

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Experimentální biologie rostlin



Bc. Renáta Klvaňová

Variabilita reakce exodermis na nedostatek živin v prostředí

Variability in the response of exodermis to nutrient deficiencies in the
environment

Diplomová práce

Školitel: RNDr. Edita Tylová, Ph.D.

Konzultanti: RNDr. Aleš Soukup, Ph.D., Mgr. Ondřej Gargoš

Praha, 2023

Prohlášení

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

Poděkování

Tímto bych chtěla moc poděkovat vedoucí mé diplomové práce RNDr. Editě Tylové za provedení studiem a zpracováním diplomové práce. Chtěla bych jí hlavně poděkovat za velké množství rad, které mi udělila, ale také za obrovskou trpělivost jak při realizaci experimentů, tak následně při zpracování této práce. Vždy mi věnovala svůj čas a pomohla mi i ve složitějších chvílích studia. Dále bych chtěla také poděkovat Ing. Yvettě Šefrnové, která mi často při experimentech v laboratoři pomáhala, poradila mi a také mě bavila nespočtem svých životních historek. Tím mi vždy zpříjemnila práci v laboratoři. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat Mgr. Ondřejovi Gargošovi, který mi během práce radil a pomáhal s experimenty, povzbuzoval mě a také konzultoval celou tuto práci.

Nesmím zapomenout poděkovat mé rodině, která mě ve studiu také vždy podporovala, zajistila mi zázemí a trpěla všechny mé špatné nálady. Děkuji také mým přátelům a známým, kteří se mě snažili v těžších chvílích povzbudit, podpořit a odvést myšlenky jiným směrem.

Abstrakt

Růst a vývoj rostlin je z velké míry vázán na půdní prostředí, které je zdrojem minerálních látek a vody potřebné pro přežití rostlin. Dostupnost těchto zdrojů v půdě je však velice heterogenní a důležité prvky mohou být vyplavovány do spodních částí půdy nebo vázány na půdních částicích. U rostlin se proto v průběhu evoluce vytvořila řada adaptací zvyšující efektivitu kořenového systému. Jedním z těchto aspektů jsou i apoplastické bariéry (endodermis a exodermis). Obě tyto vrstvy ovlivňují transport látek z a do kořene, čímž omezují neregulovaný apoplastický transport díky modifikacím buněčných stěn, kde jsou uloženy polymery omezujících transport látek. Jedná se o Casparyho proužky a suberinové lamely. Ty se často diferencují rychleji v případě, že rostliny čelí nějakému stresovému faktoru, například suchu, salinitě nebo toxicitě. Rychlost diferenciace ovlivňuje ale i nedostatek živin (např. N, P, K a Fe). Vlivem deficiencie může docházet ke zrychlení i zpomalení diferenciace, což zřejmě napomáhá optimalizovat transportní vlastnosti kořene podle aktuálních podmínek. Tato reakce je zatím ale méně prozkoumána.

Tato práce je proto zaměřena na analýzu reakce exodermis (i endodermis) na nedostatek živin v prostředí, s hlavním důrazem na variabilitu této reakce napříč různými druhy jednoděložných i dvouděložných rostlin, ale i na variabilitu vnitrodruhovou (mezi kultivary jednoho druhu rostliny). Menší část práce byla věnována také lokalizované odpovědi bariér na lokální nedostatek dusíku (v dělené kultivaci) u rostlin *Helianthus annuus*. Závěrečným experimentem byla pak analýza rychlosti suberinizace endodermis *Arabidopsis thaliana* v závislosti na deficienci živin v médiu, protože se jedná o významnou modelovou rostlinu, což poskytuje výhodu pro další experimenty v budoucnu. Hlavním výsledkem práce je závěr, že různé druhy rostlin reagují na deficienci v některých aspektech podobně (nejsilnější vliv má deficiencie N, která stimuluje diferenciaci exodermis), přesto je variabilita reakce exodermis napříč druhy relativně vysoká. Jsou patrné rozdíly v intenzitě reakce (a to i mezi kultivary jednoho druhu) i rozdíly v reakci na různé deficiencie.

Klíčová slova: Apoplastické bariéry, exodermis, kulturní plodiny, dostupnost živin, deficiencie.

Abstrakt v angličtině

Plant growth and development is largely dependent on the soil environment which is a source of minerals and water needed for plants to survive. However, the availability of these resources in the soil is very heterogenous and important elements can be leached into the lower parts of the soil or bound to soil particles. Plants have therefore developed a number of adaptations during evolution to increase the efficiency of the root system. One of these aspects are the apoplastic barriers (endodermis and exodermis). Both of these layers affect the transport of substances to and from the root, thereby limiting unregulated apoplastic transport through modifications of the cell walls where the polymers that limit the transport of substances are deposited. These are Casparian bands and suberin lamellae. They often differentiate more rapidly when plants are faced with a stress factor such as drought, salinity or toxicity. However, nutrient deficiencies (e.g. N, P, K and Fe) also affect the rate of differentiation. Deficiencies can result in both acceleration and deceleration of differentiation, which seems to help optimize root transport properties according to the current conditions. However, this reaction has been less studied so far.

This work therefore focuses on the analysis of the response of exodermis (and endodermis) to nutrient deficiencies in the environment, with a main emphasis on the variability of this response across different monocot and dicot species, but also on intraspecific variability (between cultivars of the same plant species). A minor part of the work was also devoted to the localized response of barriers to local nitrogen deficiency (in split-root cultivation) in *Helianthus annuus* plants. The final experiment was then an analysis of the rate of suberinization of *Arabidopsis thaliana* endodermis as a function of nutrient deficiency in the medium, as this is an important model plant, providing an advantage for future experiments. The main result of this work is the conclusion that different plant species respond similarly to deficiency in some aspects (the strongest effect is N deficiency, which stimulates exodermis differentiation), yet the variability in exodermis response across species is relatively high. There are differences in the intensity of the response (even between cultivars of the same species) and differences in the response to different deficiencies.

Keywords: Apoplastic barriers, exodermis, crop species, nutrient availability, deficiency.

Obsah

Prohlášení	2
Poděkování	3
Abstrakt	4
Abstrakt v angličtině	5
Seznam zkratk	8
1 Úvod	9
2 Literární úvod	13
2.1 Půda a její složení	13
2.2 Kořenový systém	14
2.2.1 Architektura kořenového systému	15
2.2.2 Kořené vlásky	17
2.2.3 Symbióza s půdními organismy	19
2.2.4 Kořené exudáty	22
2.2.5 Projevy nedostatku živin na kořenovém systému rostlin	25
2.3 Apoplastické bariéry	27
2.3.1 Endodermis	27
2.3.2 Exodermis	30
2.3.3 Reakce exodermis na působení abiotických stresových faktorů	32
2.3.4 Vliv nedostatku živin na exodermální vrstvu	33
3 Metodika	35
3.1. Experiment 1: Analýza mezidruhové variability v reakci exodermis na podmínky deficience	35
3.2. Experiment 2: Analýza vnitrodruhové variability v reakci exodermis na podmínky deficience živin	38
3.3. Experiment 3: Analýza lokalizované odpovědi u rostlin <i>Helianthus annuus</i>	39
3.4. Experiment 4: Reakce endodermis <i>Arabidopsis thaliana</i> na podmínky deficience	40
3.5. Anatomická analýza kořenů rostlin	42
3.5.1. Anatomická analýza kořenů rostlin z experimentu 1-3 (pro analýzu mezidruhové variability, vnitrodruhové variability a lokalizované odpovědi)	42
3.5.2. Anatomická analýza vývoje dalších pletiv kořene – porovnání kořenů <i>Linum usitatissimum</i> a <i>Sorghum bicolor</i> z experimentu 1	44
3.5.3. Anatomická analýza kořenů <i>Arabidopsis thaliana</i> z experimentu 4	45
3.6 Statistické vyhodnocení experimentů	46
4 Výsledky	47

4.1 Experiment 1: Analýza mezidruhové variability v reakci exodermis a endodermis na nedostatek živin v prostředí.....	47
4.1.1 <i>Linum usitatissimum</i>	47
4.1.2 <i>Solanum lycopersicum</i>	53
4.1.3 <i>Helianthus annuus</i>	57
4.1.4 <i>Sorghum bicolor</i>	61
4.1.5 <i>Triticum aestivum</i>	65
4.1.6 Vývoj ostatních pletiv kořene	68
4.1.7. Shrnutí experimentu 1	72
4.2 Experiment 2: Analýza vnitrodruhové variability v reakci exodermis a endodermis na nedostatek živin v prostředí.....	73
4.2.1. Analýza růstu kultivarů <i>Zea mays</i> za kontrolních podmínek.....	73
4.2.2. Analýza růstu kultivarů <i>Zea mays</i> za podmínek deficiencie dusíku	74
4.2.3. Analýza růstu kultivarů <i>Zea mays</i> za podmínek deficiencie fosforu	75
4.2.4. Anatomická analýza kořenů vybraných kultivarů <i>Zea mays</i> v kontrolní a -N variantě.....	76
4.2.5. Shrnutí výsledků experimentu 2.....	79
4.3 Experiment 3: Analýza lokalizované odpovědi na nedostatek živin v prostředí u rostlin <i>Helianthus annuus</i> v dělené (split-root) kultivaci	80
4.3.1 Shrnutí výsledků experimentu 3.....	83
4.4 Experiment 4: Analýza reakce endodermis u <i>Arabidopsis thaliana</i> na nedostatek živin v prostředí.....	83
4.4.1 Shrnutí výsledků experimentu 4.....	86
5 Diskuze.....	87
5.1 Mezidruhová variabilita v reakci exodermis a endodermis na nedostatek živin v prostředí.....	88
5.1.1 Reakce exodermis a endodermis na deficienci	89
5.1.2 Rozdíly v reakci apoplastických bariér mezi jednoděložnými a dvouděložnými rostlinami.....	94
5.1.3 Lokalizovaná reakce bariér na deficienci	95
5.2 Vnitrodruhová variabilita v reakci exodermis na podmínky deficiencie živin	96
5.3 Analýza reakce endodermis u <i>Arabidopsis thaliana</i> na nedostatek živin v prostředí....	98
6 Závěr.....	99
7 Bibliografie.....	101

Seznam zkratk

CASP	Proteiny domény Casparyho proužku	Z angl. Casparian Strips Domain Proteins
CSD	Membránová doména Casparyho proužku	Z angl. Casparian Strip Membrane Domain
ESB1	Transkripční faktor	Z angl. Enhanced Suberin 1
FASS	Transkripční faktor odpovědný za morfogenezi	
GABA	Kyselina gama-aminomáselná	Z angl. Gamma-Aminobutyric acid
MYB36	Transkripční faktor s MYB doménou	Z angl. Myb Domain Protein 36
NADPH	Nikotinamidadeninukleotid-fosfát	Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
Nod faktor	Signální molekula bakterií z rodu <i>Rhizobia</i>	Z angl. Nodulation factor
NRT1.1	Přenašeč dusíku	Z angl. Nitrate Transporter 1.1
PER 64	Peroxidáza 64	Peroxidase 64
<i>pic</i>	Mutant v genu PINOCCHIO	
PHT 1	Fosfátový transportér	Phosphate Transporter 1
RBOHF	Hydroxyláza CYP86B1 z rodiny cytochrom P450-monooxygenáz	Root Aliphatic Plant Hydroxylase
<i>rhd2</i>	Mutant v genu ROOT HAIR DEFECTIVE 2	
<i>rhd6</i>	Mutant v genu ROOT HAIR DEFECTIVE 6	
<i>scr</i>	Mutant v genu SCARECROW	
<i>shr</i>	Mutant v genu SHORTROOT	
SIZ1	SUMO E3 ligáza	Z angl. SUMO E3 Ligase

1 Úvod

Přírodním prostředím pro růst rostlin a rozvoj jejich kořenového systému je půda, která představuje velmi heterogenní prostředí. Poskytuje také domov řadě živočichů a mikroorganismů, které s rostlinou mohou interagovat (navazovat mutualistické vztahy, působit jako patogeny nebo herbivoři). Povaha půdy a její heterogenita je dána celou řadou faktorů, jejím složením, texturou, průběhem půdotvorných procesů, hydrologickým režimem, i přítomností půdních organismů a kořenů rostlin. Kromě opory pro rostlinné tělo je půda důležitá hlavně jako zdroj vody a esenciálních makroprvků (N, P, K, S, Ca, Mg a K) i mikroprvků (Fe, B, Cl, Mn, Zn, Cu, Mo, Ni, Si a Na) potřebných pro růst a vývoj rostlin. Z důvodu vysoké variability a heterogenity půdního prostředí může být však dostupnost živin pro rostlinu na některých místech snížena. Nedostatek prvků může být způsoben například vyplavováním prvků do spodních vrstev půdy, odnosem povrchovou vodní a větrnou erozí, vazbou prvku v nerozpustných sloučeninách a minerálech, či sorpcí ke koloidním částicím obsaženým v půdě (Brady et al., 2008).

Kořeny rostlin tvoří v půdě rozsáhlé systémy a zajišťují rostlinám mechanickou oporu. Kromě toho fungují jako zásobní orgán ukládající asimiláty a látky různé povahy, které jsou mobilizovány v případě potřeby. Nejdůležitější úlohou kořenů je však zásobit rostlinu vodou a živinami, nezbytnými pro růst a metabolismus. Půda rostlinám poskytuje tyto základní zdroje, zatímco kořeny půdu chemicky ovlivňují a obohacují ji organickou hmotou sloužící jako zdroj obživy pro půdní mikroorganismy a živočichy. Míra větvení kořenů a tvorba kořenových vlásků je velmi důležitá a také silně ovlivňuje vyhledávání živin v půdě a příjem vody. Vzhledem k aktuálně probíhajícím klimatickým změnám, ale i díky pravidelným změnám ve složení půdy, je rostlina nucena se neustále přizpůsobovat okolnímu prostředí a odolávat stresovým podmínkám. Těmi je myšleno především sucho a s tím související nedostatek živin. Jejich dostupnost je ovlivněna nejen suchem, ale i pH půdy (většinou 6.0–7.0), přemokřením, sesuvy půdy nebo poškozením kořenového systému.

Deficience živin má pro rostliny velmi nepříznivé následky. Projevuje se problémy na úrovni metabolismu rostliny, ale i vizuálně nebo změnami vnitřní stavby prýtů i kořenů, a to různými způsoby specifickými pro deficienci určitého prvku. Na první pohled lze rozeznat, že jsou rostliny vystaveny nedostatku živin, jelikož je často výrazně omezen jejich růst. Zmenšuje se celková produkce biomasy, ale i plocha listů či délka a větvení kořenového systému. Dále lze pozorovat změny ve zbarvení prýtu a listů či nekrózy pletiv (J. Robinson, 1995). Nedostatku

živin se rostliny brání především zvyšováním efektivity kořenového systému, který je pro příjem živin nejdůležitější. Dochází například ke zvýšené tvorbě kořenových vlásků, navazování symbióz s půdními mikroorganismy nebo stimulaci vylučování kořenových exudátů (Kuzyakov & Razavi, 2019). Důležitým mechanismem jsou změny architektury kořenového systému, např. zvětšování délky kořenového systému za účelem dosažení zdroje živin ve vzdálenějších oblastech půdy, nebo naopak zkracování a vyšší větvení kořenů. To umožňuje kořenům optimalizovat využití půdních zdrojů a zvyšovat pravděpodobnost zachycení nedostatkové živiny (Marschner, 2011). V poslední době je však studován ještě jeden aspekt, který zřejmě také hraje významnou roli ve zvyšování efektivity příjmu živin. Jedná se o změny v rychlosti diferenciaci apoplastických bariér (endodermis a případně přídatné bariéry exodermis), které výrazně zasahují do transportu živin do kořenů rostlin a také ven z nich (Barberon & et al., 2016). V endodermis a exodermis dochází k tvorbě modifikací buněčných stěn ve formě Casparyho proužků, suberinových lamel, případně sekundárních stěn. Casparyho proužky, lignifikované oblasti buněčné stěny, jež jsou asociovány s plasmatickou membránou, představují bariéru neselektivnímu apoplastickému toku látek a jsou proto klíčové pro selektivitu příjmu látek kořenem (Geldner, 2013; C. A. Peterson & Perumalla, 1990). Změny v rychlosti diferenciaci bariér jsou důležitým mechanismem obrany proti stresovým faktorům, jako je sucho nebo přítomnost toxických látek v prostředí. Například příjem kadmia kořeny rostlin způsobuje rychlejší maturaci apoplastických bariér, kdy lze přítomnost Casparyho proužků a suberinových lamel v exodermis i endodermis pozorovat již v krátké vzdálenosti za špičkou kořene (Redjala et al., 2011). Otázkou však zůstává, do jaké míry jsou změny v rychlosti diferenciaci bariér důležitým aspektem pro zvyšování efektivity kořenového systému v příjmu živin z půdy.

Zatímco endodermis je klíčovou apoplastickou bariérou, přítomnost exodermis se u různých rostlinných druhů liší, u některých rostlin se exodermis vůbec neuvětví (C. J. Perumalla et al., 1990). Exodermis je proto považována za přídatnou ochrannou bariéru a velice plastickou. Mezi jednotlivými rostlinnými druhy jsou značné rozdíly v rozsahu a rychlosti diferenciaci exodermis, která je navíc významným způsobem ovlivněna podmínkami prostředí. Existuje řada prací dokumentujících stimulaci diferenciaci exodermis při působení stresových faktorů, jako je sucho, zasolení nebo toxicita (Líška et al., 2016). Prací, které by se věnovaly vlivu deficiencie minerálních živin, však doposud není příliš mnoho a liší se podmínkami, ve kterých byly testované rostliny pěstovány. Byly ale pozorovány značné mezidruhové rozdíly i rozdíly v odpovědi na deficienci různých esenciálních prvků. Rostliny pěstované za nedostatku

důležitých živin vykazovaly zrychlení nebo zpomalení diferenciac bariér při různých deficiencích. Reakcí apoplastických bariér na nedostatek dusíku a fosforu se zabývala například práce na rostlinách ječmene (*Hordeum vulgare*), kde dochází k rychlejší diferenciaci endodermis v deficičních podmínkách (Armand et al., 2019). Podobná odpověď je patrná u rostlin kukuřice (*Zea mays* L.), kde dochází k rychlejší diferenciaci bariér u deficiencí N a P, naopak u deficiencí K a Fe je diferenciac pomalejší, tedy dále za kořenovou špičkou (Namyslov et al., 2020). Naopak u skočce (*Ricinus communis* L.) byla v odpovědi na nedostatek dusíku diferenciac exodermis zpomalena (Schreiber et al., 2005). U modelové rostliny *A. thaliana* bylo pozorováno, že u rostlin deficičních na draslík byla diferenciac endodermis rychlejší, naopak při deficienci železa pomalejší (Barberon & et al., 2016). Je tedy patrné, že zhodnocení významu změny v rychlosti diferenciac bariér pro nastavování efektivity kořenového systému pro příjem živin je zatím komplikováno rozdílností výsledků. Nicméně se zdá být do jisté míry podmíněno druhem rostliny i konkrétním deficičním prvkem.

S ohledem na heterogenitu půdního prostředí je také zajímavým zjištěním, že u kukuřice (*Zea mays* L.) dochází v situaci, kdy je deficienci vystavena jen část kořenového systému (v dělené „split-root“ kultivaci), k odlišné rychlosti diferenciac bariér. U části kořenů vystavených deficienci dusíku se diferenciac urychlila, Casparyho proužky i suberinové lamely v endodermis i exodermis byly vyvinuty blíže za špičkou na rozdíl od kořenů, které byly umístěny do kontrolního roztoku (Namyslov et al., 2020). Lze předpokládat, že tato reakce může mít významný vliv v nastavování transportních parametrů celého kořenového systému a optimalizovat příjem živin z heterogenního půdního prostředí. Je proto zajímavou otázkou, zda ji vykazují i další druhy rostlin.

Pro tuto práci byly proto stanoveny následující hypotézy:

1. Reakce bariér (endodermis i exodermis) na deficienci hlavních minerálních živin je v obecných rysech podobná u většiny rostlinných druhů, rozsahem se však může lišit mezi jednoděložnými a dvouděložnými rostlinami s ohledem na další vývoj kořene (tvorbu sekundárních pletiv).
2. Lokalizovaná reakce bariér na deficienci je obecnou vlastností kořenového systému a je proto významná pro efektivní získávání živin z heterogenní půdy.
3. Pokud se rozsah změny v rychlosti diferenciac bariér (endodermis i exodermis) liší na vnitrodruhové úrovni, může představovat zajímavý parametr pro hledání kultivarů efektivních v zachycení živin z půdy.

Na základě těchto hypotéz byly stanoveny cíle práce:

1. Analyzovat mezidruhovou variabilitu reakce exodermis na dostupnost živin v prostředí.
 - a. Popsat změny v rychlosti diferenciaci exodermis v odpovědi na deficienci hlavních minerálních živin u několika druhů jednoděložných i dvouděložných rostlin a zjistit, jak variabilní tato odpověď je.
 - b. Porovnat reakci jednoděložných a dvouděložných rostlin.
2. S využitím několika kultivarů kukuřice zjistit, zda se rychlost diferenciaci exodermis při deficienci liší na vnitrodruhové úrovni.
3. Analyzovat lokalizovanou odpověď endodermis a exodermis na lokální podmínky rhizosféry.
 - a. S pomocí split-root hydroponické kultivace zjistit, zda i dvouděložné rostliny vykazují lokalizovanou reakci exodermis na lokální rozdíly v dostupnosti živin v okolí kořenů.
 - b. Analyzovat reakci endodermis huseníčku (*Arabidopsis thaliana*) na podmínky deficience.

2 Literární úvod

2.1 Půda a její složení

Přirozeným prostředím pro kořenový systém jsou nejčastěji různé druhy půd s heterogenním a dynamickým složením. Působením mikroorganismů, prouděním vody či sesuvu půdy je utvářen profil půdy, který je tvořen horizontálními vrstvami s různým složením. Minerální částice jsou nejhojnější složkou půdy a jsou tvořeny různými druhy horninových zrn, jako jsou písek, jíla a prach. Tyto částice jsou důležité pro udržení fyzikální struktury půdy a poskytují rostlinám nutriční minerály. Základními kameny všech částic půdy jsou uhlík, fosfor, dusík a síra, což jsou makroprvky nezbytné pro život všech organismů. Půda také obsahuje širokou škálu minerálů, které jsou tvořeny různými prvky (Šantrůčková et al., 2018). Mezi ty nejběžnější patří například křemík, železo, hliník, hořčík, draslík či vápník (Brady et al., 2008). Tyto prvky jsou také hojně obsaženy v organické složce půdy nazývaného humus. Tato hmota vzniká rozkladnými procesy (humifikací) odumřelých těl organismů pod povrchem země a představuje velmi důležitou komponentu půdy s vlivem na sorpci živin a stabilizaci půdního pH. Mocnost humusového horizontu se v jednotlivých podnebných pásech může lišit, jelikož humifikace je výrazně ovlivněna teplotou (při vyšších teplotách probíhá rychleji) nebo také chemickým složením prostředí, činností půdních mikroorganismů, vegetačním pokryvem či dostupností živin (Sposito, 2008).

Díky porózní formě půd je umožněn pohyb vody a v ní rozpuštěných látek, ale také plynů a koloidních částic. Všechny tyto složky půdy pak ovlivňují její chemické i fyzikální vlastnosti. Porozita půd se však může lišit v důsledku různé velikosti částic, kdy v půdách s velmi malými částicemi jsou přítomny jen malé prostory mezi jednotlivými zrny, a tedy průtok kapalin a plynů může být snížen (Young & Crawford, 2004).

Důležitým aspektem půdního prostředí je jeho heterogenita. Heterogenita půdy je velmi důležitá, protože ovlivňuje vlastnosti a funkce půdy, jako je zásobování vodou a živinami, dýchání kořenů a růst rostlin (Wanzek et al., 2018). K faktorům, které přispívají k heterogenitě půdního prostředí lze zařadit půdní texturu (různá velikost částic ovlivňující propustnost vody a živin), dále svahovitost, množství slunečního záření a srážek. Roli hraje také různorodost vegetace, která ovlivňuje přímo chemismus půdy prostřednictvím přítomnosti mikroorganismů, ale také vylučováním rostlinných exudátů a v neposlední řadě je důležitý také geologický aspekt, tedy obsah různých typů hornin v podloží. Dostupnost vody a minerálních živin se tak

mění v čase i prostoru a kořenový systém rostlin musí být schopen na tyto podmínky efektivně reagovat (Wander, 2004).

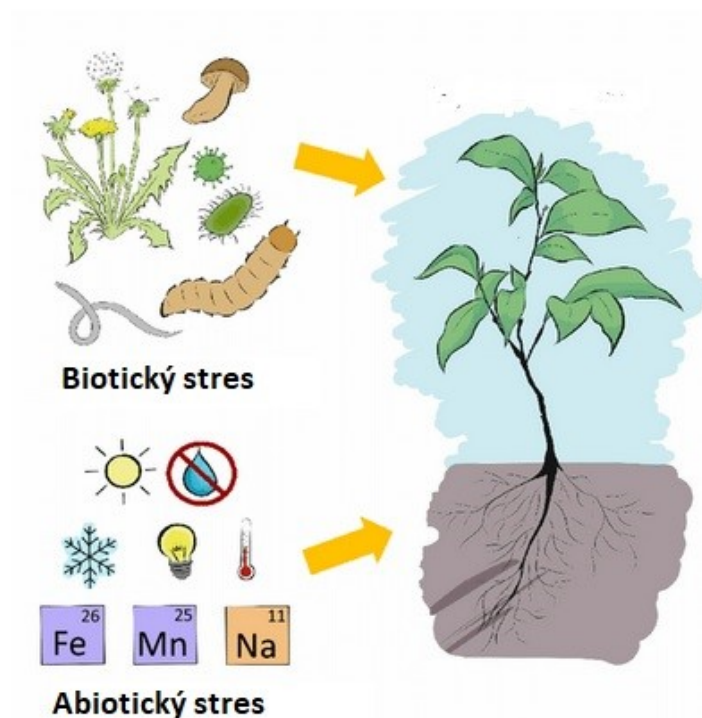
2.2 Kořenový systém

Významná část rostlinného těla, která zodpovídá za růst, vývoj a přežití rostlin, je kořenový systém. Působení kořenů se odehrává nejčastěji pod povrchem země, a proto je jeho výskyt vázán nejčastěji na půdní prostředí, Tam tvoří složité rozvětvené systémy, a rostlina proto investuje značnou část energie do jejich rozvoje (J. Lynch, 2005). Kořenový systém slouží jako hlavní ukotvení celé rostliny, ale také jako úložiště zásobních látek (Fitter, 1987). Hlavní funkcí kořenového systému je však příjem vody a živin z půdy, jež je nezbytný pro růst a vývoj rostlin. Různé druhy rostlin mají různě vyvinuté a přizpůsobené kořenové systémy, které jim pomáhají přizpůsobit se okolním podmínkám. Některé kořeny rostlin jsou schopny proniknout do hloubky suchých půd pro získání vody, jiné se pak rozšiřují pod povrchem půdy a hledají živiny vázané na částice. Vývoj kořenového systému může být ovlivněn nejen podmínkami minerální výživy v půdě, ale také vlhkostí půdy, pH půdy, teplotou či přítomností mikroorganismů (Wang et al., 2006).

V reakci na velice heterogenní složení půdy a velké množství proměnných v prostředí došlo u rostlin v průběhu evoluce k postupnému vývoji řady mechanismů, které zvyšují efektivitu kořenového systému. Mezi ně patří změny v architektuře kořenového systému. Tyto transformace zahrnují změny v úhlu růstu kořenů, které mohou zasahovat do hlubších vrstev půdy nebo jen do mělkých částí za účelem hledání potřebných živin, nebo také hustotu kořenového systému (Fitter et al., 1991).

Množství kořenů a kořenových vlásků (potažmo jejich plocha) je pak důležitým parametrem poukazujícím na míru absorpční kapacity celého systému. V raných fázích vývoje kořenového systému dochází k velkému nárůstu příjmu vody, protože se zvyšuje počet nově založených postranních kořenů a kořenových vlásků, které potom vznikají v průběhu celého života rostliny. Tyto nově vzniklé kořeny a vlásky tak poskytují krátkou, a tak i výhodnou cestu příjmu vody a živin do kořene. Tvoří cestu vysoce vodivou, a tyto krátké mladé kořeny a vlásky tvoří většinu povrchové plochy kořenového systému. Se zvyšujícím se stářím kořenů se pak může snížit objem roztoků proudících do kořenů v důsledku narůstající délky kořenů či s nástupem suberinizace buněk endodermální a exodermální vrstvy (Fiscus & Markhart, 1979).

Jako organismus vázaný na jedno určité stanoviště musí rostlina čelit mnoha různým stresovým faktorům okolního prostředí. Existuje mnoho činitelů působících přímo na kořenový systém rostliny, nejčastěji se jedná o nedostatek nebo naopak nadbytek vody v půdě, deficiencie důležitých živin či napadení herbivory a plísněmi (Obr. 2.1). U rostlin se proto v průběhu evoluce vyvinula řada mechanismů, které jim umožňují adaptovat se na různá prostředí. Mezi tyto mechanismy patří i zvyšování efektivity kořenového systému pomocí různých modifikací, ať už v architektuře celého systému, anatomii kořenů či symbiózou s jinými organismy (J. Lynch, 1995).



Obr. 2.1. Příklady stresových faktorů působících negativně na růst a vývoj rostlin. Převzato a upraveno z (Espinosa-Leal et al., 2022).

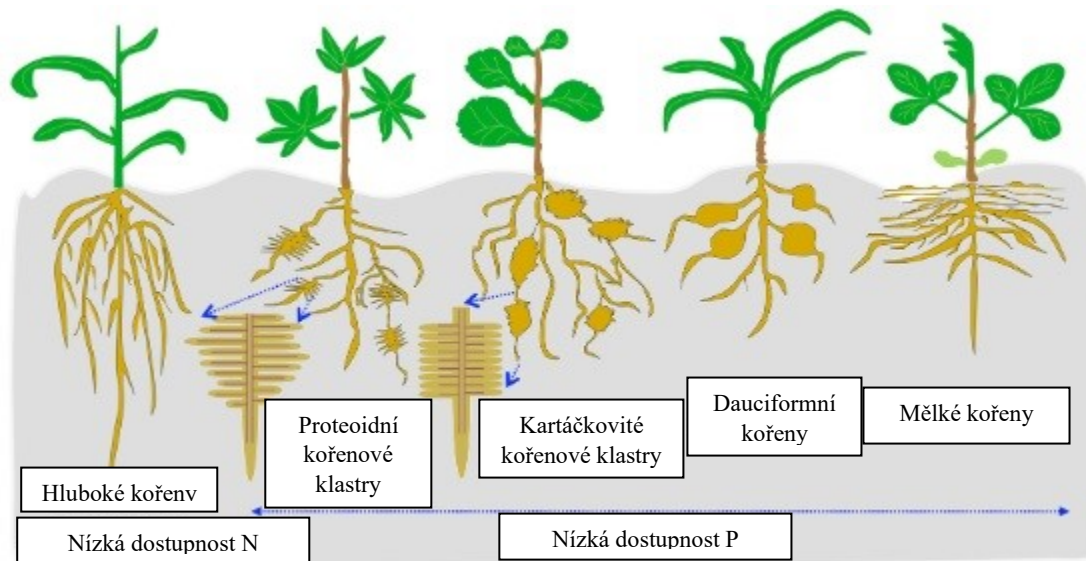
2.2.1 Architektura kořenového systému

Změny v architektuře kořenového systému jsou jednou z možností, jak bojovat proti podmínkám limitujícím růst a vývoj rostlin a zvyšovat tak jejich produktivitu. Tyto změny zahrnují především transformace v prostorovém uspořádání kořenového systému jako jsou prodlužování a zvětšování osy kořenů a směr růstu kořenů, které slouží k efektivnímu průzkumu půdy. Vysoká variabilita architektury systému je známá napříč celou škálou rostlinných druhů, v rámci určitého rostlinného druhu, ale také dokonce na úrovni jednoho

konkrétního kořenového systému. Tato situace může nastat v důsledku heterogenního rozmístění živin a vody v půdě nebo jejich vyčerpání, a proto dochází k adaptaci kořenového systému rostlin tak, aby zasahoval v případě potřeby i do míst s dostatkem potřebných látek (J. Lynch, 1995). Existuje mnoho typů kořenových systémů, které jsou specifické pro určité rostliny nebo prostředí (Obr. 2.2). Například u rostlin trav mohou být kořeny svislé a rozprostírají se v mělké hloubce, aby absorbovaly co největší množství vody a živin z horní vrstvy půdy (Arredondo & Johnson, 1999). Stejně tak však existují druhy trav, které koření hluboko, což slouží k rychlému zachycení dusičnanů, které bývají často rychle vyplavovány z dosahu kořenového systému (J. P. Lynch, 2022). Dalším příkladem mohou být stromy, jejichž kořeny musejí být zasazeny mnohem hlouběji a do šířky, aby zajistily pevnost stromu a dostatečně ho zásobily vodou a minerálními látkami (Coutts, 1983). Dřeviny ve velkém množství případů mají hluboko kořenicí systém. Hloubka kořenů závisí na podmínkách prostředí (například stromy v tropických oblastech takto přežívají období sucha). I dřeviny však mohou mít variabilní délky kořenového systému, které mohou být i mělké, vše záleží především na dostupnosti vody v prostředí (Maeght et al., 2013).

Jak již bylo uvedeno výše, architektura kořenového systému se obecně velmi často mění hlavně v závislosti na podmínkách prostředí a je klíčová pro účinný příjem vody a živin. Proto budou níže zmíněny zásadní změny v architektuře kořenového systému v závislosti na dostupnosti živin. Vliv nedostatku dusíku na architekturu kořenového systému byl například zkoumán u rostlin *A. thaliana*, kde byly kořeny rostlin kultivovány pomocí split-root kultivace. V části média s nedostatkem dusíku pak byl pozorován nižší počet i délka laterálních kořenů, ale hlavní kořenová osa byla prodlužována (Obr. 2.2). Děje se tak proto, že nitrát je velmi pohyblivý a bývá často vyplavován do hlubších půdních prostor. Naopak v případě vysoké dostupnosti nitrátu se zvýšilo množství laterálních kořenů, ale došlo také k prodloužení těchto kořenů, které mohou být mělké než v případě deficiencie dusíku (Mounier et al., 2014). Tuto skutečnost ovlivňuje především přítomnost nitrátových transportérů NRT1.1 zapojených do lokální reakce kořenového systému na nedostatek nitrátu. Tento transportér slouží pro import auxinu do kořene, což způsobuje snížení lokálních hladin auxinu. Dochází pak k inhibici růstu laterálních kořenů v případě nízké dostupnosti nitrátu v prostředí, V případě vyšší koncentrace nitrátu pak funguje transportér v signalizaci auxinu opačně, tedy pozitivně (Boer et al., 2020). Odlišná situace nastává v podmínkách nízké dostupnosti fosforu, který zas bývá často vázán velmi pevně na půdní částice. Nedostatek fosforu vyvolává změny v architektuře kořenového systému tak, že se zkracuje hlavní kořenová osa a rapidně se zvyšuje růst laterálních kořenů.

