provést kultivace i s deficiencí jiných prvků, především fosforu a draslíku. To by umožnilo zjistit, jestli i jiné rostliny reagují na deficienci draslíku zpomalením diferenciace bariér, nebo je to pouze doménou *Zea mays* nebo obilnin jako takových. Zajímavou možností je i vystavení rostlin kombinované deficienci dusíku a draslíku, což by umožnilo zjistit, zda deficiencie draslíku zabrání zrychlené diferenciaci bariér v N-deficientních kořenech.

5.2 Role fytohormonů v regulaci diferenciace apoplastických bariér v kořenech *Zea mays* při nedostatku dusíku a draslíku

Fytohormony jsou důležitými činiteli v utváření kořenové architektury, zejména kyselina abscisová, auxin, ethylen a cytokininy (López-Bucio, Cruz-Ramírez and Herrera-Estrella, 2003). Fytohormony také hrají významnou roli v regulaci diferenciace apoplastických bariér (Barberon *et al.*, 2016) a základní otázkou pro mě tedy bylo, jak se

mění hladiny vybraných fytohormonů ve split-root kultivacích s deficiencí dusíku (experiment 1.1) a draslíku (experiment 1.2) a zda tyto změny korespondují s rozsahem diferenciac apoplastických bariér v kořenech *Zea mays*. Bylo pro mě stěžejní porovnat hladiny fytohormonů mezi variantou kontrolní, dělenou a deficientní. U dělené varianty jsem navíc porovnával změny v hladinách fytohormonů mezi kontrolní a deficientní částí kořenového systému téže rostliny. Segmenty kořenů jsem zaslal na AV ČR, kde byly analyzovány ve spolupráci s doc. Radomírou Vaňkovou z Laboratoře hormonálních regulací u rostlin. Z výsledků však není lehké vyvodit závěry vzhledem k tomu, že hladiny fytohormonů detekované v kořenech nekorelují se stupněm diferenciac bariér tak, jak se původně předpokládalo na základě dat publikovaných v literatuře pro jiné rostlinné druhy (Barberon *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2021). Paralelně jsem spolu s Mgr. Zuzanou (Blascheovou) Bauriedlovou, která toto téma zpracovává v rámci své disertační práce, testoval vliv externě dodaných fytohormonů na kořenový systém hydroponicky pěstovaných rostlin *Zea mays*. Výsledky těchto experimentů korelují se změnami hladin fytohormonů v kořenech rostlin z dělených kultur opět jen částečně.

5.2.1 Kyselina abscisová

Prvním fytohormonem, jehož vliv a roli v regulaci diferenciac apoplastických bariér v odpovědi na dostupnost živin jsem testoval, byla kyselina abscisová (ABA). ABA je považována za univerzální stresový hormon, jak shrnuje např. (Hong, Seah and Xu, 2013). Zároveň pro ni byla popsána stimulační role v suberinizaci endodermis (Barberon *et al.*, 2016) i v ukládání suberinu v jiných pletivech a orgánech rostlin, např. peridermu hlíz (Efetova *et al.*, 2007) nebo v odpovědi na poranění (Boher *et al.*, 2013; Woolfson *et al.*, 2018), zasolení (Vishal *et al.*, 2019), či nedostatek vody (Hu *et al.*, 2011). Snížená suberinizace u *Arabidopsis thaliana* při represi signální dráhy ABA byla popsána i v práci (Andersen *et al.*, 2018). (Wang *et al.*, 2020) uvádí, že ABA indukuje u *Arabidopsis thaliana* rychlou, ale pouze přechodnou suberinizaci, oproti tomu stojí pomalejší suberinizace zprostředkovaná transkripčními faktory SHR (Short-Root) a MYB36. Přesto, že jsou dráhy propojené, v mutantu *shr-2*, byla suberinizace po externím ošetření ABA detekována. To ukazuje, že ABA může využít dráhu nezávislou na SHR (Wang *et al.*, 2020). Hladina ABA se navíc v rostlinách může zvyšovat při deficienci živin. Toto bylo pozorováno např. při deficienci dusíku u *Gossypium hirsutum* (Chen *et al.*, 2020), *Zea mays* (Battal, Turker and Tileklioglu, 2003) a *Triticum durum* (Teplova, Veselov and Kudoyarova, 1998), při deficienci draslíku u *Zea mays* (Battal,

Turker and Tileklioglu, 2003) a *Arabidopsis thaliana* (Barberon *et al.*, 2016), při deficienci fosforu u *Hordeum vulgare* (Vysotskaya *et al.*, 2020), *Zea mays* (Battal, Turker and Tileklioglu, 2003) a *Arabidopsis thaliana* (Prerostova *et al.*, 2018) nebo při deficienci síry u *Arabidopsis thaliana* (Barberon *et al.*, 2016) a *Zea mays* (Battal, Turker and Tileklioglu, 2003). Při deficienci fosforu u *Oryza sativa* byl ale pozorován naopak pokles hladiny ABA (Fang Zhu *et al.*, 2018). Lze tedy předpokládat, že by ABA mohla regulovat i suberinizaci exodermis v odpovědi na deficienci dusíku, toto ale doposud analyzováno nebylo. Stejně tak není jasný její vliv na průběh lignifikace exodermálních Casparyho proužků.

Zvýšené hladiny ABA v kořenech *Zea mays* jsem v experimentu 1.1 pozoroval v N-deficientní variantě, také v dělené variantě u obou kořenů stejné rostliny (kořene rostoucího v N-deficientním roztoku i kořene rostoucího v roztoku s N). Hladina ABA tedy korelovala s variantou média (a obsahem N v sušině kořenů) jen u kontrolní (KONT/KONT) a N-deficientní varianty (-N/-N). Zde odpovídala trendům publikovaným v literatuře, kdy jsou u N-deficientních rostlin obvykle pozorovány vyšší hladiny ABA (Teplova, Veselov and Kudoyarova, 1998; Chen *et al.*, 2020). Korelovala také se stupněm diferenciací apoplastických bariér, který byl výrazně pokročilejší u N-deficientní varianty. Tato pozorování jsou tedy v souladu s popsáním stimulačním vlivem ABA na diferenciaci bariér, který byl dokumentován např. u *Arabidopsis thaliana* (Barberon *et al.*, 2016) nebo *Zea mays* (Namyslov, 2018). Tento stimulační efekt se mi v této práci podařil prokázat i při externím dodání ABA do kultivačního média, a to pro endodermis i exodermis. Z výsledku mohu říct, že ze všech námi zkoumaných fytohormonů měla ABA nejsilnější vliv na diferenciaci bariér, a to již v koncentracích, které neovlivňovaly růst kořene. Při vysokých koncentracích externě aplikované ABA (1 000 nM) jsem dokonce pozoroval vícevrstevnou exodermis, a to jak v případě Casparyho proužků, tak suberinových lamel, přestože je pro kořeny *Z. mays* typická jednovrstevná exodermis. Je tedy patrné, že kromě efektu na suberinizaci, je ABA schopná stimulovat i lignifikaci Casparyho proužků a stimulovat diferenciaci exodermální vrstvy.

S těmito závěry nicméně nekorespondují výsledky pro dělenou variantu (KONT/-N). U této varianty byla hladina ABA vysoká v obou kořenech stejné rostliny, přestože kořen rostoucí v N-deficientním roztoku obsahoval pouze 1,56 % dusíku v sušině, zatímco kořen rostoucí v kontrolním médiu 4,24 % dusíku. Podobně také hladina ABA v těchto kořenech nekorelovala se stupněm diferenciací apoplastických bariér. V kontrolním kořeni byly bariéry signifikantně méně diferencované než v kořeni deficientním. Vysvětlit toto pozorování není

jednoduché. Jedním z možných vysvětlení je, že kromě hladiny samotné ABA je klíčová rychlost jejího metabolismu a tedy např. hladiny prekurzorů nebo degradačních produktů. V tomto směru jsou zajímavým výsledkem rozdíly v hladině kyseliny dihydrofazeové (DPA), která je produktem katabolismu ABA (Ma *et al.*, 2018). ABA je nejprve metabolizována na kyselinu fazeovou (PA) a následně na kyselinu dihydrofazeovou (DPA). PA i DPA mají slabou nebo žádnou biologickou aktivitu (Zhou *et al.*, 2004). Vyšší hladina metabolitů ABA poukazuje na výrazné zvýšení hladiny ABA v ranější fázi stresu. V pozdější fázi je ABA metabolizovaná a jsou detekovatelné ve větší míře především její metabolity (Harrison and Walton, 1975; Hansen and Dörffling, 1999). V kořenech kontrolní varianty i v kořenech dělené varianty rostoucích v kontrolním médiu byla naměřena vysoká hladina DPA. Hladina DPA tedy velmi přesně korelovala s variantou média, obsahem dusíku v pletivech kořenů i stupněm diferenciací bariér napříč všemi variantami experimentu 1.1.

Dalším možným vysvětlením je, že v rostlině v dělené variantě, která je vystavena deficienci jen částečně, by probíhala syntéza ABA ve větším množství v listech (Kuromori, Seo and Shinozaki, 2018) a tato ABA by následně mohla být transportována do obou částí kořenového systému. To by mohlo vysvětlit vyšší hladinu ABA v obou částech, i když diferenciací apoplastických bariér je rozdílná. Následně by záleželo na citlivosti buněk endodermis a exodermis, které by mohly být v části kořenového systému rostoucí v kontrolním médiu méně citlivé k ABA a rychlejší diferenciací by u nich neprobíhala. Rozdílná citlivost by např. mohla souviset s odlišnou mírou exprese genů kódujících receptory ABA v jednotlivých částech děleného kořenového systému, takovým receptorem je např. PYL8 (Pyrabactin Resistance1-Like8) (Antoni *et al.*, 2013; Belda-Palazon *et al.*, 2018). V důsledku by se tedy mohlo jednat o další regulační mechanismy a budoucí experimenty by se mohly ubírat právě tímto směrem.

Apoplastické bariéry navíc ovlivňují tok ABA kořenem v radiálním směru (Schraut, Heilmeier and Hartung, 2005). V této práci byly analyzovány pouze segmenty kořenů, které byly analyzovány jako celek. Případnou odlišnou distribuci ABA v pletivech N-deficientních a kontrolních kořenů tak nebylo možno zachytit. V dalších experimentech by bylo vhodné provést jemnější vzorkování podél osy kořene a zaměřit se na přesnější lokalizaci v pletivech kořene.