Kořenový systém takových rostlin se vyznačuje tím, že bývá dost mělký, ale zato dost hustý (Obr. 2.2). Za modulaci kořenového systému u rostlin *A. thaliana* je zodpovědná ligáza SIZ1 (z angl. SUMO E3 Ligase), která reaguje na negativní regulaci auxinu v případě formování kořenů za nedostatku fosfátu v půdě (Miura et al., 2011).



Obr. 2.2: Formy adaptace kořenového systému na nedostatek živin v prostředí (Převzato a upraveno podle (Li et al., 2016)).

2.2.2 Kořenové vlásky

Dalším mechanismem, jak kořenový systém zvyšuje svoji efektivitu v příjmu živin, je přítomnost kořenových vlásků a změna jejich délky v závislosti na dostupnosti živin v prostředí (Jungk, 2001). Základem kořenových vlásků jsou epidermální buňky nazývané trichoblasty. Vlásky z trichoblastů vyrůstají v diferenciální zóně kořene. Životnost kořenových vlásků je krátká, počítá se v řádech několika dnů. Počet a délka kořenových vlásků se u různých rostlinných druhů liší, záleží však také na podmínkách okolního prostředí. V půdě s nedostatkem živin se totiž počet i délka kořenových vlásků zvyšuje (Gilroy & Jones, 2000). To bylo podrobně dokumentováno např. u citronečníku (*Poncirus trifoliata*), u kterého byly navíc patrné signifikantní rozdíly v reakci na deficienci různých minerálních živin, kdy nejvyšší hustotu kořenových vlásků vykazovaly rostliny vystavené deficienci fosforu. Růst kořenových

vlásků stimulovala také deficiencie železa, manganu a draslíku, naopak nedostatek dusíku hustotu vlásků neovlivnil (Cao et al., 2013). Zvýšená hustota kořenových vlásků v podmínkách nízké dostupnosti fosforu byla dále detekována např. u různých genotypů rýže (*Oryza sativa*) (Nestler & Wissuwa, 2016), huseníčku (*A. thaliana*) (Bates & Lynch, 1996; Z. Ma et al., 2001; Stetter et al., 2015), hořčice (*Brassica carinata*) (Kirchner et al., 2018) nebo fazolu (*Phaseolus vulgaris*) (Miguel et al., 2015). Význam kořenových vlásků v příjmu fosforu dokládají studie porovnávající různé kultivary téhož druhu, které se liší mírou tvorby vlásků. Např. u ječmene bylo takto ukázáno, že kultivary schopné tvořit při deficienci P delší kořenové vlásky, mají v těchto podmínkách větší produktivitu (výnos zrna) v důsledku efektivnějšího příjmu P (Gahoonia & Nielsen, 2004). Jiný experiment zase poukazuje na důležitost kořenových vlásků v příjmu fosforu skrze použití *bld* (bald root barely) mutanta ječmene, který není schopen tvořit kořenové vlásky a příjem P z půdy je u něj výrazně méně efektivní (Gahoonia & Nielsen, 2003). Zhoršený příjem P byl podobně pozorován také u *rhd2* a *rhd6* (*root hair defective 2, 6*) mutantních rostlin *A. thaliana* s narušenou tvorbou vlásků (Bates & Lynch, 2000).

Trochu odlišná situace může nastat u rostlin podléhajících stresu z nízké koncentrace dusíku. Tam většinou dochází k výraznému prodloužení primárního kořene a snížení celkového povrchu kořenového systému. Navíc se u stresovaných rostlin zastavil růst hlavního kořene dříve než u rostlin kontrolních, ale průměr kořene se zmenšoval u obou variant stejným tempem v důsledku růstu postranních kořenů z hlavní kořenové osy (Zhu et al., 2022). U různých druhů rostlin se však projevuje variabilita reakcí na nedostatek dusíku. Nemalou roli hraje také prostředí, v němž experiment probíhá (hydroponie, skleník, pole, aj.). Délka kořenových vlásků se může lišit napříč prostředími. V polních podmínkách se délka kořenových vlásků zkracuje v důsledku přítomnosti částic v půdě, které zabraňují pronikání vlásků hlouběji do okolí. Ve skleníku pak byly kořenové vlásky kukuřice delší, ale společnou vlastností obou prostředí byl fakt, že při poklesu dostupnosti nitrátu došlo v obou případech ke zkrácení vlásků. Počet a délka vlásků závisí i na formě přijímaného dusíku (Saengwilai et al., 2021). Další studie byla provedena u několika druhů trav, kde nebyly prokázány velké změny v délce kořenových vlásků v důsledku poklesu dostupnosti dusíku. Výjimkou se stal pouze medyněk (*H. lanatus*), u něhož došlo k velkému prodloužení vlásků, ale pouze za přítomnosti dusíku ve formě nitrátu. Naopak společným znakem pro použité druhy trav pak byla denzita vlásků, která byla v deficientních podmínkách rapidně zvýšena (D. Robinson & Rorison, 1987). Hustota vlásků naopak nebyla ovlivněna nedostatkem dusíku u rostlin bavlníku. Došlo ale ke zkrácení prvního

postranního kořene na rozdíl od laterálního kořene druhého řádu. Zvýšila se také životnost vlásků a zmenšil se úhel kořene za nedostatku nitrátu (Zhu et al., 2022).

Kořenové vlásky zvětšují povrch kořenového systému a zlepšují kontakt kořene s okolní půdou, např. pronikáním do malých půdních pórů. Vlázky se také podílí na vylučování různých látek do rhizosféry. Jedná se o protony a kořenové exudáty obsahující sacharidy a organické kyseliny, které ovlivňují pH půdy a její chemismus. Exudáty také představují zdroj energie a uhlíku pro půdní mikroorganismy, stimulují jejich aktivitu v rhizosféře, což napomáhá uvolňování fosfátu z pevných vazeb v půdě a činí ho dostupnějším pro rostlinu (Holz et al., 2018; Šantrůčková et al., 2018).

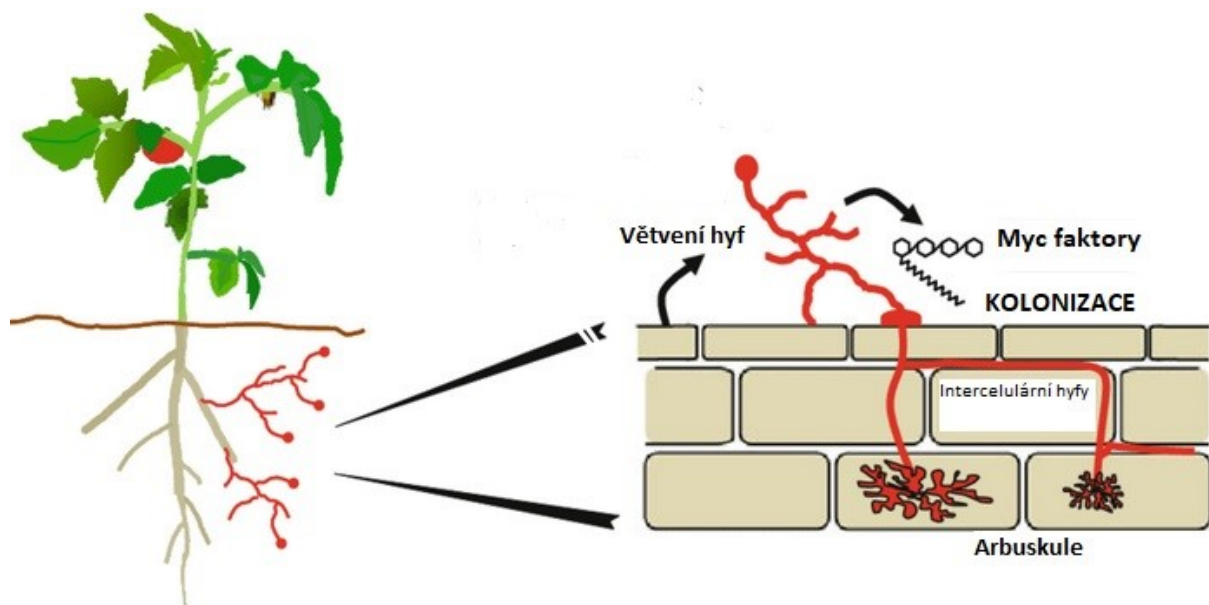
2.2.3 Symbióza s půdními organismy

Vyrovnat se s problémy s nedostatkem živin rostlinám pomáhají půdní mikroorganismy, které jsou asociovány s jejich kořenovým systémem a podílí se na absorpci látek. Jedná se především o různé typy hub, které spolupracují s rostlinami pomocí symbiozy, mutualistického vztahu, jež je pro obě strany prospěšný a nazývá se mykorhiza (Gianinazzi-Pearson, 1996). Rostliny přijímají většinu živin pomocí kořenového systému z půdy a asociací s houbami mohou zvýšit podíl přijímaných živin hlavně v podmínkách, kde dochází ke snížení dostupnosti látek hlavně dusičnanů a fosfátů. V tomto případě pak rostliny zvyšují mykorhizou efektivitu příjmu látek kořeny (Varma et al., 2018). Přenos živin a fytochemických signálů zprostředkovávají symbionti ze skupiny hub. Dnes je známých již několik různých druhů mykorhiz, k nimž patří například arbuskulární, erikoidní, orchidejová či ektomykorhiza (C. Cruz et al., 2004).

Houby kolonizují rostliny v různé míře napříč rostlinnými druhy. Efekt spolupráce hub se může projevit u jednoho druhu rostliny silně, u jiné je však účinek jen nepatrný. Roli může hrát také kompatibilita symbiontů (Smith et al., 2011). Mykorhizní houby vytvářejí speciální struktury – hyfy, kterými pronikají do kořenů rostlin (Obr. 2.3). Takové hyfy pak také tvoří rozsáhlé struktury zvyšující absorpční povrch kořenového systému, zasahují do různých částí půdy, kde pomáhají rozkládat organické látky a zpřístupňovat tak živiny pro rostlinu. Vztah symbiontů je oboustranně prospěšný díky tomu, že rostlina poskytuje houbám energii ve formě uhlíkatých látek, zatímco houba může výrazně zvyšovat absorpční povrch kořenového systému, což vede mimo jiné k efektivnějšímu příjmu některých esenciálních živin (Harley, 1949). Mykorhizní houby především zprostředkovávají příjem fosforu, který je ve formě

dihydrogenfosforečnanového aniontu dostupný pro rostlinu. Komplikací v dostupnosti tohoto aniontu je ale jeho vysoký obsah v buňkách, ale také nízká koncentrace tohoto aniontu v půdě, kde bývá velmi silně vázán na různé minerální a organické částice. To pak vede k tomu, že musí být ionty čerpány z půdy aktivně za pomoci vysokoafinitních transportérů skupiny Pht 1 (fosfátový transportér, z angl. Phosphate Transporter 1) (Smith et al., 2011).

Velké množství rostlin kolonizují houby arbuskulárně mykorhizního typu, kdy se v jejich přítomnosti zlepšuje stav celých rostlin. Zvýšený růst a vývoj rostlin byl prokázán u většího počtu druhů rostlin ve srovnání s rostlinami nemykorhizními. Zvýšený příjem živin byl zaznamenán například u rostlin bazalky, kdy rostliny naočkované houbami vykazovaly vyšší podíl sušiny výhonků a také nápadnější větvení kořenového systému (Rasouli-Sadaghiani et al., 2010). Arbuskulárně mykorhizní houby se ale neméně podílejí i na obraně rostliny proti různým herbivorům a patogenům. Až 80 % rostlinných druhů vykazuje přítomnost těchto hub v jejich kořenovém systému (Benhamou et al., 1994).

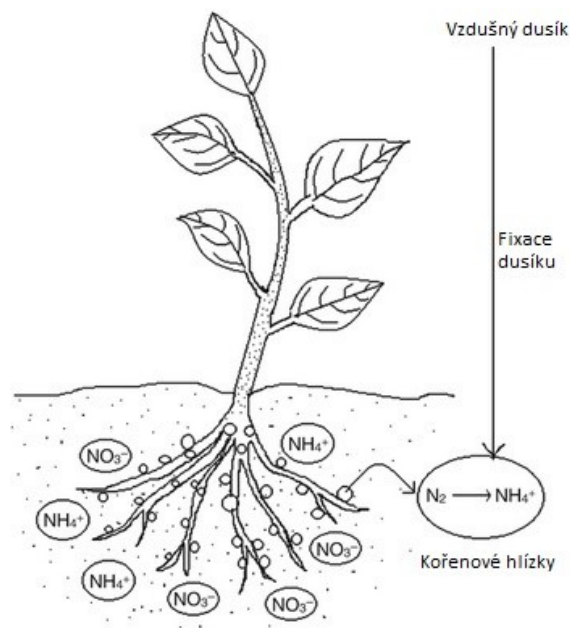


Obr. 2.3: Schéma symbiózy rostlin s houbami. Převzato a upraveno z (López-Ráez & Pozo, 2013)

Druhým významným typem symbiózy, která rostlinám umožňuje získávat nedostatkové minerální živiny je spolupráce s mikroorganismy fixujícími vzdušný dusík. Dusík je často limitující živinou v prostředí, protože jej rostliny pro svůj růst potřebují značné množství a jeho

výskyt v prostředí je ve velké míře vázán na atmosféru, kde není pro rostliny dostupný (Doyle, 1998). Bakterie, které dokážou vzdušný dusík rostlinám zprostředkovat, patří nejčastěji do rodu *Azotobacter* nebo *Azospirillum* a spadají do skupiny gramnegativních bakterií, jež fixují dusík převážně v anaerobních podmínkách. Například u rýže byl prokázán zvýšený nárůst celkové biomasy rostliny po inokulaci různých odrůd rýže. Výnosnost se však lišila v závislosti na použité odrůdě rýže a rodu bakterií, kdy existuje jakási kompatibilita rostlin s těmito bakteriemi (Mirza et al., 2000). Získávání dusíku bakteriemi spočívá ve vychytávání vzdušného dusíku bakteriemi ve formě molekuly N_2 , jež přeměňují pomocí reakce katalyzované kyslíkem na amoniak (Obr. 2.4). Ten je už pro rostlinu přijatelnou formou dusíku. Bakterie kolonizují různá pletiva kořenového systému rostlin od xylému až po epidermis, výjimečně mohou obývat pletiva stonků (například bakterie *Herbaspirillum* u cukrové třtiny). Drtivou většinu svého života mikroorganismy přežívají uvnitř rostlin díky apoplastickému proudění živin rostlinnými pletivy, což jim zajišťuje metabolickou aktivitu a přežití. Celý mikrobiální životní cyklus probíhá v rostlinách nenápadně, aniž by vykazovaly vizuálně nějaké známky nákazy bakteriemi (Bhattacharjee et al., 2008; Reinhold-Hurek & Hurek, 1998).

Jednou z nejvýznamnějších bakteriálních symbióz poskytujícím dusík luštěninám je s bakteriemi rodu *Rhizobia*, tvořící spolupráci s asi 15 tisíci druhy rostlin (Parker, 1999) ze skupiny luštěnin. *Rhizobia* významně stimulují růst luštěnin a umožňují jim tak velmi silně konkurovat ostatním rostlinám. Mohou však ovlivnit i růst a vývoj jiných rostlinných druhů prostřednictvím dodávek dusíku do půdního prostředí (Van Der Heijden et al., 2006). Inokulace rostlin těmito bakteriemi poskytuje rostlinám spoustu výhod. Může indukovat zvýšení počtu kořenových vlásků, mobilizaci živin vázaných na částice v půdě nebo produkci fyto sideroforů. U některých plodin (například u rýže) pak byla prokázána zvýšená produkce, dále pak odolnost a lepší dostupnost nejen dusíku ale i dalších živin (P, Fe a K) z půdy (Biswas et al., 2000).



Obr. 2.4: Symbióza rostlin s hlízkovými bakteriemi. Schéma fixace dusíku. Převzato a upraveno z (Basu & Kumar, 2020).

2.2.4 Kořenové exudáty

Kořenový systém rostlin vylučuje do okolního půdního prostředí velké množství organických sloučenin. Prostřednictvím uvolňování H^+ do půd o různých hodnotách pH dochází k mobilizaci velkého množství živin vázaných na minerálních či organických částicích. Některé druhy rostlin však půdu neokyselují, ale uvolňují do ní místo protonů OH^- ionty. Formování chemismu půdy tak silně závisí na druhu rostliny, ale i na hnojení rostlin dusíkatými hnojivy nebo pH půdy. Vyvážením pH půdy rostliny zabraňují například riziku toxicity některých prvků jako jsou Fe^{3+} nebo Al^{3+} (Kuzyakov & Razavi, 2019). Rostlina tak může ovlivňovat chemismus rhizosféry, dostupnost živin a regulovat mnoho různých prospěšných procesů, jako je symbióza s půdními mikroorganismy. Může také pomocí těchto látek odpuzovat půdní škůdce či konkurenční rostliny. Takový jev, kdy kořeny rostlin vylučují do okolního prostředí různé chemické sloučeniny (sekundární metabolity), se nazývá alelopatie. Vylučované chemikálie negativně ovlivňují působení ostatních rostlin na stanovišti. Jedná se většinou o terpenoidy, alkaloidy či fenoly, jež jsou v rostlinách produkovány a ukládány v kořenech, listech nebo plodech (Šoln & Koce, 2021). Složení kořenových exudátů je ale velmi variabilní napříč rostlinnými druhy a zahrnuje sacharidy, organické kyseliny, aminokyseliny, enzymy, vitamíny, ale i anorganické a plynné molekuly. Největší množství exudátů lze zařadit mezi cukry (např.

fruktóza, glukóza, arabinóza), organické kyseliny (např. octová, citrónová nebo salicylová kyselina) a aminokyseliny (proteinogenní aminokyseliny) i další (Sasse et al., 2018). Významná je také sekrece polysacharidů, které tvoří hlavní součást mucigelu. Polysacharidy slouží především jako zdroj energie pro půdní mikroorganismy, napomáhá absorpci vody kořeny a také k výměně kationtů (Nazari, 2021). Produkce exudátů jednotlivých kořenů je ovlivněna okolním prostředím, tedy jeho chemickou (složení půdy) nebo fyziologickou (teplota, dostupnost vody) povahou. Významným faktorem je i dostupnost živin v půdě či přítomnost toxických látek, např. iontů těžkých kovů v okolí kořenů. Sekrece kořenových exudátů je v případě nepříznivých podmínek stimulována tzv. elicitory, mezi než se řadí např. kys. jasmonová a salicylová nebo oxid dusný (Badri & Vivanco, 2009).

Kořenové exudáty mají významnou roli v příjmu makroprvků i mikroprvků nezbytných pro rostlinu. Tyto látky ovlivňují chemismus půdního prostředí, umožňují uvolňování esenciálních prvků z velmi špatně rozpustných sloučenin a zvyšují tak jejich dostupnost pro kořenový systém rostlin. Prostřednictvím sekrece H^+ , HCO_3^- , OH^- kořeny ovlivňují pH okolní půdy, což vede k mobilizaci živin pro rostlinu (Kuzyakov & Razavi, 2019). Mobilizaci živin umožňují také další vylučované látky, např. při nedostatku fosforu jsou to především anionty organických kyselin (Dakora & Phillips, 2002; Haynes, 1990; Z. C. Chen & Liao, 2016). To dokládá řada studií, např. studie vlivu deficiencie P na rostliny bobu obecného (*V. faba*) (Tawaraya et al., 2014), soji luštinaté (*G. max*) (Dong et al., 2004) nebo řepky olejné (*B. napus*) (Zhang et al., 1997). U *A. thaliana* byla provedena dělená kultivace rostlin v deficienci fosforu a byl prokázán nárůst obsahu citrátu, malátu a argininu v exudátu, ale pouze za podmínek, kdy byl celý kořenový systém vystaven nedostatku fosfátu. To naznačuje systémovou reakci kořenového systému na podmínky deficiencie (Ziegler et al., 2016). V jiných experimentech byla ale pozorována i lokalizovaná reakce. Např. u lupiny bílé (*L. albus*) byla při split-root kultivaci patrná reakce rozdílná v části kořenového systému vystavenému deficienci a v části bez deficiencie. Část kořenů vystavených nedostatku fosfátu vykazovala vyšší exudaci citrátu (Shen et al., 2005). Schopnost organických kyselin uvolňovat fosfor ze sloučenin v půdě a zvýšit tak příjem fosfátu rostlinou souvisí s přítomností karboxylových skupin. Díky nim jsou organické kyseliny schopné kompetovat s fosfátem o jeho vazebná místa v půdě, tvořit místo něj komplexy např. s Al^{3+} , Fe^{3+} nebo Ca^{2+} , což zlepšuje jeho dostupnost (Z. C. Chen & Liao, 2016).

Další důležitou skupinou látek jsou fyto siderofory uvolňované do půdy především při deficienci železa (Patra et al., 2021) (citace). Vylučování fyto sideroforů do půdy je jedním

z nejdůležitějších mechanismů, jak mobilizovat železo tak, aby se stalo dostupnějším pro rostlinu. Tato vlastnost je dominantou především rostlin jednoděložných, tedy různých druhů trav, které se vyskytují na vápenatých nebo velmi suchých stanovištích. Z chemického hlediska se jedná o neproteinogenní aminokyseliny vykazující vysokou afinitu k iontům Fe^{3+} (Dotaniya et al., 2013). Vyšší výnosnost v souvislosti s produkcí fyto sideroforů byla prokázána například u ječmene vystaveného deficienci Fe nebo Zn (Suzuki et al., 2006). Podobné výsledky byly zaznamenány i u pšenice (Garnica et al., 2018). Molekuly chelatuující hůře dostupné prvky z půdy, jako fyto siderofory, jsou uvolňovány především kořeny rostlin ze skupiny trav a vykazují vysokou afinitu k železitým iontům (Fe^{3+}). U rostlin dvouděložných pak dochází k produkci fenolů a organických kyselin. Zisk prvků, například železa, můžou dvouděložné také zprostředkovat skrz acidifikaci půdy (Degryse et al., 2008). Výrazné ovlivnění chemického půdního složení bylo zaznamenáno i v případě deficiencie železa u rostlin rajčat. Kořeny rostlin v tomto případě vylučovaly ve vyšší koncentraci větší množství metabolitů jako, jsou kumarové kyseliny a fenoly, které umožňují mobilizaci železa z těžko dostupných sloučenin. Fenoly totiž umožňují rozpustnost a následný příjem kovů Fe prostřednictvím chelatace a redukce sloučenin. Nedostatek síry či kombinovaný nedostatek obou prvků (síry a železa) naopak chemismus půdy prostřednictvím exudátů nijak výrazně nezměnil (Astolfi et al., 2020).

Z hlediska diplomové práce je důležitým aspektem variabilita reakce kořenového systému na nedostatek živin. Jak již bylo zmíněno výše, kořeny různých druhů rostlin mohou produkovat za stejných stresových podmínek odlišné typy metabolitů – glutamát při deficienci železa u kukuřice a ječmene (Carvalhais et al., 2011; Fan et al., 1997), GABA u rajčete (Astolfi et al., 2020), oxalacetát u sóji (Kiran Karthik Raj et al., 2020). Rozdíly v množství a povaze produkovaných exudátů souvisí i s adaptací rostlin na různé podmínky prostředí. Složení vylučovaných exudátů se liší například mezi rostlinami s různou adaptací k obsahu vápníku v půdě. V prostředí kalcifugních rostlin byla nalezena vyšší koncentrace exudátů v půdě, které na rozdíl od rostlin kalcifugních měly vyšší obsah di- a trikarboxylových kyselin (Ström, 1997). Množství produkovaných kořenových exudátů jednou rostlinou je navíc pestré, a tak odlišnost v produkci látek často spočívá spíše v objemu vylučovaného metabolitu. Například u *A. thaliana* bylo za deficiencie fosforu pozorováno především zvýšené uvolňování citrátu a malátu (Ziegler et al., 2016), zatímco u cukrové řepy byla při deficienci P v největším množství v kořenových exudátech zastoupena kyselina citramalová a salicylová (Khorassani et al., 2011). Intenzita sekrece organických kyselin se navíc může lišit na vnitrodruhové úrovni, což může být agronomicky významné. Např. u kultivarů ječmene nebo dýně korelovaly rozdíly

v intenzitě sekrece organických kyselin s jejich efektivitou příjmu P (Gahoonia et al., 2000; Gent et al., 2005).

Vylučování kořenových exudátů hraje také významnou roli ve vztahu k půdním mikroorganismům. Může tak docházet ke zvyšování efektivity příjmu živin prostřednictvím ustanovení symbiózy s mikroorganismy, které vytvoří s rostlinou výhodnou spolupráci právě díky metabolitům vylučovaným do půdy (Haichar et al., 2014). Rozdílné množství a složení exudátů také může selektivně působit na růst mikroorganismů v rhizosféře, které pak ovlivňují chemismus půdy a zlepšují dostupnost živin pro rostlinu. Působení mikroorganismů pak silně dominuje především v blízkosti kořenové špičky. Složky kořenových exudátů jako sacharidy nebo aminokyseliny poskytují mikroorganismům možnost chemotakticky reagovat na okolí a tvořit pak například různé formy kořenů (např. kořenové klastry) (Dennis et al., 2010). Příkladem různorodého složení exudátů je třeba studie u pšenice tvrdé, u které bylo prokázáno celkem 16 různých metabolitů vylučovaných do půdy (především cukry, např. maltóza a turanóza), což stimulovalo osídlení rhizosféry různými mikroorganismy. Hojnost osídlení mikroorganismy se lišilo mezi použitými kultivary pšenice, avšak působení exudátů zvýšilo obecně přítomnost mikroorganismů na kořenech rostlin. U některých kultivarů pak pozitivně korelovalo množství kořenových exudátů s různorodostí a množstvím půdních mikroorganismů. Při zvýšení exudace se zvýšila diverzita půdních organismů (Iannucci et al., 2021). Další specifické působení exudátů lze najít u rostlin čeledi *Fabaceae*, u nichž dochází prostřednictvím bakterií rodu *Rhizobia* k fixaci vzdušného dusíku. Tady hrají významnou roli především flavonoidy vylučované kořeny luštěnin, které stimulují expresi nod genů bakterií. To způsobuje zvýšenou syntézu Nod faktorů, které slouží k iniciaci tvorby hlízek (Coskun et al., 2017). Důležitým faktorem je také rostlinná diverzita. Čím vyšší je (a potažmo je i vyšší diverzita kořenových exudátů), tím víc se zvyšuje i různorodost mikroorganismů vyskytujících se v půdě na daném stanovišti (Sasse et al., 2018). Role kořenových exudátů může však být ve vlivu na působení mikroorganismů i negativní. Mnoho sekundárních metabolitů, jako kyselina jasmonová nebo salicylová, mohou vyvolávat obrannou reakci rostliny, kdy dochází k odpuzení negativně působících bakteriálních či houbových patogenů (Walker et al., 2003).

2.2.5 Projevy nedostatku živin na kořenovém systému rostlin

Kořeny jsou rostlinné struktury vyznačující se obrovskou plasticitou, která je zajištěna vysokou aktivitou meristémů v pletivech. Právě tato aktivita také do značné míry zasahuje do

rozvoje trojrozměrné architektury kořenových systémů. Architektura kořenů může být ale hlavně významně ovlivněna také nedostatkem některých základních esenciálních živin, které jsou v půdě rozmístěny vysoce heterogenně (Williamson et al., 2001). Mezi takové živiny lze zařadit dusík (N), fosfor (P), draslík (K) nebo (Ca), přičemž rostliny reagují na nedostatek živin různě a plasticita ve změnách kořenové architektury je velmi rozmanitá. U rostlin *Arabidopsis thaliana* lze pozorovat snížený růst kořenů za použití velmi nízkých koncentrací živin P, K, Fe, Ca a Mg. Zatímco deficiencie Fe a Mg se zdá být pro rostliny celkem fatální a kořeny těchto zasažených rostlin prorůstají jen velmi málo, u rostlin deficientních na živiny P, K a Ca se projevuje zvýšená tvorba postranních kořenů a kořenových vlásků za účelem hledání živin v půdě. Naprosto odlišná situace nastává u rostlin, u nichž byl omezen přísun dusíku, protože vykazují dlouhivý růst kořene, který není příliš větvený (Gruber et al., 2013). Kořeny si proráží cestu ke zdroji dusíku, který je rostlinou přijímán výhradně ve formě nitrátu nebo amonných iontů. Ty jsou velice mobilní a také mohou být z půdy odčerpávány pomocí procesů denitrifikace nebo vyluhování. Dostupnost nitrátu je snižována právě v důsledku vyluhování, kdy dochází k odtoku přebytečné vody spolu i s nitrátem. V případě amonných iontů pak jejich kladný náboj způsobuje, že tyto ionty jsou přitahovány půdními částicemi se záporným nábojem. Takovou přitažlivost lze jen těžko překonat, a tak se amonné ionty stávají pro kořeny rostlin nedostupnými a nedostávají se do hlubších částí půdy (Lamb et al., 2014). Stejná reakce kořenového systému na nedostatek N v prostředí byla pozorována dříve také u rostlin kukuřice, pšenice či rýže, kde dlouhé kořeny deficientních rostlin vyhledávají v půdě především dusík ve formě nitrátu (Sun et al., 2002). Velmi zajímavá je i reakce kořenů na nedostatek fosforu v půdním prostředí. Ten je přijímán kořeny ve formě fosfátového aniontu, jež je typický velmi nízkou mobilitou. Získávání tohoto iontu navíc komplikuje fakt, že fosfátový anion tvoří silnou vazbu s železnatými a hlinitými hydroxy skupinami přítomnými na jílových částicích. Ionty fosforu se tak často vyskytují spíše v mělké části půdy (Zhao et al., 2004), a proto při deficienci fosforu bývá redukována hlavní kořenová osa a energie rostliny je investována do růstu laterálních kořenů (Williamson et al., 2001). Ty sice tvoří docela hustou síť, ale bývají zpravidla krátké, a u některých rostlinných druhů mohou utvářet kořenové klastry. Ty lze ještě dále rozlišovat dle tvaru kořenového systému a množství kořenových vlásků pokrývajících laterální kořeny na proteoidní a neproteoidní (dauciformní, kapilaroidní) (Dinkelaker et al., 1995). V neposlední řadě ale také u kořenů chudých na fosfor dochází ke snížení vzdálenosti mezi kořenovou špičkou a prvním laterálním kořenem, a dále k celkovému poklesu biomasy kořenového systému (Williamson et al., 2001).

2.3 Apoplastické bariéry

Transport vody a živin kořenovým systémem rostlin je zajištěn cestou symplastickou nebo apoplastickou. Proudění roztoků apoplastickým prostorem pletiv kořene rostlin ovlivňují do velké míry apoplastické bariéry, mezi které se řadí endodermis, přítomná u drtivé většiny cévnatých rostlin, a exodermis, která není přítomna u všech cévnatých rostlin, ale lze ji najít u většího počtu rostlin krytosemenných (Damus et al., 1997; Enstone et al., 2002a; C. J. Perumalla et al., 1990; C. A. Peterson, 1988).

U endodermis i exodermis lze pozorovat přítomnost modifikací buněčných stěn v podobě Casparyho proužků a suberinových lamel, jejichž společným znakem je ukládání polymerů impregnujících buněčnou stěnu (Zeier et al., 1999). Casparyho proužky primárně obsahují molekuly hydrofobního ligninu (Naseer et al., 2012), který zajišťuje nepropustnost větších polárních molekul a iontů (Steudle, 2000) a dále lze u některých druhů detekovat i menší množství alifatických domén suberinu (Schreiber et al., 1999; Zeier et al., 1999). Obsah suberinu, který se vyznačuje hydrofobními vlastnostmi, a tudíž snižuje propustnost buněčných stěn pro vodu, se však zvyšuje s nástupem sekundárního stadia modifikace buněčných stěn, tedy ukládáním suberinových lamel vyznačujících se velmi hydrofobním charakterem.

Třetí vývojový stupeň zahrnuje depozici sekundární buněčné stěny a následně i ligninu pod primární buněčnou stěnu v oblasti radiálních a tangenciálních stěn endodermálních buněk, což připomíná na příčném řezu tvar písmene „U“ (Schreiber et al., 1999). Některé buňky si ale ponechávají primární stavbu (pouze s Casparyho proužky) poměrně dlouho v průběhu vývoje kořenového systému a nazývají se tzv. propustné buňky (C. A. Peterson & Enstone, 1996). Tyto buňky se vyskytují u xylémových pólů a umožňují snazší průchod látek přes endodermální vrstvu do středního válce a vodivých pletiv (Alassimone et al., 2010; Barberon & et al., 2016; Geldner, 2013; Naseer et al., 2012; Robbins et al., 2014).

2.3.1 Endodermis

Jak již bylo zmíněno výše, endodermis je hlavní apoplastickou bariérou kořene a jsou pro ni typické modifikace buněčné stěny ve formě Casparyho proužků, suberinových lamel, případně sekundárních buněčných stěn (Obr. 2.5). Suberinové lamely se v endodermis ukládají v sekundárním stádiu modifikace endodermálních buněčných stěn (Schreiber et al., 1999).

Uložení suberinových lamel mění transportní vlastnosti endodermální vrstvy, mění se z absorpční vrstvy na vrstvu ochrannou. Rychlost, s jakou nastupuje lignifikace Casparyho proužků a následně suberinizace endodermis, ovlivňují podmínky prostředí. U řady rostlin bylo pozorováno, že se Casparyho proužky i suberinové lamely diferencují rychleji při působení stresových faktorů jako je sucho, salinita, přítomnost toxických látek v prostředí (Karahara et al., 2004; Líška et al., 2016; Redjala et al., 2011) či nedostatek živin (Armand et al., 2019; Barberon & et al., 2016; A. Chen et al., 2019; Namyslov et al., 2020) a mohou tak významně ovlivňovat vstup nežádoucích látek do rostliny i ztráty vody z kořenů (Redjala et al., 2011; Steudle, 2000), a to díky přítomnosti ligninu a suberinu, omezujícím tok látek přes endodermální vrstvu.

Vznik endodermálních buněk probíhá v kořeni periklinálním dělením dceřiných buněk iniciál primární kůry. Za správné rozdělení a uspořádání buněk do souvislé vrstvy endodermis, ale i epidermis či primární kůry je zodpovědná skupina genů *SHORTROOT*, *SCARECROW* a *PINOCCHIO*, přičemž mutace v těchto genech vyúsťují do ztráty typického uspořádání kořene. U takto postižených rostlin (mutantů *shr*, *scr*, *pic*) pak v kořenech chybí endodermis a na jejím místě jsou patrné dvě nesouvislé řady buněk, u nichž jsou ale stále detekovatelné lignifikované Casparyho proužky. Dalším genem je *FASS*, který ovlivňuje morfogenezi, zasahuje do prodlužování buněk a orientace buněčných stěn a také do diferenciaci Casparyho proužků. Rostliny podléhající mutaci v tomto genu sice mají typickou jednovrstevnou endodermis, avšak schází v ní typické Casparyho proužky (Obr. 2.5) (Scheres et al., 1995).

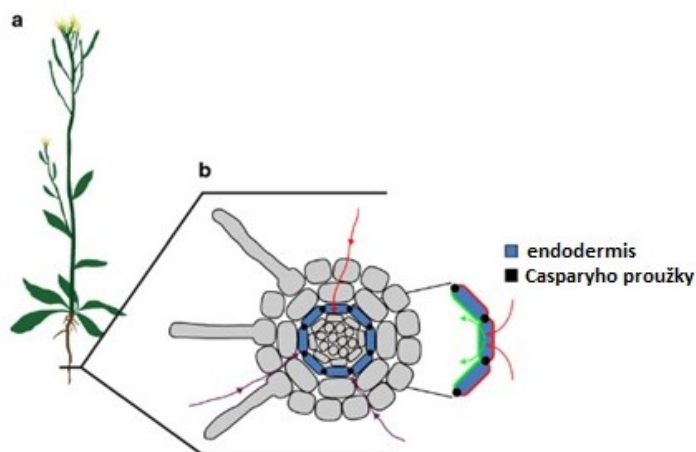
Ukládání ligninu ve formě Casparyho proužků se objevuje už velmi brzy při diferenciaci endodermální vrstvy. Lignifikaci stěn buněk předchází tvorba membránové domény, jež se ani při plazmolýze neodděluje od buněčné stěny. Tato doména se nazývá zkráceně CSD (Casparian strip membrane domain), neboli membránová doména Casparyho proužku (Alassimone et al., 2010). V oblasti této domény jsou soustředěny membránové proteiny CASP (Casparian strip membrane domain proteins), které kontrolují polymeraci ligninu tím, že pomáhají lokalizovat do oblastí vznikajícího Casparyho proužku další důležité proteiny (Roppolo et al., 2011). K takovým proteinům patří především peroxidáza 64 (PER64), dirigent protein ESB1 (Enhanced Suberin 1 protein) či NADPH oxidáza RBOHF (Respiratory Burst Oxidase Homolog F), které zodpovídají za složitý mechanismus lokalizované lignifikace buněčné stěny v místě Casparyho proužku (Kamiya et al., 2015).

V endodermis se exprimuje větší množství genů kódujících různé peroxidázy, ale právě zmíněná peroxidáza 64 je specificky lokalizována v oblasti vznikajícího Casparyho proužku.

Pro svoji aktivitu potřebuje peroxid vodíku, který vzniká díky aktivitě NADPH oxidázy RBOHF aktivované v místě vzniku Casparyho proužku. Nezbytností pro polymeraci monolignolů a konečnou formaci Casparyho proužku je však přítomnost CASP proteinů, které zajistí přesné zacílení PER64 do stěn endodermálních buněk (Lee et al., 2013).

Protein ESB1 náleží také s PER64 a RBOHF do komplexu proteinů účastnících se tvorby Casparyho proužku, a tak je také zodpovědný za produkci kompletních Casparyho proužků v endodermis a jejich správnou funkci. CASP komplex určuje přesné umístění ESB1 v buněčné stěně a ESB1 je naopak nezbytný pro správnou lokalizaci CASP proteinů do membránové domény CSD. Je tedy důležitým proteinem hrajícím roli v integritě CS, jelikož CASP proteiny se v membráně endodermální buňky nejdříve vyskytují v menších skupinkách na více místech jako malé ostrůvky, které jsou následně koncentrovány v CSD doméně. ESB1 patří mezi dirigent proteiny, jeho hlavní rolí je proto účast v polymeraci ligninu v buněčné stěně v místě vznikajícího Casparyho proužku (Hosmani et al., 2013).

Dále bylo také zjištěno, že pozitivní regulace všech těchto proteinů je řízena transkripčním faktorem MYB36, který pozitivně reguluje expresi *CASP* genů i *PER64* a *ESB1*. U rostlin zasažených mutací v *MYB36* pak lze pozorovat ztrátu typických Casparyho proužků a naopak dochází k ektopické distribuci ligninu, ale i suberinu, v buňkách endodermis (Kamiya et al., 2015).



Obr. 2.5:

Schéma endodermis kořenů rostlin.

a) rostlina *Arabidopsis thaliana*,
 b) řez kořenem *A. thaliana*.
 Převzato a upraveno od
 (Alassimone et al., 2012).

2.3.2 Exodermis

U řady rostlinných druhů se kromě endodermis v kořeni diferencuje také exodermis. Exodermis je forma hypodermis obsahující modifikace buněčné stěny ve formě Casparyho proužků a suberinových lamel (Steudle & Peterson, 1998). Jedná o vnější vrstvu buněk primární kůry těsně pod pokožkou a může tedy hrát významnou roli v ochraně celého kořene vzhledem ke své lokalizaci (Kamula et al., 1994; C. Perumalla et al., 2008).

Exodermis se nevyskytuje u všech rostlinných druhů (C. A. Peterson & Perumalla, 1990) a její přítomnost v kořeni velmi často závisí na podmínkách okolního prostředí (například na dostupnosti vody, viz dále v textu). Pro každou rostlinu mohou být podmínky pro tvorbu exodermis odlišné v důsledku vysoké variability a přizpůsobení se rostlin danému stanovišti. Buňky exodermis tvoří souvislou vrstvu bez mezibuněčných prostor. U řady rostlinných druhů lze pozorovat přítomnost pouze jednovrstevné exodermis (Enstone et al., 2002a), u některých druhů je exodermis i vícevrstevná (Meyer et al., 2009). Typicky Casparyho proužky zaujímají prostor části radiálních stěn buněk. U některých rostlin (například z podčeledi *Asclepiadoideae*) ale bývají lignifikovány i celé tangenciální stěny buněk (C. J. Perumalla et al., 1990). U rostlin s vícevrstevnou exodermis lignifikace tangenciálních stěn vede ke vzniku Casparyho proužků, které mají na příčném řezu kořenem tvar písmene H nebo Y (F. Ma & Peterson, 2003).

Diferenciace Casparyho proužků v exodermis probíhá většinou později než v endodermis, a proto jsou detekovatelné ve větší vzdálenosti od špičky kořene. Existují však i výjimky, např. mokřadní rostliny, u kterých se exodermis diferencuje dříve než endodermis (Soukup et al., 2002). Na rychlost diferenciace exodermálních Casparyho proužků mají však

velký vliv podmínky okolního prostředí, a to především aktuálně působící stres na rostlinu (Líška et al., 2016; Namyslov et al., 2020).

Exodermální Casparyho proužky omezují apoplastický transport podobně jako ty endodermální. V případě nepřítomnosti exodermis a Casparyho proužků v kořenech mohou látky z rhizosféry víceméně neomezeně difundovat apoplastem primární kůry až po bariéru ve formě Casparyho proužků v endodermis, kde musí být látky přeloženy do symplastické transportní dráhy. Pokud je v kořenech přítomna exodermis s vyvinutými Casparyho proužky, apoplastický transport je zastaven již pod pokožkou. Pokud jsou navíc v exodermis uloženy i suberinové lamely, látky pak přecházejí do symplastu již na úrovni epidermálních buněk a transport pak značně závisí na absorpčních schopnostech epidermis. Také v exodermis se ale mohou vyskytovat propustné buňky, které dovolují vyšší prostupnost pro vodu, ionty minerálních živin a další látky (C. A. Peterson, 1988).

Diferenciace exodermis je vázána téměř výhradně na rostliny krytosemenné. Jen vzácně se vyskytuje i u rostlin nahosemenných, např. u *Ginkgo biloba* (Bonacorsi & Seago Jr, 2016) nebo cévnatých výtrusných, například u rostlin z rodu *Equisetum* a *Selaginella* (Damus et al., 1997). U velkého množství čeledí rostlin krytosemenných byla testována a následně i prokázána přítomnost exodermis s lignifikovanými Casparyho proužky, jednalo se například o čeledi *Cactaceae*, *Lamiaceae*, *Rosaceae*, *Araceae*, *Liliaceae* a mnoho dalších. Casparyho proužky se netvořily u rostlin z čeledi *Geraniaceae* nebo některých *Poaceae*, u jiných pak (*Malvaceae*, *Fabaceae*, atd) exodermis chyběla úplně (C. J. Perumalla et al., 1990). Obecně lze však říci, že u většiny testovaných rostlin krytosemenných detekujeme Casparyho proužky v exodermis, a jejich přítomnost také často koreluje s přítomností suberinových lamel. Stále však zbývá ověřit na přítomnost exodermis velký počet rostlin, a proto nelze s jistotou konkrétně říci, jaké množství čeledí rostlin opravdu tuto bariéru tvoří (C. A. Peterson & Perumalla, 1990).

Přítomnost exodermis a vzdálenost za kořenovou špičkou, ve které se diferencuje, může pro kořeny rostlin hrát významnou roli, protože ovlivňuje tok látek z půdního prostředí do apoplastu primární kůry (Enstone et al., 2002b; Sattelmacher, 2001). Podmínky, v nichž rostlina vyrůstá a tvoří svůj kořenový systém, silně ovlivňují tvorbu exodermis a její diferenciaci. Rozvoj exodermis a její dozrávání se liší v prostředí hydroponickém, půdním, či vzdušném, ale také napříč všemi rostlinnými druhy. Například u rostlin *Zea mays* je diferenciace exodermis v hydroponickém prostředí opožděna na rozdíl od aeroponického prostředí, kde se exodermis formuje rychleji (blíže ke špičce kořene). Tyto kořeny pak vykazují nižší hydraulickou

vodivost, a to především pokud jsou v exodermis přítomny Casparyho proužky i suberinové lamely (Freundl et al., 2000; Zimmermann & Steudle, 1998). Snížení toku vody a iontů apoplastem tedy nastává ve chvíli, kdy se rostlina potýká se stresem (což do jisté míry představuje právě i pěstování pomocí aeroponie v porovnání s hydroponií), protože diferenciace exodermis je rychlejší. Diferenciace exodermis je stimulována celou řadou stresových faktorů jako je salinita (Reinhardt & Rost, 1995), sucho (Canto-Pastor et al., 2022), přítomnost toxických látek (Demchenko et al., 2005; Vaculík et al., 2012), nízká dostupnost kyslíku (Soukup et al., 2007) nebo živin (Armand et al., 2019; Janoušková, 2018; Namyslov et al., 2020; Schreiber et al., 2005), viz následující kapitola.

2.3.3 Reakce exodermis na působení abiotických stresových faktorů

Jak již bylo zmíněno výše, exodermis představuje důležitou součást reakce řady rostlinných druhů na nepříznivé podmínky okolního prostředí. Např. má úlohu v ochraně kořene před ztrátami vody (Enstone & Peterson, 2005) nebo vstupem toxických látek (Redjala et al., 2011). Důležitým aspektem je proto plasticita jejího vývoje v odpovědi na podmínky prostředí, kdy se exodermis často tvoří rychleji při působení abiotických stresových faktorů, což může být například vysoká salinita nebo pH dále pak vysoký obsah těžkých kovů v prostředí (Degenhardt & Gimmler, 2000), zaplavení nebo nízká dostupnost minerálních látek (R. Peterson, 1992). Níže budou uvedeny příklady působení vybraných stresorů.

Různé druhy rostlin reagují na tyto stresové podmínky odlišně. Některé exodermis tvoří i za nestresových podmínek, u jiných je diferenciace podstatně pomalejší nebo se neobjevuje vůbec. Působení sucha, tedy nedostatku vody v půdě, často výrazně zrychluje diferenciaci exodermis. To bylo pozorováno například u *S. lycopersicum* (Canto-Pastor et al., 2022), *Myrica rubra* (Song et al., 2011), *Allium cepa* (Stasovski & Peterson, 1993) nebo *Iris germanica* (Meyer et al., 2009). Příkladem jsou i kultivary rýže *Oryza sativa*, kde lze pozorovat různý stupeň diferenciace endodermis nebo exodermis při působení sucha (Mostajeran & Rahimi-Eichi, 2008). V přírodě může však nastat i opačný problém, tedy stres ze zaplavení, kdy je půda nasycena vodou, což snižuje dostupnost kyslíku pro kořeny rostlin a zvyšuje přítomnost redukovaných sloučenin v rhizosféře, které na kořeny mohou působit negativně (Kozłowski, 1984). V takovém případě je u rostlin klíčové nejenom formování aerenchymu, tedy pletiva zajišťující rostlině zásoby kyslíku i ve vodním prostředí (Lin et al., 2022), ale i rychlá diferenciace exodermis, která chrání kořen před ztrátami kyslíku i vstupem toxických látek. To

je zřejmě důvodem, proč se u mokřadních rostlin exodermis diferencuje velmi blízko špičky kořene (Armstrong & Armstrong, 2005; Ejiri & Shiono, 2019; Soukup et al., 2002, 2007).

Dalším důležitým faktorem ovlivňujícím diferenciaci exodermis může být nadměrné množství těžkých kovů v prostředí. Některé z nich jsou esenciální živiny, například železo, mangan, měď nebo zinek. Některé jsou toxické kovy (například kadmium, olovo nebo chrom), které rostlina k růstu nepotřebuje. V obou případech jsou nicméně ve vysokém množství pro rostlinu toxické, což se projevuje velkým množstvím různých symptomů. Příjem těchto kovů je proto rostlinou do značné míry kontrolován a podílí se na tom i přítomnost apoplastických bariér. I v tomto případě lze pozorovat odpověď exodermis na přítomnost těžkých kovů, a to v podobě rychlejší diferenciaci. S vyšší koncentrací některých těžkých kovů (např. olovo, zinek a měď) se zvyšuje i podíl ligninu a suberinu v buňkách endodermis a exodermis rostlin (Cheng et al., 2014). U rostlin *Zea mays* pak byla zase prokázána v experimentech vysoká citlivost ke kadmiu, kde se exodermis při působení toxicity kadmia diferencuje v kořenech rychleji a dokonce se lokálně diferencuje hlavně v místě kontaktu s těžkým kovem, což bylo pozorováno na kořenech umístěných mezi dvě agarové desky s rozdílným obsahem kadmia (Líška et al., 2016).

Vývoj exodermis je urychlen také v prostředí s vyšší salinitou, což bylo dokumentováno např. u *Z. mays* (Shen et al., 2015) nebo při nadbytku amonných iontů v prostředí (Ranathunge et al., 2016).

2.3.4 Vliv nedostatku živin na exodermální vrstvu

Vzhledem k orientaci této práce na vliv nedostatku živin v souvislosti s diferenciací exodermis je potřeba zmínit i reakce některých rostlin na nízkou dostupnost látek důležitých pro jejich růst a vývoj. Reakce na nedostatek živin je u rostlin velmi variabilní, rostliny mohou reagovat odlišně buď zrychlením nebo zpomalením diferenciaci exodermis. Práci na toto téma doposud není mnoho, ale ty, které již existují, dokazují, že maturace apoplastických bariér závisí i na variantě výživy. Několik dosavadních prací se zaměřilo na pěstování rostlin za nedostatku dusíku. Ukázalo se, že v případě rostlin *Ricinus communis* L. byla snížena subernizace hypodermálních vrstev, což bylo autory diskutováno jako možnost usnadnění příjmu živin z půdy díky jejich snazší difuzi pro prostoru primární kůry (Schreiber et al., 2005). Naopak u rostlin *Zea mays* (Gargoš, 2021; Namyslov, 2018; Namyslov et al., 2020) a *Hordeum*

vulgare (Armand et al., 2019; Janoušková, 2018) je depozice ligninu a suberinu v bariérách (exodermis i endodermis) urychlena. Armand a kolegové ve své práci spekulují, že rychlejší diference bariér snižuje hydraulickou vodivost kořene, čímž je omezen přísun vody do kořene a následně do prýtu, což umožňuje regulaci poměru podzemní a nadzemní části, tj. upřednostnit růst kořenového systému (Armand et al., 2019). Zrychlením diference exodermis reagovaly některé rostliny i na deficienci fosforu – např. *Zea mays* (Namyslov, 2018; Namyslov et al., 2020) a *Hordeum vulgare* (Armand et al., 2019). U tří druhů *Carex* pak byla popsána rychlejší diference hypodermálních vrstev v oligotrofních oproti eutrofním podmínkám (Končalová et al., 1993).

Další práce sledovaly vliv deficiencie na vývoj endodermis rostlin *A. thaliana*, kde bylo ukládání suberinových lamel zrychleno v případě deficiencie draslíku, což autoři vysvětlují jako strategii rostliny udržet homeostázi draslíku v buňkách prevencí jeho úniku zpět do rhizosféry. Naopak zpomalení suberinizace bylo pozorováno při deficienci železa (Barberon & et al., 2016). Na *A. thaliana* bylo také ukázáno, že odpověď endodermis na deficienci je zřejmě podmíněna i mírou deficiencie, protože při mírnější deficienci manganu byla její suberinizace zpožděna, při hlubší deficienci naopak zrychlena (A. Chen et al., 2019).

Tyto výše zmíněné práce naznačují, že reakce exodermis a endodermis na dostupnost živin může být významným faktorem, který rostlinám pomáhá optimalizovat transportní vlastnosti kořenového systému. Naznačují také ale relativně značnou variabilitu reakce apoplastických bariér na deficienci (mezi druhy i živinami). To může být vysvětleno různými aspekty (různou pohyblivostí jednotlivých živin v půdě i uvnitř rostliny, mírou deficiencie nebo mezidruhovými rozdíly, kdy různé rostlinné druhy mohou volit různé strategie reakce). Pro přesnější pochopení je proto nutné tuto variabilitu prozkoumat, což je hlavním cílem této diplomové práce.

3 Metodika

Celá experimentální část práce byla zaměřena na analýzu kořenového systému vybraných rostlinných druhů, které byly vystaveny deficientním podmínkám v hydroponickém nebo *in vitro* prostředí. Byl prověřován vliv deficiencie vybraných esenciálních živin důležitých pro růst a vývoj rostlin na diferenciaci apoplastických bariér (endodermis a především exodermis). Kořenový systém byl vystaven nedostatku živin jako celek nebo pouze jeho část, kde byla zkoumána lokalizovaná odpověď kořenového systému. Cílem bylo analyzovat mezidruhovou i vnitrodruhovou variabilitu v odpovědi exodermis na deficienci a také lokalizovanou odpověď kořenů na lokálně působící deficienci v dělené (split-root) kultivaci.

3.1. Experiment 1: Analýza mezidruhové variability v reakci exodermis na podmínky deficiencie

Rostlinný materiál a kultivace rostlin

K analýze rychlosti diferenciacie exodermis v podmínkách deficiencie živin byly použity následující rostlinné druhy jednoděložných a dvouděložných rostlin (Tabulka 3.1).

Jednoděložné rostliny	Dvouděložné rostliny
<i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench čirok dvoubarevný	<i>Helianthus annuus</i> L. slunečnice roční
<i>Triticum aestivum</i> L. pšenice setá	<i>Linum usitatissimum</i> L. len setý
	<i>Solanum lycopersicum</i> L. lilek rajče

Tabulka 3.1: Jednoděložné a dvouděložné rostliny vybrané pro experiment 1

<i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench	VÚRV Ruzyně, Genová banka
<i>Triticum aestivum</i> L.	ÚKZÚZ, ISTA laboratoř
<i>Linum usitatissimum</i> L.	Osiva Moravia s.r.o.
<i>Helianthus annuus</i> L.	Vitafood SL ŽV
<i>Solanum lycopersicum</i> L.	Moravo Seed CZ a.s.

Tabulka 3.2: Semena použitá ke kultivacím a jejich dodavatelé

Všechny rostlinné druhy byly pěstovány ze semen (Tabulka 3.2). Pro klíčení byla semena jednotlivých druhů rostlin rovnoměrně rozprostřena do Petriho misek vyložených vlhkým filtračním papírem a umístěna do termostatu, kde byla zajištěna stálá teplota 25 °C. Po 72 hodinách klíčení byly semenáčky z termostatu vyjmuty a přeneseny do hydroponických kultivačních nádob.

V kultivační místnosti byly připraveny nádoby o objemu 12 l naplněné Hoaglandovým roztokem (živný Hoaglandův roztok III (Hoagland & Arnon, 1950)) dle protokolu (Laštůvka & Minář, 1967) sestávajícím z destilované vody a přídavku potřebných makroprvků a mikroprvků. Složení kontrolního roztoku a roztoku s jednotlivými deficiencemi živin popisuje Tabulka č. 3.3 a 3.4, kdy celkem bylo použito 5 nádob s roztoky v následující sestavě: kontrolní varianta, N deficientní varianta (-N), P deficientní varianta (-P), K deficientní varianta (-K) a Fe deficientní varianta (-Fe). Tyto roztoky a jejich složení simulují deficienci vybraných živin. Složení roztoků kontrolní varianty odpovídá koncentracím makroprvků takto: 3,75 mM dusíku; 0,25 mM fosforu; 1,25 mM vápníku; 0,25 mM hořčíku; 1,5 mM draslíku a 0,01 mM železu. V deficientních variantách byl vždy vynechán jeden prvek.

Makroprvky (mg/l)	Kontrolní roztok	Roztok s deficiencí N	Roztok s deficiencí Fe	Roztok s deficiencí K	Roztok s deficiencí P
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	295,5	0	295,5	443,27	295,5
KNO ₃	126,5	0	126,5	0	126,5
KH ₂ PO ₄	34	34	34	0	0
MgSO ₄ ·7H ₂ O	61,4	61,4	61,4	61,4	61,4
CaCl ₂ ·H ₂ O	0	162,1	0	0	0
K ₂ SO ₄	0	108,8	0	0	21,76
NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O	0	0	0	38,7	0

Tabulka 3.3: Složení kultivačních roztoků - makroprvky. Varianty kontrolní, deficientní na dusík, deficientní na železo, deficientní na draslík a deficientní na fosfor.

Mikroprvky ($\mu\text{g/l}$)	Kontrolní roztok	Roztok s deficiencí N	Roztok s deficiencí Fe	Roztok s deficiencí K	Roztok s deficiencí P
Fe citrát	5	5	0	5	5
H ₃ BO ₃	0,715	0,715	0,715	0,715	0,715
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,453	0,453	0,453	0,453	0,453
ZnSO ₄	0,056	0,056	0,056	0,056	0,056
(NH ₄) ₂ Mo ₇ O ₂₄	0,019	0,019	0,019	0,019	0,019
CuSO ₄	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020

Tabulka 3.4: Složení kultivačních roztoků - mikroprvky. Varianty kontrolní, deficientní na dusík, deficientní na železo, deficientní na draslík a deficientní na fosfor.

Při přípravě jednotlivých variant roztoků bylo nutné v co největší míře dodržet shodné koncentrace všech ostatních prvků s výjimkou studovaného prvku. Ve variantě -N byl proto dorovnán obsah Ca a K, a to ve formě CaCl₂.H₂O a K₂SO₄. Ve variantě -P byl dorovnán obsah K ve formě K₂SO₄. Ve variantě -K byl dorovnán obsah N ve formě Ca(NO₃)₂.4H₂O a P ve formě NaH₂PO₄.2H₂O (viz Tabulka 3.3).

Z Petriho misek vyjmutých z termostatu byly vybrány zhruba stejně velké semenáčky, které byly umístěny po třech kusech mezi dva molitanové pásky vložené mezi dvě skleněné lišty a upevněny na koncích měkkým drátkem. Takto byly semenáčky v celkovém počtu devíti kusů na jednu nádobu zavěšeny do kultivačních nádob tak, aby byly kořeny ponořeny v kultivačním roztoku (viz Obr. 3.1). Pro zajištění okysličování kultivačního roztoku bylo do každé z nádob umístěno vzduchování (standartní vzduchovací motorek pro akvárium) a hladina roztoku byla zasypána malými kousky mirelonu, který omezuje růst řas stíněním roztoku. Rostliny byly takto pěstovány v kultivační místnosti s denní fotoperiodou trvající 16 hodin s teplotou 22 °C a s noční periodou trvající 8 hodin s teplotou 18 °C. Následně byly roztoky pravidelně (celkem 4x za kultivační období) vyměněny v nádobách za roztoky čerstvé pro udržení konstantního obsahu makroprvků a mikroprvků dostupných pro rostliny a takto byly rostliny pěstovány při stejných podmínkách do samotného odběru rostlin.

Po 14 dnech kultivace rostlin byl proveden odběr nadzemních částí i kořenového systému rostlin. Bylo sklizeno vždy 5-7 rostlin z každé varianty a byly měřeny délky jejich kořenového systému i prýtu, byla zvážena čerstvá hmotnost prýtu (FW, fresh weight) a po vysušení při 65 °C po dobu 5 dní i sušina prýtu (DW, dry weight). Byla také provedena detailní

anatomická analýza kořenů jednotlivých rostlin, která bude popsána v kapitole 3.5. Kořeny byly za tímto účelem po odběru fixovány v roztoku 4% formaldehydu v destilované vodě.



Obr. 3.1: Uspořádání hydroponické kultivace s rostlinami upevněnými mezi skleněné lišty s molitanem, na hladině kultivačního roztoku jsou kousky mirelonu pro stínění. Vlevo na počátku kultivace, vpravo rostliny těsně před odběrem.

3.2. Experiment 2: Analýza vnitrodruhové variability v reakci exodermis na podmínky deficiencie živin

Rostlinný materiál a kultivace rostlin

Pro analýzu vnitrodruhové variability reakce exodermis na deficienci živin bylo vybráno 7 kultivarů *Zea mays* různých růstových vlastností (Cebesto, Cemora, Ceplan, Celate, Cewel, Cesone, Cegrad) poskytnuté firmou Oseva Bzenec a.s.

Pro aktivaci klíčení byly obilky kukuřic ponechány po dobu 30 minut ve vlažné vodě a následně, podobně jako u ostatních rostlinných druhů, vyskládány do Petriho misek s navlhčeným filtračním papírem. Takto připravené misky byly ve vertikální poloze uloženy do termostatu, který byl nastaven na stálou teplotu 28 °C. Po 72 hodinách byly semenáčky kukuřic z termostatu přeneseny do hydroponických kultivačních nádob, kde byl každý kultivar postupně pěstován ve třech variantách kultivačního roztoku, v kontrolní variantě, deficienci dusíku a deficienci fosforu. Do nádob s roztoky byly umístěny semenáčky o zhruba stejné velikosti, které byly vloženy v počtu deseti kusů do plovoucí mřížky. V roztoku bylo umístěno vzduchování pro zachování okysličeného prostředí a také vrstva kousků mirelonu k zabránění růstu řas. Kultivační roztoky byly vyměněny 4x během 14 dnů kultivace. Složení kultivačních

roztoků a světelné a teplotní podmínky v kultivační místnosti byly stejné jako pro Experiment 1 (viz kapitola 3.1).

Celkově byly takto provedeny tři po sobě jdoucí kultivace. V první kultivaci bylo všech sedm kultivarů pěstováno v kontrolní variantě kultivačního roztoku. Bylo tedy celkem připraveno 7 nádob, v nichž v každé byl pěstován jeden kultivar kukuřice samostatně. Po dvou týdnech byl proveden odběr rostlin v počtu devíti rostlin na variantu, kdy byly měřeny stejné biometrické parametry jako u rostlin v Experimentu 1 (viz kapitola 3.1.) a odebrány primární kořeny pro následnou anatomickou analýzu (viz kapitola 3.5). Tento postup kultivace byl zopakován ještě dvakrát s časovým odstupem a každá kultivace se lišila použitými kultivačními roztoky. Druhá kultivace byla provedena za podmínek deficiencie dusíku, třetí s deficiencí fosforu.

3.3. Experiment 3: Analýza lokalizované odpovědi u rostlin *Helianthus annuus*

Rostlinný materiál a kultivace rostlin

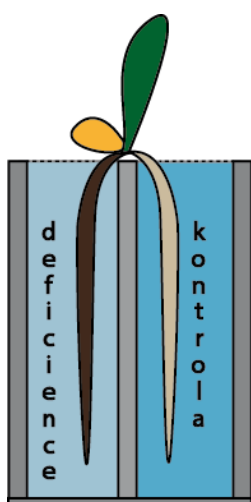
Pro analýzu lokalizované odpovědi kořenového systému na deficienci byla vybrána dvouděložná rostlina *Helianthus annuus*.

Semena slunečnic byla umístěna do výsevní nádoby (plastový paňiček s ventilací) se substrátem (směs kompostové země, rašeliny a písku v poměru 1:1:1, sterilizovaná pomocí autoklávu (Prestige Medical), po dobu 20 minut při vysoké teplotě (121 °C) a vysokém tlaku (101,3 kPa). Takto připravená nádoba byla umístěna do kultivační místnosti s denní fotoperiodou trvající 16 hodin s teplotou 22 °C a s noční periodou trvající 8 hodin s teplotou 18 °C. Semenačky byly pravidelně zalévány destilovanou vodou podle potřeby.

Po vyklíčení rostlin byly vybrány podobně velké semenáčky, jimž byla ustřižnuta hlavní kořenová osa (primární kořen) v pozici $\frac{3}{4}$ délky od špičky kořene (Obr. 3.3). Tyto rostliny byly umístěny do plovoucí sítě do plastové nádoby (15 l) s kontrolním roztokem, kde proběhlo předpěstování rostlin. Byl použit modifikovaný roztok Hoagland 3 (Hoagland & Arnon, 1950) zředěný na $\frac{1}{4}$ a s přidavkem mikroprvků (Laštůvka & Minář, 1967). Varianta roztoku byla kontrolní dle Tabulky 3.3 a 3.4. Do takto připravené nádoby byly na hladinu umístěny malé kousky mirelonu pro zabránění růstu řas a bylo umístěno vzduchování. Nádoba byla umístěna v kultivační místnosti s denní fotoperiodou trvající 16 hodin s teplotou 22 °C a s noční periodou trvající 8 hodin s teplotou 18 °C. Předpěstování trvalo celkem 11 dní.

Po této době byly rostliny přesunuty do nádob sloužících pro dělenou (split-root) kultivaci. Byly vybrány rostliny s podobně dlouhou masou kořenového systému. Kultivační nádoby pro dělenou kultivaci měly celkový objem 13 litrů a byly rozděleny přepážkou na dva segmenty (2 x 6,5 l). V jedné části nádoby (segmentu) byl roztok kontrolní a v druhé části roztok deficientní na dusík (viz Tabulka 3.3 a 3.4 a Obr. 3.2).

Do jedné dělené nádoby byly vloženy 4 rostliny *H. annuus* tak, že v každé polovině nádoby byla zhruba stejná biomasa kořenů a báze prýtu byla umístěna na dělicí přepážce nádoby. Prýty rostlin byly pro stabilizaci upevněny k nádobě pomocí mirelonových kousků. Do obou částí nádoby bylo zavedeno jedno vzduchování. Rostliny byly celkem takto pěstovány 14 dnů, během kterých došlo 2x k výměně roztoků za čerstvé. Celkem takto bylo pěstováno 8 rostlin. Kultivační podmínky (teplota a světelný režim) byly stejné jako v předchozí fázi kultivace.



Obr. 3.2. Schéma dělené (split-root) kultivace rostlin. Vlevo segment nádoby s kontrolní variantou roztoku, vpravo segment s dusík deficientní variantou. Převzato od (Namyslov et al., 2020)

3.4. Experiment 4: Reakce endodermis *Arabidopsis thaliana* na podmínky deficiencie

Pro analýzu rychlosti diferenciacie endodermis *A. thaliana* v reakci na deficienci vybraných živin (N, P, K, Fe) byla použita semena *A. thaliana*, ekotyp Columbia 0 (Col 0) poskytnutá NASC (kód N60000, The European *Arabidopsis* Stock Centre, <https://arabidopsis.info>).

Semena *A. thaliana* byla ve sterilním prostředí laminárního boxu (FlowBox Thermo Scientific, Trigon Plus) vystavena působení dezinfekčního roztoku (15% roztok chlornanu sodného (SAVO) s 1% tritonem v destilované vodě) po dobu 10 minut a následně byla dvakrát opláchnuta sterilní destilovanou vodou a ve třetí várci vody byla semena ponechána do výsevu.

Makroprvky (mg/l)	Kontrolní roztok	Roztok s deficiencí N	Roztok s deficiencí Fe	Roztok s deficiencí K	Roztok s deficiencí P
KNO ₃	380	5	380	0	380
KH ₂ PO ₄	34	34	34	0	0
MgSO ₄ ·7H ₂ O	74	74	74	74	74
CaCl ₂ ·2H ₂ O	88	88	88	88	88
NaNO ₃	0	0	0	320	0
NaH ₂ PO ₄	0	0	0	39	0
KCl	0	38,8	0	0,03	2,4

Tabulka 3.5: Složení kultivačních medií - makroprvky. Varianty kontrolní, deficientní na dusík, deficientní na železo, deficientní na draslík a deficientní na fosfor.

Mikroprvky (µg/l)	Kontrolní roztok	Roztok s deficiencí N	Roztok s deficiencí Fe	Roztok s deficiencí K	Roztok s deficiencí P
H ₃ BO ₃	1240	1240	1240	1240	1240
CoCl ₂ · 6H ₂ O	5	5	5	5	5
CuSO ₄ · 5H ₂ O	5	5	5	5	5
Na ₂ -EDTA	7452	7452	246	7452	7452
FeSO ₄ · 7H ₂ O	5560	5560	183,5	5560	5560
MnSO ₄ · xH ₂ O	3380	3380	3380	3380	3380
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	50	50	50	50	50
KI	166	166	166	166	166
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	1720	1720	1720	1720	1720

Tabulka 3.6: Složení kultivačních medií - mikroprvky. Varianty kontrolní, deficientní na dusík, deficientní na železo, deficientní na draslík a deficientní na fosfor.

Pro kultivaci byla připravena 0,2 x MS média (MS medium s obsahem živin sníženým na 1/5) (Murashige & Skoog, 1962) ve variantách kontrolního média a média s deficiencí dusíku, fosforu, draslíku a železa dle protokolu Mgr. Marka Šustry (Tabulka 3.5 a 3.6) (Šustr, 2015). Koncentrace N v -N variantě byla 50 µM, P v -P variantě 0 µM, K v -K variantě 15 µM, Fe v -Fe variantě 0,7 µM. Ve všech případech však byla tato koncentrace ještě navýšena o prvek

přítomný v agaru, přesná analýza zastoupení těchto prvků v agaru ale nebyla provedena. Média obsahovala 1% sacharózu a 1% agar (Kobe) na ztužení média. U připravených medií bylo upraveno pH na 6,0 pomocí 2,0 M KOH (v případě roztoku deficientního na draslík pomocí 2,0 M NaOH) a medium bylo sterilizováno pomocí autoklávu (Tuttnauer Autoclave, 2540 MK), po dobu 20 minut při vysoké teplotě (121 °C) a vysokém tlaku (101,3 kPa).