Co se týče deficiencie draslíku, (Barberon *et al.*, 2016) uvádí, že *Arabidopsis thaliana* reaguje zvýšenou hladinou ABA. U *Zea mays* by měla být situace při deficienci draslíku

podobná (Battal, Turker and Tileklioglu, 2003). V našem experimentu 1.2 byly hladiny ABA mírně vyšší v K-deficientní a dělené variantě, rozdíly mezi jednotlivými variantami ale nebyly signifikantní, deficiencie draslíku tedy výraznější zvýšení obsahu ABA v kořenech nevyvolala. Menší stupeň diferenciacie apoplastických bariér u K-deficientních kořenů *Zea mays* nicméně nebyl spojen se sníženou hladinou ABA v těchto kořenech. Reakce *Zea mays* na deficienci draslíku tedy může být celkově jiná než u *A. thaliana*, např. v souvislosti s již diskutovanými problémy s vyzríváním pletiv a zhoršenou mechanickou odolností K-deficientních obilnin.

5.2.2 Ethylen

Ethylen působí na apoplastické bariéry v kořenech zřejmě antagonisticky k ABA. U *A. thaliana* byla pozorována pozdější suberinizace endodermis po aplikaci ACC, prekursoru syntézy ethylenu, do média (Barberon *et al.*, 2016). Navíc byla pozorována zvyšující se hladina ethylenu v rostlině při deficienci některých prvků, např. u *Arabidopsis thaliana* rostoucí v deficienci železa, zinku a manganu (Barberon *et al.*, 2016), nebo u *Phaseolus vulgaris* (Borch *et al.*, 1999), kde byl v kořenech rostlin rostoucích v deficienci fosforu detekován ethylen ve dvakrát vyšším množství. Ethylen je také opakovaně spojován s reakcí rostliny na nedostatek draslíku, při kterém se jeho hladina v kořenech *A. thaliana* zvyšuje (Shin and Schachtman, 2004; Schachtman, 2015). Endodermis *A. thaliana* ale při deficienci draslíku suberinizuje rychleji (Barberon *et al.*, 2016).

Shrme-li tyto informace dohromady, je zřejmé, že spojení mezi deficiencí minerálních živin, hladinami ethylenu v pletivech rostlin a stupněm diferenciacie apoplastických bariér v kořenech není zcela jednoznačné. Proto jsem se na ethylen také zaměřil ve své diplomové práci. Data, která jsem získal v rámci experimentů se *Zea mays* ukazují signifikantní negativní korelaci mezi obsahem dusíku (experiment 1.1) i s obsahem draslíku (experiment 1.2) a hladinou ACC v pletivech kořenů. To znamená, že jeho hladina byla v obou experimentech vyšší u rostlin deficientních. Tento výsledek však nekoreluje s výsledky anatomické analýzy, protože u varianty K-deficientní jsem pozoroval výrazné zpomalení diferenciacie bariér, oproti tomu u varianty N-deficientní jsem pozoroval výraznou stimulaci diferenciacie. Dle (Barberon *et al.*, 2016) ethylen při deficienci některých prvků (konkrétně síry a železa) inhibuje prostřednictvím ethylenu suberinizaci endodermis u *Arabidopsis thaliana* a externě aplikované ACC dokonce stimuluje odbourávání již uloženého suberinu. To by v mých experimentech platilo pouze pro K-deficientní kořeny, pro N-

deficientní nikoli. Navíc v mých experimentech nebyl ani vliv externě aplikovaného ACC na diferenciaci apoplastických bariér *Zea mays* úplně jednoznačný a z výsledků mohu shrnout, že diferenciaci bariér spíše stimuloval. Ale pouze u kořenů, které již byly výrazněji inhibovány v růstu. Tento závěr nekoresponduje s předchozím pozorováním na *Arabidopsis thaliana* (Barberon *et al.*, 2016) ani s předchozím experimentem mého kolegy na *Zea mays* (Namyslov, 2018), kde byl pozorován opačný trend. Obě práce nicméně analyzovaly stupeň diferenciaci bariér po aplikaci vyšší koncentrace ACC (1 000nM), než tomu bylo v mém případě (maximálně 500nM). Anatomickou analýzu bude proto třeba v následujících experimentech rozšířit i o rostliny ošetřené vyšší hladinou ACC. V této souvislosti je zajímavým výsledkem nižší stupeň diferenciaci exodermis ve variantě s 500nM ACC oproti variantě s 250nM ACC, kterou jsem pozoroval.

Ethylen také reguluje tvorbu aerenchymu v kořenech (He *et al.*, 1996; Drew, He and Morgan, 2000), který je velmi důležitý např. při zaplavení kořenového systému a následné hypoxii. Dochází tak k zásobení pletiv kyslíkem a diferencovaná exodermální vrstva brání jeho úniku (Pedersen *et al.*, 2020). Hypoxie stimuluje tvorbu ethylen, který indukuje programovanou buněčnou smrt, dochází k degradaci buněk a tvorbě aerenchymu (Drew, He and Morgan, 2000). Více vyvinutý lyzigenní aerenchym jsem pozoroval u deficientních kořenů v obou experimentech, i když jsem jeho rozsah kvantitativně nehodnotil a data v diplomové práci neuvádím. Tvorba aerenchymu je v kořenech *Zea mays* stimulována při nízkém obsahu dusíku, draslíku a fosforu v půdě (Postma and Lynch, 2011; Saengwilai *et al.*, 2014). Autoři této reakci přikládají významnou roli, protože snižuje respiraci v kořenech a metabolické náklady na produkci a udržování biomasy kořenů v podmínkách deficeience. Činí tak kořenový systém efektivnější, protože při stejných metabolických nákladech může rostlina prokořenit větší obsah půdy. Proto si myslím, že zvýšený obsah ethylenu v kořenech *Zea mays* z experimentu 1.1 a 1.2 by mohl souviset právě s tvorbou aerenchymu. Jak uvádí (He, Morgan and Drew, 1992), rostliny *Zea mays* vystavené deficienci dusíku a fosforu jsou k ethylenu citlivější. Rostliny pak mohou být pěstovány v chudších půdách a výzkumy zaměřené tímto směrem jsou důležité pro zvýšení výnosu plodin pěstovaných v rozvojových oblastech.

5.2.3 Auxiny, cytokininy a ostatní analyzované fytohormony

Dále jsem analyzoval vliv externě podaného auxinu (NAA), který je velmi důležitým regulátorem architektury kořenového systému při deficienci např. dusíku (Krouk *et al.*, 2010). (Chen *et al.*, 2020) pozoroval u *Gossypium hirsutum* rostoucího v deficienci dusíku sníženou hladinu IAA. Já jsem v mých experimentech (1.1 a 1.2) nepozoroval korelaci mezi obsahem deficientních prvků (dusíku a draslíku) a hladinou IAA, pozoroval jsem však korelaci mezi metabolitem IAA indolyl-acetyl-aspartátu (IAA-Asp), jehož obsah byl vyšší u kontrolních variant u obou experimentů. IAA-Asp je metabolit vznikající při degradaci auxinu, může mít však vlastní signalizační funkci u dalších drah a může být zapojen do reakcí na abiotický stres (Ostrowski, Ciarkowska and Jakubowska, 2016). V souvislosti s apoplastickými bariérami jsem pozoroval pozitivní korelaci s hladinou IAA v experimentu 1.1 a naopak negativní korelaci v experimentu 1.2. Externí aplikace NAA diferenciaci apoplastických bariér neovlivnila.

Dalšími vybranými fytohormony byly cytokininy, které se také podílejí na reakcích spojených s deficiencí živin (Sakakibara, 2006) a jejich hladina se u deficientních rostlin spíše snižuje (Korobova *et al.*, 2016). To se mi potvrdilo pouze u deficiencie dusíku, nikoli však u deficiencie draslíku. Pro některé metabolity cytokininů jsem pozoroval negativní korelace mezi jejich hladinami a diferenciací bariér u experimentu 1.1 i 1.2. U kořenů ošetřených externě dodaným cytokininem BAP jsem pozoroval stimulační efekt na diferenciaci bariér, ale v kořenech, které již byly viditelně inhibovány v růstu. Tudíž bych označil stimulační efekt BAP za slabší než efekt ABA.

Dále byly měřeny hladiny kyseliny jasmonové, salicylové a také jejich metabolitů. Nebyla však pozorována významná korelace se stupněm diferenciaci apoplastických bariér. Kyselina jasmonová má zvýšenou hladinu u dělené varianty (KONT/-N) ve split-root kultivaci s deficiencí dusíku, což ukazuje na její význam při nerovnoměrné dostupnosti dusíku.

6. Závěr

Tato práce měla za úkol analyzovat funkční význam a regulační mechanismy lokalizované odpovědi apoplastických bariér na deficienci minerálních živin. V rámci práce se podařilo ověřit lokalizovanou odpověď kořenů *Zea mays* na deficienci dusíku a draslíku v dělených (split-root) kultivacích. Analýza obsahu prvků v biomase rostlin měla za úkol podpořit nebo vyvrátit hypotézu o rychlejší diferenciaci exodermis jako prevenci úniku nedostatkových iontů zpět do rhizosféry. Z výsledků však vyplývá, že retranslokace dusíku i draslíku mezi částmi kořenového systému je poměrně malá na to, aby se tato hypotéza dala s určitostí potvrdit. Budoucí experimenty by se mohly soustředit na příjem a výdej ^{15}N značených sloučenin, sledovat jejich redistribuci v rámci kořenového systému a únik z kořenů, popřípadě se pokusit ověřit nebo vyslovit další hypotézy o funkčním významu této lokalizované odpovědi. Náznak lokalizované odpovědi apoplastických bariér byl sledován kromě *Zea mays* také u *Sorghum bicolor*. U *Hordeum vulgare* a *Avena sativa* lokalizovaná odpověď apoplastických bariér v této práci detekována nebyla, u těchto druhů nebyla detekována exodermální vrstva vůbec. Budoucí experimenty by se mohly zaměřit na další rostlinné druhy, včetně dvouděložných, u kterých však bude těžší rozdělit kořenový systém v dělených (split-root) kultivacích.