Médium bylo rozlito do čtvercových Petriho misek (10 x 10 cm). Po ztuhnutí agaru byla na plotny vyseta pomocí pipety se sestřiženou špičkou semena *A. thaliana* v počtu 6 semen na misku. Sterilně uzavřené misky byly přeneseny do chladové místnosti (4 °C) pro zajištění jarovizace semen, kde zůstaly po dobu 72 hodin. Poté byly přemístěny do kultivační místnosti, kde byly rostliny pěstovány po dobu 7 dní při teplotě 21 °C a fotoperiodě 16 h světla a 8 h tmy. Po 7 dnech byly celé rostliny *A. thaliana* vyjmuty z misek a fixovány 4 % roztokem formaldehydu pro následnou anatomickou analýzu (viz kapitola 3.5.).

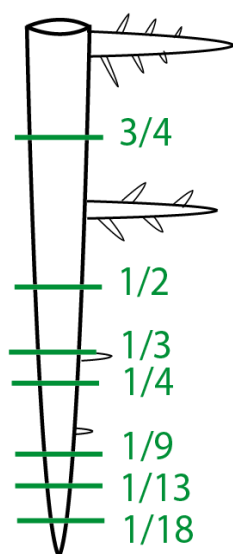
3.5. Anatomická analýza kořenů rostlin

3.5.1. Anatomická analýza kořenů rostlin z experimentu 1-3 (pro analýzu mezidruhové variability, vnitrodruhové variability a lokalizované odpovědi)

Pro detailní anatomickou analýzu byly používány kořeny rostlin po 14 dnech kultivace v kultivačním roztoku.

Anatomická analýza rozsahu vývoje apoplastických bariér zahrnovala dvě části. V první – pilotní – části byly hledány pozice na kořeni, které byly vhodné pro hlavní anatomickou analýzu. Nejdříve byly vybrány dva kořeny, jeden kontrolní a jeden deficientní na dusík, jelikož na něm se většinou deficiencie projevuje nejsilněji. Následně byly kořeny řezány v různých pozicích podél osy kořene (Obr. 3.3). Řezy byly obarveny a byla vybrána taková pozice, kde bylo patrné, že se exodermis již diferencuje, ale její diferenciaci ještě není kompletní, případně jsou vidět rozdíly v diferenciaci exodermis mezi variantami. Pozice se u jednotlivých rostlinných druhů lišily a vyskytovaly se i velmi blízko za špičkou.

Po nalezení vhodné pozice následovala hlavní anatomická analýza. Pro tu bylo použito 5 podobně vyvinutých kořenů z každé varianty, tedy z kontroly a deficiencí N, P, K a Fe.



Obr. 3.3: Schéma pozic na kořeni; převzato a upraveno od (Namyslov, 2018).

Příprava řezů a histochemické barvení

Příčné řezy (tloušťka řezu 100 μm) byly získávány pomocí ručního mikrotomu (Soukup, 2014). Pro následné histochemické barvení byly řezy sbírány do sítěk s destilovanou vodou na barvicích destičkách. Histochemická analýza zahrnovala detekci Casparyho proužků a suberinových lamel.

Casparyho proužky: Pro vizualizaci lignifikovaných Casparyho proužků byly řezy nejdříve jednu hodinu umístěny do roztoku berberin hemisulfátu (0,1 % w/v aq.) (Brundrett et al., 1988), po této době byly řezy opláchnuty destilovanou vodou a 10 minut byly barveny genciánovou violetí (0,05 % w/v aq.), opláchnuty destilovanou vodou a umístěny do kapky 65% glycerolu na podložním skle. Takto připravené řezy kořenů byly uchovávány v chladu v lednici.

Suberinové lamely: Pro detekci suberinu bylo použito barvení pomocí barviva Sudan Red 7B (Brundrett et al., 1991), kam byly řezy umístěny na jednu hodinu. Roztok Sudanu Red 7B (0, 1% w/v v PEG s glycerolem) byl připraven podle protokolu dle (Soukup, 2014). Po dokončení barvení Sudanem byly řezy opláchnuty 1% SDS (sodiumdodecylsulfát) a destilovanou vodou tak, aby bylo vymyto veškeré nadbytečné barvivo. Takto připravené řezy byly umístěny do kapky 65% glycerolu na podložním sklíčku.

Pozorování suberinových lamel a Casparyho proužků probíhalo za použití mikroskopu Olympus BX51. V případě Casparyho proužků byla pozorována fluorescence po excitaci UV světlem (použit filtr UV Olympus U-MWU). Pro zaznamenávání fotek byly použity kamery Apogee U4000 a Nikon Digital Sight DS – U3.

Pod mikroskopem jsem pozorovala přítomnost Casparyho proužků a suberinových lamel v exodermis i v endodermis. Pokud byly Casparyho proužky a suberinové lamely v řezech přítomny, pak jsem zaznamenávala přibližný počet buněk s těmito modifikacemi v rámci dané vrstvy (exodermis nebo endodermis) a na základě toho jsem přiřadila řezy do jednotlivých kategorií dle stupně diferenciaci exodermis a endodermis, které vysvětluje tabulka níže (Tabulka č. 3.7).

Kategorie	Počet buněk s Casparyho proužky (CP) nebo suberinovými lamelami (SL) v exodermis nebo v endodermis
0	Žádné buňky dané vrstvy neobsahovaly CP nebo SL
1	$\pm \frac{1}{4}$ buněk dané vrstvy obsahovala CP nebo SL
2	$\pm \frac{1}{2}$ buněk dané vrstvy obsahovala CP nebo SL
3	$\pm \frac{3}{4}$ buněk dané vrstvy obsahovala CP nebo SL
4	Všechny buňky dané vrstvy obsahovaly CP nebo SL

Tabulka 3.7: Kategorie popisující přibližný počet buněk, které obsahují Casparyho proužky nebo suberinové lamely v exodermis nebo v endodermis.

3.5.2. Anatomická analýza vývoje dalších pletiv kořene – porovnání kořenů *Linum usitatissimum* a *Sorghum bicolor* z experimentu 1

Pro detailní anatomickou analýzu byly používány primární kořeny rostlin po 14 dnech kultivace v kultivačním roztoku. Byly vybrány dvě rostliny. Jedna ze skupiny dvouděložných (*Linum usitatissimum*), u nichž dochází k sekundárnímu tloušťnutí pletiv, a druhá ze skupiny jednoděložných (*Sorghum bicolor*) rostlin, u nichž k produkci sekundárních pletiv nedochází. U každé z rostlin proběhla analýza jak rostlin kontrolních, tak rostlin deficientních na dusík, oboje v pěti opakováních.

Anatomická analýza rozsahu vývoje dalších pletiv zahrnovala dvě části. V první – pilotní – části byly získány řezy z rostlin *Linum usitatissimum* ve třech pozicích pro porovnání rozdílů ve vývoji sekundárních pletiv. Dále byly zvoleny pozice blíže kořenové báze (3/4), pak uprostřed kořene (1/2) a blíže kořenové špičce (1/18). Následovala druhá část experimentu, kdy byly získány řezy i z rostlin *Sorghum bicolor* ze stejných pozic na kořeni.

Řezy byly obarveny a mikroskopovány stejně jako je již popsáno výše v kapitole Příprava řezů a histochemické barvení.

3.5.3. Anatomická analýza kořenů *Arabidopsis thaliana* z experimentu 4

Pro detailní analýzu kořenů *A. thaliana* bylo vybráno 10 reprezentativních 7denních rostlin z každé varianty (kontrola, deficience N, deficience P, deficience K a deficience Fe), které byly fixovány 4% formaldehydem.

Nejdříve byl připraven barvicí roztok Fluorol Yellow 088 (0,01 % w/v) smícháním práškového barviva s 80% kyselinou mléčnou (roztok byl připravován vždy čerstvý těsně před barvením) (Lux et al., 2005). Tento roztok byl následně rozdělen do pěti falkonek o objemu 50 ml (pro každou variantu jedna falkona) a do nich byly umístěny celé rostliny opláchnuté destilovanou vodou od formaldehydu. Takto byly inkubovány při teplotě 70 °C po dobu 30 minut.

Následně byly rostliny přemístěny do barvicích komůrek a opláchnuty destilovanou vodou 3x po dobu 5 minut. Rostlinky zbavené nadbytečného barviva Fluorol Yellow 088 byly umístěny do roztoku anilinové modři (0,5 % w/v aq.) a takto byly inkubovány ve tmě po dobu 30 minut. Pro dokončení procesu bylo nezbytné semenáčky zbavit nadbytečného barviva pomocí destilované vody (3x opláchnutí, každé po 10 minutách). Takto obarvené rostliny byly celé namontovány do 50% glycerolu na podložním skle. Pro manipulaci bylo využito malých štětečků a pinzet, jež zabránily poničení křehkých kořínků. Takto připravené preparáty byly uchovávány ve tmě. Celý tento proces byl proveden dle protokolu (Lux et al., 2005; Marhavý & Siddique, 2021).

Prosvětlené primární kořeny *A. thaliana* byly pozorovány a analyzovány pod mikroskopem Nikon Eclipse i90 s kamerou Nikon DS-Fi2. Byla pozorována fluorescence po excitaci UV světlem (použit filtr UV-2A). Takto byla hledána pozice od špičky kořene, kde byla patrná první suberinizovaná buňka (vykazující obarvení pomocí Fluorol Yellow 088), což byla pozice, kde se začala endodermis suberinizovat. Následně byla hledána druhá pozice, kde již byly suberinizované všechny buňky endodermální vrstvy. Pomocí software NIS-Elements AR (64bit 4.60.00, Build 1171; Laboratory Imaging) v živém náhledu pak byla měřena vzdálenost první a druhé pozice od špičky kořene. Nakonec byla změřena i celková délka kořene. Z toho pak byly vypočítány následující parametry: podíl zcela suberinizované části kořene (poměr délky kořene od báze kořene k místu, kde již byly všechny endodermální buňky suberinizovány ku celkové délce kořene) a podíl částečně suberinizované části kořene (poměr délky kořene od báze k první suberinizované endodermální buňce ku celkové délce kořene).

3.6 Statistické vyhodnocení experimentů

Statistické vyhodnocení dat proběhlo pomocí programu NCSS 9 (Hintze, J. (2013). NCSS 9. NCSS, LLC. Kaysville, Utah, USA. www.ncss.com). Hodnocení vlivu variant výživy na růstové parametry rostlin (délku kořenů, biomasu prýtu) byly provedeno pomocí Analýzy variance (One-way ANOVA) a Tukey-Kramerova testu mnohonásobného porovnání (Tukey-Kramer multiple comparison test). Ve všech případech byla napřed provedena kontrola splnění všech předpokladů testu a data byla v případě potřeby transformována přirozeným logaritmem. V případě experimentu 2 byla dále pro hodnocení vlivu dvou parametrů (výživy a kultivaru) použita GLM ANOVA a Tukey-Kramer multiple comparison test, opět po kontrole splnění předpokladů testu. Hodnocení vlivu variant výživy na četnosti CP a SL bylo provedeno pomocí Pearsonova chí-kvadrát testu (Pearson's Chi-square test).

4 Výsledky

4.1 Experiment 1: Analýza mezidruhové variability v reakci exodermis a endodermis na nedostatek živin v prostředí

V tomto experimentu bylo cílem sledovat reakci apoplastických bariér primárního kořene na nedostatek živin v prostředí u několika vybraných druhů rostlin jednoděložných (*Sorghum bicolor*, *Triticum aestivum*) a dvouděložných (*Helianthus annuus*, *Linum usitatissimum*, *Solanum lycopersicum*). Sledována byla přítomnost exodermis s Casparyho proužky, případně její suberinizace, a to v různých pozicích kořene. Dalším sledovaným faktorem byla suberinizace endodermální vrstvy a celkově rychlost diferenciací apoplastických bariér u zmíněných druhů rostlin.

Rostliny používané k tomuto experimentu byly pěstovány pomocí hydroponické kultivace po dobu 14 dnů za konstantních podmínek a byly vystaveny různým deficientním podmínkám: - N, - P, - K a -Fe. Pěstovány byly i rostliny kontrolní v kompletním živném roztoku (modifikovaný Hoaglandův živný roztok 3, viz kap. Metodika).

4.1.1 *Linum usitatissimum*

Růst rostlin

Po 14 dnech kultivace rostlin byly porovnány rostliny deficientní a kontrolní. Po vizuálním zhodnocení bylo patrné, že nejsilněji působila na rostliny *Linum usitatissimum* deficiencie dusíku a fosforu. Prýty rostlin v těchto variantách byly malé, u rostlin deficientních na dusík byla patrná mírná chloróza. Rostliny deficientní na draslík byly také menší, ale prýty zůstaly zelené jako u kontrolních rostlin. Výrazná chloróza byla pozorována u rostlin s deficiencí železa (Obr. 4.1). Signifikantní rozdíly byly zaznamenány u hmotnosti sušín prýtů. Signifikantně se lišily rostliny kontrolní od variant -N, -P a -Fe. Signifikantní rozdíly byly také zaznamenány mezi variantou -N a všemi ostatními variantami. Odlišná od všech variant byla také varianta -P (Graf 1). Dále byly vypočítány procentuální obsahy vody v prýtech, které se pohybovaly v rozmezí 76 – 89 %. Nejmenší obsah vody (76 %) měla varianta -N, která se signifikantně lišila od všech ostatních variant. Menší obsah vody než kontrolní rostliny (85 %) měla ještě varianta -K (81 %) a varianta -P (81 %) (One-way ANOVA, Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p < 0,05$).

Změny byly dále viditelné i na kořenovém systému rostlin. Průměrná délka kořenového systému (odpovídající délce primárního kořene) se mezi jednotlivými variantami výrazně nelišila a dosahovala hodnot 23,2 – 32,7 cm (Graf 2). Vizuálně však bylo patrné, že některé deficientní varianty měly odlišně větvený kořenový systém a celkovou biomasu kořenů (Obr.

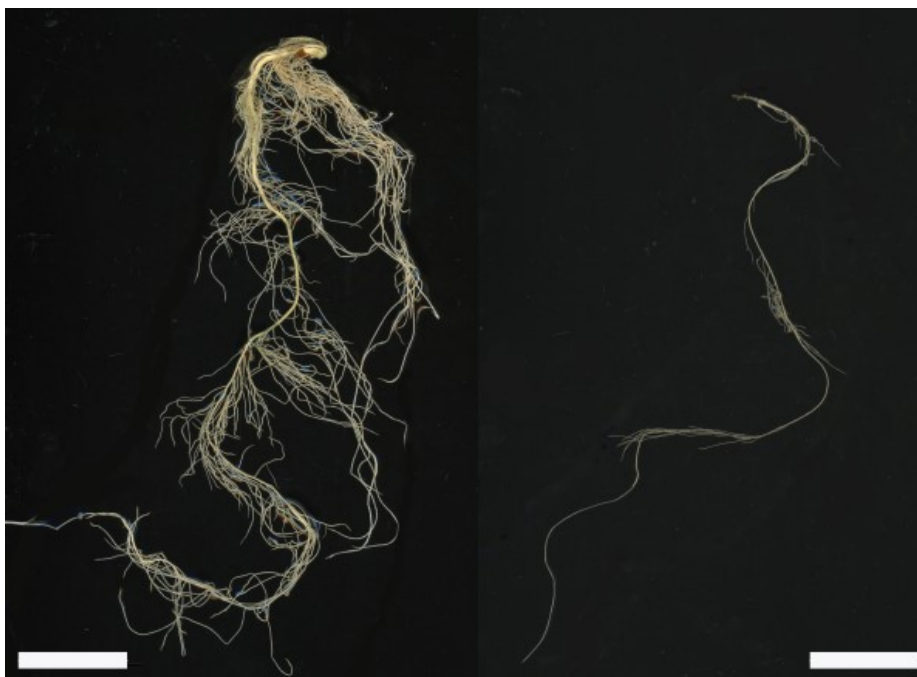


4.1. a 4.2), tyto parametry však nebyly detailně analyzovány, protože kořeny byly použity pro anatomickou analýzu.

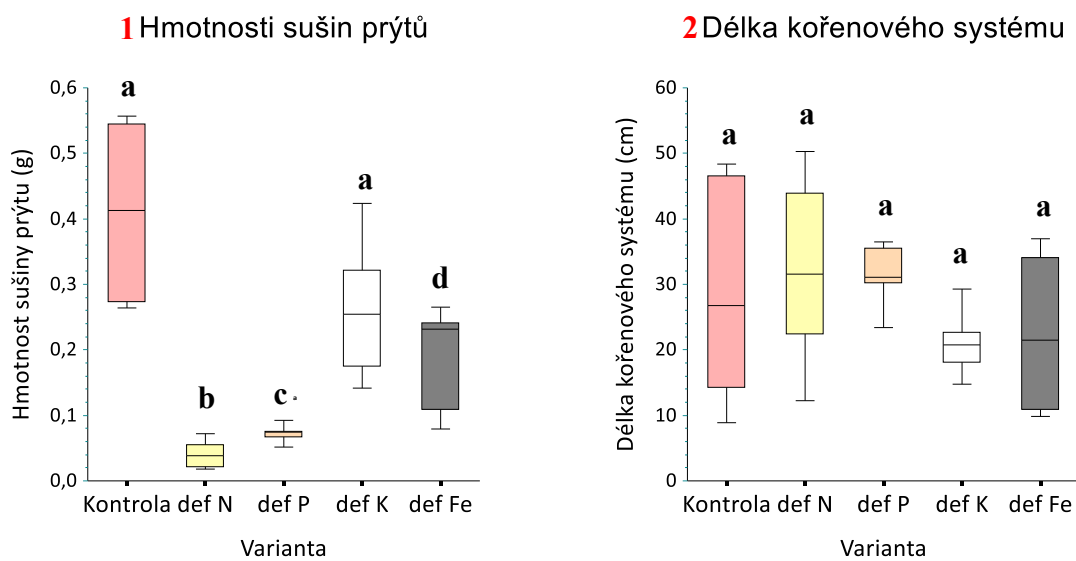
Obr. 4.1:

Rostliny *Linum usitatissimum*.

Zleva kontrola, - N, - P, - K, - Fe. Měřítka 1 cm.



Obr. 4.2: Kořenový systém rostlin *Linum usitatissimum*. Vlevo kontrola, vpravo deficiencie N. Měřítko 2 cm.



Grafy 1, 2: Hmotnost sušiny prýtů (1) a délka kořenového systému (2) u rostlin *Linum usitatissimum*.

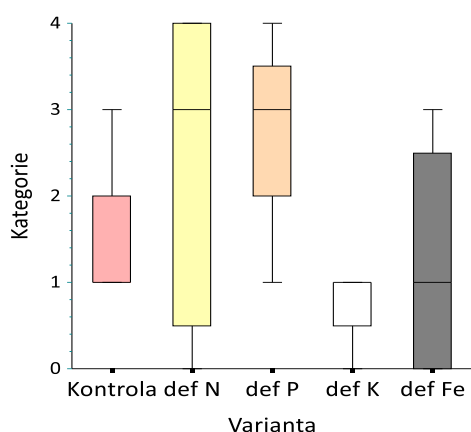
Rozdílná písmena značí signifikantní rozdíly mezi variantami (One-way ANOVA, Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p < 0,05$, $n = 7$).

Anatomická analýza kořenů rostlin *Linum usitatissimum*

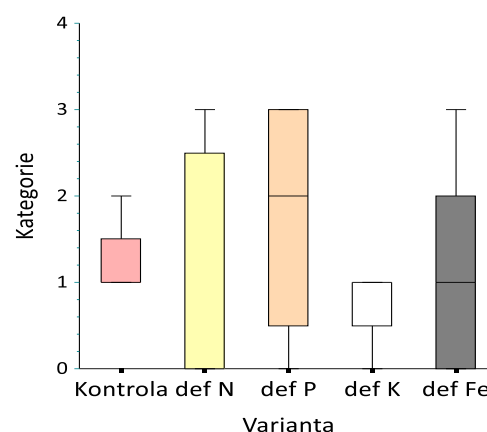
Jelikož z literatury není známo, v jaké vzdálenosti za špičkou kořene se exodermis u tohoto druhu dvouděložné rostliny začíná diferencovat, bylo nutné nejprve vybrat vhodnou pozici pro analýzu. Anatomická analýza proto zahrnovala nejprve pilotní část – přípravu řezů v různých pozicích podél podélné osy u dvou primárních kořenů – jednoho z kontrolní varianty a druhého z varianty deficientní na dusík. Tyto dva kořeny byly vybrány proto, aby bylo možno zachytit případné rozdíly v diferenciaci exodermis mezi variantami. Kořeny byly řezány nejprve v pozicích 1/2 a 1/4 délky od špičky kořene, v těchto pozicích však žádné vývojové rozdíly bariér nevykazovaly, u obou byla exodermis plně diferencovaná. Proto bylo nutné připravit řezy blíže kořenové špičce. Konečná pozice pak byla 1/18, v této vzdálenosti za kořenovou špičkou bylo patrné, že se exodermis postupně tvoří (je částečně diferencovaná), a bude proto možné analyzovat rozdíly mezi variantami kultivace ve stupni její diferenciaci.

V pozici 1/18 vzdálenosti za špičkou byla následně provedena hlavní část analýzy – porovnání rozsah diferenciaci exodermis i endodermis ve všech variantách kultivace pro 5 kořenů z každé varianty. Rozsah diferenciaci exodermálních Casparyho proužků byl mírně vyšší při deficienci N a P oproti kontrole, ale rozdíly nebyly statisticky významné (Graf 3). U tohoto druhu navíc nebyly exodermální Casparyho proužky jednoznačně identifikovatelné, protože byly výrazně lignifikované i vnější tangenciální buněčné stěny exodermálních buněk. Proto byl vyhodnocován počet buněk s takto lignifikovanými stěnami buněk. Celkově nebyly pozorovány žádné signifikantní rozdíly mezi variantami výživy v přítomnosti exodermálních Casparyho proužků/lignifikovaných buněčných stěn (Graf 3, Tabule 1), ani suberinových lamel v exodermis (Graf 4, Tabule 1) a v endodermis (Graf 5). Celkově lze shrnout, že exodermis se u *Linum usitatissimum* diferencuje ve všech podmínkách výživy velmi blízko za kořenovou špičkou.

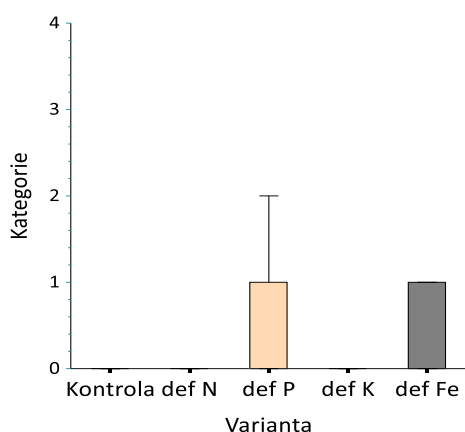
3 Casparyho proužky v exodermis



4 Suberinové lamely v exodermis



5 Suberinové lamely v endodermis

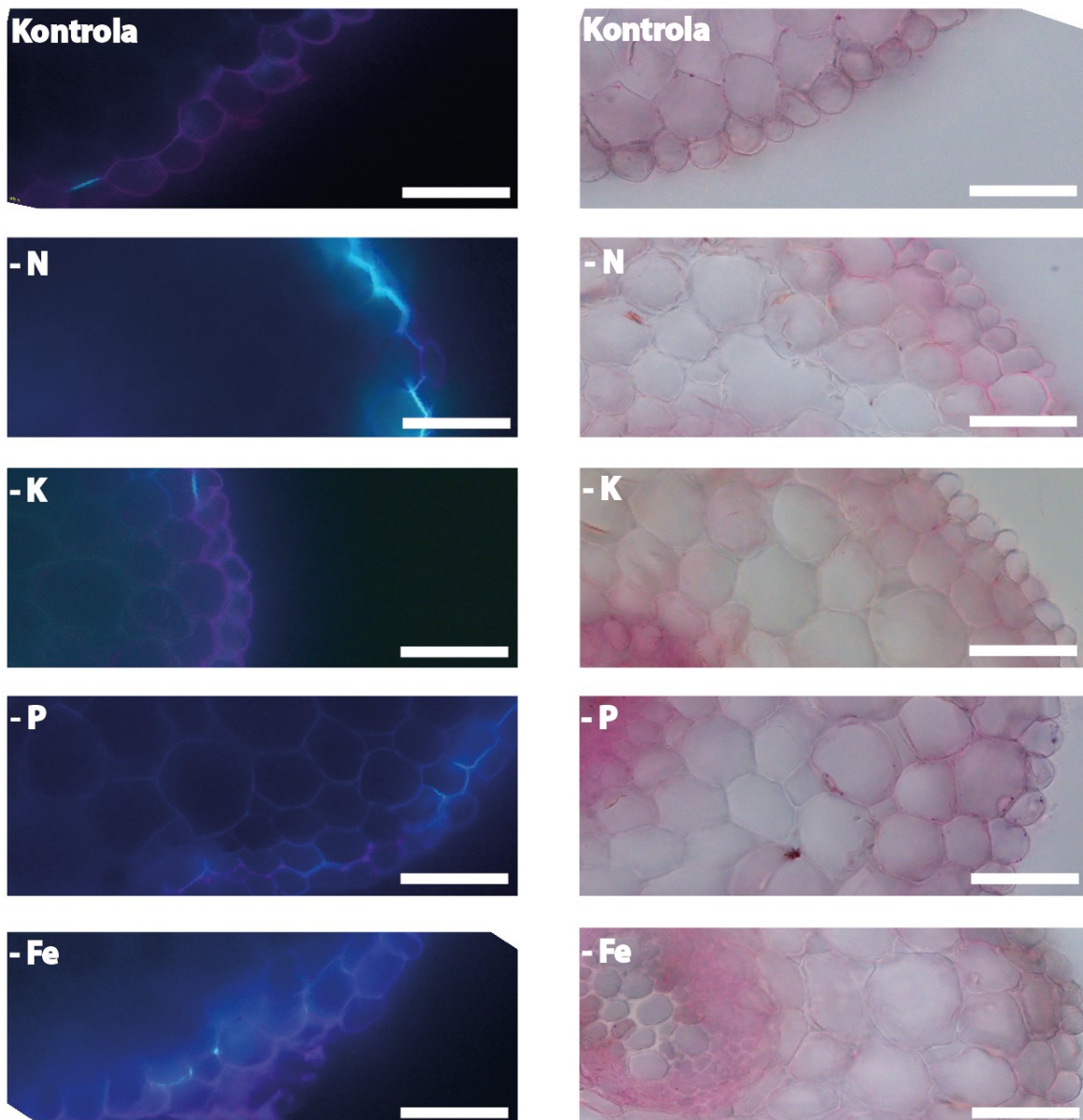


Grafy 3, 4, 5:

Rozsah diferenciacie apoplastických bariér u rostlin *Linum usitatissimum* u jednotlivých deficiентních variant a kontroly. Data získána z pozice 1/18 délky hlavní osy kořene (směrem od špičky).

Rozsah diferenciacie vyjadřují jednotlivé průměrné kategorie popisující výskyt CP nebo SL v rámci vrstvy exodermis nebo endodermis (0: žádné buňky s CP/SL; 1: cca 25 % buněk s CP/SL; 2: cca 50 % buněk s CP/SL, 3: cca 75 % buněk s CP/SL, 4: 100 % buněk s CP/SL).

* značí signifikantní rozdíl od kontrolní varianty (Pearson's Chi-Square test, $p < 0,05$, $n = 5$).



Tabule 1: Vývoj exodermis u rostlin *Linum sp.* v reakci na nedostatek živin u jednotlivých variant deficiencie. Řezy primárním kořenem v pozic 1/18 délky hlavní osy od špičky. Vlevo řezy barvené berberinem a genciánovou violetí pro vizualizaci Casparyho proužků (fluorescence, UV), vpravo řezy barvené Sudan Red 7B pro vizualizaci suberinových lamel (snímáno ve světlém poli). Měřítko 50 µm.

4.1.2 *Solanum lycopersicum*

Růst rostlin

Rostliny *S. lycopersicum* byly po 14 dnech hydroponické kultivace viditelně ovlivněné deficiencí jednotlivých prvků. Nejvýrazněji byly zasaženy deficiencí dusíku. N deficientní rostliny byly velmi malé, některé ani nebyly schopny narůst a vydržet celý kultivační proces. Hmotnost sušiny prýtů byla signifikantně ovlivněna variantami kultivace. Konkrétně byly zjištěny signifikantní rozdíly mezi kontrolou a variantami -N a -K. Signifikantní rozdíly byly patrné mezi variantou -N a všemi ostatními variantami (Graf 6). Obsah vody v prýtech se pohyboval okolo 86,5 % a mezi variantami se nelišil (One-way ANOVA, Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p > 0,05$).

V délce kořenového systému, která odpovídala délce primárního kořene, nebyly zjištěny žádné signifikantní rozdíly napříč všemi variantami (Graf 7). Délka kořenového systému se pohybovala u všech variant okolo 30 cm, u rostlin K deficientních byla mírně nižší a činila 25 cm, ale rozdíl nebyl statisticky významný.

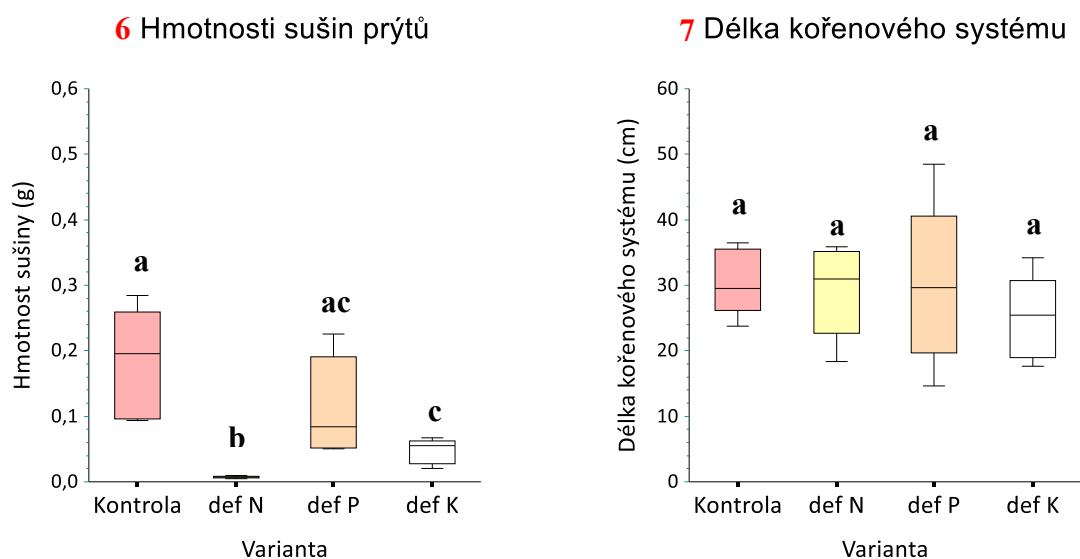
Rozdílnost kořenových systémů spočívala v celkové biomase kořenů, vizuálně bylo patrné, že celková biomasa kořenů v -N a -K variantě je menší oproti kontrole a variantě -P, data o hmotnosti a hustotě kořenového systému však nebyla blíže analyzována, protože kořeny byly použity pro anatomickou analýzu (Obr. 4.3).



Obr. 4.3:

Kořenový systém rostlin *S. lycopersicum*.

Vlevo kontrola, vpravo deficiencie N. Měřítka 2 cm.



Grafy 6, 7: Hmotnost sušiny prýtů (6) a délka kořenového systému (7) u rostlin *S. lycopersicum*.

Rozdílná písmena značí signifikantní rozdíly mezi variantami (One-way ANOVA, Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p < 0,05$, $n = 5$).

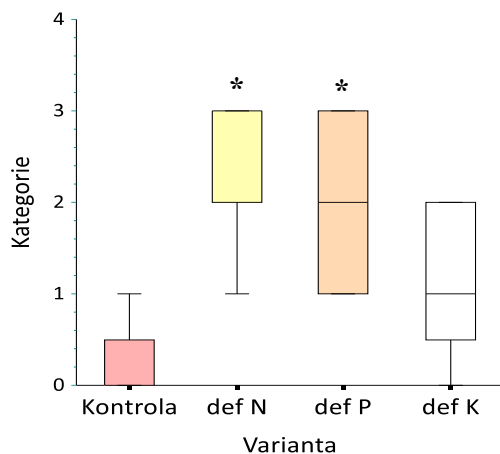
Anatomická analýza kořenů *S. lycopersicum*

Stejně jako u rostlin *L. usitatissimum*, bylo i u rostlin *S. lycopersicum* potřeba nejdříve najít vhodnou pozici podél podélné osy primárního kořene, aby byla analyzována oblast, kde se exodermis diferencuje a je možné zachytit případné rozdíly ve stupni její diferenciaci mezi kontrolními a deficientními kořeny. Byly vybrány dva kořeny - jeden deficientní na dusík (deficience dusíku má nejsilnější projev) a jeden kořen kontrolní. Kořeny byly řezány v pozici 3/4 vzdálenosti od špičky kořene, kde ale nebyly pozorovány žádné rozdíly ve vývoji bariér. V této pozici byla exodermis i endodermis plně diferencovaná. Vhodná pozice byla nakonec v případě kořenů *S. lycopersicum* nalezena v 1/2 kořene, kde byla exodermis diferencovaná pouze částečně, a tak bylo možné analyzovat rozdíly ve vývoji apoplastických bariér u jednotlivých variant.

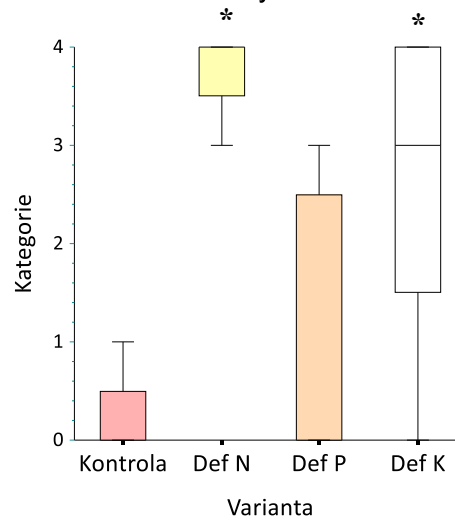
V pozici 1/2 od špičky kořene pak probíhala hlavní část analýzy. Byl analyzován rozsah diferenciaci exodermis i endodermis ve všech variantách kultivace pro 5 kořenů z každé varianty. Vyšší rozsah diferenciaci exodermálních Casparyho proužků byl pozorován u dvou deficientních variant. Signifikantní rozdíly byly u -N a -P oproti kontrole (Graf 8, Tabule 2). Kromě Casparyho proužků byly částečně lignifikované i vnější tangenciální buněčné stěny podobně jako u rostlin *L. usitatissimum*. Proto byl vyhodnocován počet buněk s takto

lignifikovanými stěnami buněk. Dále byla vyhodnocována přítomnost suberinových lamel. V exodermis byly signifikantní rozdíly pozorovány mezi variantami -N, -K a kontrolou, která byla méně suberinizovaná (Graf 9, Tabule 2). V případě endodermis byl nejsilnější projev pozorován u deficiencie dusíku. Signifikantně více endodermálních buněk se suberinovými lamelami ale bylo zaznamenáno ve všech deficientních variantách (-N, -P, -K) oproti kontrole (Graf 10).