Co se týče regulačních mechanismů, v rostlinách *Z. mays* pěstovaných v dělených kultivacích byly také analyzovány hladiny fytohormonů, s rychlostí a stupněm diferenciaci apoplastických bariér však zcela nekorelovaly. Je zajímavé, že z trendu patrného mezi deficientní a kontrolní variantou často vybočovala dělená varianta. Zdá se tedy, že se rostliny vystavené působení deficiencie jen v části kořenového systému chovají odlišně než plně deficientní rostliny. Tímto směrem by se mohly zaměřit budoucí experimenty. Vzhledem k tomu, že byly hladiny fytohormonů analyzovány jen v celých segmentech kořenů, by do budoucna bylo také vhodné vzorkovat jemněji podél osy kořene a také v radiálním směru, odděleně pro endodermální a exodermální vrstvu. Při externím dodání fytohormonů (ABA, BAP, ACC, NAA) do hydroponických kultivací *Zea mays* byl zjištěn nejsilnější efekt kyseliny abscisové (ABA), která výrazně stimulovala diferenciaci bariér bez výrazné inhibice růstu kořenů a ve vyšších koncentracích dokonce indukovala vznik dvojité exodermální vrstvy, která se u *Z. mays* za normálních podmínek nevyskytuje. BAP a ACC diferenciaci bariér také spíše stimulovaly, již však za výraznější inhibice růstu kořene. Vliv NAA nebyl

signifikantní. Tyto experimenty by opět bylo vhodné doplnit, např. vystavit rostliny působení fytohormonu déle a analyzovat rozsah diferenciacce bariér v různých pozicích kořene.

7. Seznam literatury

- Alassimone, Julien, Sadaf Naseer, and Niko Geldner. 2010. "A Developmental Framework for Endodermal Differentiation and Polarity." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107(11):5214–19.
- Aloni, Roni, Daryl E. Enstone, and Carol A. Peterson. 1998. "Indirect Evidence for Bulk Water Flow in Root Cortical Cell Walls of Three Dicotyledonous Species." *Planta* 207(1):1–7.
- Andersen, Tonni Grube, Marie Barberon, and Niko Geldner. 2015. "Suberization - the Second Life of an Endodermal Cell." *Current Opinion in Plant Biology* 28:9–15.
- Andersen, Tonni Grube, Sadaf Naseer, Robertas Ursache, Brecht Wybouw, Wouter Smet, Bert De Rybel, Joop E. M. Vermeer, and Niko Geldner. 2018. "Diffusible Repression of Cytokinin Signalling Produces Endodermal Symmetry and Passage Cells." *Nature* 555(7697):529–33.
- Antoni, Regina, Miguel Gonzalez-Guzman, Lesia Rodriguez, Marta Peirats-Llobet, Gaston A. Pizzio, Maria A. Fernandez, Nancy De Winne, Geert De Jaeger, Daniela Dietrich, Malcom J. Bennett, and Pedro L. Rodriguez. 2013. "PYRABACTIN RESISTANCE1-LIKE8 Plays an Important Role for the Regulation of Abscissic Acid Signaling in Root." *Plant Physiology* 161(2):931–41.
- Del Arco, Jose M., A. Escudero, and M. Vega Garrido. 1991. "Effect of Site Characteristics on Nitrogen Retranslocation from Senescing Leaves." *Ecology* 72(2):701–8.
- Armand, Thomas, Michelle Cullen, Florentin Boiziot, Lingyu Li, and Wieland Fricke. 2019. "Cortex Cell Hydraulic Conductivity, Endodermal Apoplastic Barriers and Root Hydraulics Change in Barley (*Hordeum Vulgare* L.) in Response to a Low Supply of N and P." *Annals of Botany* 124(6):1091–1107.
- Armengaud, Patrick, Rainer Breitling, and Anna Amtmann. 2004. "The Potassium-Dependent Transcriptome of Arabidopsis Reveals a Prominent Role of Jasmonic Acid in Nutrient Signaling." *Plant Physiology* 136(1):2556–76.
- Armstrong, W., D. Cousins, J. Armstrong, D. W. Turner, and P. M. Beckett. 2000. "Oxygen Distribution in Wetland Plant Roots and Permeability Barriers to Gas-Exchange with the Rhizosphere: A Microelectrode and Modelling Study with *Phragmites Australis*." *Annals of Botany* 86(3):687–703.
- Azaizeh, H. A., H. Marschner, V. Römhild, and L. Wittenmayer. 1995. "Effects of a Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungus and Other Soil Microorganisms on Growth, Mineral Nutrient Acquisition and Root Exudation of Soil-Grown Maize Plants." *Mycorrhiza* 5(5):321–27.
- Barberon, Marie, Guillaume Dubeaux, Cornelia Kolb, Erika Isono, Enric Zelazny, and Grégory Vert. 2014. "Polarization of IRON-REGULATED TRANSPORTER 1 (IRT1) to the Plant-Soil Interface Plays Crucial Role in Metal Homeostasis." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111(22):8293–98.
- Barberon, Marie, Joop Engelbertus Martinus Vermeer, Damien De Bellis, Peng Wang, Sadaf Naseer, Tonni Grube Andersen, Bruno Martin Humbel, Christiane Nawrath, Junpei

- Takano, David Edward Salt, and Niko Geldner. 2016. "Adaptation of Root Function by Nutrient-Induced Plasticity of Endodermal Differentiation." *Cell* 164(3):447–59.
- Bathoova, M., B. Bokor, M. Soukup, A. Lux, and M. Martinka. 2018. "Silicon-Mediated Cell Wall Modifications of Sorghum Root Exodermis and Suppression of Invasion by Fungus *Alternaria Alternata*." *Plant Pathology* 67(9):1891–1900.
- Battal, Peyami, Musa Turker, and Bekir Tileklioglu. 2003. "Effects of Some Mineral Nutrients on Gibberellic Acid Levels in Maize Plants (*Zea Mays* L.)." *Annales Botanici Fennici* 40(5):301–8.
- Baxter, Ivan, Prashant S. Hosmani, Ana Rus, Brett Lahner, Justin O. Borevitz, Balasubramaniam Muthukumar, Michael V. Mickelbart, Lukas Schreiber, Rochus B. Franke, and David E. Salt. 2009. "Root Suberin Forms an Extracellular Barrier That Affects Water Relations and Mineral Nutrition in *Arabidopsis*." *PLoS Genetics* 5(5):e1000492-1–12.
- Beaton, James D. and G. S. Sekhon. 1985. "Potassium Nutrition of Wheat and Other Small Grains." Pp. 701–52 in *Potassium in Agriculture*. Madison: ASA-CSSA-SSSA.
- Belda-Palazon, Borja, Mary Paz Gonzalez-Garcia, Jorge Lozano-Juste, Alberto Coego, Regina Antoni, Jose Julian, Marta Peirats-Llobet, Lesia Rodriguez, Ana Berbel, Daniela Dietrich, Maria A. Fernandez, Francisco Madueño, Malcolm J. Bennett, and Pedro L. Rodriguez. 2018. "PYL8 Mediates ABA Perception in the Root through Non-Cell-Autonomous and Ligand-Stabilization-Based Mechanisms." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115(50):E11857–63.
- Bennett, Malcolm J., Alan Marchant, Haydn G. Green, Sean T. May, Sally P. Ward, Paul A. Millner, Amanda R. Walker, Burkhard Schulz, and Kenneth A. Feldmann. 1996. "Arabidopsis AUX1 Gene: A Permease-like Regulator of Root Gravitropism." *Science* 273(5277):948–50.
- Bernards, Mark A. 2002. "Demystifying Suberin." *Canadian Journal of Botany* 80(3):227–40.
- Blakeslee, Joshua J., Wendy A. Peer, and Angus S. Murphy. 2005. "Auxin Transport." *Current Opinion in Plant Biology* 8(5):494–500.
- Blascheová, Zuzana. 2016. "Diplomová Práce – Variabilita a Mechanismy Diferenciace Exodermis v Kořenech Rostlin." Karlova univerzita, Praha.
- Boerjan, Wout, John Ralph, and Marie Baucher. 2003. "Lignin Biosynthesis." *Annual Review of Plant Biology* 54(1):519–46.
- Boher, Pau, Olga Serra, Marçal Soler, Marisa Molinas, and Mercè Figueras. 2013. "The Potato Suberin Feruloyl Transferase FHT Which Accumulates in the Phellogen Is Induced by Wounding and Regulated by Absciscic and Salicylic Acids." *Journal of Experimental Botany* 64(11):3225–36.
- Borch, K., T. J. Bouma, J. P. Lynch, and K. M. Brown. 1999. "Ethylene: A Regulator of Root Architectural Responses to Soil Phosphorus Availability." *Plant, Cell and Environment* 22(4):425–31.
- Britto, Dev T. and Herbert J. Kronzucker. 2002. "NH₄⁺ Toxicity in Higher Plants: A Critical Review." *Plant Physiology* 159(6):567–84.