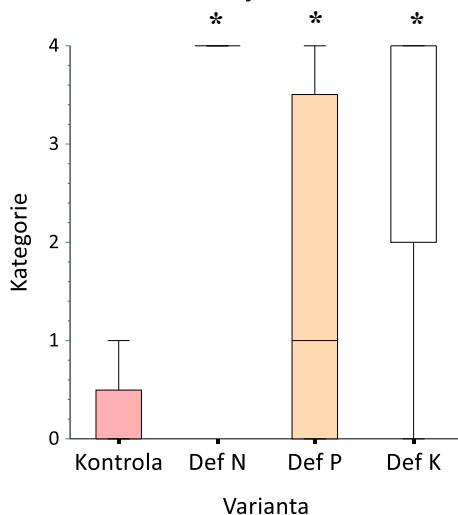
8 Casparyho proužky v exodermis



9 Suberinové lamely v exodermis



10 Suberinové lamely v endodermis

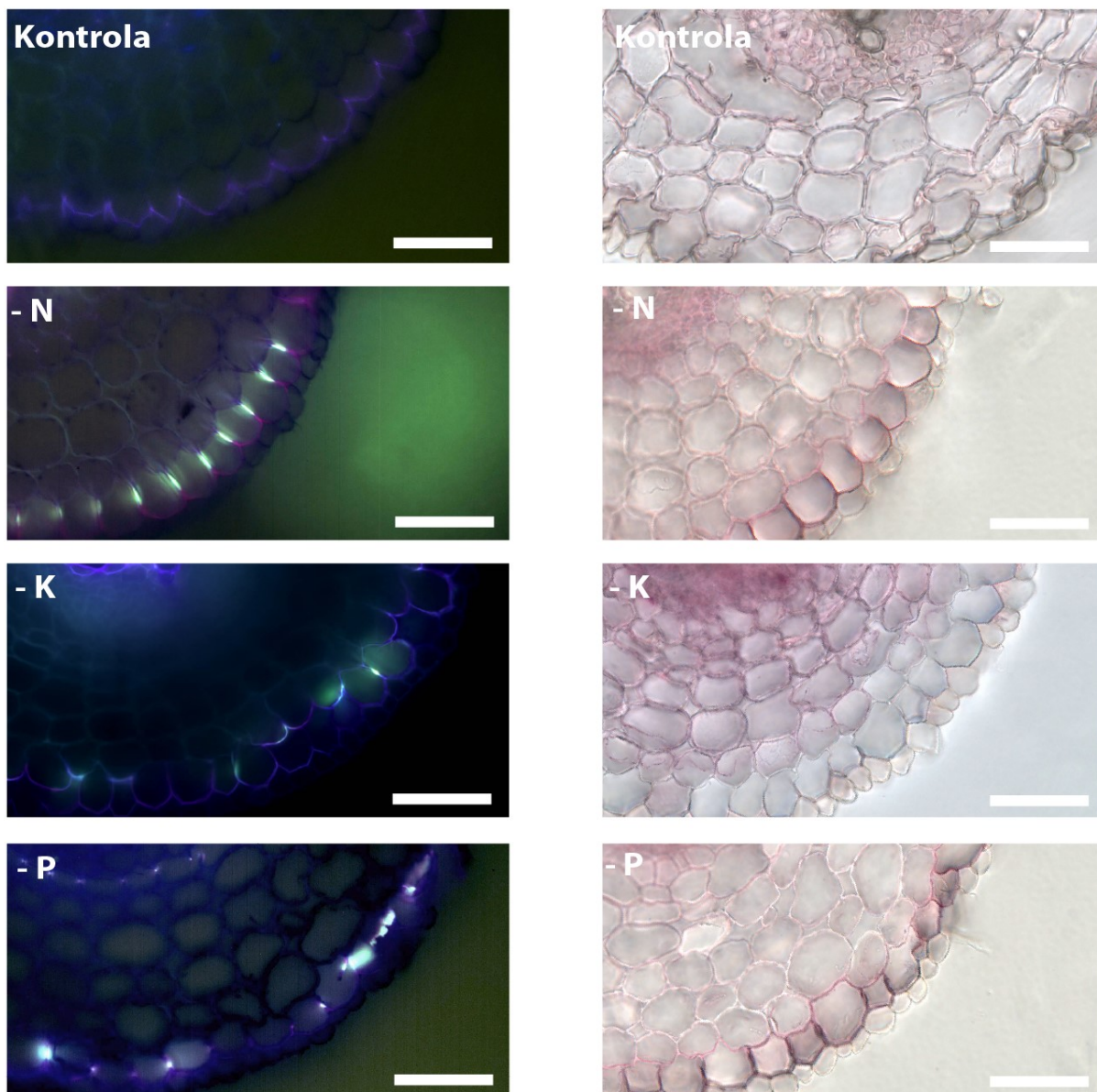


Grafy 8, 9, 10:

Rozsah diference apoplastických bariér u rostlin *S. lycopersicum* u jednotlivých deficientních variant a kontroly. Data získána z pozice 1/2 délky hlavní osy kořene (směrem od špičky).

Rozsah diference vyjadřují jednotlivé průměrné kategorie popisující výskyt CP nebo SL v rámci vrstvy exodermis nebo endodermis (0: žádné buňky s CP/SL; 1: cca 25 % buněk s CP/SL; 2: cca 50 % buněk s CP/SL; 3: cca 75 % buněk s CP/SL; 4: 100 % buněk s CP/SL).

* značí signifikantní rozdíl od kontrolní varianty (Pearson's Chi-Square test, $p < 0,05$, $n = 5$).



Tabule 2: Vývoj exodermis u rostlin *S. lycopersicum* v reakci na nedostatek živin u jednotlivých variant deficiencie. Řezy primárním kořenem v pozici 1/2 délky hlavní osy od špičky. Vlevo řezy barvené berberinem a genciánovou violetí pro vizualizaci Casparyho proužků (fluorescence, UV), vpravo řezy barvené Sudan Red 7B pro vizualizaci suberinových lamel (snímáno ve světlém poli). Měřítko 50 μm .

4.1.3 *Helianthus annuus*

Růst rostlin

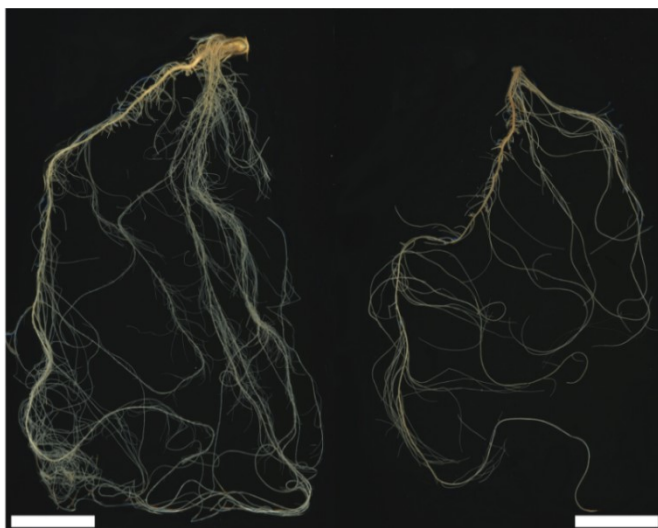
Rostliny *H. annuus* vykazovaly po 14 dnech kultivace projevy deficiencie. Listová plocha byla viditelně menší než u rostlin kontrolních (Obr. 4.4) a hmotnosti sušiny prýtků byly signifikantně menší u všech deficientních variant oproti kontrole. Mezi jednotlivými deficientními variantami signifikantní rozdíly ve hmotnosti sušiny pozorovány nebyly (Graf 11). Dále byly vypočítány procentuální obsahy vody v prýtech. Rostliny z jednotlivých variant výživy se v tomto parametru signifikantně nelišily a průměrně se obsah vody pohyboval okolo 91 % (One-way ANOVA, Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p > 0,05$).

Kořenový systém rostlin u varianty -N byl viditelně méně větvený než u kontrolní varianty (Obr. 4.4 a 4.5), ale detailní analýza větvení a biomasy kořenů u jednotlivých variant nebyla provedena. Průměrné délky kořenového systému, které odpovídaly délce primárního kořene, se pohybovaly v rozmezí 44,0 – 62,1 cm. Signifikantně kratší kořenový systém byl pozorován u variant -N a -K oproti kontrole a variantě -P. Signifikantní rozdíly mezi kontrolními kořeny a kořeny deficientními na fosfor nebyly pozorovány (Graf 12).



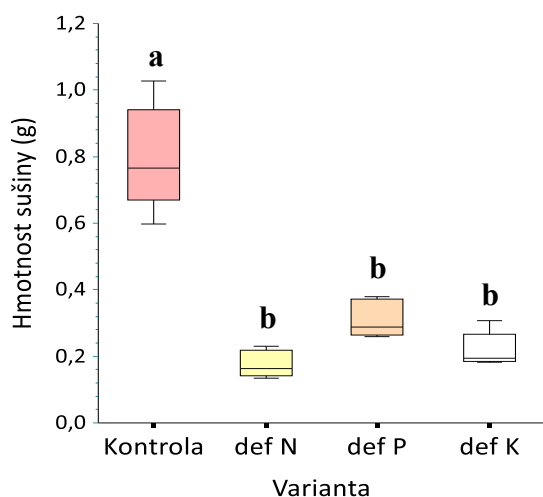
Obr. 4.4: Rostliny *Helianthus annuus*.

Zleva kontrola, - N, - P, - K. Měřítko 1 cm.

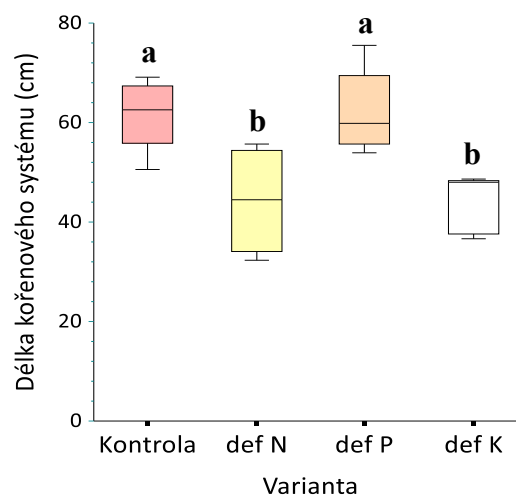


Obr. 4.5:
 Kořenový systém rostlin *H. annuus*.
 Vlevo kontrola, vpravo deficiencie N.
 Měřítko 2 cm.

11 Hmotnosti sušiny prýtů



12 Délka kořenového systému



Grafy 11, 12: Hmotnost sušiny prýtů (11) a délka kořenového systému (12) u rostlin *H. annuus*.

Rozdílná písmena značí signifikantní rozdíly mezi variantami (One-way ANOVA, Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p < 0,05$, $n = 5$).

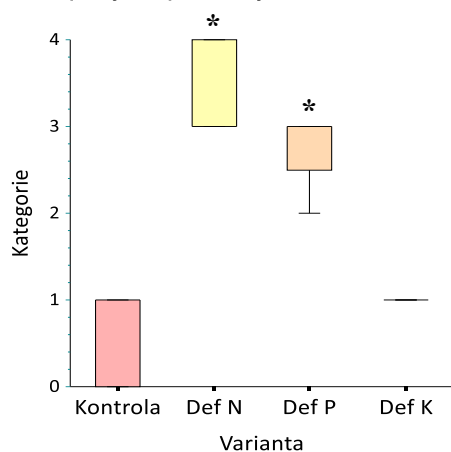
Anatomická analýza kořenů *H. annuus*

Pro anatomickou analýzu byla opět v pilotní části nejprve hledána vhodná pozice podél podélné osy primárního kořene, kde by byly patrné rozdíly v diferenciaci apoplastických bariér. Byly vybrány dva kořeny – jeden kontrolní a jeden deficientní na dusík. Oba kořeny byly analyzovány nejdříve ve 3/4 délky kořene (od špičky), následně v 1/2. V obou těchto pozicích

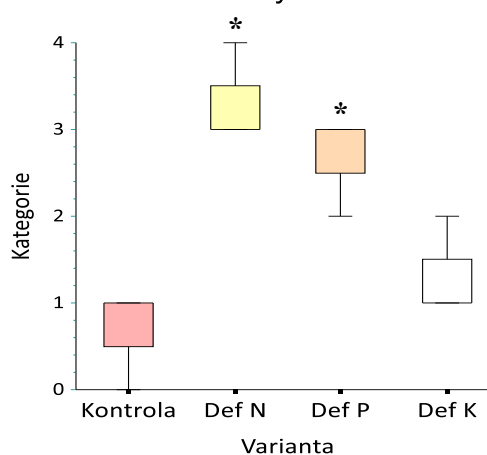
již byla exodermis diferencovaná, proto byla nakonec vybrána pozice 1/4 (tj. mladší část kořene blíže kořenové špičce).

V pozici 1/4 byla provedena detailní anatomická analýza (5 kořenů z každé varianty). Následně byl vyhodnocen vývoj apoplastických bariér v závislosti na deficienci živin v hydroponickém prostředí. Nejdříve byl posuzován vliv deficiencie na diferenciaci Casparyho proužků v exodermis. Signifikantně více byly diferencovány ve variantě -N a -P oproti kontrole a variantě -K. Rozdíly naopak nebyly zaznamenány mezi kontrolou a -K (Graf 13, Tabule 3). Stejná situace byla patrná i u diferenciacie suberinových lamel v exodermis, rozsah suberinizace byl signifikantně vyšší u -N a -P oproti kontrole a -K (Graf 14, Tabule 3). V případě suberinových lamel v endodermis byly signifikantní rozdíly pouze mezi kontrolou a deficiencí fosforu (Graf 15).

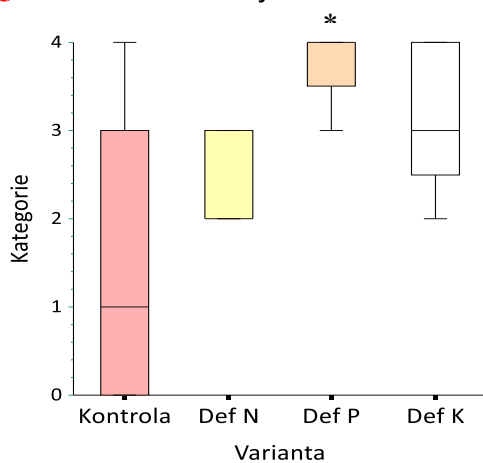
13 Casparyho proužky v exodermis



14 Suberinové lamely v exodermis



15 Suberinové lamely v endodermis

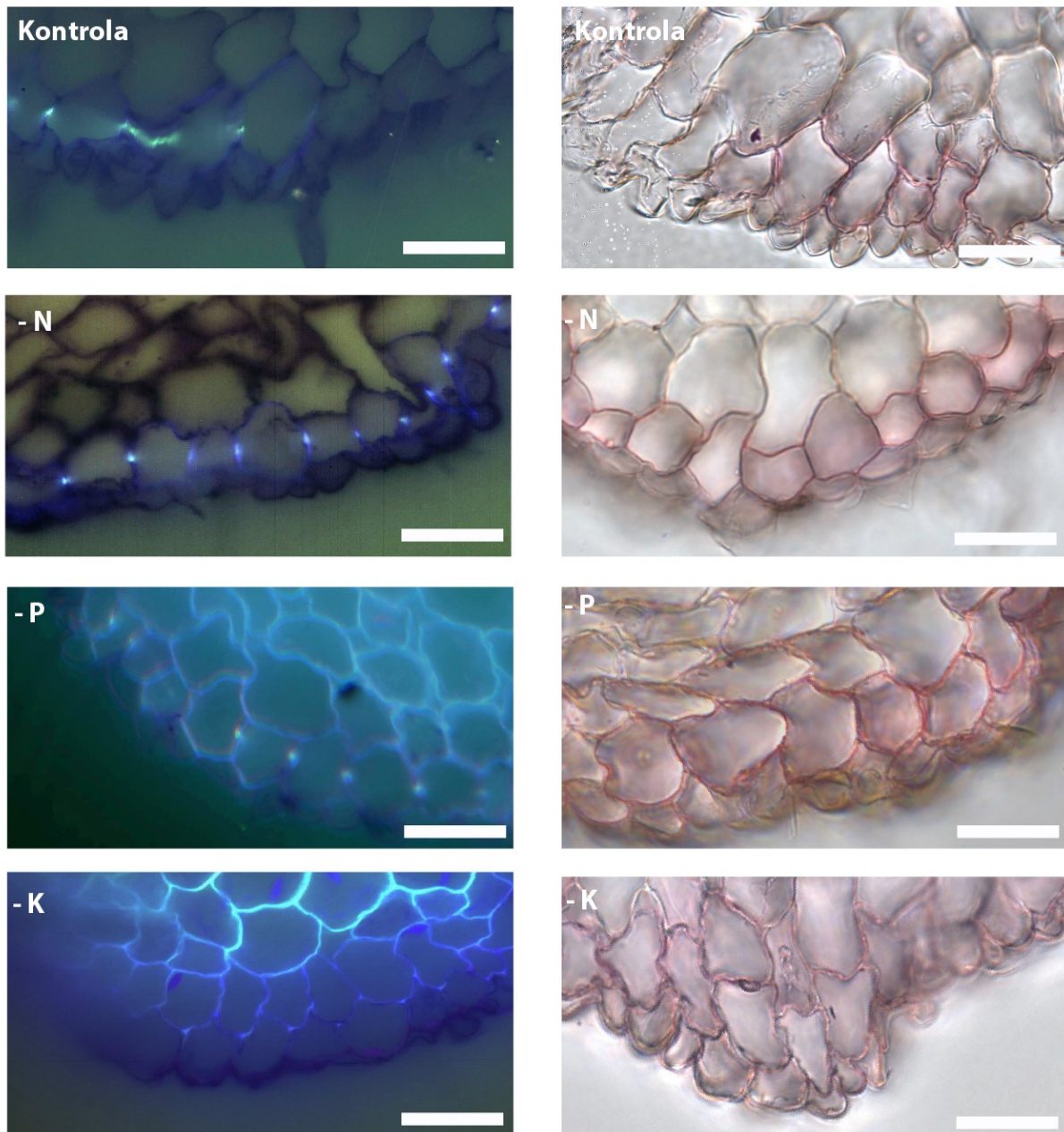


Grafy 13, 14, 15:

Rozsah diferenciacie apoplastických bariér u rostlin *H. annuus* u jednotlivých deficientních variant a kontroly. Data získána z pozice 1/4 délky hlavní osy kořene (směrem od špičky).

Rozsah diference vyjadřují jednotlivé průměrné kategorie popisující výskyt CP nebo SL v rámci vrstvy exodermis nebo endodermis (0: žádné buňky s CP/SL; 1: cca 25 % buněk s CP/SL; 2: cca 50 % buněk s CP/SL, 3: cca 75 % buněk s CP/SL, 4: 100 % buněk s CP/SL).

* značí signifikantní rozdíl od kontrolní varianty (Pearson's Chi-Square test, $p < 0,05$, $n = 5$).



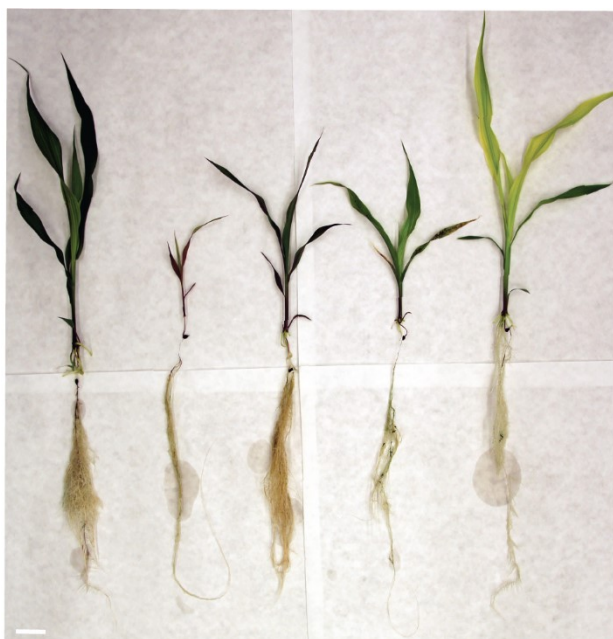
Tabule 3: Vývoj exodermis u rostlin *H. annuus* v reakci na nedostatek živin u jednotlivých variant defice. Řezy primárním kořenem v pozic 1/4 délky hlavní osy od špičky. Vlevo řezy barvené berberinem a genciánovou violetí pro vizualizaci Casparého proužků (fluorescence, UV), vpravo řezy barvené Sudan Red 7B pro vizualizaci suberinových lamel (snímáno ve světlém poli). Měřítko 50 μm .

4.1.4 *Sorghum bicolor*

Růst rostlin

Rostliny *S. bicolor* byly sklizeny po 14 dnech kultivace a na rostlinách byly viditelné rozdíly mezi kontrolou a deficientními variantami. Deficientní rostliny byly menšího vzrůstu a některé vykazovaly změny zbarvení listů (chlorózu nebo červenaní, Obr 4.6). V hmotnosti sušín prýtlů byly patrné signifikantní rozdíly mezi kontrolou a všemi ostatními deficientními variantami. Dále byly rozdíly patrné i mezi variantou -N a všemi ostatními variantami (Graf 16). Průměrný obsah vody v prýtech činil 75,4 - 89,7 % a mezi jednotlivými variantami výživy byly zaznamenány rozdíly. Signifikantně se lišily kontrolní rostliny, s obsahem vody 86 %, od variant -P, -N a -Fe. Nejnižší obsah vody byl zaznamenán u varianty -N (75,4 %), která se signifikantně lišila od všech ostatních variant. Nejvyšší obsah vody byl u varianty -Fe (89,7 %), a tak se tato varianta také signifikantně lišila od všech ostatních variant výživy (One-way ANOVA, Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p > 0,05$).

Na první pohled bylo vidět, že deficientní rostliny většinou mají řidší kořenový systém oproti kontrole (Obr. 4.6). Nejsilnější projevy byly patrné u rostlin deficientních na dusík a draslík (Obr. 4.6. a 4.7). Průměrná délka kořenového systému, která odpovídala délce hlavního kořene, činila 28,4 cm. Signifikantní rozdíly mezi kontrolní variantou a některou z deficientních variant nebyly pozorovány. Signifikantně delší byly pouze kořeny varianty -N na rozdíl od variant -K a -Fe (Graf 17).



Obr. 4.6: Rostliny *Sorghum bicolor*.

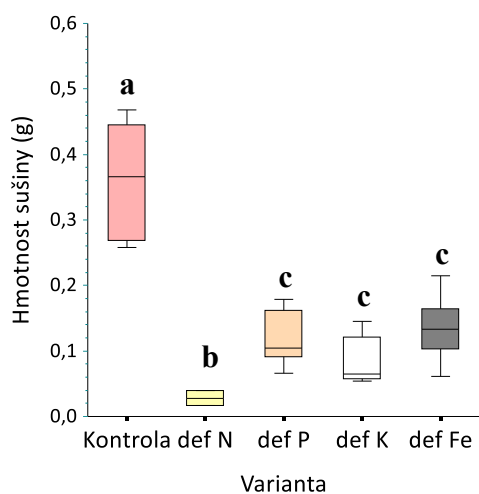
Zleva kontrola, - N, - P, - K, -Fe. Měřítko 3 cm.



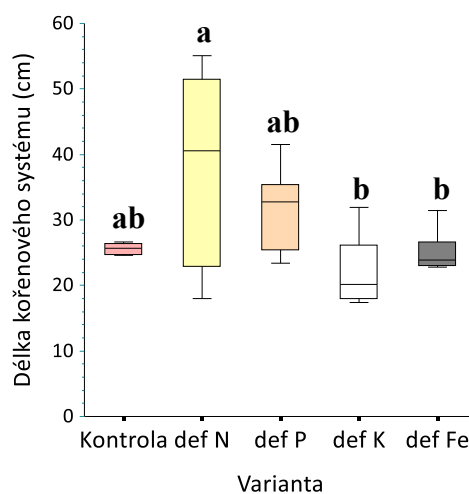
Obr. 4.7: Kořenový systém rostlin *Sorghum bicolor*.

Vlevo kontrola, vpravo deficience N. Měřítka 2 cm.

16 Hmotnosti sušiny prýtů



17 Délka kořenového systému



Grafy 16, 17: Hmotnost sušiny prýtů (16) a délka kořenového systému (17) u rostlin *S. bicolor*.

Rozdílná písmena značí signifikantní rozdíly mezi variantami (One-way ANOVA, Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p < 0,05$, $n = 5 - 7$).

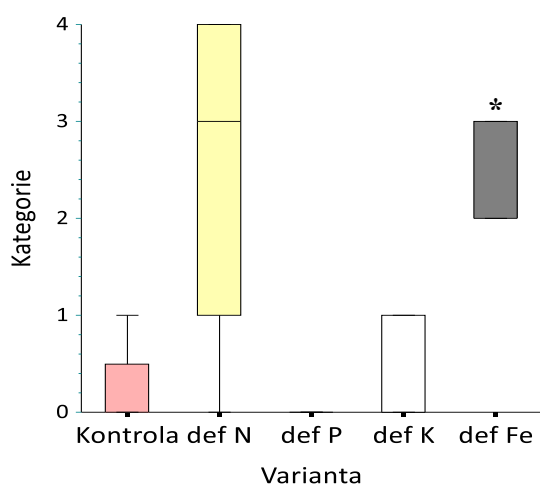
Anatomická analýza kořenů *S. bicolor*

V pilotní části byla hledána pozice pro řezání kořene vhodná pro vizualizaci rozdílů v diferenciaci exodermální vrstvy mezi kontrolními a deficientními kořeny. Podobně jako u předchozích druhů rostlin byly nejdříve řezány kořeny kontrolní a deficientní na dusík, v pozici 3/4 délky hlavní osy od špičky, kde ale nebyly pozorovány žádné rozdíly ve vývoji exodermis.

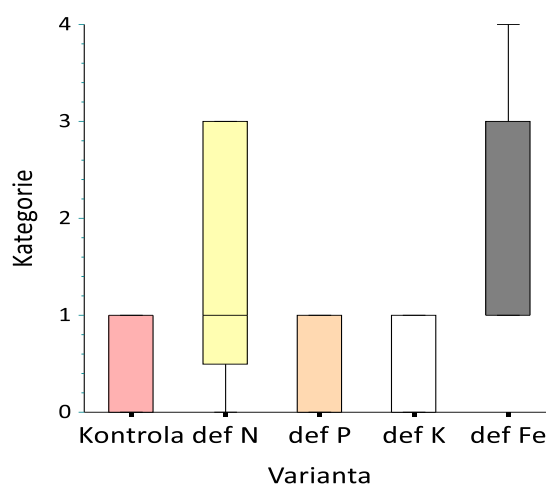
V této pozici byla plně diferencovaná. Dále analýza pokračovala v pozicích blíže kořenové špičce (v pozici 1/2 a 1/4 délky hlavní osy od špičky), i zde byla exodermis diferencovaná. Vhodná pozice byla nakonec 1/13, kde byla exodermis jen částečně diferencovaná.

Hlavní část analýzy byla proto soustředěna na pozici 1/13, kde bylo analyzováno 5 kořenů z každé varianty. Po histochemické analýze a vizualizaci Casparyho proužků a suberinových lamel bylo zjištěno, že exodermální Casparyho proužky jsou signifikantně více diferencovány ve variantě -Fe oproti kontrole. Podobný trend byl patrný i ve variantě -N, nebyl však signifikantní (Graf 18, Tabule 4). V případě suberinových lamel v exodermis i v endodermis žádné signifikantní rozdíly mezi kontrolou a deficientními variantami pozorovány nebyly (Graf 19, 20, Tabule 4).

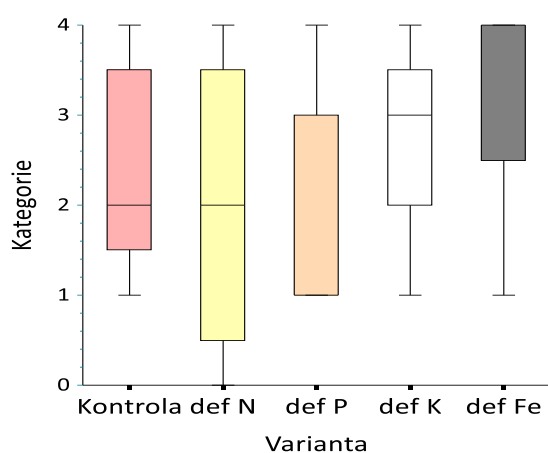
18Casparyho proužky v exodermis



19Suberinové lamely v exodermis



19Suberinové lamely v endodermis

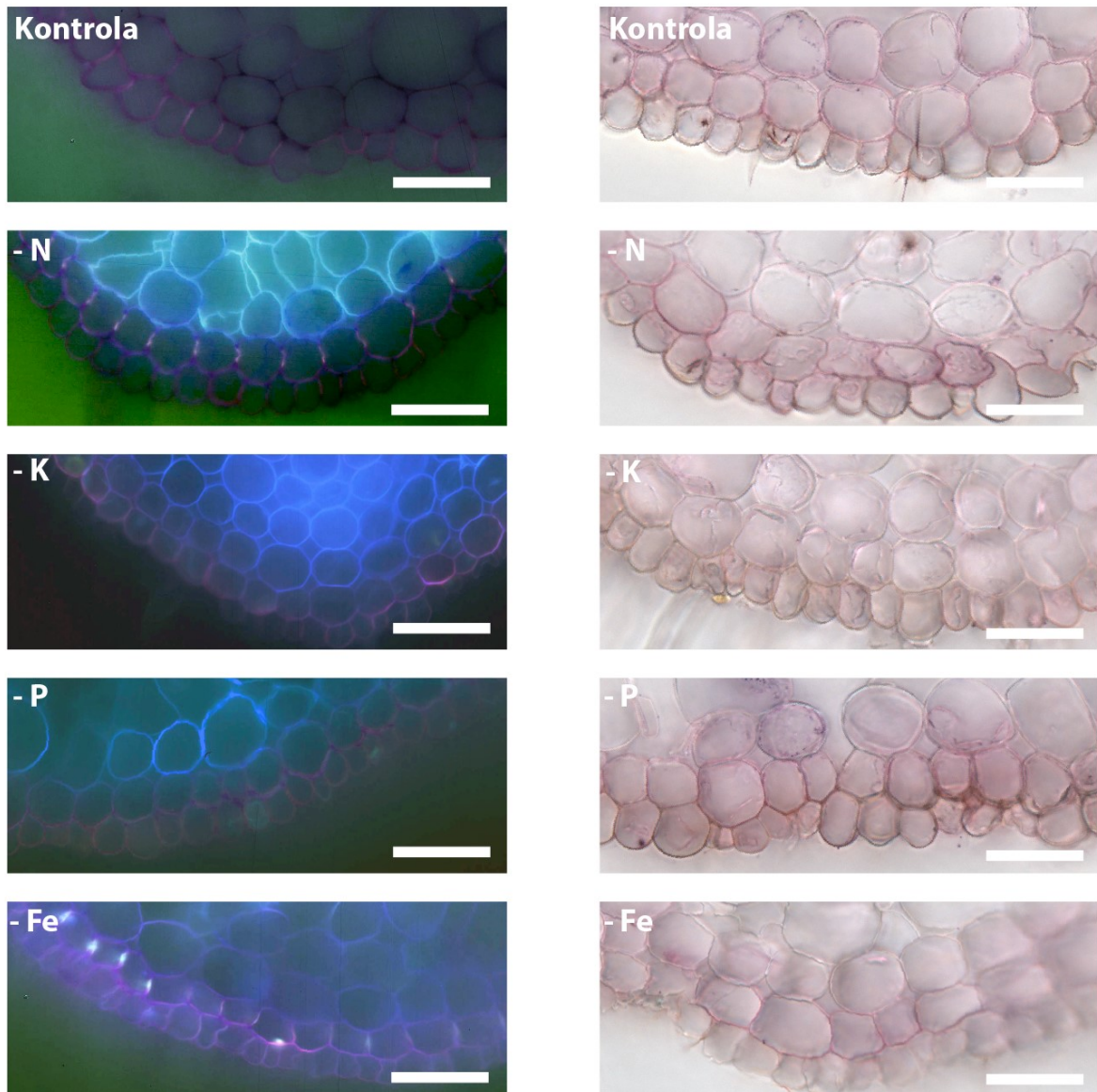


Grafy 18, 19, 20:

Rozsah diferenciacie apoplastických bariér u rostlin *S. bicolor* u jednotlivých deficientních variant a kontroly. Data získána z pozice 1/13 délky hlavní osy kořene (směrem od špičky).

Rozsah diference vyjadřují jednotlivé průměrné kategorie popisující výskyt CP nebo SL v rámci vrstvy exodermis nebo endodermis (0: žádné buňky s CP/SL; 1: cca 25 % buněk s CP/SL; 2: cca 50 % buněk s CP/SL, 3: cca 75 % buněk s CP/SL, 4: 100 % buněk s CP/SL).

* značí signifikantní rozdíl od kontrolní varianty (Pearson's Chi-Square test, $p < 0,05$, $n = 5$).



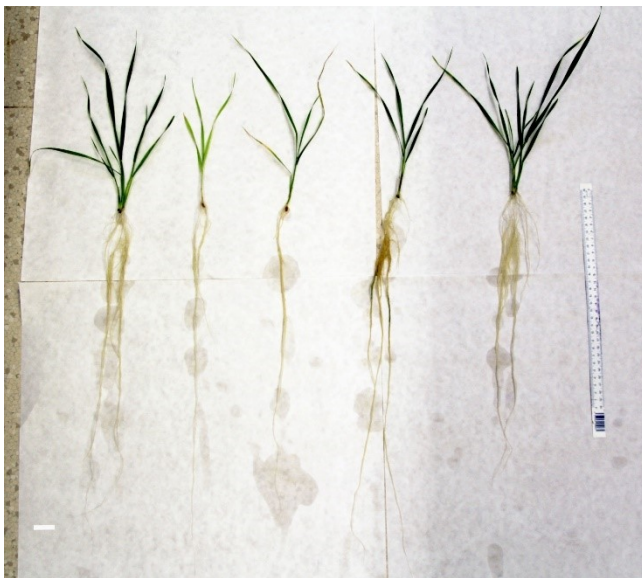
Tabule 4: Vývoj exodermis u rostlin *S. bicolor* v reakci na nedostatek živin u jednotlivých variant deficiencie. Řezy primárním kořenem v pozic 1/13 délky hlavní osy od špičky. Vlevo řezy barvené berberinem a genciánovou violetí pro vizualizaci Casparyho proužků (fluorescence, UV), vpravo řezy barvené Sudan Red 7B pro vizualizaci suberinových lamel (snímáno ve světlém poli). Měřítko 50 μm .

4.1.5 *Triticum aestivum*

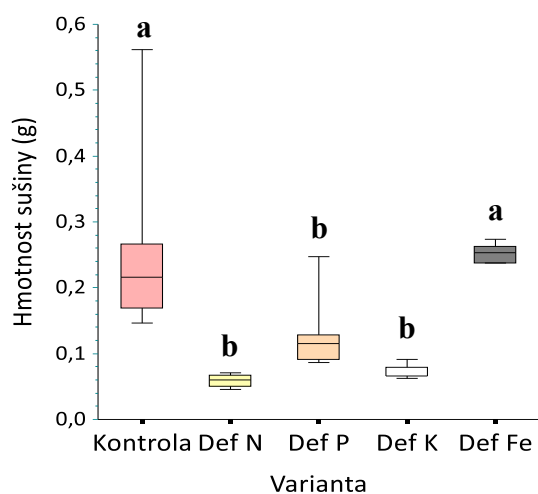
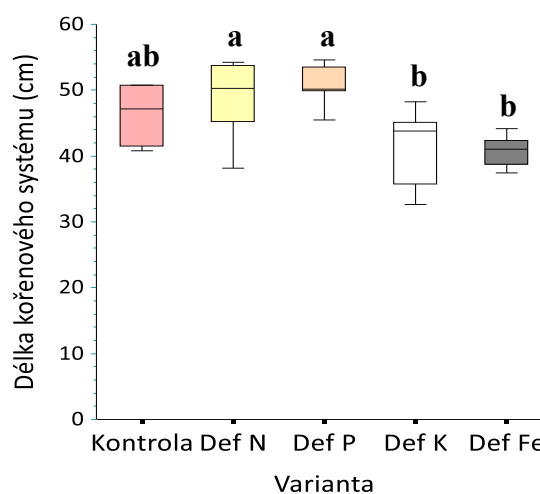
Růst rostlin

Po 14 dnech kultivace byly rostliny *T. aestivum* v některých deficientních variantách menší a měly jiné zbarvení než rostliny kontrolní. Jednalo se především o variantu -N a -K (Obr 4.8). Dále byly porovnávány hmotnosti sušiny prýtů. Signifikantní rozdíly byly patrné mezi kontrolou, s největší hodnotou hmotnosti sušiny, a třemi deficientními variantami (-N, -P, -K). Žádné signifikantní rozdíly nebyly pozorovány mezi deficiencí dusíku, fosforu a draslíku (Graf 21). Procentuální obsahy vody v prýtech se pohybovaly v rozmezí 78,4 – 84,9 %. Prýty kontrolních rostlin obsahovaly 83,8 % vody. Nejnižší obsah vody (78,4 %) byl u varianty -N, která se lišila signifikantně pouze od varianty -Fe s nejvyšším obsahem vody 84,9 % (One-way ANOVA, Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p > 0,05$).

Průměrná délka kořenového systému činila 45,7 cm a mezi kontrolou a všemi deficientními variantami nebyly žádné signifikantní rozdíly. Mírně kratší kořenový systém byl patrný u variant -K a -Fe (Graf 22).



Obr. 4.8: Rostliny *Triticum aestivum*. Zleva kontrola, - N, - P, - K, -Fe. Měřítko 3 cm.

21 Hmotnosti sušiny prýtů**22** Délka kořenového systému

Grafy 21, 22: Hmotnost sušiny prýtů (21) a délka kořenového systému (22) u rostlin *T. aestivum*.

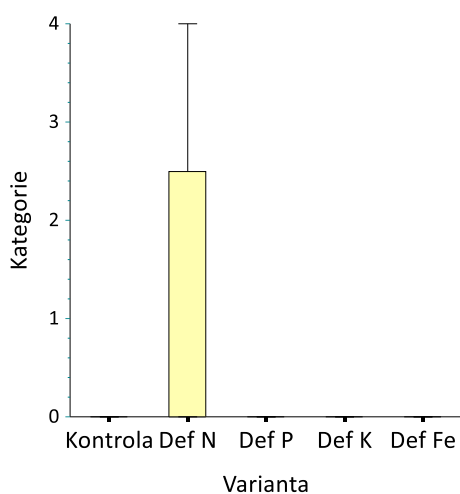
Rozdílná písmena značí signifikantní rozdíly mezi variantami (One-way ANOVA, Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p < 0,05$, $n = 7$).

Anatomická analýza kořenů *T. aestivum*

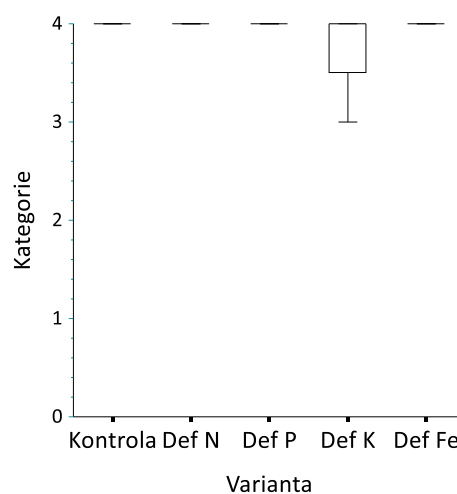
V pilotní části byla opět nejprve vybírána pozice na hlavní ose primárního kořene, která by byla vhodná pro následnou detailní anatomickou analýzu. Pro tuto pilotní část byly opět vybrány kořeny kontrolní a deficientní na dusík. Nejdříve byly analyzovány v 1/2 délky hlavní osy od špičky, ale v této pozici nebyla exodermis vůbec diferencovaná. Proto bylo nutné se zaměřit na část blíže k bázi kořene, do 3/4. I zde byla exodermis jen velmi částečně diferencovaná, proto byly kořeny dále analyzovány ještě v těsné blízkosti báze kořene (1 cm od báze kořene).

V pozici 1 cm od báze kořene byla následně provedena hlavní analýza (5 kořenů z každé varianty). Přesto, že byly získány řezy z těsné blízkosti báze kořene, částečně diferencovaná exodermis byla nalezena jen u některých kořenů z varianty -N, v ostatních variantách nebyly exodermální Casparyho proužky detekovány (Graf 23, Tabule 5). V exodermis nebyly nalezeny u žádné varianty suberinové lamely. Naopak endodermální suberinové lamely byly v této pozici přítomné téměř ve všech endodermálních buňkách ve všech variantách (Graf 24, Tabule 6).

23 Casparyho proužky v exodermis



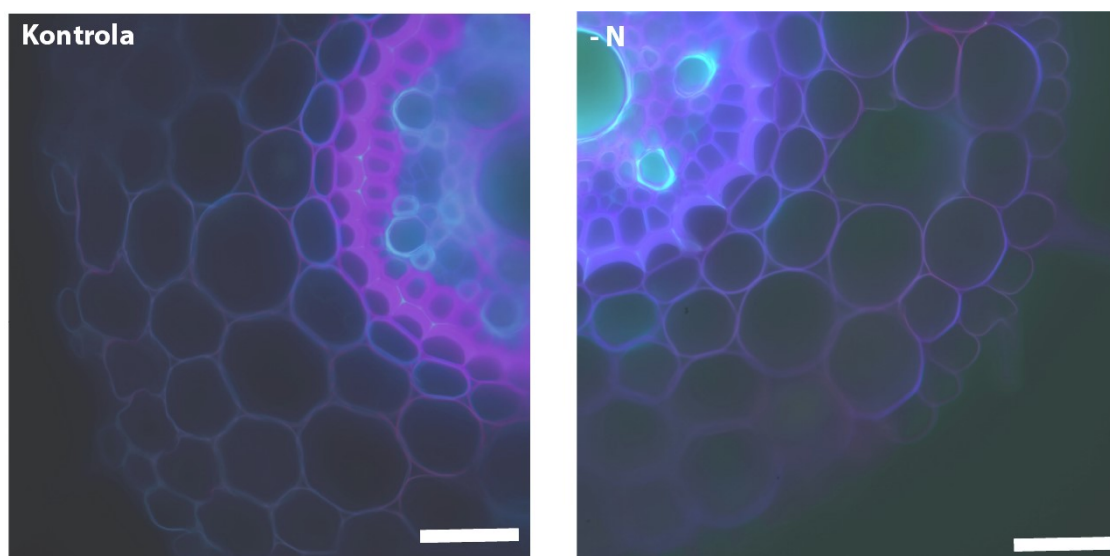
24 Suberinové lamely v endodermis



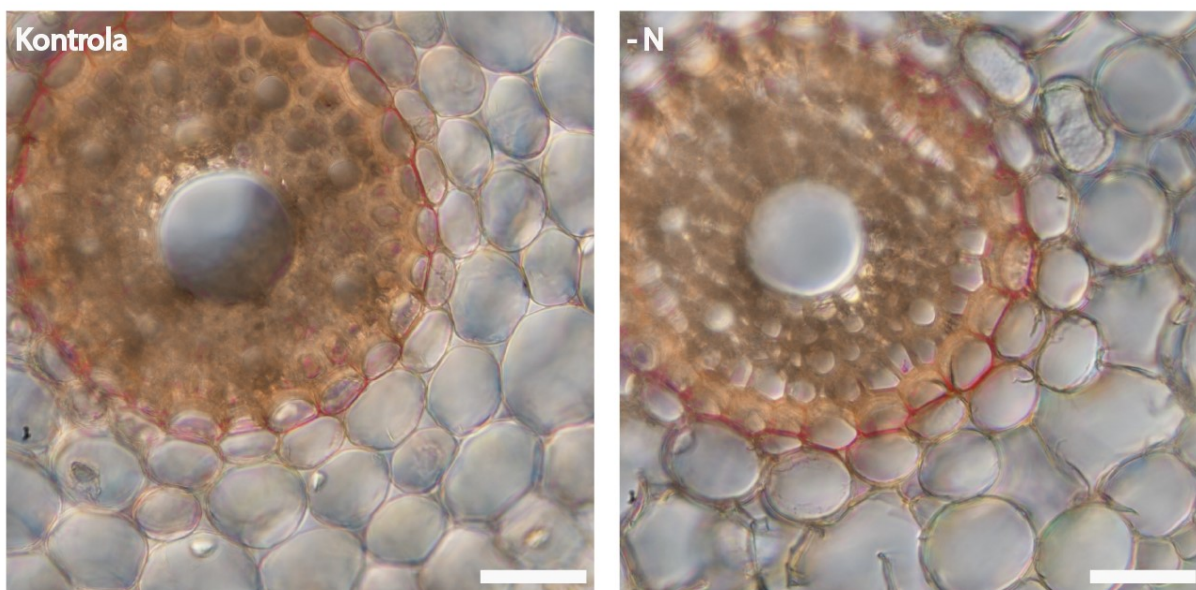
Grafy 23, 24: Rozsah diferenciacie apoplastických bariér u rostlin *T. aestivum* u jednotlivých deficientních variant a kontroly. Data získána z pozice 1 cm délky hlavní osy kořene (směrem od špičky).

Rozsah diferenciacie vyjadřují jednotlivé průměrné kategorie popisující výskyt CP nebo SL v rámci vrstvy exodermis nebo endodermis (0: žádné buňky s CP/SL; 1: cca 25 % buněk s CP/SL; 2: cca 50 % buněk s CP/SL, 3: cca 75 % buněk s CP/SL, 4: 100 % buněk s CP/SL).

* značí signifikantní rozdíl od kontrolní varianty (Pearson's Chi-Square test, $p < 0,05$, $n = 5$).



Tabule 5: Vývoj exodermis u rostlin *T. aestivum* v reakci na nedostatek živin. Řezy primárním kořenem v pozici 1 cm od báze kořene. Řezy barvené berberinem a genciánovou violetí pro vizualizaci Casparyho proužků (fluorescence, UV). Měřítka 50 μm .



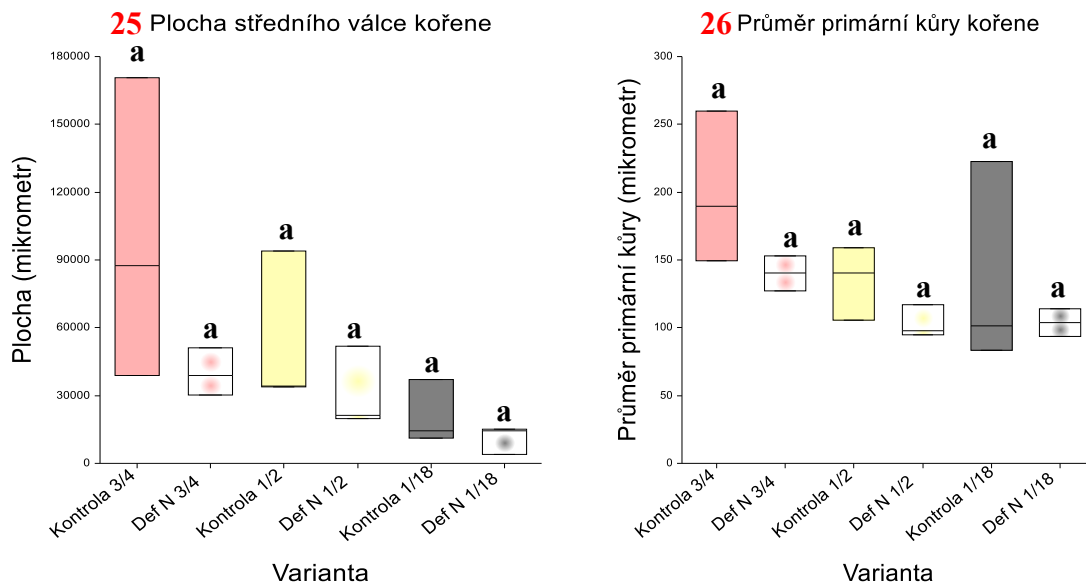
Tabule 6: Suberinizace endodermis u rostlin *T. aestivum* v reakci na nedostatek živin. Řezy primárním kořenem v pozici 1 cm od báze kořene. Barveno Sudan Red pro vizualizaci suberinových lamel (snímáno ve světlém poli). Měřítko 50 μm .

4.1.6 Vývoj ostatních pletiv kořene

V této části experimentu byli vybráni po jednom druhu zástupci ze skupiny jednoděložných (*S. bicolor*) a dvouděložných rostlin (*L. ussitatissimum*). Byly sledovány změny v anatomické struktuře kořenů v různých pozicích kořene. U *L. ussitatissimum*, byla sledována produkce sekundárních pletiv v závislosti na stáří dané části kořene (od špičky až po bázi kořene). U *S. bicolor* byla ve stejných pozicích analyzována plocha středního válce a tloušťka primární kůry pro porovnání. U každé rostliny byly získány řezy z pozic 3/4, 1/2 a 1/18 z celkové délky kořene u tří kořenů z varianty kontrolní a tří kořenů z varianty deficientní na dusík. U rostlin *L. ussitatissimum* byla patrná přítomnost sekundárních vodivých pletiv ve středním válci kořene (Tabule 7), byla proto těchto kořenů zaměřena i plocha středního válce (Graf 25) a tloušťka primární kůry kořene (Graf 26). Plocha středního válce signifikantně rostla směrem k bázi kořene (GLM ANOVA, $p < 0,05$, $n = 3$), tloušťka primární kůry se neměnila (GLM ANOVA, $p > 0,05$, $n = 3$). U obou parametrů nebyl zaznamenán signifikantní vliv varianty kultivace (GLM ANOVA, $p > 0,05$, $n = 3$; Grafy 26, 27). V povrchové vrstvě primární kůry pak byla ve starších částech kořene patrná přítomnost vznikajícího peridermu, a to u

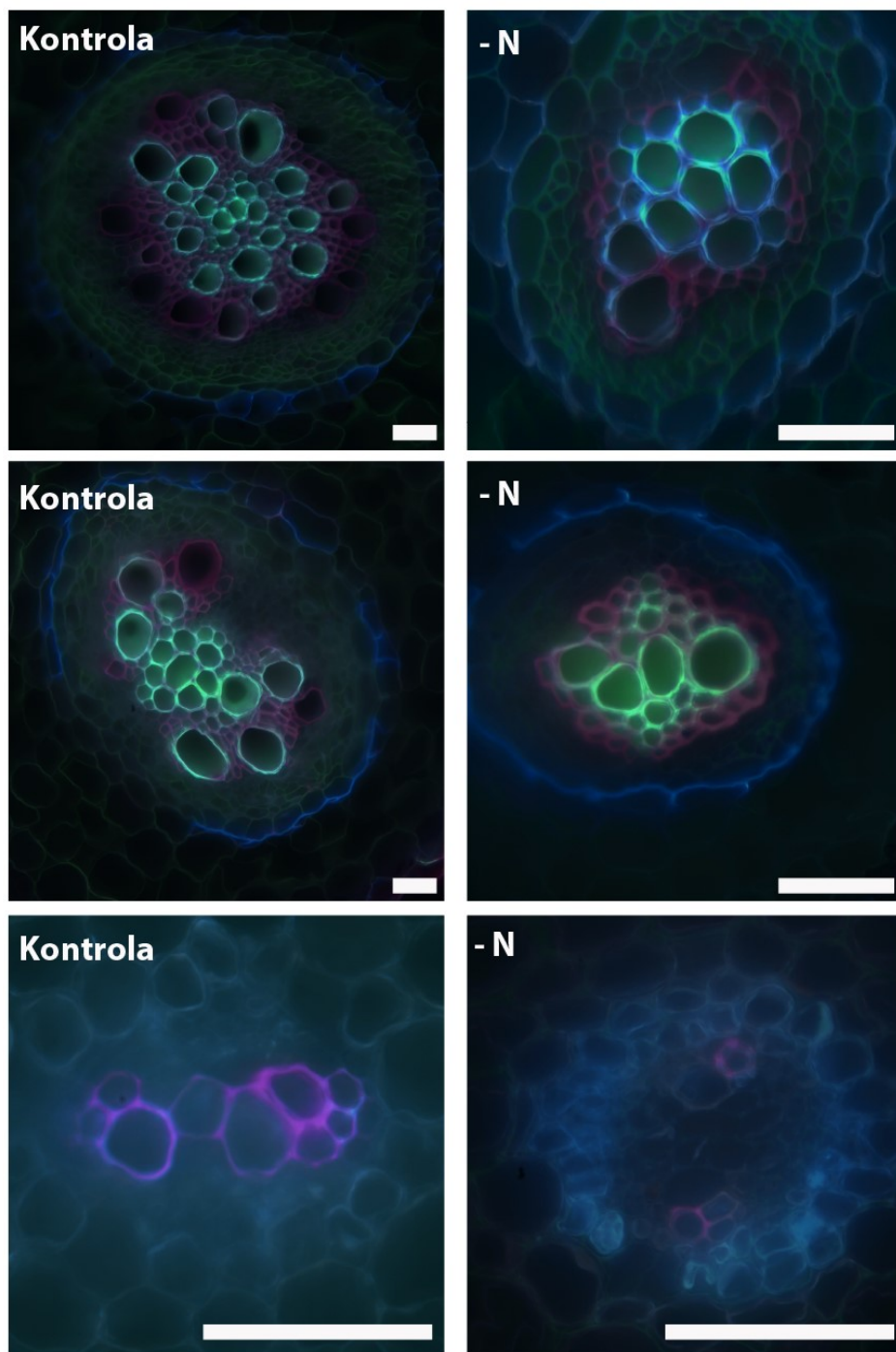
kořenů v obou variantách. Rozdíly mezi variantami ale v tomto ohledu nebyly detailně hodnoceny.

U rostlin *S. bicolor* se uspořádání středního válce dle předpokladů směrem k bázi kořene neměnilo (Tabule 8) a nebyla patrná žádná přítomnost korku. Plocha středního válce ani tloušťka primární kůry nebyla u tohoto druhu měřena.

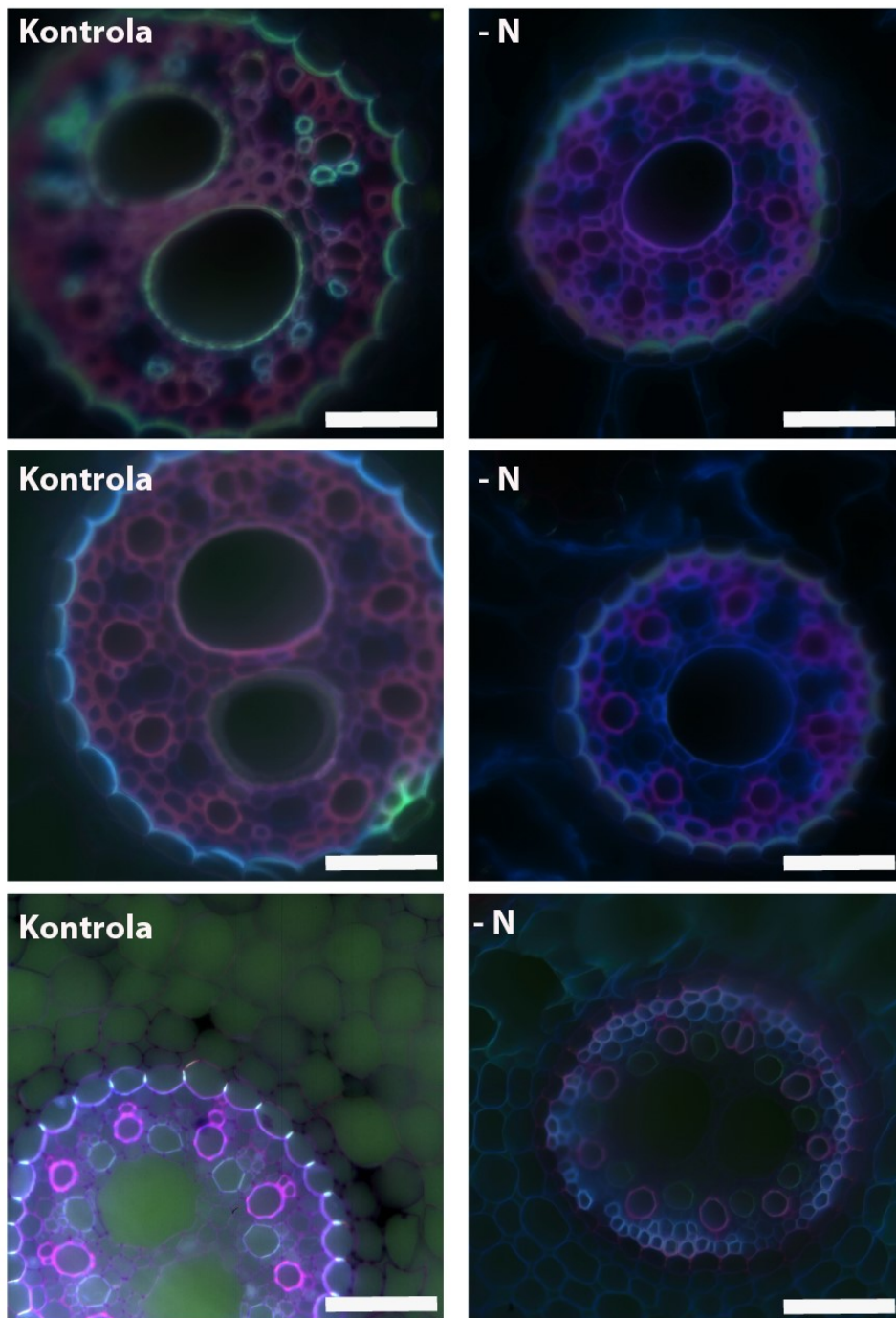


Grafy 25, 26: Plocha středního válce kořenů (25) a tloušťka primární kůry kořenů (26) u rostlin *L. ussitatissimum* u varianty kontrolní a deficientní v různých pozicích kořene podél kořenové osy (ve 3/4, 1/2 a 1/18 délky od špičky).

Rozdílná písmena značí signifikantní rozdíly mezi variantami lišícími se v řezané pozici a variantě výživy (GLM ANOVA, Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p < 0,05$, $n = 3$).



Tabule 7: Vývoj středního válce u dvouděložné rostliny *L. usitatissimum* u varianty kontrolní a deficientní na dusík. Řezy barvené berberinem a genciánovou violetí pro vizualizaci Casparyho proužků a lignifikovaných částí středního válce. Řezy z pozice 3/4 (nahore), 1/2 (uprostřed) a 1/18 (dole) délky kořene od špičky. Měřítka 50 μm .



Tabule 8: Střední válec jednoděložné rostliny *S. bicolor* u varianty kontrolní a deficientní. Řezy barvené berberinem a genciánovou violetí pro vizualizaci Casparého proužků a lignifikovaných částí středního válce. Řezy z pozice $\frac{3}{4}$ (nahore), $\frac{1}{2}$ (uprostřed) a $\frac{1}{18}$ (dole) délky kořene od špičky. Měřítko 50 μm .

4.1.7. Shrnutí experimentu 1

- Jednotlivé druhy se lišily ve vzdálenosti, kde se za špičkou kořene exodermis diferencovala
 - Ve velmi krátké vzdálenosti za špičkou se diferencovala u *L. ussitatissimum* (v 1/18 délky od špičky) a *S. bicolor* (v 1/13 délky od špičky).
 - U dalších rostlin se diferencovala dále za špičkou – u *S. lycopersicum* (v 1/2 délky kořene od špičky), *H. annuus* (v 1/4 délky kořene od špičky).
 - U *T. aestivum* se diferencovala až velmi blízko báze kořene (v 3/4 délky od špičky).
- Dostupnost živin ovlivnila diferenciaci exodermis u *S. lycopersicum*, *H. annuus* a mírně u *S. bicolor*, u rostlin *L. ussitatissimum* a *T. aestivum* neměla vliv.
- Diferenciaci exodermálních Casparyho proužků nejvýrazněji ovlivnila deficience N
 - Deficience N způsobila signifikantně rychlejší diferenciaci exodermálních Casparyho proužků u *S. lycopersicum*, a, *H. annuus*. U *S. bicolor*, *L. ussitatissimum* a *T. aestivum* byl patrný podobný trend, nebyl však signifikantní
 - Deficience P urychlila diferenciaci Casparyho proužků v exodermis u *S. lycopersicum* a *H. annuus*
 - Deficience K neměla vliv u žádného ze zkoumaných druhů
 - Deficience Fe urychlila diferenciaci Casparyho proužků v exodermis u *S. bicolor*, u ostatních druhů neměla vliv
- U rostlin *L. ussitatissimum*, byla pozorována přítomnost sekundárních vodivých pletiv ve starších částech kořene, což korelovalo se zvětšováním plochy středního válce směrem k bázi kořene. U některých kořenů byla také patrná tvorba peridermu, a to již v pozici 1/2 délky kořene.

4.2 Experiment 2: Analýza vnitrodruhové variability v reakci exodermis a endodermis na nedostatek živin v prostředí

V tomto experimentu bylo cílem sledovat reakci apoplastických bariér primárního kořene na nedostatek živin v prostředí u sedmi vybraných kultivarů *Zea mays*. Jednalo se o kultivary Cebesto, Cegrand, Celate, Cemora, Ceplan, Cesone a Cewel.

Sledována byla přítomnost exodermis s Casparyho proužky a její suberinizace. Dalším sledovaným faktorem byla míra suberinizace endodermální vrstvy a celkově rychlost diferenciace apoplastických bariér. Cílem bylo zjistit, zda budou pozorovány rozdíly v rychlosti diferenciace exodermis či endodermis mezi kultivary jednoho druhu rostliny.

Rostliny používané k tomuto experimentu byly pěstovány pomocí hydroponické kultivace po dobu 14 dnů za konstantních podmínek. Byly pěstovány rostliny kontrolní (v kompletním živném roztoku) a rostliny vystavené deficienci fosforu nebo deficienci dusíku (Obr. 4.9). Pro každou variantu výživy vždy proběhla samostatná kultivace.



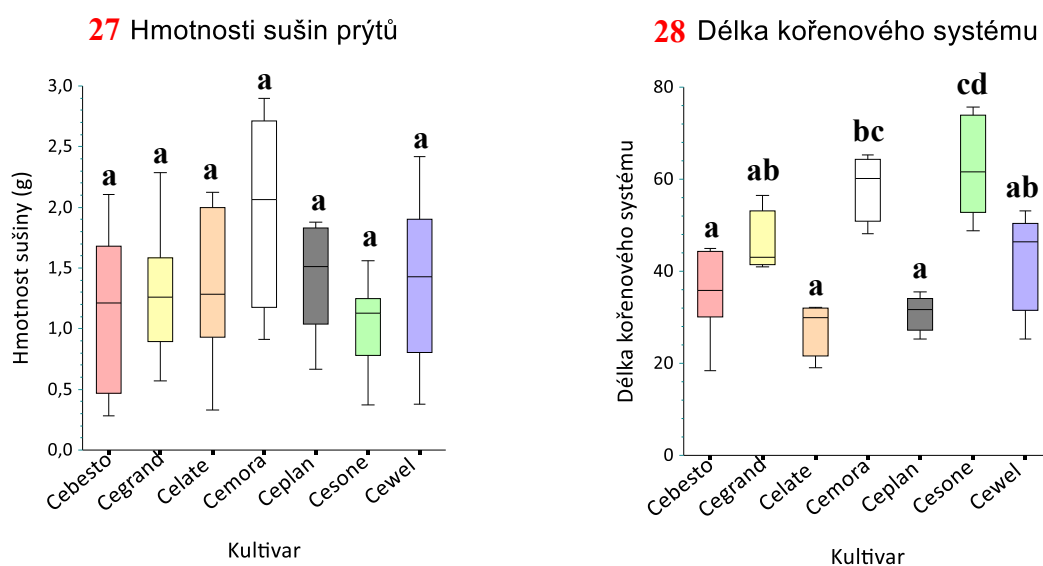
Obr. 4.9: Kultivace rostlin *Zea mays* – kultivar Ceplan. Zleva kontrola, - N, - P.

4.2.1. Analýza růstu kultivarů *Zea mays* za kontrolních podmínek

Hmotnosti sušín prýtlů se po 14 denní kultivaci v kontrolní variantě mezi jednotlivými kultivary nelišily (Graf 27). Byl vypočítán také procentuální obsah vody v prýtech, jež se mezi některými kultivary lišil. Nejvyšší obsah vody (93,8 %) byl zaznamenán u kultivaru Cesone, který se významně lišil od všech ostatních kultivarů kromě kultivaru Cemora (93,2 %). Naopak nejnižší hodnota obsahu vody byla zaznamenána u kultivaru Celate (89,4 %) a Cewel

(90,8 %), které se signifikantně lišily od kultivarů Cemora, Ceplan (92,3 %) a Cesone (93,8 %) (One-way ANOVA, Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p < 0,05$).

Délka kořenového systému, která odpovídala délce primárního kořene, se u jednotlivých kultivarů lišila. Kultivary s nejmenší délkou kořenů byly Cebesto, Celate a Ceplan, kde se průměrná délka kořenového systému pohybovala od 27,8 do 36 cm. Nejdelší kořenový systém pak měly kultivary Cemora a Cesone, jejich průměrná délka kořenového systému byla 58,5 – 62,1 cm (Graf 28).



Grafy 27, 28: Hmotnost sušiny prýtů (27) a délka kořenového systému (28) jednotlivých kultivarů *Zea mays*.

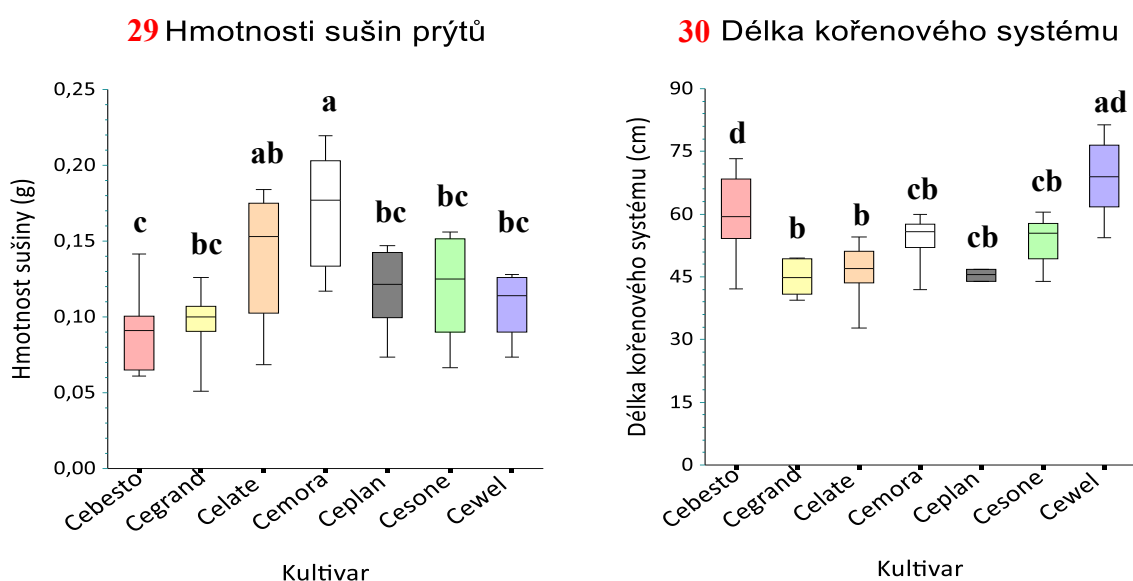
Rozdílná písmena značí signifikantní rozdíly mezi variantami (One-way ANOVA, Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p < 0,05$, $n = 4 - 9$).

4.2.2. Analýza růstu kultivarů *Zea mays* za podmínek deficience dusíku

Rostliny pěstované po dobu 14 dnů ve variantě -N byly oproti rostlinám kontrolním velmi malé a vykazovaly známky červení prýtů. Celkově lze říci, že sušina prýtů ve variantě -N (průměrná hodnota 0,12 g) byla mnohem menší než u rostlin kontrolních (průměrná hodnota 1,31 g). Mezi kultivary se v podmínkách deficience N projevíly signifikantní rozdíly v biomase prýtu. Signifikantně se lišily všechny kultivary kromě Celate (0,14 g) od kultivaru Cemora (0,17 g), u něhož byly zaznamenány nejvyšší hmotnosti sušiny. Nejmenší biomasu prýtu měl kultivar Cebesto. Mezi ostatními kultivary signifikantní rozdíly pozorovány nebyly (Graf 29).

Procentuální obsah vody v prýtech se mezi jednotlivými kultivary výrazně nelišil a pohyboval se okolo 87,2 % (One-way ANOVA, Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p > 0,05$). Průměrný obsah vody v prýtech byl ale celkově u varianty -N nižší (87,2 % - průměr pro všechny kultivary) oproti variantě kontrolní (92 % - průměr pro všechny kultivary) (GLM ANOVA, Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p < 0,05$).

Délka kořenového systému (odpovídající délce primárního kořene) se pohybovala v rozmezí 44,5 – 69 cm a mezi kultivary se lišila. Nejdelší kořenový systém byl u kultivaru Cewel, nejkratší kořeny měly kultivary Cegrand a Celate (Graf 30).



Grafy 29, 30: Hmotnost sušiny prýtů (29) a délka kořenového systému (30) jednotlivých kultivarů *Zea mays* deficientních na dusík.