- Brundrett, Mark C., Daryl E. Enstone, and Carol A. Peterson. 1988. "A Berberine-Aniline Blue Fluorescent Staining Procedure for Suberin, Lignin, and Callose in Plant Tissue." *Protoplasma* 146(2):133–42.
- Brundrett, Mark C., Bryce Kendrick, and Carol A. Peterson. 1991. "Efficient Lipid Staining in Plant Material with Sudan Red 7b or Fluoral Yellow 088 in Polyethylene Glycol-Glycerol." *Biotechnic and Histochemistry* 66(3):111–16.
- Camacho-Cristóbal, Juan J., Esperanza M. Martín-Rejano, M. Begoña Herrera-Rodríguez, M. Teresa Navarro-Gochicoa, Jesús Rexach, and Agustín González-Fontes. 2015. "Boron Deficiency Inhibits Root Cell Elongation via an Ethylene/Auxin/ROS-Dependent Pathway in Arabidopsis Seedlings." *Journal of Experimental Botany* 66(13):3831–40.
- Campbell, M. M. and R. R. Sederoff. 1996. "Variation in Lignin Content and Composition (Mechanisms of Control and Implications for the Genetic Improvement of Plants)." *Plant Physiology* 110(1):3–13.
- Carvajal, Micaela, David T. Cooke, and David T. Clarkson. 1996. "Responses of Wheat Plants to Nutrient Deprivation May Involve the Regulation of Water-Channel Function." *Planta* 199(3):372–81.
- Caspary, Rober. 1865. "Bemerkungen Über Die Schutzscheide Und Die Bildung Des Stammes Und Der Wurzel." *Jahrbücher Für Wissenschaftliche Botanik* 4:101–24.
- Clarkson, D. T., A. W. Robards, J. E. Stephens, and M. Stark. 1987. "Suberin Lamellae in the Hypodermis of Maize (*Zea Mays*) Roots; Development and Factors Affecting the Permeability of Hypodermal Layers." *Plant, Cell & Environment* 10(1):83–93.
- Coffey, Orla, Ronan Bonfield, Florine Corre, Jane Althea Sirigiri, Delong Meng, and Wieland Fricke. 2018. "Root and Cell Hydraulic Conductivity, Apoplastic Barriers and Aquaporin Gene Expression in Barley (*Hordeum Vulgare* L.) Grown with Low Supply of Potassium." *Annals of Botany* 122(7):1131–41.
- Colmer, T. D. and A. J. Bloom. 1998. "A Comparison of NH_4^+ and NO_3^- Net Fluxes along Roots of Rice and Maize." *Plant, Cell & Environment* 21(2):240–46.
- Cooper, H. D. and D. T. Clarkson. 1989. "Cycling of Amino-Nitrogen and Other Nutrients between Shoots and Roots in Cereals—A Possible Mechanism Integrating Shoot and Root in the Regulation of Nutrient Uptake." *Journal of Experimental Botany* 40(216):753–62.
- Damus, M., R. Larry Peterson, Daryl E. Enstone, and Carol A. Peterson. 1997. "Modifications of Cortical Cell Walls in Roots of Seedless Vascular Plants." *Botanica Acta* 110(2):190–95.
- De Datta, S. K. and D. S. Mikkelsen. 1985. "Potassium Nutrition of Rice." Pp. 665–99 in *Potassium in Agriculture*. Madison: ASA-CSSA-SSSA.
- Deinlein, Ulrich, Michael Weber, Holger Schmidt, Stefan Rensch, Aleksandra Trampczynska, Thomas H. Hansen, Soren Husted, Jan K. Schjoerring, Ina N. Talke, Ute Krämer, and Stephan Clemens. 2012. "Elevated Nicotianamine Levels in Arabidopsis Halleri Roots Play a Key Role in Zinc Hyperaccumulation." *Plant Cell* 24(2):708–23.
- Djilianov, Dimitar L., Petre I. Dobrev, Daniela P. Moyankova, Radomira Vankova, Dessislava Ts Georgieva, Silvia Gajdošová, and Václav Motyka. 2013. "Dynamics of

- Endogenous Phytohormones during Desiccation and Recovery of the Resurrection Plant Species *Haberlea Rhodopensis*.” *Journal of Plant Growth Regulation* 32(3):564–74.
- Dobrev, Petre I. and Radomira Vankova. 2012. “Quantification of Abscissic Acid, Cytokinin, and Auxin Content in Salt-Stressed Plant Tissues.” Pp. 251–61 in *Plant Salt Tolerance*. Vol. 913. Totowa: Humana Press.
- Dong, Shufu, Lailiang Cheng, Carolyn F. Scagel, and Leslie H. Fuchigami. 2002. “Nitrogen Absorption, Translocation and Distribution from Urea Applied in Autumn to Leaves of Young Potted Apple (*Malus Domestica*) Trees.” *Tree Physiology* 22(18):1305–10.
- Drew, M. C. 1975. “Comparison of the Effect of a Localized Supply of Phosphate, Nitrate, Ammonium and Potassium on the Growth of the Seminal Root System, and the Shoot, in Barley.” *New Phytologist* 75(3):479–90.
- Drew, M. C., Chuan Jiu He, and Page W. Morgan. 2000. “Programmed Cell Death and Aerenchyma Formation in Roots.” *Trends in Ecology and Evolution* 5(3):123–27.
- Duan, Lina, Daniela Dietrich, Chong Han Ng, Penny Mei Yeen Chan, Rishikesh Bhalerao, Malcolm J. Bennett, and José R. Dinneny. 2013. “Endodermal ABA Signaling Promotes Lateral Root Quiescence during Salt Stress in *Arabidopsis* Seedlings.” *Plant Cell* 25(1):324–41.
- Eddings, J. L. and A. L. Brown. 1967. “Absorption and Translocation of Foliar-Applied Iron.” *Plant Physiology* 42(1):15–19.
- Ederli, Luisa, Lara Reale, Francesco Ferranti, and Stefania Pasqualini. 2004. “Responses Induced by High Concentration of Cadmium in *Phragmites Australis* Roots.” *Physiologia Plantarum* 121(1):66–74.
- Efetova, Marina, Jürgen Zeier, Markus Riederer, Chil Woo Lee, Nadja Stingl, Martin Mueller, Wolfram Hartung, Rainer Hedrich, and Rosalia Deeken. 2007. “A Central Role of Abscissic Acid in Drought Stress Protection of *Agrobacterium*-Induced Tumors on *Arabidopsis*.” *Plant Physiology* 145(3):853–62.
- Ejiri, Masato and Katsuhiko Shiono. 2019. “Prevention of Radial Oxygen Loss Is Associated with Exodermal Suberin along Adventitious Roots of Annual Wild Species of *Echinochloa*.” *Frontiers in Plant Science* 10(254):1–13.
- Ejiri, Masato and Katsuhiko Shiono. 2020. “Groups of Multi-Cellular Passage Cells in the Root Exodermis of *Echinochloa* Crus-Galli Varieties Lack Not Only Suberin Lamellae but Also Lignin Deposits.” *Plant Signaling and Behavior* 15(2):1719749-1–5.
- Elliott, George C., Jonathan Lynch, and Andre Lauchli. 1984. “Influx and Efflux of P in Roots of Intact Maize Plants.” *Plant Physiology* 76(2):336–41.
- Enders, Tara A. and Lucia C. Strader. 2015. “Auxin Activity: Past, Present, and Future.” *American Journal of Botany* 102(2):180–96.
- Enstone, Daryl E. and Carol A. Peterson. 1997. “Suberin Deposition and Band Plasmolysis in the Corn (*Zea Mays* L.) Root Exodermis.” *Canadian Journal of Botany* 75(7):1188–99.
- Enstone, Daryl E., Carol A. Peterson, and Fengshan Ma. 2003. “Root Endodermis and Exodermis: Structure, Function, and Responses to the Environment.” *Journal of Plant Growth Regulation* 21(4):335–51.

- Fan, Shu Chun, Choun Sea Lin, Po Kai Hsu, Shan Hua Lin, and Yi Fang Tsay. 2009. "The Arabidopsis Nitrate Transporter NRT1.7, Expressed in Phloem, Is Responsible for Source-to-Sink Remobilization of Nitrate." *Plant Cell* 21(9):2750–61.
- Fang Zhu, Xiao, Xu Sheng Zhao, Qi Wu, and Ren Fang Shen. 2018. "Absciscic Acid Is Involved in Root Cell Wall Phosphorus Remobilization Independent of Nitric Oxide and Ethylene in Rice (*Oryza Sativa*)." *Annals of Botany* 121(7):1361–68.
- Feraru, Elena and Jiří Friml. 2008. "PIN Polar Targeting." *Plant Physiology* 147(4):1553–59.
- Forde, Brian G. and Pia Walch-Liu. 2009. "Nitrate and Glutamate as Environmental Cues for Behavioural Responses in Plant Roots." *Plant, Cell and Environment* 32(6):682–93.
- Geldner, Niko. 2013. "The Endodermis." *Annual Review of Plant Biology* 64:26.1-26.28.
- Geldner, Niko, Jiří Friml, York Dieter Stierhof, Gerd Jürgens, and Klaus Palme. 2001. "Auxin Transport Inhibitors Block PIN1 Cycling and Vesicle Trafficking." *Nature* 413(6854):425–28.
- Gerendás, J., Z. Zhu, and B. Sattelmacher. 1998. "Influence of N and Ni Supply on Nitrogen Metabolism and Urease Activity in Rice (*Oryza Sativa* L.)." *Journal of Experimental Botany* 49(326):1545–54.
- Geßler, Arthur, Stanislav Kopriva, and Heinz Rennenberg. 2004. "Regulation of Nitrate Uptake at the Whole-Tree Level: Interaction between Nitrogen Compounds, Cytokinins and Carbon Metabolism." *Tree Physiology* 24(12):1313–21.
- Giehl, Ricardo F. H. and Nicolaus von Wirén. 2014. "Root Nutrient Foraging." *Plant Physiology* 166(2):509–17.
- Gordon-Weeks, Ruth, Yiping Tong, T. G. Emy. Davies, and Georg Leggewie. 2003. "Restricted Spatial Expression of a High-Affinity Phosphate Transporter in Potato Roots." *Journal of Cell Science* 116(15):3135–44.
- Guo, Dongliang, Jianhua Liang, and Ling Li. 2009. "Absciscic Acid (ABA) Inhibition of Lateral Root Formation Involves Endogenous ABA Biosynthesis in *Arachis Hypogaea* L." *Plant Growth Regulation* 58(2):173–79.
- Haas, David L. and Zane B. Carothers. 1975. "Some Ultrastructural Observations on Endodermal Cell Development in *Zea Mays*." *American Journal of Botany* 62(4):336–48.
- Hachez, Charles, Menachem Moshelion, Enric Zelazny, Damien Cavez, and François Chaumont. 2006. "Localization and Quantification of Plasma Membrane Aquaporin Expression in Maize Primary Root: A Clue to Understanding Their Role as Cellular Plumbers." *Plant Molecular Biology* 62(1–2):305–23.
- Hansen, Hauke and Karl Dörffling. 1999. "Changes of Free and Conjugated Absciscic Acid and Phaseic Acid in Xylem Sap of Drought-Stressed Sunflower Plants." *Journal of Experimental Botany* 50(339):1599–1605.
- Harrison, Michael A. and Daniel C. Walton. 1975. "Absciscic Acid Metabolism in Water-Stressed Bean Leaves." *Plant Physiology* 56(2):250–54.
- Hasanuzzaman, Mirza and Mohsin Tanveer. 2020. *Salt and Drought Stress Tolerance in Plants Signaling Networks and Adaptive*. Cham: Springer Nature Switzerland.