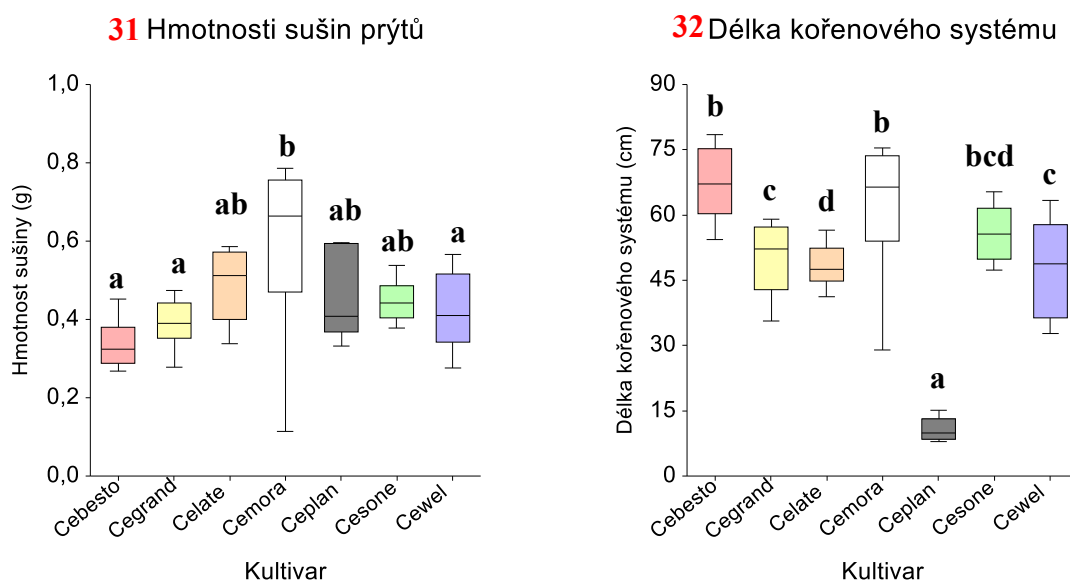
Rozdílná písmena značí signifikantní rozdíly mezi variantami (One-way ANOVA, Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p < 0,05$, $n = 3 - 9$).

4.2.3. Analýza růstu kultivarů *Zea mays* za podmínek deficiencie fosforu

Po 14 denní kultivaci se rostliny deficientní na fosfor lišily na první pohled od kontrolních vzrůstem. Byly menší, ale ne výrazně (průměrná hmotnost prýtu 0,54 g oproti 1,31 g u rostlin kontrolních), a barva listů a stonků se změnila. Stonky a listy se zbarvily do fialové barvy. Biomasa prýtů se mezi kultivary lišila jen mírně. Signifikantně největší byl kultivar Cemora a nejmenší byly oproti tomuto kultivaru tři další kultivary – Cebesto, Cegrand a Cewel

(Graf 31). Byl vypočítán také procentuální obsah vody v prýtech, ten se mezi jednotlivými kultivary výrazně nelišil a pohyboval se okolo 99,5 % (One-way ANOVA, Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p > 0,05$).

Rozdíly mezi kultivary byly patrné v délce kořenového systému. Velmi krátké kořeny byly u kultivaru Ceplan s průměrnou délkou 10,8 cm. Naopak nejdelší kořeny byly naměřeny u kultivaru Cebesto s průměrnou délkou 67,2 cm, následoval kultivar Cemora (Graf 32).



Grafy 31, 32: Hmotnost sušiny prýtů (31) a délka kořenového systému (32) jednotlivých kultivarů *Zea mays* deficientních na fosfor.

Rozdílná písmena značí signifikantní rozdíly mezi variantami (One-way ANOVA, Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p < 0,05$, $n = 9$).

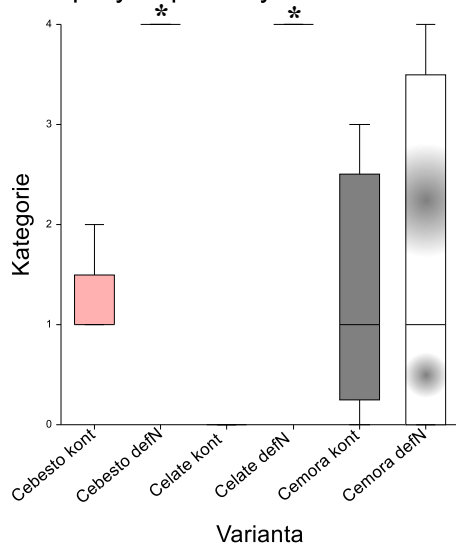
4.2.4. Anatomická analýza kořenů vybraných kultivarů *Zea mays* v kontrolní a -N variantě

K anatomické analýze kultivarů *Zea mays* byly vybrány tři kontrastní kultivary: Cebesto, Celate a Cemora. Tyto kultivary byly vybrány na základě kontrastních hodnot hmotností sušiny prýtů a délky kořenového systému. Následně byla hledána vhodná pozice podél podélné osy primárního kořene pro vizualizaci rozdílů v diferenciaci exodermální vrstvy mezi kontrolními a deficientními kořeny a mezi jednotlivými kultivary. Kořeny byly řezány v pozicích 1/7, 1/9 a 1/12 délky hlavní osy od špičky. Pro detailní analýzu byla vybrána pozice 1/9.

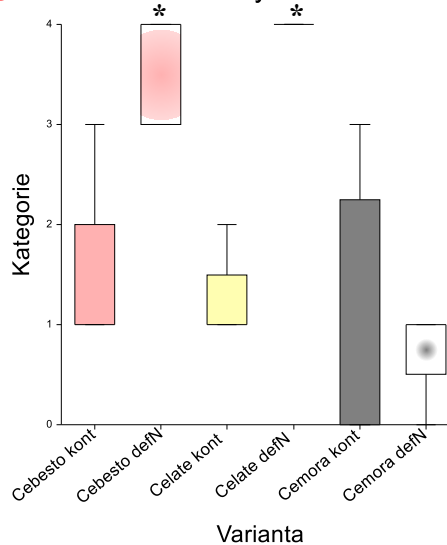
Detailní anatomická analýza zahrnovala 5 kořenů varianty kontrolní a varianty -N v pozici 1/9 (délky hlavní osy od špičky) u kultivarů Cebesto, Celate a Cemora. Následně byla vyhodnocována přítomnost lignifikovaných Casparyho proužků a suberinových lamel v exodermis, případně v endodermis, v této pozici na kořeni.

Rychlost diferenciac Casparyho proužků v exodermis byla v podmínkách deficiencie N zrychlena u kultivarů Cebesto a Celate (Graf 33). Signifikantní rozdíly byly také patrné mezi kontrolou a deficiencí N u kultivarů Cebesto a Celate v případě suberinových lamel v exodermis (Graf 34). V endodermis se suberinové lamely rychleji diferencovaly v podmínkách deficiencie N také u kultivarů Cebesto a Celate (Graf 35).

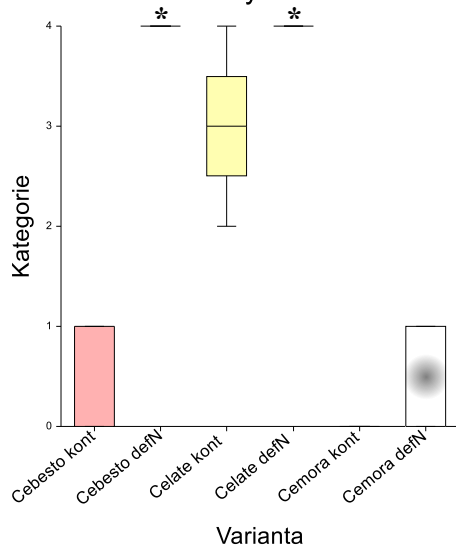
33 Casparyho proužky v exodermis



34 Suberinové lamely v exodermis



35 Suberinové lamely v endodermis



Grafy 33, 34, 35:

Rozsah diference apoplastických bariér u tří vybraných kultivarů *Zea mays* v -N variantě a variantě kontrolní. Data získána z pozice 1/9 délky hlavní osy kořene od špičky.

Rozsah diference vyjadřují jednotlivé průměrné kategorie popisující výskyt CP nebo SL v rámci vrstvy exodermis nebo endodermis (0: žádné buňky s CP/SL; 1: cca 25 % buněk s CP/SL; 2: cca 50 % buněk s CP/SL, 3: cca 75 % buněk s CP/SL, 4: 100 % buněk s CP/SL).

* značí signifikantní rozdíl mezi variantami kultivace pro daný kultivar (Pearson's Chi-Square test, $p < 0,05$, $n = 4 - 5$).

4.2.5. Shrnutí výsledků experimentu 2

- Mezi kultivary byly pozorovány rozdíly v rychlosti růstu (produkci biomasy prýtu) v závislosti na dostupnosti živin
 - V kontrolních podmínkách nebyly pozorovány žádné rozdíly mezi kultivary v produkci biomasy prýtu.
 - Rozdíly v biomase prýtu se objevily až v podmínkách deficiencie dusíku, kdy nejvyšší produkci biomasy vykazovaly kultivary Cemora a Celate, nejmenší produkci biomasy Cebesto.
 - V podmínkách deficiencie fosforu patřil k největším opět kultivar Cemora. Nejmenší produkci biomasy vykazovaly kultivary Cebesto, Cegrand a Cewel.
 - Produkce biomasy prýtu se v jednotlivých variantách výživy lišila, avšak kultivar Cemora dosahoval vysokou produkci biomasy v podmínkách deficiencie dusíku i fosforu.
- Mezi kultivary byly pozorovány rozdíly v délce kořenového systému
 - V kontrolních podmínkách byl naměřen nejdelší kořenový systém u kultivarů Cemora a Cesone. Naopak nejkratší u kultivarů Celate a Cebesto.
 - Za deficiencie N měly nejdelší kořeny kultivary Cewel a Cebesto. Krátký kořenový systém byl naopak zjištěn u kultivarů Cegrand a Celate.
 - V podmínkách deficiencie P měly nejdelší kořenový systém kultivary Cebesto a Cemora. Nejkratší naopak kultivar Ceplan.
 - Rychlost růstu kořenového systému v jednotlivých podmínkách se většinou lišil. Kořenový systém kultivaru Cemora však rostl rychle jak v kontrole, tak v deficienci P. Velmi pomalu rostl kořenový systém kultivaru Celate v kontrolních podmínkách a deficiencie N.
 - Celkově lze říci, že dostupnost živin signifikantně ovlivnila délku kořenového systému kultivarů. Nejkratší kořeny byly ve variantě kontrolní, a to v porovnání s variantou -N i -P. Signifikantně nejdelší byly kořeny v deficienci dusíku. Odlišná délka kořenového systému ale vyšla signifikantně i mezi variantami -N a -P (GLM ANOVA, Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p < 0,05$). Celkově nejdelší kořenový systém napříč variantami výživy měl kultivar Cemora, nejkratší pak kultivar Ceplan, a to v podmínkách deficiencie p.

- Diferenciace exodermis byla ovlivněna dostupností N jen u některých kultivarů
 - U kultivarů Cebesto a Celate byla rychlost diferenciace Casparyho proužků v exodermis v podmínkách deficiencie N zvýšena oproti kontrolním podmínkám. Na kultivar Cemora varinat výživy vliv neměla.
 - Rychlost diferenciace suberinových lamel v exodermis byla při deficienci zvýšena u kultivarů Cebesto a Celate. U kultivaru Cemora rozdíl mezi varintami výživy pozorován nebyl.
 - Dostupnost N ovlivnila rychlost diferenciace suberinových lamel v endodermis u kultivarů Cebesto a Celate. U kultivaru Cemora vliv neměla.

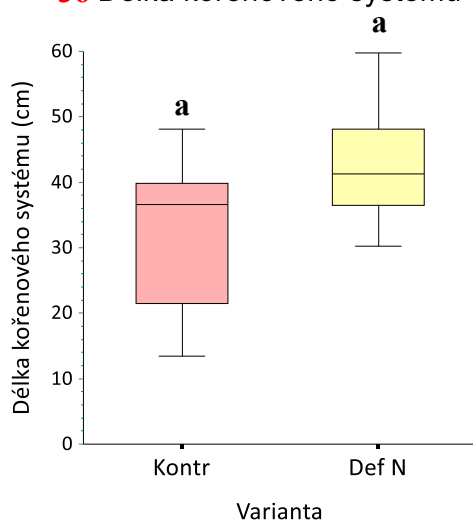
4.3 Experiment 3: Analýza lokalizované odpovědi na nedostatek živin v prostředí u rostlin *Helianthus annuus* v dělené (split-root) kultivaci

Cílem tohoto experimentu bylo analyzovat lokální vliv dostupnosti dusíku na diferenciaci apoplastických bariér. Rostliny *H. annuus* byly pěstovány 14 dní v dělené kultivaci, kdy jedna část kořenového systému byla vystavena deficienci N, druhá část kořenového systému téže rostliny byla ponořena do kontrolního roztoku.

Růst rostlin

Prýty rostlin nevykazovaly po 14 dnech kultivace změny barvy (chlorózu ani červenání). U kontrolní části kořenového systému kořenů byla průměrná délka 32,4 cm. U části deficientní na dusík byla průměrná délka 42,7 cm. Rozdíly ale nebyly statisticky významné (Graf 36).

36 Délka kořenového systému



Graf 36: Délka jednotlivých částí kořenového systému rostlin *H. annuus* v dělené (split-root) kultivaci - v části nádoby s kontrolním roztokem a části s roztokem deficientním na dusík.

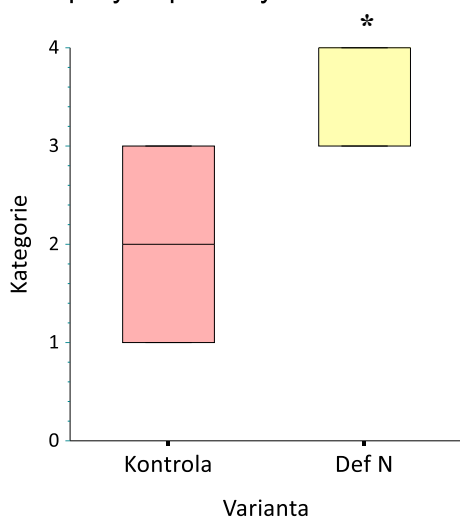
Rozdílná písmena značí signifikantní rozdíly mezi variantami (T - Test, $p < 0,05$, $n = 8$).

Anatomická analýza kořenů *H. annuus* v dělené (split-root) kultivaci

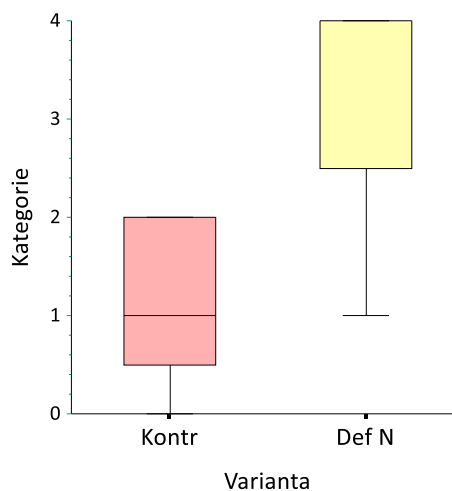
Pro anatomickou analýzu byl vybrán jeden nejdelší kořen z dané poloviny kořenového systému (kontrolní nebo deficientní části). Na tomto kořeni byla nejprve hledána vhodná pozice podél podélné osy kořene, kde by byly viditelné rozdíly v diferenciaci exodermální vrstvy mezi kontrolními a deficientními variantami kořenů. Kořen byl nejdříve řezán v pozici 1/2 z celkové délky hlavní osy kořene směrem od špičky, ale zde byla exodermis u obou variant plně diferencována. V pozici 1/4 exodermis nebyla diferencována, proto byla nakonec zvolena jako konečná pozice 1/3 délky hlavní osy od špičky.

Hlavní analýza tedy probíhala u všech kořenů v pozici 1/3 délky od špičky. Byly vyhodnoceny parametry diferenciaci exodermální a endodermální vrstvy. Bylo zjištěno, že v části kořenového systému vystaveného deficienci je diferenciaci Casparyho proužků v exodermis urychlena, a tak byly pozorovány signifikantní rozdíly mezi deficiencí a kontrolou (Graf 37, Tabule 9). Podobný trend byl patrný i v případě suberinových lamel v exodermis ale rozdíly nebyly signifikantní. V endodermis nebyl patrný rozdíl, v obou variantách výživy (částech kořenového systému) byla endodermis téměř plně suberinizovaná (Grafy 37, 38, 39).

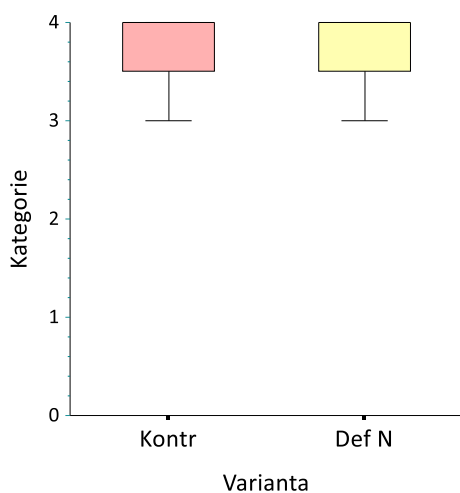
37 Casparyho proužky v exodermis



38 Suberinové lamely v exodermis



39 Suberinové lamely v endodermis

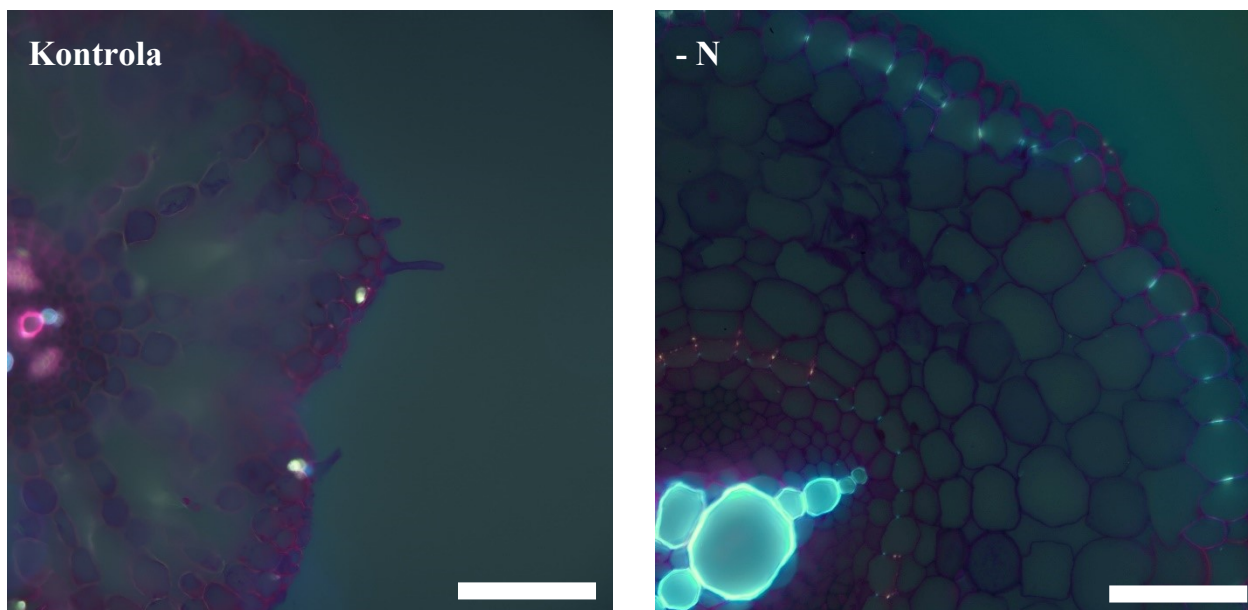


Grafy 37, 38, 39:

Rozsah diferenciacie apoplastických bariér u rostlin *H. annuus* v N deficientní a kontrolní části kořenového systému z dělené (split-root) kultivace. Data získána z pozice 1/3 délky hlavní osy kořene od špičky.

Rozsah diferenciacie vyjadřují jednotlivé průměrné kategorie popisující výskyt CP nebo SL v rámci vrstvy exodermis nebo endodermis (0: žádné buňky s CP/SL; 1: cca 25 % buněk s CP/SL; 2: cca 50 % buněk s CP/SL, 3: cca 75 % buněk s CP/SL, 4: 100 % buněk s CP/SL).

* značí signifikantní rozdíl od kontrolní varianty (Pearson's Chi-Square test, $p < 0,05$, $n = 5-7$).



Tabule 9: Vývoj exodermis u rostlin *H. annuus* v reakci na lokální nedostatek živin. Řezy primárním kořenem v pozici 1/3 délky směrem od špičky kořene. Řezy barvené berberinem a genciánovou violetí pro vizualizaci Casparyho proužků (fluorescence, UV). Měřítko 50 μm .

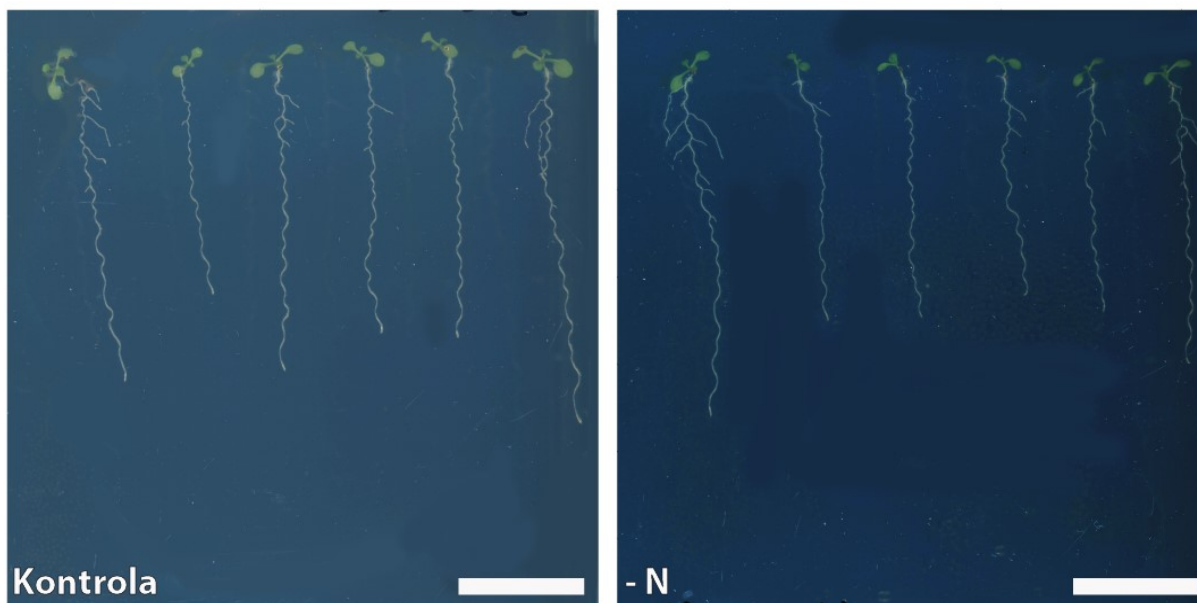
4.3.1 Shrnutí výsledků experimentu 3

- U rostlin *H. annuus* pěstovaných pomocí split-root kultivace byla pozorována lokalizovaná odpověď na nedostatek N v prostředí, která se projevila rychlejší diferenciací Casparyho proužků v exodermis.
- Podobný trend byl patrný i pro exodermální suberinové lamely ale vliv výživy nebyl signifikantní.

4.4 Experiment 4: Analýza reakce endodermis u *Arabidopsis thaliana* na nedostatek živin v prostředí

Růst rostlin

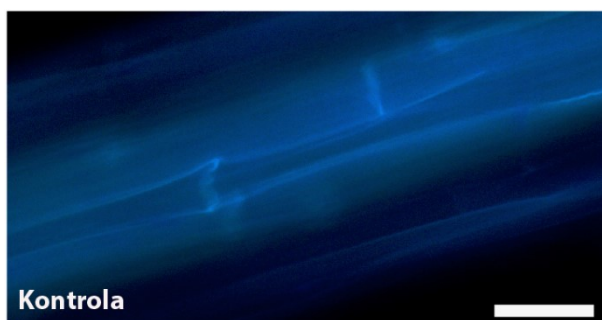
Rostliny pěstované *in vitro* na mediu se sníženým obsahem důležitých prvků v médiu (-N, -P, -K, -Fe) a na kontrolní mediu. Vliv deficiencie nebyl na první pohled příliš patrný (Obr. 4.10), délka hlavní osy kořene byla kratší u rostlin ve variantě -K, ostatní varianty se v tomto parametru od kontrolních rostlin nelišily (Graf 41).



Obr. 4.10: Kořeny *A. thaliana* kultivované na agarových plotnách. Vlevo kontrola, vpravo deficiencie dusíku. Měřítka 2 cm.

Anatomická analýza endodermis u rostlin *A. thaliana*

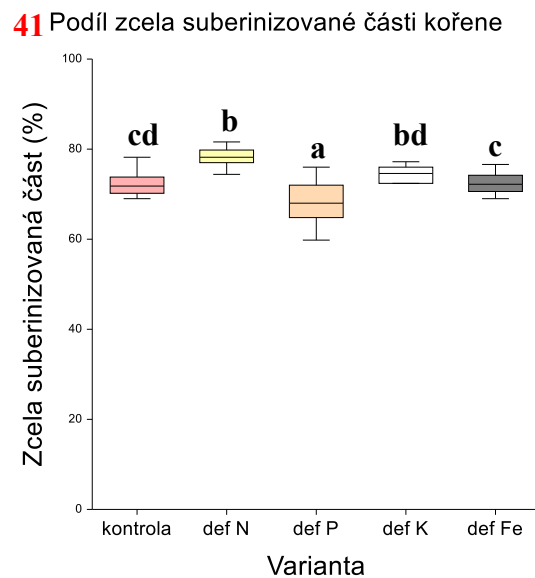
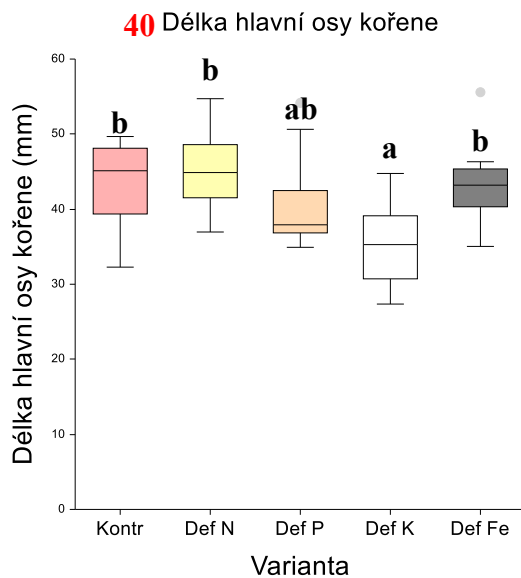
Suberinizace endodermis byla analyzována pomocí barvení celých kořenů *A. thaliana* a byly hodnoceny dva parametry: část hlavní osy kořene se zcela suberinizovanou endodermis a část hlavní osy s alespoň částečně suberinizovanou endodermis (vyjádřeno v procentech z celkové délky kořene, viz kapitola Metodika).



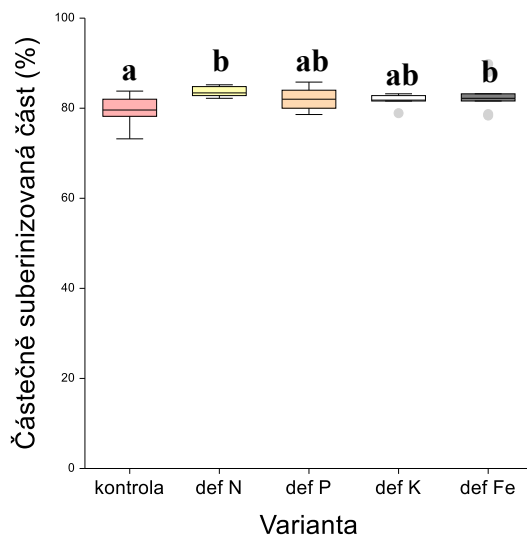
Tabule 10: Suberinové lamely v endodermis *A. thaliana*. Prosvětlené kořeny *A. thaliana* barvené Fluorol Yellow a anilinovou modří pro vizualizaci suberinových lamel v endodermis (fluorescence, UV). Měřítka 50 μm .

Délka hlavní osy kořene byla signifikantně nižší oproti kontrole u varianty –K (Graf 40). Podíl části kořene se zcela suberinizovanou endodermis (tj. endodermis, kde mají všechny buňky suberinové lamely) byl oproti kontrole vyšší u varianty -N, (Grafy 41). Podíl části kořene

se zcela suberinizovanou endodermis byl nižší oproti kontrole v případě -P (Graf 41). Relativní délka části kořene s alespoň částečně suberinizovanou endodermis byla signifikantně vyšší u variant -N a -Fe oproti kontrole, ostatní varianty výživy (-K a -P) se od kontroly v tomto parametru nelišily (Graf 42).



42 Podíl částečně suberinizované části kořene



Grafy 40, 41, 42:

Délka hlavní osy kořene (40), část hlavní osy kořene se zcela suberinizovanou endodermis (41) a část hlavní osy kořene s alespoň částečně suberinizovanou endodermis (42) u rostlin *A. thaliana*.

Rozdílná písmena značí signifikantní rozdíly mezi variantami (One-way ANOVA, Tukey-Kramer Multiple-Comparison Test, $p < 0,05$, $n = 6 - 14$).

4.4.1 Shrnutí výsledků experimentu 4

- Byly pozorovány rozdíly v rychlosti uložení suberinových lamel v endodermis rostlin *A. thaliana* mezi rostlinami kontrolními a deficientními.
 - Deficience N urychlila uložení suberinových lamel v endodermis, ale neměla vliv na délku hlavní osy kořene.
 - Deficience P měla vliv na suberinizaci endodermis v kořenech, kdy byla zpomalena diferenciací suberinových lamel oproti kontrole. Podíl části kořene s plně suberinizovanou endodermis byl kratší než u kontroly.
 - Deficience K měla vliv pouze na délku kořenů, které byly kratší oproti kontrolní variantě.

Deficience Fe urychlila nástup suberinizace endodermis. Podíl části kořene s alespoň částečně suberinizovanou endodermis byl vyšší než u kontroly.

5 Diskuze

Tato diplomová práce vznikla v návaznosti na předchozí práce, které byly zpracovány v rámci katedry Experimentální biologie rostlin a zaměřovaly se na různé aspekty vývoje apoplastických bariér kořenů v odpovědi na stresové podmínky prostředí. Práce navazuje na experimenty Mgr. Ondřeje Gargoše (Gargoš, 2021), Mgr. Jiřího Namyslova (Namyslov, 2018), Mgr. Jany Janouškové (Janoušková, 2018) a Mgr. Zuzany Bauriedlové (Blascheová, 2016). V rámci těchto prací bylo mimo jiné zjištěno, že se rychlost diferenciacie exodermis u kukuřice mění v odpovědi na nedostatek živin v prostředí, konkrétně dochází k urychlení diferenciacie při nedostatku dusíku nebo fosforu, a naopak ke zpomalení při nedostatku draslíku (Namyslov et al., 2020). Z toho je patrné, že exodermální vrstva vykazuje citlivost k dostupnosti živin v prostředí, podobně jako je tomu u vrstvy endodermální, kde je tento faktor považován za důležitý pro optimalizaci transportních vlastností kořenů pro efektivní příjem živin (Armand et al., 2019; Barberon & et al., 2016; A. Chen et al., 2019).

Hlavním cílem této diplomové práce bylo analyzovat rychlost diferenciacie apoplastických bariér, především exodermis, u většího spektra vybraných rostlinných druhů. Exodermis je plastická přídatná apoplastická bariéra ovlivňující transport látek do kořene a z kořene do prostředí (Enstone et al., 2002a). Vyskytuje se u velkého množství rostlin (Damus et al., 1997; C. J. Perumalla et al., 1990) a rychlost její diferenciacie je výrazně ovlivněna vlastnostmi okolního prostředí a působícími stresovými faktory (Degenhardt & Gimmler, 2000; Líška et al., 2016). Přítomnost diferencované exodermis u různých druhů rostlin může být tedy na různých stanovištích odlišná (C. A. Peterson, 1989). Kořeny rostlin jsou uzpůsobeny k příjmu vody a v ní rozpuštěných látek, zároveň však musí rostlina čelit útokům patogenů, ztrátám vody nebo působení toxických látek (Steudle & Peterson, 1998). Právě exodermis funguje jako přídatná ochranná bariéra zajišťující adaptaci k nepříznivým vlivům, kterými můžou být například sucho (xerofytní rostliny) nebo zaplavení (mokřadní rostliny) (Hose et al., 2001). Vzhledem k jejímu vlivu na transportní vlastnosti kořene (Freundl et al., 2000; Taleisnik et al., 1999; Zimmermann & Steudle, 1998) lze předpokládat, že změna rychlosti její diferenciacie v odpovědi na nedostatek živin pomáhá nastavit celkové transportní vlastnosti kořenového systému v daných podmínkách (Canto-Pastor et al., 2022; Schraut et al., 2005). Zhodnocení obecného významu tohoto aspektu je však limitováno faktem, že reakce exodermis byla doposud analyzována u velmi malého spektra rostlinných druhů a není proto jasné, nakolik je variabilní napříč různými rostlinnými druhy. Právě na tento aspekt se proto zaměřila první

část této diplomové práce (Experiment 1) a u významných kulturních plodin analyzovala vliv deficiencie na diferenciaci exodermální vrstvy se zaměřením na variabilitu mezi jednotlivými druhy i obecněji mezi jednoděložnými a dvouděložnými rostlinami (viz kapitola 5.1)

Studována byla dále však i variabilita vnitrodruhová, tedy vliv deficiencie živin na několik kultivarů téhož druhu rostliny za účelem zjištění, zda by některý z kultivarů mohl být v deficientním prostředí efektivnější než ostatní (např. z hlediska produkce biomasy) a zda tato vlastnost koreluje s rozsahem diferenciaci exodermis v kontrolních a deficientních podmínkách. Zjišťována byla také lokalizovaná odpověď na nedostatek živin u jedné z dvouděložných rostlin (*H. annuus*), jelikož předchozí práce v naší laboratoři popsala lokalizovanou reakci exodermální vrstvy u jednoděložné rostliny *Zea mays* (Gargoš, 2021; Namyslov, 2018). Posledním úkolem bylo pozorovat postup diferenciaci endodermis u *A. thaliana*. Ten byl již v minulosti pozorován v experimentech jiných prací (Barberon & et al., 2016; A. Chen et al., 2019). Suberinizace endodermis byla v těchto pracích pozorována za použití několika variant deficiencie živin, a proto bylo cílem analyzovat reakce endodermis v případě použití deficiencie prvků odlišných a dosud nepoužitých (především dusíku a fosforu), které mají silný vliv na exodermis (Armand et al., 2019; Namyslov et al., 2020), ale u *A. thaliana* nebyly zatím v tomto ohledu studovány.