- He, Chuan Jiu, Scott A. Finlayson, Malcolm C. Drew, Wayne R. Jordan, and Page W. Morgan. 1996. "Ethylene Biosynthesis during Aerenchyma Formation in Roots of Maize Subjected to Mechanical Impedance and Hypoxia." *Plant Physiology* 112(4):1679–85.
- He, Chuan Jiu, Page W. Morgan, and Malcolm C. Drew. 1992. "Enhanced Sensitivity to Ethylene in Nitrogen- or Phosphate-Starved Roots of Zea Mays L. during Aerenchyma Formation." *Plant Physiology* 98(1):137–42.
- Hirsch, Rebecca E., Bryan D. Lewis, Edgar P. Spalding, and Michael R. Sussman. 1998. "A Role for the AKT1 Potassium Channel in Plant Nutrition." *Science* 280(5365):918–21.
- Hoagland, D. R. and D. I. Arnon. 1950. "The Water-Culture Method for Growing Plants without Soil." *Circular California*(347).
- von Höhnelt, Franz Ritter. 1878. "Über Den Kork Und Verkorkte Gewebe Überhaupt." *Sitzungsberichte Der Kaiserlichen Akademie Der Wissenschaften Mathematisch-Naturwissenschaftliche Classe* 507–662.
- Hong, Jing Han, Seng Wee Seah, and Jian Xu. 2013. "The Root of ABA Action in Environmental Stress Response." *Plant Cell Reports* 32(7):971–83.
- Hose, E., D. T. Clarkson, E. Steudle, L. Schreiber, and W. Hartung. 2001. "The Exodermis: A Variable Apoplastic Barrier." *Journal of Experimental Botany* 52(365):2245–64.
- Hu, Xiuli, Minghui Lu, Chaohao Li, Tianxue Liu, Wei Wang, Jianyu Wu, Fujun Tai, Xiao Li, and Jie Zhang. 2011. "Differential Expression of Proteins in Maize Roots in Response to Abscissic Acid and Drought." *Acta Physiologiae Plantarum* 33(6):2437–46.
- Huang, Lu, Wai Chin Li, Nora Fung Yee Tam, and Zhihong Ye. 2019. "Effects of Root Morphology and Anatomy on Cadmium Uptake and Translocation in Rice (*Oryza Sativa* L.)." *Journal of Environmental Sciences (China)* 75:296–306.
- Chen, Jing, Shaodong Liu, Siping Zhang, Changwei Ge, Qian Shen, Huijuan Ma, Xiaomeng Zhang, Helin Dong, Xinhua Zhao, and Chaoyou Pang. 2020. "Nitrogen Modulates Cotton Root Morphology by Affecting Abscissic Acid (ABA) and Salicylic Acid (SA) Content." *Archives of Agronomy and Soil Science* 1–17.
- Cheng, Hao, Anifio Inyang, Chang Da Li, Jiao Fei, Yan Wu Zhou, and You Shao Wang. 2020. "Salt Tolerance and Exclusion in the Mangrove Plant *Avicennia Marina* in Relation to Root Apoplastic Barriers." *Ecotoxicology* 29(6):676–83.
- Chiba, Yukako, Namiki Mitani, Naoki Yamaji, and Jian Feng Ma. 2008. "HvLsi1 Is a Silicon Influx Transporter in Barley." *Plant Journal* 57(5):810–18.
- Ivanov Dobrev, Petre and Miroslav Kamínek. 2002. "Fast and Efficient Separation of Cytokinins from Auxin and Abscissic Acid and Their Purification Using Mixed-Mode Solid-Phase Extraction." *Journal of Chromatography A* 950(1–2):21–29.
- Jain, Ajay, Michael D. Poling, Athikkattuvalasu S. Karthikeyan, Joshua J. Blakeslee, Wendy A. Peer, Boosaree Titapiwatanakun, Angus S. Murphy, and Kashchandra G. Raghothama. 2007. "Differential Effects of Sucrose and Auxin on Localized Phosphate Deficiency-Induced Modulation of Different Traits of Root System Architecture in *Arabidopsis*." *Plant Physiology* 144(1):232–47.
- Janoušková, Jana. 2018. "Diplomová Práce – Vliv Diferenciace Exodermis Na Lokalizaci

- Příjmu Živin v Kořeni.” Karlova univerzita, Praha.
- Jung, Ji Yul, Ryoung Shin, and Daniel P. Schachtman. 2009. “Ethylene Mediates Response and Tolerance to Potassium Deprivation in Arabidopsis.” *Plant Cell* 21(2):607–21.
- Kamula, S. A., C. A. Peterson, and C. I. Mayfield. 1994. “The Plasmalemma Surface Area Exposed to the Soil Solution Is Markedly Reduced by Maturation of the Exodermis and Death of the Epidermis in Onion Roots.” *Plant, Cell & Environment* 17(11):1183–93.
- Kanno, Satomi, Jean François Arrighi, Serge Chiarenza, Vincent Bayle, Richard Berthomé, Benjamin Péret, Hélène Javot, Etienne Delannoy, Elena Marin, Tomoko M. Nakanishi, Marie Christine Thibaud, and Laurent Nussaume. 2016. “A Novel Role for the Root Cap in Phosphate Uptake and Homeostasis.” *ELife* 5:e14577-1–16.
- Kieber, Joseph J. 2002. “Cytokinins.” *The Arabidopsis Book, American Society of Plant Biologists* 12:e0063-1–25.
- Kleine-Vehn, Jürgen, Pankaj Dhonukshe, Ranjan Swarup, Malcolm Bennett, and Jiří Friml. 2006. “Subcellular Trafficking of the Arabidopsis Auxin Influx Carrier AUX1 Uses a Novel Pathway Distinct from PIN1.” *Plant Cell* 18(11):3171–81.
- Kochian, Leon V., Jiao Xin-Zhi, and William J. Lucas. 1985. “Potassium Transport in Corn Roots - II. The Significance of the Root Periphery.” *Plant Physiology* 73(2):208–15.
- Koontz, Harold and Orlin Biddulph. 1957. “Factors Affecting Absorption and Translocation of Foliar Applied Phosphorus.” *Plant Physiology* 32(5):463–70.
- Korobova, A. V., L. B. Vysotskaya, A. N. Vasinskaya, B. R. Kuluev, S. Yu Veselov, and G. R. Kudoyarova. 2016. “Dependence of Root Biomass Accumulation on the Content and Metabolism of Cytokinins in Ethylene - Insensitive Plants.” *Russian Journal of Plant Physiology* 63(5):597–603.
- Krouk, Gabriel, Benoît Lacombe, Agnieszka Bielach, Francine Perrine-Walker, Katerina Malinska, Emmanuelle Mounier, Klara Hoyerova, Pascal Tillard, Sarah Leon, Karin Ljung, Eva Zazimalova, Eva Benkova, Philippe Nacry, and Alain Gojon. 2010. “Nitrate-Regulated Auxin Transport by NRT1.1 Defines a Mechanism for Nutrient Sensing in Plants.” *Developmental Cell* 18(6):927–37.
- Kuromori, Takashi, Mitsunori Seo, and Kazuo Shinozaki. 2018. “ABA Transport and Plant Water Stress Responses.” *Trends in Plant Science* 23(6):513–22.
- Lambers, Hans, Richard J. Simpson, Vyrna C. Beilharz, and Michael J. Dalling. 1982. “Growth and Translocation of C and N in Wheat (*Triticum Aestivum*) Grown with a Split Root System.” *Physiologia Plantarum* 56(4):421–29.
- Laštůvka, Z. and J. Minář. 1967. “Metoda Vodních Kultur Vyšších Rostlin.” Univerzita Jana Evangelisty Purkyně, Ústí nad Labem.
- Lauchi, Andre and Emanuel Epstein. 1984. “Mechanism of Salt Tolerance in Plants.” *California Agriculture* 38(10):18–20.
- Lee, Yuree, Maria C. Rubio, Julien Alassimone, and Niko Geldner. 2013. “A Mechanism for Localized Lignin Deposition in the Endodermis.” *Cell* 153(2):402–12.
- Li, Lingyu, Sirui Pan, Rainer Melzer, and Wieland Fricke. 2020. “Apoplastic Barriers, Aquaporin Gene Expression and Root and Cell Hydraulic Conductivity in Phosphate-

- Limited Sheepgrass Plants.” *Physiologia Plantarum* 168(1):118–32.
- Liebhardt, William C. and John T. Murdock. 1965. “Effect of Potassium on Morphology and Lodging of Corn.” *Agronomy Journal* 57(4):325–28.
- Lima, Joni E., Soichi Kojima, Hideki Takahashi, and Nicolaus von Wirén. 2010. “Ammonium Triggers Lateral Root Branching in Arabidopsis in an AMMONIUM TRANSPORTER1;3-Dependent Manner.” *Plant Cell* 22(11):3621–33.
- Líška, Denis, Michal Martinka, Jana Kohanová, and Alexander Lux. 2016. “Asymmetrical Development of Root Endodermis and Exodermis in Reaction to Abiotic Stresses.” *Annals of Botany* 118(4):667–74.
- Liu, Chunming, Umesh S. Muchhal, Mukatira Uthappa, Andrzej K. Kononowicz, and Kaschandra G. Raghothama. 1998. “Tomato Phosphate Transporter Genes Are Differentially Regulated in Plant Tissues by Phosphorus.” *Plant Physiology* 116(1):91–99.
- Liu, Jinxin, Lili Han, Fanjun Chen, Juan Bao, Fusuo Zhang, and Guohua Mi. 2008. “Microarray Analysis Reveals Early Responsive Genes Possibly Involved in Localized Nitrate Stimulation of Lateral Root Development in Maize (*Zea Mays* L.).” *Plant Science* 175(3):272–82.
- Liu, Kai, Ling Long Liu, Yu Long Ren, Zhi Quan Wang, Kun Neng Zhou, Xi Liu, Dan Wang, Ming Zheng, Zhi Jun Cheng, Qi Bing Lin, Jiu Lin Wang, Fu Qing Wu, Xin Zhang, Xiu Ping Guo, Chun Ming Wang, Hu Qu Zhai, Ling Jiang, and Jian Min Wan. 2015. “Dwarf and Tiller-Enhancing 1 Regulates Growth and Development by Influencing Boron Uptake in Boron Limited Conditions in Rice.” *Plant Science* 236(3):18–28.
- Liu, Kun Hsiang and Yi Fang Tsay. 2003. “Switching between the Two Action Modes of the Dual-Affinity Nitrate Transporter CHL1 by Phosphorylation.” *EMBO Journal* 22(5):1005–13.
- Liu, Yuankun, Qi Tao, Xinyu Guo, Jipeng Luo, Jinxing Li, Yongchao Liang, and Tingqiang Li. 2020. “Low Calcium-Induced Delay in Development of Root Apoplastic Barriers Enhances Cd Uptake and Accumulation in *Sedum Alfredii*.” *Science of the Total Environment* 723:137810-1–10.
- Liu, Yuankun, Qi Tao, Jinxing Li, Xinyu Guo, Jipeng Luo, Radek Jupa, Yongchao Liang, and Tingqiang Li. 2021. “Ethylene-Mediated Apoplastic Barriers Development Involved in Cadmium Accumulation in Root of Hyperaccumulator *Sedum Alfredii*.” *Journal of Hazardous Materials* 403:123729-1–10.
- López-Bucio, José, Alfredo Cruz-Ramírez, and Luis Herrera-Estrella. 2003. “The Role of Nutrient Availability in Regulating Root Architecture.” *Current Opinion in Plant Biology* 6(3):280–87.
- Lux, Alexander, Michal Martinka, Marek Vaculík, and Philip J. White. 2011. “Root Responses to Cadmium in the Rhizosphere: A Review.” *Journal of Experimental Botany* 62(1):21–37.
- Ma, Jian Feng. 2004. “Role of Silicon in Enhancing the Resistance of Plants to Biotic and Abiotic Stresses.” *Soil Science and Plant Nutrition* 50(1):11–18.
- Ma, Jian Feng, Kazunori Tamai, Naoki Yamaji, Namiki Mitani, Saeko Konishi, Maki

- Katsuhara, Masaji Ishiguro, Yoshiko Murata, and Masahiro Yano. 2006. "A Silicon Transporter in Rice." *Nature* 440(7084):688–91.
- Ma, Jian Feng and Naoki Yamaji. 2015. "A Cooperative System of Silicon Transport in Plants." *Trends in Plant Science* 20(7):435–42.
- Ma, Yanlin, Jing Cao, Jiahua He, Qiaoqiao Chen, Xufeng Li, and Yi Yang. 2018. "Molecular Mechanism for the Regulation of ABA Homeostasis during Plant Development and Stress Responses." *International Journal of Molecular Sciences* 19(11):3643–1–14.
- Maillard, Anne, Sylvain Diquélou, Vincent Billard, Philippe Lâiné, Maria Garnica, Marion Prudent, José Maria Garcia-Mina, Jean Claude Yvin, and Alain Ourry. 2015. "Leaf Mineral Nutrient Remobilization during Leaf Senescence and Modulation by Nutrient Deficiency." *Frontiers in Plant Science* 6:317–1–15.
- Marschner, H. 2011. *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press.
- Marschner, H., E. A. Kirkby, and I. Cakmak. 1996. "Effect of Mineral Nutritional Status on Shoot-Root Partitioning of Photoassimilates and Cycling of Mineral Nutrients." *Journal of Experimental Botany* 47:1255–63.
- Martín-Rejano, Esperanza M., Juan J. Camacho-Cristóbal, María Begoña Herrera-Rodríguez, Jesús Rexach, María Teresa Navarro-Gochicoa, and Agustín González-Fontes. 2011. "Auxin and Ethylene Are Involved in the Responses of Root System Architecture to Low Boron Supply in Arabidopsis Seedlings." *Physiologia Plantarum* 142(2):170–78.
- Maruyama-Nakashita, Akiko, Yumiko Nakamura, Tomoyuki Yamaya, and Hideki Takahashi. 2004. "A Novel Regulatory Pathway of Sulfate Uptake in Arabidopsis Roots: Implication of CRE1/WOL/AHK4-Mediated Cytokinin-Dependent Regulation." *Plant Journal* 38(5):779–89.
- Marzec, Marek, Aleksandra Muszynska, and Damian Gruszka. 2013. "The Role of Strigolactones in Nutrient-Stress Responses in Plants." *International Journal of Molecular Sciences* 14(5):9286–9304.
- Meyer, Chris J., Carol A. Peterson, and Ernst Steudle. 2011. "Permeability of Iris Germanica's Multiseriate Exodermis to Water, NaCl, and Ethanol." *Journal of Experimental Botany* 62(6):1911–26.
- Meyer, Chris J., James L. Seago, and Carol A. Peterson. 2009. "Environmental Effects on the Maturation of the Endodermis and Multiseriate Exodermis of Iris Germanica Roots." *Annals of Botany* 103(5):687–702.
- Misson, Julie, Marie Christine Thibaud, Nicole Bechtold, Kashchandra Raghothama, and Laurent Nussaume. 2004. "Transcriptional Regulation and Functional Properties of Arabidopsis Pht1;4, a High Affinity Transporter Contributing Greatly to Phosphate Uptake in Phosphate Deprived Plants." *Plant Molecular Biology* 55(5):727–41.
- Mitani, Namiki, Naoki Yamaji, and Jian Feng Ma. 2009. "Identification of Maize Silicon Influx Transporters." *Plant and Cell Physiology* 50(1):5–12.
- Mitsukawa, Norihiro, Satoru Okumura, Yumiko Shirano, Shigeru Sato, Tomohiko Kato, Satoshi Harashima, and Daisuke Shibata. 1997. "Overexpression of an Arabidopsis Thaliana High-Affinity Phosphate Transporter Gene in Tobacco Cultured Cells Enhances Cell Growth under Phosphate-Limited Conditions." *Proceedings of the National*

Academy of Sciences of the United States of America 94(13):7098–7102.

- Miyawaki, Kaori, Miho Matsumoto-Kitano, and Tatsuo Kakimoto. 2004. “Expression of Cytokinin Biosynthetic Isopentenyltransferase Genes in Arabidopsis: Tissue Specificity and Regulation by Auxin, Cytokinin, and Nitrate.” *Plant Journal* 37(1):128–38.
- Mounier, Emmanuelle, Marjorie Pervent, Karin Ljung, Alain Gojon, and Philippe Nacry. 2014. “Auxin-Mediated Nitrate Signalling by NRT1.1 Participates in the Adaptive Response of Arabidopsis Root Architecture to the Spatial Heterogeneity of Nitrate Availability.” *Plant, Cell and Environment* 37(1):162–74.
- Munns, Rana and Rod W. King. 1988. “Abscisic Acid Is Not the Only Stomatal Inhibitor in the Transpiration Stream of Wheat Plants.” *Plant Physiology* 88(3):703–8.
- Murrel, T. S. 2010. “Visual Indicators of Potassium Deficiency in Corn.” *Better Crops* 94(1):14–15.
- Nam, Youn Jeong, Lam Son Phan Tran, Mikiko Kojima, Hitoshi Sakakibara, Rie Nishiyama, and Ryoung Shin. 2012. “Regulatory Roles of Cytokinins and Cytokinin Signaling in Response to Potassium Deficiency in Arabidopsis.” *PLoS ONE* 7(10):e47797-1–10.
- Namyslov, Jiří. 2018. “Diplomová Práce - Diferenciace Exodermis v Podmínkách Nedostatku Živin, Vliv Fytohormonů.” Karlova univerzita, Praha.
- Namyslov, Jiří, Zuzana Bauriedlová, Jana Janoušková, Aleš Soukup, and Edit Tylová. 2020. “Exodermis and Endodermis Respond to Nutrient Deficiency in Nutrient-Specific and Localized Manner.” *Plants* 9(2):201-1–16.
- Naseer, S., Y. Lee, C. Lapierre, R. Franke, C. Nawrath, and N. Geldner. 2012. “Casparian Strip Diffusion Barrier in Arabidopsis Is Made of a Lignin Polymer without Suberin.” *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109(25):10101–6.
- Nibau, C., D. J. Gibbs, and J. C. Coates. 2008. “Branching out in New Directions: The Control of Root Architecture by Lateral Root Formation.” *New Phytologist* 179(3):595–614.
- North, Gretchen B. and Park S. Nobel. 1991. “Changes in Hydraulic Conductivity and Anatomy Caused by Drying and Rewetting Roots of Agave Deserti (Agavaceae).” *American Journal of Botany* 78(7):906–15.
- Olesen, P. 1978. “Studies on the Physiological Sheaths in Roots – I. Ultrastructure of the Exodermis in Hoya Carnosa L.” *Protoplasma* 94(3):325–40.
- Ostrowski, Maciej, Anna Ciarkowska, and Anna Jakubowska. 2016. “The Auxin Conjugate Indole-3-Acetyl-Aspartate Affects Responses to Cadmium and Salt Stress in Pisum Sativum L.” *Journal of Plant Physiology* 191:63–72.
- Overvoorde, Paul, Hidehiro Fukaki, and Tom Beeckman. 2010. “Auxin Control of Root Development.” *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 2(6):001537-1–17.
- Parida, Asish Kumar and Anath Bandhu Das. 2005. “Salt Tolerance and Salinity Effects on Plants: A Review.” *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60(3):324–49.
- Pecková, E., E. Tylová, and A. Soukup. 2016. “Tracing Root Permeability: Comparison of Tracer Methods.” *Biologia Plantarum* 60(4):695–705.

- Pedersen, Ole, Pierdomenico Perata, and Laurentius A. C. J. Voesenek. 2017. "Flooding and Low Oxygen Responses in Plants." *Functional Plant Biology* 44(9):3–6.
- Pedersen, Ole, Margret Sauter, Timothy David Colmer, and Mikio Nakazono. 2020. "Regulation of Root Adaptive Anatomical and Morphological Traits during Low Soil Oxygen." *New Phytologist* 229(1):42–49.
- Pérez-Torres, Claudia Anahí, José López-Bucio, Alfredo Cruz-Ramírez, Enrique Ibarra-Laclette, Sunethra Dharmasiri, Mark Estelle, and Luis Herrera-Estrella. 2008. "Phosphate Availability Alters Lateral Root Development in Arabidopsis by Modulating Auxin Sensitivity via a Mechanism Involving the TIR1 Auxin Receptor." *Plant Cell* 20(12):3258–72.
- Perumalla, Christopher J., Carol A. Peterson, and Daryl E. Enstone. 1990. "A Survey of Angiosperm Species to Detect Hypodermal Casparian Bands – I. Roots with a Uniseriate Hypodermis and Epidermis." *Botanical Journal of the Linnean Society* 103(2):93–112.
- Peterson, Carol A. and Daryl E. Enstone. 1996. "Functions of Passage Cells in the Endodermis and Exodermis of Roots." *Physiologia Plantarum* 97(3):592–98.
- Peterson, Carol A., Martina Murrmann, and Ernst Steudle. 1993. "Location of the Major Barriers to Water and Ion Movement in Young Roots of Zea Mays L." *Planta* 190(1):127–36.
- Petrášek, Jan, Jozef Mravec, Rodolphe Bouchard, Joshua J. Blakeslee, Melinda Abas, Daniela Seifertová, Justyna Wiśniewska, Zerihun Tadele, Martin Kubeš, Milada Čovanová, Pankaj Dhonukshe, Petr Skůpa, Eva Benková, Lucie Perry, Pavel Křeček, Ok Ran Lee, Gerald R. Fink, Markus Geisler, Angus S. Murphy, Christian Luschnig, Eva Zažímalová, and Jiří Friml. 2006. "PIN Proteins Perform a Rate-Limiting Function in Cellular Auxin Efflux." *Science* 312(5775):914–18.
- Peuke, Andreas D., Johanna Glaab, Werner M. Kaiser, and W. Dieter Jeschke. 1996. "The Uptake and Flow of C, N and Ions between Roots and Shoots in Ricinus Communis L. – IV. Flow and Metabolism of Inorganic Nitrogen and Malate Depending on Nitrogen Nutrition and Salt Treatment." *Journal of Experimental Botany* 47(296):377–85.
- Peuke, Andreas D. and W. Dieter Jeschke. 1993. "The Uptake and Flow of C, N and Ions between Roots and Shoots in Ricinus Communis L. – I. Grown with Ammonium or Nitrate as Nitrogen Source." *Journal of Experimental Botany* 44(264):1167–76.
- Postma, Johannes Auke and Jonathan Paul Lynch. 2011. "Root Cortical Aerenchyma Enhances the Growth of Maize on Soils with Suboptimal Availability of Nitrogen, Phosphorus, and Potassium." *Plant Physiology* 156(3):1190–1201.
- Pozuelo, José M., Karl E. Espelie, and P. E. Kolattukudy. 1984. "Magnesium Deficiency Results in Increased Suberization in Endodermis and Hypodermis of Corn Roots." *Plant Physiology* 74(2):256–60.
- Prerostova, Sylva, Petre I. Dobrev, Barbara Kramna, Alena Gaudinova, Vojtech Knirsch, Lukas Spichal, Marek Zatloukal, and Radomira Vankova. 2020. "Heat Acclimation and Inhibition of Cytokinin Degradation Positively Affect Heat Stress Tolerance of Arabidopsis." *Frontiers in Plant Science* 11:87–1–14.
- Prerostova, Sylva, Barbara Kramna, Petre I. Dobrev, Alena Gaudinova, Petr Marsik, Roman Fiala, Vojtech Knirsch, Tomas Vanek, Gabriela Kuresova, and Radomira Vankova.

2018. “Organ-Specific Hormonal Cross-Talk in Phosphate Deficiency.” *Environmental and Experimental Botany* 153:198–208.
- Qin, Ya-juan, Wei-hua Wu, and Yi Wang. 2019. “ZmHAK5 and ZmHAK1 Function in K⁺ Uptake and Distribution in Maize under Low K⁺ Conditions.” *Journal of Integrative Plant Biology* 61(6):691–705.
- Radin, John W. and Mark A. Matthews. 1989. “Water Transport Properties of Cortical Cells in Roots of Nitrogen- and Phosphorus-Deficient Cotton Seedlings.” *Plant Physiology* 89(1):264–68.
- Raimanová, Ivana. 2009. “Doktorská Disertační Práce – Příjem a Využití Různých forem Dusíku u Rostlin Pšenice.” Univerzita Karlova, Praha.
- Ramireddy, Eswarayya, Ling Chang, and Thomas Schmülling. 2014. “Cytokinin as a Mediator for Regulating Root System Architecture in Response to Environmental Cues.” *Plant Signaling and Behavior* 9(1):e27771-1–5.
- Ranathunge, Kosala, Yangmin X. Kim, Friedrich Wassmann, Tino Kreszies, Viktoria Zeisler, and Lukas Schreiber. 2017. “The Composite Water and Solute Transport of Barley (*Hordeum Vulgare*) Roots: Effect of Suberized Barriers.” *Annals of Botany* 119(4):629–43.
- Redjala, Tanegmart, Ivan Zelko, Thibault Sterckeman, Valérie Legué, and Alexander Lux. 2011. “Relationship between Root Structure and Root Cadmium Uptake in Maize.” *Environmental and Experimental Botany* 71(2):241–48.
- Reinhardt, D. H. and T. L. Rost. 1995. “Salinity Accelerates Endodermal Development and Induces an Exodermis in Cotton Seedling Roots.” *Environmental and Experimental Botany* 35(4):563–74.
- Robert, Hélène S. and Jiří Friml. 2009. “Auxin and Other Signals on the Move in Plants.” *Nature Chemical Biology* 5(5):325–32.
- Roppolo, Daniele, Bert De Rybel, Valérie Dénervaud Tendon, Alexandre Pfister, Julien Alassimone, Joop E. M. Vermeer, Misako Yamazaki, York Dieter Stierhof, Tom Beeckman, and Niko Geldner. 2011. “A Novel Protein Family Mediates Casparian Strip Formation in the Endodermis.” *Nature* 473(7347):380–84.
- Rubio, Francisco, Mario Fon, Reyes Ródenas, Manuel Nieves-Cordones, Fernando Alemán, Rosa M. Rivero, and Vicente Martínez. 2014. “A Low K⁺ Signal Is Required for Functional High-Affinity K⁺ Uptake through HAK5 Transporters.” *Physiologia Plantarum* 152(3):558–70.
- Saengwilai, Patompong, Eric A. Nord, Joseph G. Chimungu, Kathleen M. Brown, and Jonathan Paul Lynch. 2014. “Root Cortical Aerenchyma Enhances Nitrogen Acquisition from Low-Nitrogen Soils in Maize.” *Plant Physiology* 166(2):726–35.
- Sakakibara, Hitoshi. 2006. “Cytokinins: Activity, Biosynthesis, and Translocation.” *Annual Review of Plant Biology* 57:431–49.
- Santi, Simonetta and Wolfgang Schmidt. 2009. “Dissecting Iron Deficiency-Induced Proton Extrusion in Arabidopsis Roots.” *New Phytologist* 183(4):1072–84.
- Sasaki, Akimasa, Naoki Yamaji, Kengo Yokosho, and Jian Feng Ma. 2012. “Nramp5 Is a

- Major Transporter Responsible for Manganese and Cadmium Uptake in Rice.” *Plant Cell* 24(5):2155–67.
- Schachtman, Daniel P. 2015. “The Role of Ethylene in Plant Responses to K⁺ Deficiency.” *Frontiers in Plant Science* 6:1153–1–4.
- Schraut, Daniela, Hermann Heilmeyer, and Wolfram Hartung. 2005. “Radial Transport of Water and Abscissic Acid (ABA) in Roots of Zea Mays under Conditions of Nutrient Deficiency.” *Journal of Experimental Botany* 56(413):879–86.
- Schreiber, Lukas. 2005. “Polar Paths of Diffusion across Plant Cuticles: New Evidence for an Old Hypothesis.” *Annals of Botany* 95(7):1069–73.
- Schreiber, Lukas, Rochus Franke, and Klaus Hartmann. 2005. “Effects of NO₃ deficiency and NaCl Stress on Suberin Deposition in Rhizo- and Hypodermal (RHCW) and Endodermal Cell Walls (ECW) of Castor Bean (*Ricinus Communis* L.) Roots.” *Plant and Soil* 269(1):333–39.
- Seago, James L., Carol A. Peterson, and Daryl E. Enstone. 2000. “Cortical Development in Roots of the Aquatic Plant *Pontederia Cordata* (Pontederiaceae).” *American Journal of Botany* 87(8):1116–27.
- Séguéla, Mathilde, Jean François Briat, Grégory Vert, and Catherine Curie. 2008. “Cytokinins Negatively Regulate the Root Iron Uptake Machinery in Arabidopsis through a Growth-Dependent Pathway.” *Plant Journal* 55(2):289–300.
- Sharda, J. N. and R. T. Koide. 2008. “Can Hypodermal Passage Cell Distribution Limit Root Penetration by Mycorrhizal Fungi?” *New Phytologist* 180(3):696–701.
- Shen, J., H. Li, G. Neumann, and F. Zhang. 2005. “Nutrient Uptake, Cluster Root Formation and Exudation of Protons and Citrate in *Lupinus Albus* as Affected by Localized Supply of Phosphorus in a Split-Root System.” *Plant Science* 168(3):837–45.
- Shin, Ryoung and Daniel P. Schachtman. 2004. “Hydrogen Peroxide Mediates Plant Root Cell Response to Nutrient Deprivation.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101(23):8827–32.
- Simpson, Richard J., Hans Lambers, and Michael J. Dalling. 1983. “Nitrogen Redistribution during Grain Growth in Wheat (*Triticum Aestivum* L.).” *Plant Physiology* 71(1):7–14.
- Siqueira-Silva, Advanio Inácio, Camilla Oliveira Rios, and Eduardo Gusmão Pereira. 2019. “Iron Toxicity Resistance Strategies in Tropical Grasses: The Role of Apoplastic Radicular Barriers.” *Journal of Environmental Sciences (China)* 78:257–66.
- Song, Wenjing, Shangjun Liu, Lin Meng, Ren Xue, Chengdong Wang, Guangliang Liu, Caixia Dong, Shusheng Wang, Jianxin Dong, and Yali Zhang. 2015. “Potassium Deficiency Inhibits Lateral Root Development in Tobacco Seedlings by Changing Auxin Distribution.” *Plant and Soil* 396(1–2):163–73.
- Soukup, Aleš. 2014. “Selected Simple Methods of Plant Cell Wall Histochemistry and Staining for Light Microscopy.” Pp. 25–40 in *Plant cell morphogenesis*. Humana Press.
- Soukup, Aleš, William Armstrong, Lukas Schreiber, Rochus Franke, and Olga Votrubová. 2007. “Apoplastic Barriers to Radial Oxygen Loss and Solute Penetration: A Chemical and Functional Comparison of the Exodermis of Two Wetland Species, *Phragmites*

- Australis and *Glyceria Maxima*.” *New Phytologist* 173(2):264–78.
- Soukup, Aleš, James L. Seago, and Olga Votrubová. 2005. “Developmental Anatomy of the Root Cortex of the Basal Monocotyledon, *Acorus Calamus* (Acorales, Acoraceae).” *Annals of Botany* 96(3):379–85.
- Soukup, Aleš, Olga Votrubová, and Hana Čížková. 2002. “Development of Anatomical Structure of Roots of *Phragmites Australis*.” *New Phytologist* 153(2):277–87.
- Stasovski, Elida and Carol A. Peterson. 1993. “Effects of Drought and Subsequent Rehydration on the Structure, Vitality, and Permeability of *Allium Cepa* Adventitious Roots.” *Canadian Journal of Botany* 71(5):700–707.
- Steudle, Ernst and Carol A. Peterson. 1998. “How Does Water Get through Roots?” *Journal of Experimental Botany* 49(322):775–88.
- Taiz, Lincoln, Eduardo Zeiger, and Robert H. Moll. 2018. *Plant Physiology and Development*. Sinauer Associates Is an Imprint of Oxford.
- Takahashi, Hideki, Akiko Watanabe-Takahashi, Frank W. Smith, Mechteld Blake-Kalff, Malcolm J. Hawkesford, and Kazuki Saito. 2000. “The Roles of Three Functional Sulphate Transporters Involved in Uptake and Translocation of Sulphate in *Arabidopsis Thaliana*.” *Plant Journal* 23(2):171–82.
- Taleisnik, E., G. Peyrano, A. Córdoba, and C. Arias. 1999. “Water Retention Capacity in Root Segments Differing in the Degree of Exodermis Development.” *Annals of Botany* 83(1):19–27.
- Tanaka, Mayuki, Ian S. Wallace, Junpei Takano, Daniel M. Roberts, and Toru Fujiwara. 2008. “NIP6;1 Is a Boric Acid Channel for Preferential Transport of Boron to Growing Shoot Tissues in *Arabidopsis*.” *Plant Cell* 20(10):2860–75.
- Teplova, I., S. Veselov, and G. R. Kudoyarova. 1998. “Changes in ABA and IAA Content in the Roots and Shoots of Wheat Seedlings under Nitrogen Deficiency.” Pp. 599–605 in *Root Demographics and Their Efficiencies in Sustainable Agriculture, Grasslands and Forest Ecosystems*. Dordrecht: Springer.
- Teyker, Robert H., William A. Jackson, Richard J. Volk, and Robert H. Moll. 1988. “Exogenous ¹⁵NO⁻ Influx and Endogenous ¹⁴NO⁻ Efflux by Two Maize (*Zea Mays* L.) Inbreds during Nitrogen Deprivation.” *Plant Physiology* 86(3):778–81.
- Tuteja, Narendra. 2007. “Abscisic Acid and Abiotic Stress Signaling.” *Plant Signaling and Behavior* 2(3):135–38.
- Uchida, Ryusei. 2000. “Essential Nutrients for Plant Growth: Nutrient Functions and Deficiency Symptoms.” Pp. 31–55 in *Plant nutrient management in Hawaii's soils*. University of Hawaii.
- Umehara, Mikiyoshi. 2011. “Strigolactone, a Key Regulator of Nutrient Allocation in Plants.” *Plant Biotechnology* 28(5):429–37.
- Valentinuzzi, Fabio, Youry Pii, Porfido Carlo, Terzano Roberto, Maria Chiara Fontanella, Gian Maria Beone, Stefania Astolfi, Tanja Mimmo, and Stefano Cesco. 2020. “Root-Shoot-Root Fe Translocation in Cucumber Plants Grown in a Heterogeneous Fe Provision.” *Plant Science* 293:110431-1–9.

- Vishal, Bhushan, Pannaga Krishnamurthy, Rengasamy Ramamoorthy, and Prakash P. Kumar. 2019. "OsTPS8 Controls Yield-Related Traits and Confers Salt Stress Tolerance in Rice by Enhancing Suberin Deposition." *New Phytologist* 221(3):1369–86.
- Vysotskaya, Lidiya, Guzel Akhiyarova, Arina Feoktistova, Zarina Akhtyamova, Alla Korobova, Igor Ivanov, Ian Dodd, Bulat Kuluev, and Guzel Kudoyarova. 2020. "Effects of Phosphate Shortage on Root Growth and Hormone Content of Barley Depend on Capacity of the Roots to Accumulate ABA." *Plants* 9(12):1722–1–17.
- Walker, R. R., M. Sedgley, M. A. Blesing, and T. J. Douglas. 1984. "Anatomy, Ultrastructure and Assimilate Concentrations of Roots of Citrus Genotypes Differing in Ability for Salt Exclusion." *Journal of Experimental Botany* 35(159):1481–94.
- Wang, Chunhua, Hong Wang, Pengxue Li, Haiyang Li, Chunmiao Xu, Hagai Cohen, Asaph Aharoni, and Shuang Wu. 2020. "Developmental Programs Interact with Abscissic Acid to Coordinate Root Suberization in Arabidopsis." *Plant Journal* 104(1):241–51.
- Wang, Yi and Wei Hua Wu. 2013. "Potassium Transport and Signaling in Higher Plants." *Annual Review of Plant Biology* 64:451–76.
- Wang, Zhigang, Naoki Yamaji, Sheng Huang, Xiang Zhang, Mingxing Shi, Shan Fu, Guangzhe Yang, Jian Feng Ma, and Jixing Xia. 2019. "OsCASPI Is Required for Casparian Strip Formation at Endodermal Cells of Rice Roots for Selective Uptake of Mineral Elements." *Plant Cell* 31(11):2636–48.
- Welch, L. F. and Roy L. Flannery. 1985. "Potassium Nutrition of Corn." Pp. 647–64 in *Potassium in Agriculture*. Madison: ASA-CSSA-SSSA.
- Wendler, R., P. O. Carvalho, J. S. Pereira, and P. Millard. 1995. "Role of Nitrogen Remobilization from Old Leaves for New Leaf Growth of Eucalyptus Globulus Seedlings." *Tree Physiology* 15(10):679–83.
- Werner, Tomáš and Thomas Schmülling. 2009. "Cytokinin Action in Plant Development." *Current Opinion in Plant Biology* 12(5):527–38.
- Whetten, Ross and Ron Sederoff. 1995. "Lignin Biosynthesis." *The Plant Cell* 7(7):1001–13.
- White, Philip J. 1997. "The Regulation of K⁺ Influx into Roots of Rye (*Secale Cereale* L.) Seedlings by Negative Feedback via the K⁺ Flux from Shoot to Root in the Phloem." *Journal of Experimental Botany* 48(317):2063–73.
- Woolfson, Kathlyn N., Meghan L. Haggitt, Yanni Zhang, Alexandra Kachura, Anica Bjelica, M. Alejandra Rey Rincon, Karina M. Kaberi, and Mark A. Bernards. 2018. "Differential Induction of Polar and Non-Polar Metabolism during Wound-Induced Suberization in Potato (*Solanum Tuberosum* L.) Tubers." *Plant Journal* 93(5):931–42.
- Yamaji, Naoki and Feng Ma Jian. 2007. "Spatial Distribution and Temporal Variation of the Rice Silicon Transporter Lsi1." *Plant Physiology* 143(3):1306–13.
- Yoshimoto, Naoko, Eri Inoue, Akiko Watanabe-Takahashi, Kazuki Saito, and Hideki Takahashi. 2007. "Posttranscriptional Regulation of High-Affinity Sulfate Transporters in Arabidopsis by Sulfur Nutrition." *Plant Physiology* 145(2):378–88.
- Zeier, Jürgen, Katia Ruel, Ulrich Ryser, and Lukas Schreiber. 1999. "Chemical Analysis and Immunolocalisation of Lignin and Suberin in Endodermal and Hypodermal/Rhizodermal

- Cell Walls of Developing Maize (*Zea Mays* L.) Primary Roots.” *Planta* 209(1):1–12.
- Zeier, Jürgen and Lukas Schreiber. 1998. “Comparative Investigation of Primary and Tertiary Endodermal Cell Walls Isolated from the Roots of Five Monocotyledoneous Species: Chemical Composition in Relation to Fine Structure.” *Planta* 206(3):349–61.
- Zhang, Chi, Laura Myrtilá Faní Stratópoulos, Chao Xu, Hans Pretzsch, and Thomas Rötzer. 2020. “Article Development of Fine Root Biomass of Two Contrasting Urban Tree Cultivars in Response to Drought Stress.” *Forests* 11(1):108–1–14.
- Zhang, Xinrui, Baomei Wang, Yajie Zhao, Juren Zhang, and Zhaoxia Li. 2019. “Auxin and GA Signaling Play Important Roles in the Maize Response to Phosphate Deficiency.” *Plant Science* 283:177–88.
- Zhao, Qiao. 2016. “Lignification: Flexibility, Biosynthesis and Regulation.” *Trends in Plant Science* 21(8):713–21.
- Zhou, Rong, Adrian J. Cutler, Stephen J. Ambrose, Marek M. Galka, Ken M. Nelson, Timothy M. Squires, Mary K. Loewen, Ashok S. Jadhav, Andrew R. S. Ross, David C. Taylor, and Suzanne R. Abrams. 2004. “A New Abscissic Acid Catabolic Pathway.” *Plant Physiology* 134(1):361–69.
- Zimmermann, Hilde Monika and Ernst Steudle. 1998. “Apoplastic Transport across Young Maize Roots: Effect of the Exodermis.” *Planta* 206(1):7–19.