5.1 Mezidruhová variabilita v reakci exodermis a endodermis na nedostatek živin v prostředí

V tomto experimentu jsem se zaměřila na rychlost diferenciaci exodermis i endodermis v případě nedostatku vybraných esenciálních živin (N, P, K a Fe), u nichž je známo, že jejich nedostatek silně působí na vývoj a růst rostlin (Bradley & Hosier, 1999) a zároveň ovlivňuje rychlost diferenciaci apoplastických bariér (Armand et al., 2019; Barberon & et al., 2016; Namyslov et al., 2020). Tyto prvky často musejí být dodávány ve formě hnojiv do půd pro podporu růstu zemědělsky významných plodin (Puhr, 1945), mechanismy adaptace rostlin k jejich nedostatku jsou proto aktuálním tématem recentního výzkumu (Li et al., 2016). K analýze mezidruhové variability v reakci exodermis na deficienci byly vybrány rostliny jednoděložné i dvouděložné, protože jsme se domnívali, že by mohl existovat systematický rozdíl v reaktivitě exodermis na deficienci mezi těmito skupinami rostlin, související s rozdílným vývojem vnitřních pletiv kořene, tj. produkcí sekundárních vodivých a krycích pletiv u dvouděložných nikoli jednoděložných. Rostliny byly dále vybírány na základě

dostupných informací o tom, že exodermis tvoří. Byly tedy vybrány tyto rostliny: *H. annuus* (Hose, 2000), *S. lycopersicum* (Arafa, 2015), *S. bicolor* (R. Cruz et al., 1991), *L. usitatissimum* (Turlier et al., 1994) a *T. aestivum* (Atabayeva et al., 2016). Rostliny byly kultivovány v hydroponických roztocích, kdy byl v deficientních variantách vynechán jeden určitý prvek. Klíčové bylo, že všechny druhy byly pěstovány za stejných podmínek a výsledky je proto možné porovnat. Právě nejednotnost kultivačních podmínek nebo použitých deficiencí komplikuje mezidruhové srovnání na základě dat získaných z několika málo předchozích studií zaměřených na tuto problematiku (Armand et al., 2019; Barberon & et al., 2016; Namyslov et al., 2020; Schreiber et al., 2005).

5.1.1 Reakce exodermis a endodermis na deficienci

Po anatomické analýze lze obecně říci, že u analyzovaných druhů rostlin se celkově lišila rychlost diferenciaci exodermis. U některých rostlin byla exodermis v primárním kořeni diferencována po 14 dnech kultivace již krátce za špičkou kořene (*L. usitatissimum* a *S. bicolor*), u dalších se diferencovala dále za kořenovou špičkou, zhruba v polovině délky kořene (*H. annuus* a *S. lycopersicum*). U rostlin *T. aestivum* se exodermis netvořila u většiny kořenů vůbec, Casparyho proužky v exodermální vrstvě byly nalezeny pouze u jednoho z pěti kořenů ve variantě N deficientní a to až v těsné blízkosti báze kořene (1 cm od báze při celkové délce kořenů cca. 49 cm) a nebyly vytvořeny ve všech buňkách exodermis. Naopak endodermis byla u rostlin *T. aestivum* ve stejné pozici kořene plně suberinizovaná ve všech deficientních variantách i ve variantě kontrolní a byly zde viditelné výrazné U-ztlustliny. Je tedy patrné, že *T. aestivum* nelze označit jako druh bez schopnosti tvořit exodermis, přestože v některých pracích je za takový druh považována (Kamula et al., 1994; C. J. Perumalla et al., 1990). Rozsah diferenciaci exodermis v kořenech pšenice je ale spíše malý, a tedy její role v nastavování transportních parametrů kořenového systému v odpovědi na deficienci je pravděpodobně také relativně malá. Je nutno nicméně zdůraznit skutečnost, že byly analyzovány kořeny mladých rostlin po 14 dnech kultivace, u starších rostlin může být význam exodermis větší. Tento fakt naznačují pozorování u ječmene, který je také v některých studiích považován na základě analýzy mladých hydroponicky pěstovaných rostlin za druh netvořící exodermis (Ranathunge et al., 2017), přesto exodermis v kořenech tvoří, a to přednostně právě v podmínkách deficiencie živin (fosforu), což je patrné u rostlin pěstovaných v hydroponii po dobu 3 týdnů (Namyslov et al., 2020).

Odlišnou situaci bylo možno pozorovat u rostlin *L. usitatissimum*, u nichž se utvořila exodermis již velmi blízko za kořenovou špičkou (již v 1/18 délky kořene od špičky). Lze tedy předpokládat, že tento druh patří mezi rostliny, u nichž dochází k rychlému uzavírání apoplastické dráhy transportu látek ve vnější vrstvě primární kůry kořene pomocí diferencované exodermis i za běžných nestresových podmínek. Rychlost diferenciaci exodermis také u tohoto druhu nebyla ovlivněna deficiencí živin, což jde vyvodit z výsledků anatomické analýzy, kde nebyly mezi jednotlivými variantami výživy pozorovány žádné významné rozdíly. U takovýchto rostlin (s časným nástupem diferenciaci exodermis) zřejmě může být striktněji nastavené určité místo, kde se za špičkou kořene začíná v rámci postupné diferenciaci pletiv i maturace exodermis, a proto je vliv podmínek prostředí méně výrazný. Je nicméně nutno zdůraznit, že v takovém případě, kdy je velmi záhy „uzavřena“ hlavní kořenová osa, mohou hrát roli postranní kořeny, u nichž by mohla být diferenciaci exodermis opožděna, a tudíž by nejenom přebraly hlavní roli v příjmu vody a látek z okolí, ale zároveň by mohly vykazovat reakci na podmínky prostředí (dostupnosti živin). U rostlin *L. usitatissimum* byla biomasa postranních kořenů velice hustá, bylo vytvořeno velké množství velmi mladých postranních kořenů, a tak by opravdu tyto kořeny mohly být v ohledu přednostního příjmu látek z okolí důležité. Reakce postranních kořenů a hlavní kořenové osy na deficienci je podobná, což naznačuje pozorování u ječmene (Armand et al., 2019). U kořenů rostlin *L. usitatissimum* byla provedena pilotní analýza delších postranních kořenů kontrolních a deficientních na dusík, vyrůstajících ze zhruba poloviny délky hlavní kořenové osy primárního kořene, a to pomocí řezů v pozici 1/2 délky těchto postranních kořenů. Ani v tomto případě ale nebyly patrné žádné rozdíly v diferenciaci oproti hlavní kořenové ose (exodermis byla v této pozici plně diferencovaná), z čehož lze usoudit, že postranní kořeny reagují podobně jako hlavní kořenová osa a celý kořenový systém tedy funguje jako celek reagující na odlišné podmínky stejně, což odpovídá předchozímu pozorování u kukuřice (Tylová et al., 2017). K podpoření teorie, že u postranních kořenů bychom mohli detekovat reakci exodermis na dostupnost živin v prostředí, by bylo nejspíš potřeba získat řezy z mladších postranních kořenů a blíže jejich kořenové špičce. Tato analýza je v plánu v blízké době.

U ostatních analyzovaných druhů byla rychlost diferenciaci exodermis ale i endodermis silně ovlivněna tím, který prvek byl v kultivačním roztoku vynechán, tedy jejich vývojové okno (oblast podélné osy, kde se exodermis začíná za špičkou kořene diferencovat a také oblast, kde je již plně diferencována) je variabilnější a širší než u výše zmíněných druhů rostlin (*T. aestivum* a *L. usitatissimum*). Nejsilnější vliv na rychlost diferenciaci exodermis měla deficiencie dusíku,

což koresponduje s faktem, že se jedná o jeden z nejdůležitějších makroprvků a je zapojen do velkého množství procesů probíhajících v rostlinách (Novoa & Loomis, 1981). V rámci exodermis byly hodnoceny dva parametry (dvě stádia modifikace buněčných stěn) – Casparyho proužky a suberinové lamely. Silný projev v případě tvorby Casparyho proužků byl signifikantní u rostlin *S. lycopersicum* a *H. annuus*, podobný trend byl pozorován také u *S. bicolor*, ale nebyl signifikantní. Z těchto tří druhů se právě u čiroku tvořila exodermis nejbližší za špičkou, což může podporovat závěry uvedené výše pro *L. usitatissimum*. V případě deficiencie fosforu byly výsledky velmi podobné jako u deficiencie dusíku, což koresponduje s předchozími pozorováními u kukuřice (Namyslov et al., 2020) a ječmene (Armand et al., 2019)

Společným rysem všech zkoumaných rostlin bylo, že žádná z nich nereagovala změnou v rychlosti diferenciaci exodermálních Casparyho proužků na nedostatek draslíku, což nekoreluje s předchozím pozorováním na rostlinách *Zea mays*, kde bylo pozorováno zpomalení diferenciaci (Namyslov, 2018). Odlišná reakce byla pozorována také u endodermis *A thaliana*, kde deficiencie draslíku způsobila urychlení suberinizace endodermis (Barberon & et al., 2016). Podobně také nekorelují výsledky s pozorováním z *A thaliana* v případě deficiencie železa. Ta u *A thaliana* způsobila zpomalení nástupu suberinizace endodermis, ale z mnoha studovaných druhů na deficienci železa reagovaly pouze rostliny *S. bicolor*, a to zrychlením diferenciaci exodermálních Casparyho proužků. Ostatní druhy nebyly ovlivněny. Lze tedy shrnout, že některé rostliny reagovaly na nedostatek určité živiny stejně, často však byla reakce na jeden konkrétní prvek u různých rostlin odlišná. Reakce rostlin na deficienci některých živin (K, Fe) je na mezidruhové úrovni variabilnější, zatímco reakce na deficienci N, P je do značné míry uniformní, byť záleží na dalších aspektech vývoje kořene konkrétního druhu. I zde se však najdou druhy, které reagují odlišně, v porovnání s rostlinami analyzovanými v této diplomové práci je to např. *Ricinus communis*, u kterého byla diferenciaci hypodermálních vrstev při deficienci dusíku zpomalena (Schreiber et al., 2005). Tento rozdíl nicméně může souviset i s odlišným experimentálním uspořádáním (způsobem, jakým byly rostliny deficienci vystaveny), protože reakce bariér (zpomalení nebo urychlení diferenciaci) zřejmě závisí také na intenzitě deficiencie, které jsou rostliny vystaveny (A. Chen et al., 2019).

Dále byla pozorována tvorba suberinových lamel v exodermis. Ukládání suberinových lamel je přechod do dalšího stádia vývoje, kdy už exodermis není vrstva transportní, ale především vrstva ochranná, protože uložení suberinu blokuje přístup k plazmatické membráně buněk a snižuje tak možnost příjmu látek z apoplastu do symplastu (Andersen et al., 2015;

Enstone et al., 2002b). Trend v diferenciaci suberinových lamel v exodermis byl podobný jako v případě diferenciaci Casparyho proužků. Suberinové lamely se v buňkách exodermis ukládají velmi rychle poté, co se utvářejí lignifikované Casparyho proužky, a fáze, kdy tato vrstva funguje jako transportní vrstva funkčně podobná polarizovanému epitelu živočichů (Barberon & Geldner, 2014) je tedy v porovnání s endodermis relativně vývojově krátká. U některých rostlinných druhů dochází k velmi brzkému přechodu do fáze suberinizovaného stavu kvůli nedostatku některého významného prvku a endodermis plní tak pouze ochrannou funkci, kdy se snaží tyto důležité látky udržet a kumulovat ve stéle kořene (A. Chen et al., 2019). Tento trend, kde dochází ke kompletní blokaci transportu (ale může stále probíhat symplastický transport pomocí plasmodesmat za předpokladu, že pokožkové buňky zůstaly živé), byl pozorován u některých analyzovaných druhů rostlin (*S. lycopersicum*, *H. annuus*), kde diferenciaci Casparyho proužků korelovala víceméně s utvářením suberinových lamel v exodermis, a to především v podmínkách nedostatku dusíku a fosforu. U ostatních rostlin neměla deficiencie živin na maturaci suberinových lamel vliv žádný (*L. usitatissimum*) nebo výskyt Casparyho proužků a suberinových lamel nekoreloval v rámci variant (*S. bicolor*).

Další parametr, který lze zohlednit v rámci posuzování rychlosti diferenciaci exodermis, může být délka kořene. Kořeny, které pomalu rostou a jsou tím pádem krátké, mohou mít diferencovaná pletiva už v krátké vzdálenosti za špičkou. Příkladem takového posunu je třeba posun ve vývoji vnitřních pletiv kořene *A. thaliana* při nedostatku fosforu (Sánchez-Calderón et al., 2005). Některé deficiencie živin mohou vést k prodloužení nebo naopak ke zkrácení hlavní kořenové osy. Odlišný projev, na rozdíl od výše zmíněného, často nastává v případě nedostatku dusíku, který u rostlin stimuluje prodloužování hlavní kořenové osy (Mounier et al., 2014). Kořeny N deficientních rostlin investují do růstu hlavního kořene především proto, že nitrát, v jehož formě je dusík většinou přijímán, je v půdě dobře pohyblivý a bývá často vyplavován do spodních vrstev půdy, k nimž se kořenový systém snaží prorůst (Lamb et al., 2014). Naopak nedochází k investici energie do růstu postranních kořenů (Sun et al., 2002). Navíc je hlavní osa kořene zřejmě výrazně uzavřená díky rychlejší diferenciaci Casparyho proužků a suberinových lamel v exodermis i endodermis, což naznačují předchozí studie (Armand et al., 2019; Namyslov et al., 2020) i výsledky získané v této diplomové práci. Je tedy patrné, že délka kořene nekoreluje s rychlostí diferenciaci Casparyho proužků v exodermis, respektive pozicí na podélné ose kořene, kde se exodermis diferencuje. To dokumentují výsledky pro *Zea mays* (Namyslov, 2018) a ani v této práci nebyla tato korelace u žádného druhu potvrzena. Kořenový systém většiny rostlin většinou vykazoval stejnou délku

jako kořeny kontrolní varianty. Dalším případem reakce kořenového systému na deficienci může být výše zmíněné zpomalení prodlužování hlavní osy kořene v závislosti na nedostatku fosforu, kdy naopak dochází ke zvýšené tvorbě postranních kořenů (Pérez-Torres et al., 2008; Sánchez-Calderón et al., 2005). Ekologický význam takové reakce souvisí s tím, že fosfor je v půdě obtížně dostupný, málo pohyblivý, často silně vázaný na půdní koloidy a vyskytuje se především ve svrchní vrstvě půdy, kterou mělký kořenový systém může lépe využít. Krátká kořenová délka pak může být příčinou brzké diferenciaci pletiv již krátce za špičkou kořene (Miura et al., 2011; Sánchez-Calderón et al., 2005), což by mohlo platit i pro diferenciaci apoplastických bariér. Tato hypotéza však nebyla u analyzovaných druhů potvrzena, jelikož délka kořenového systému (respektive délka hlavního kořene) pěstována pod stresem z nedostatku fosforu nebyla snížena a byla podobná jako u rostlin kontrolních. Délka kořenového systému tedy nebyla v tomto experimentu vzhledem k rychlosti diferenciaci exodermis významná, respektive s ní nevykazovala žádnou korelaci.

Suberinizace buněk endodermální vrstvy vykazovala větší variabilitu v rámci rostlinných druhů. U rostlin *L. usitatissimum* a *S. bicolor* nebyl patrný vliv deficiencie, tedy se od kontrolních rostlin nelišila. U rostlin *S. lycopersicum* se suberinové lamely v endodermis ukládaly rychleji při nedostatku všech tří hlavních prvků N, P, K. Podobný trend byl patrný také u *H. annuus*, signifikantní vliv ale měla pouze deficiencie fosforu. U rostlin *T. aestivum* byla analyzována pozice těsně u báze kořene, kde byla endodermis již kompletně suberinizována, tudíž z těchto výsledků nelze posoudit, zda reagují rostliny na deficienci živin. Pro získání lepšího přehledu by musely být analyzovány řezy z pozice blíže kořenové špičky. Výsledky získané u rostlin *S. lycopersicum* částečně korelují s prací na endodermis *A. thaliana*, kde se suberinové lamely utvářely v podmínkách nedostatku draslíku rychleji (Barberon & et al., 2016). Barberon a kolegové ve své práci spekulují, že zvýšená suberinizace endodermis za nedostatku draslíku v prostředí je adaptace na tuto deficienci a rostliny tak bojují proti porušení homeostázy draslíku a jeho možnému úniku z kořenů zpět do rhizosféry (Barberon & et al., 2016). Uzavírání stéle pomocí maturace suberinových lamel může pro rostlinu znamenat významnou možnost, jak potlačit únik látek ze stéle, protože je omezen nejenom transport cestou apoplastickou (pomocí Casparého proužků), ale i příjem látek před plazmatickou membránou do endodermálních buněk, protože je přístup k membráně ztížen přítomností suberinových lamel (Andersen et al., 2015; Enstone et al., 2002b).

5.1.2 Rozdíly v reakci apoplastických bariér mezi jednoděložnými a dvouděložnými rostlinami

V rámci této práce byla také testována hypotéza, že by se mohla změna v rychlosti diferenciaci exodermis i endodermis v odpovědi na deficienci lišit mezi jednoděložnými a dvouděložnými rostlinami. Tyto dvě skupiny rostlin se liší v produkci sekundárních pletiv v kořenech (Chaffey, 2006; Salisbury & Parke, 1970). U rostlin dvouděložných dochází k produkci sekundárních vodivých pletiv činností kambia, zvětšování objemu středního válce pak může narušit kontinuitu endodermální vrstvy, byť je tato vrstva schopná se do určité míry dilatovat (Lux & Luxová, 2001). Podobně také vznik peridermu se suberinizovanou vrstvou korku významně ovlivňuje prostor primární kůry a může potlačit význam exodermis. U jednoděložných rostlin se periderm v kořenech většinou netvoří, výjimku představují kořeny některých palem (Chaffey, 2006; Serra et al., 2022).

Předpokládali jsme proto, že by teoreticky mohly dvouděložné rostliny na deficienci reagovat méně výrazným posunem v rychlosti diferenciaci exodermis, protože může mít tato vrstva v kořeni vliv na transport látek povrchovou částí primární kůry jen kratší dobu. Případně by mohlo docházet k rychlejší diferenciaci exodermis (blíže za kořenovou špičkou) u rostlin dvouděložných a to proto, že by u nich exodermis hrála roli v regulaci transportu látek nebo funkci ochranné vrstvy především právě v mladších částech kořene, kde ještě není vytvořen periderm. Součástí diplomové práce bylo proto také u vybrané dvouděložné rostliny (*L. usitatissimum*) zjistit, nakolik jsou sekundární pletiva po 14 dnech kultivace v primárním kořeni již vytvořena. Kořeny byly za tímto účelem analyzované ve třech pozicích podél kořenové osy (v 3/4, 1/2 a 1/18 vzdálenosti od špičky). Byly porovnány rozdíly ve struktuře kořene, kde u pozice nejbliž kořenové báze (tedy nejstarší analyzovaná část kořene ve 3/4) byla patrná přítomnost sekundárních pletiv, především sekundárních vodivých pletiv ve středním válci, jehož plocha byla větší než v mladších částech kořene. Docházelo i k produkci peridermu, ve starších částech kořene bylo patrných několik vrstev korku. U rostlin *L. usitatissimum* se exodermis diferencovala velmi rychle a blízko za kořenovou špičkou, což by mohlo naznačovat jistou míru korelace těchto dvou vývojových aspektů. U jiné dvouděložné rostliny (*S. lycopersicum*) tomu tak však nebylo (exodermis se diferencovala v 1/2 celkové délky kořene), takže tento trend není možné zobecnit pro všechny dvouděložné rostliny a bude nutné zjistit rychlost nástupu tvorby peridermu v kořenech dalších analyzovaných dvouděložných rostlin (*S. lycopersicum* a *H. annuus*). Také u jednoděložných rostlin byla rychlost diferenciaci exodermis různá, u *S. bicolor* probíhala maturace exodermis blízko za špičkou, u *Z. mays* je

vidět dále (1/6) (Namyslov, 2018), u *T. aestivum* až téměř u báze kořene. Na základě získaných výsledků tedy nelze říci, že by existovaly nějaké systematické rozdíly mezi jednoděložnými a dvouděložnými rostlinami, variabilita je napříč všemi rostlinnými druhy. A to nejenom ve vzdálenosti, kde se za špičkou kořene začíná exodermis diferencovat, ale zřejmě ani v reakci na deficienci. Na tu reagovaly nejvýrazněji dvouděložné rostliny *S. lycopersicum* a *H. annuus*, další dvouděložná rostlina *L. usitatissimum* však nikoli. Podobně také mezi jednoděložnými rostlinami byly jsou druhy s méně výraznou reakcí (*T. aestivum*, *S. bicolor*) i silně reagující (*Z. mays*, *H. vulgare* (Armand et al., 2019; Namyslov et al., 2020)).

5.1.3 Lokalizovaná reakce bariér na deficienci

V souvislosti s mezidruhovou variabilitou v reakci na nedostatek živin v prostředí byla analyzována i lokalizovaná odpověď kořenového systému. Taková reakce může být dalším zajímavým aspektem, jímž se rostliny mohou přizpůsobovat nepříznivým podmínkám okolí a zvyšovat tak efektivitu růstu a příjem zdrojů z heterogenního půdního prostředí. Z řady studií je patrné, že kořenový systém je schopen lokálně reagovat na podmínky rhizosféry. Např. vystavení kořenového systému různým koncentracím živiny vede k podstatné asymetrii růstu a dochází k upřednostnění vývoje té části kořenového systému, jehož část není vystavena deficienci (Krouk et al., 2010; Lima et al., 2010; Liu et al., 2008). Projevy lokalizované odpovědi se mohou projevovat ale i za jiných podmínek, například při stresu ze sucha, kdy se může měnit úhel kořenů či jejich hustota (Rao et al., 2021), dále pak při nadměrném zasolení půd (Shelden & Munns, 2023) či při zaplavení (Sakazono et al., 2014). Jakými hlavními mechanismy je ale preferenční využití živinami bohatších oblastí půdy v rostlině regulováno? Např. v případě dostupnosti nitrátu je důležitá role nitrátového transportéru NRT1.1 (Nitrate transporter 1.1), který funguje jako senzor a ovlivňuje distribuci auxinu ve špičkách mladých laterálních kořenů, což ovlivňuje jejich dlouhivý růst v odpovědi na dostupnost nitrátu v rhizosféře (Krouk et al., 2010). Dalším důležitým hráčem jsou např. signální peptidy CEP (C-terminally encoded peptide). Ty jsou produkovány částí kořenového systému vystavené podmínkám nízké dostupnosti dusíku, transportovány rostlinou na dlouhou vzdálenost a v konečném důsledku stimulují expresi genů pro nitrátové transportéry (např. NRT2.1) v části kořenového systému, která deficienci vystavena není (Tabata et al., 2014).

Co se týče lokalizované odpovědi apoplastických bariér na nerovnoměrnou distribuci živin, jsou regulační mechanismy prakticky neznámé a celkově není tato reakce moc

prozkoumána. Existují recentní práce z naší laboratoře provedené na *Zea mays*, popisující schopnost exodermis reagovat rychlostí svojí diferenciace na lokální podmínky rhizosféry (Gargoš, 2021; Namyslov et al., 2020). V rámci méj diplomové práce nás proto především zajímalo, zda je lokalizovaná odpověď na úrovni exodermis či endodermis kořenů patrná také u dalších druhů rostlin. V mé práci jsem se zaměřila na analýzu lokalizované odpovědi u dvouděložných rostlin, konkrétně *H. annuus*. Ukázalo se, že část kořenového systému rostoucího v N deficientních podmínkách reaguje zrychlením diferenciace exodermis na rozdíl od té části, která se vyskytovala v roztoku kontrolním, což kopíruje výsledky dříve získané u kukuřice (Gargoš, 2021; Namyslov et al., 2020). To naznačuje, že by lokální změny v rychlosti diferenciace bariér mohly být obecně významným mechanismem podílejícím se na nastavování lokálních transportních parametrů kořenového systému v podmínkách heterogenní půdy. Co tuto odpověď reguluje ale není jasné. Recentní práce však naznačují, že významnou roli v modifikaci kořenového systému hrají fytohormony (ABA, etylén, atd). Působení fytohormonů v souvislosti s tvorbou suberinových lamel popisují i autoři v práci s *A. thaliana*, kde působení exogenního přídatku ABA způsobuje zvýšenou suberinizaci endodermis, etylén má efekt opačný (Barberon, 2016; Shukla et al., 2021). Působením etylénu může být dokonce stimulováno i odbourávání suberinu (Shukla & Barberon, 2021). Souvislost mezi působením fytohormonů a lokalizovanou odpovědí apoplastických bariér na nedostatek živin hledá aktuálně kolega Mgr. Ondřej Gargoš v rámci své disertační práce.

5.2 Vnitrodruhová variabilita v reakci exodermis na podmínky deficiencie živin

Dalším úkolem této práce bylo ověřit, zda existuje vnitrodruhová variabilita v odpovědi exodermis na deficienci, tedy zda se mohou různě chovat v různých deficientních podmínkách kultivary jednoho druhu rostliny (v tomto případě *Zea mays*). Existuje řada prací, které dokládají, že kultivary jednoho druhu rostliny mohou rozdílně reagovat na různé podmínky prostředí, např. nedostatek vody nebo minerálních živin. Příkladem jsou např. rozdíly v produkci biomasy či délky kořenového systému u kultivarů *Glycine max* pěstovaných za podmínek sucha. Některé kultivary vykazovaly dlouhivý růst kořenů, aby mohly nalézt zdroj vody, nejméně efektivní kultivar pak byl ten s mělkým kořenovým systémem (Fenta et al., 2014). Zajímavé rozdíly jsou také patrné u různých kultivarů rýže (*Oryza sativa* L.) v reakci na deficienci živin (Chaiwong et al., 2018). U ječmene bylo pozorováno, že jsou kultivary s delšími kořenovými vlásky (Gahoonia & Nielsen, 2004) nebo silnější schopností sekrece

organických kyselin (Gahoonia et al., 2000) efektivnější v příjmu fosforu při jeho nedostatku. Toto porovnávání kultivarů může být významné především pro zemědělskou sféru, kdy mohou být vybírány pro pěstování takové kultivary, které se v daných podmínkách umí nejlépe přizpůsobit a umí tak vyprodukovat co nejvyšší množství biomasy. Experiment s kultivary v této práci je jeden z pilotních experimentů, kde se do souvislosti s produkcí biomasy staví i rychlost diference bariér. Práce na toto téma doposud nebyly provedeny, a proto jsme se zaměřili na analýzu vnitrodruhové variability kultivarů *Zea mays* v podmínkách deficiencie fosforu, dusíku a v kontrolních podmínkách. Kukuřice byla vybrána proto, že vykazuje výraznou reaktivitu exodermální vrstvy na podmínky deficiencie (Namyslov et al., 2020). Z časových důvodů byla provedena anatomická analýza pouze tří kontrastních kultivarů, které se lišily v produkci biomasy prýtu. Porovnávány byly v souvislosti diference bariér tyto tři kultivary v podmínkách kontrolních a deficiencie dusíku. Bylo zjištěno, že v deficičních podmínkách byla signifikantně zrychlena maturace Casparyho proužků v exodermis oproti kontrolním podmínkám pouze u kultivarů Celate a Cebesto, u kultivaru Cemora k tomu nedošlo. Právě kultivar Cemora měl oproti ostatním kultivarům nejvyšší produkci biomasy, což by mohlo potvrdit hypotézu, že rychlost diference exodermis může korelovat s produkcí biomasy. I kultivar Celate však patřil mezi kultivary s vyšší hmotností prýtu při deficienci, takže tento závěr není jednoznačný a bude třeba získat více výsledků (pro další kultivary i pro deficienci fosforu). Zároveň měl kultivar Celate nejkratší kořenový systém. U kratších kořenů by totiž teoreticky mohla být diference exodermis rychlejší, tj. krátce za špičkou kořene. Tento fakt však nebyl potvrzen, což koresponduje i s výsledky na jiných druzích rostlin analyzovaných v této práci (viz výše).

Získané výsledky nicméně nepotvrzují předpoklad, že se kultivary schopné v deficienci udržet vyšší produkci biomasy vyznačují schopností rychleji diferencovat exodermis při deficienci a zabránit tak například ztrátám dusíku z kořene zpět do rhizosféry. Proto byl experiment prozatím uzavřen s novou hypotézou, že se k dřívějšímu omezení apoplastického transportu pomocí exodermis uchylují spíše kultivary, které v deficičních podmínkách více strádají. Snaží se tak zabránit úniku živin z kořenů, případně nasměrovat příjem vody a živin do apikální části kořene, který může být díky prorůstání do nových nevyčerpaných oblastí půdy efektivnější v příjmu živin při nedostatku. Pro komplexnější výsledky je však potřeba v budoucnu provést analýzu i dalších zbylých kultivarů ve všech podmínkách výživy.

5.3 Analýza reakce endodermis u *Arabidopsis thaliana* na nedostatek živin v prostředí

Analýza reakce endodermis *A. thaliana* za nedostatku živin v médiu je pilotní experiment navazující na výsledky dřívější práce (Barberon & et al., 2016), který zkouší nalézt nové výsledky za použití deficiencí takových živin, které v předchozím zmíněném experimentu použity nebyly. Zkoumání vlivu nedostatku živin na endodermis *A. thaliana* je velice zajímavá z toho důvodu, že se jedná o důležitou modelovou rostlinu poskytující možnosti snadné práce s mutantními liniemi, například s modifikovanou citlivostí vůči různým fytohormonům. To nám poskytuje velký manipulační prostor pro zjišťování souvislostí mezi působením fytohormonů a dalších signálních mechanismů a rozvojem endodermis za nepříznivých podmínek. Pro základní analýzu byly v rámci této diplomové práce použity média se sníženou koncentrací důležitých živin. Na rozdíl od práce (Barberon, 2016) byly vybrány, kromě draslíku a železa, především hlavní makroprvky – dusík a fosfor. Endodermis *A. thaliana* reagovala v našich podmínkách zrychlením diferenciací suberinových lamel při deficienci dusíku, což můžeme pozorovat i u endodermis a exodermis dalších rostlinných druhů (viz. Kapitola 5.1). Naše výsledky však nekorelují s výsledky Barberon a kolegů, kteří pozorovali zrychlení suberinizace endodermis v případě nedostatku draslíku, což vysvětlují jako adaptaci proti porušení homeostázy draslíku v buňkách (Barberon, 2016). V našem případě neměla deficiencie draslíku signifikantní vliv. Zároveň jsme, na rozdíl od Barberon a kol., pozorovali rychlejší (blíže za špičkou) suberinizaci endodermis při deficienci železa. Tyto rozdíly lze vysvětlit odlišným složením médií, protože míra deficiencie má zřejmě výrazný vliv na to, jak bariéry reagují (A. Chen et al., 2019). V našem experimentu byl navíc použit agar Kobe s dosud detailně neanalyzovaným složením prvků, což mohlo ovlivnit růst rostlin a maturaci bariér. Tyto aspekty bude třeba vyřešit v následujících kultivacích *A. thaliana*.

6 Závěr

Tato diplomová práce byla zaměřena na analýzu rychlosti diferenciacie exodermis u co nejširší škály rostlinných druhů, u nichž je známo, že exodermis tvoří a nebyly dosud analyzovány, nebo u nichž byly použity odlišné deficiencie živin. Účelem práce bylo přispět k odpovědi na otázku, zda je rychlost diferenciacie exodermis důležitým parametrem pro zvyšování efektivity kořenového systému rostlin v příjmu živin a reakci na podmínky deficiencie. Pozornost však byla věnována i kultivarům jednoho druhu rostliny, konkrétně *Zea mays*, za účelem analýzy vnitrodruhové variability, protože bychom mohli teoreticky předpokládat, že takové rozdíly by mohly ovlivnit efektivitu jednotlivých kultivarů v podmínkách deficiencie.

Vybrané rostlinné druhy byly pěstovány pomocí hydroponické kultivace za konstantní teploty a osvětlení, přičemž byly rostliny vystaveny nedostatku důležitých prvků v roztoku, buď celým kořenovým systémem nebo jen jeho částí v dělené (split-root) kultivaci. Jednalo se většinou o živiny ze skupiny makroprvků jako je dusík, fosfor či draslík, ze skupiny mikroprvků pak bylo vybráno železo. Diplomová práce vychází a navazuje na další práce naší vědecké skupiny, konkrétně na práce zaměřující se na souvislost mezi deficiencí živin a diferenciací exodermis u *Zea mays* L. (Gargoš, 2021; Namyslov, 2018; Namyslov et al., 2020) a přináší výsledky ukazující do značné míry podobné reakce exodermální vrstvy na deficienci dusíku a fosforu u různých rostlinných druhů, což podporuje dříve získané výsledky. Práce ale zjistila také odlišnosti v intenzitě reakce mezi jednotlivými druhy, a dokonce i mezi kultivary téhož druhu.

V závěru se práce zaměřila na endodermis *Arabidopsis thaliana*. Tato rostlina byla již v podmínkách deficiencie analyzována (Barberon et al., 2016), ale vliv nedostatku dusíku a fosforu, které se u většiny doposud analyzovaných druhů jeví jako faktor silně ovlivňující diferenciaci apoplastických bariér, nebyl u této modelové rostliny dosud testován. Semenačky *Arabidopsis thaliana* jsem pěstovala na agarových plotnách, kde byl omezen nebo výrazně snížen obsah významných živin dusíku, draslíku, železa a fosforu a zjistila jsem, že zde má deficiencie dusíku nejvýraznější vliv a způsobuje urychlení diferenciacie endodermis. Tento experiment představuje také přípravu pro další experimenty zaměřené na regulační mechanismy lokalizované reakce bariér na podmínky deficiencie, pro které bude využití této modelové rostliny přínosem, a jsou plánovány do budoucna. Pracovala jsem proto také na přípravě semenáčků *A. thaliana* pro dělenou (split-root) kultivaci. Snažila jsem se indukovat

tvorbu adventivních kořenů poté, co jsem odstranila hlavní kořen semenáčků. Úspěšné zvládnutí této techniky, přestože z této kultivace nejsou výsledky v diplomové práci zařazeny, je také přínosem pro navazující experimenty.

Co se týče reakce exodermis na deficienci napříč všemi rostlinnými druhy, což byla hlavní otázka mé diplomové práce, tak lze říci, že výrazněji reagují na deficienci živin ty rostliny, jejichž vývojové okno pro diferenciaci exodermis je širší. U takových rostlin může zřejmě dojít snadněji k posunu vzdálenosti, kde se exodermis začíná formovat. Pak existuje další skupina rostlin, jejich vývojové okno je užší. U těchto rostlin maturuje exodermis již velmi blízko za špičkou, tudíž na nedostatek živin reagují velmi málo nebo vůbec. Je však možné, že takto se chová pouze hlavní kořenová osa a jiné vlastnosti mohou vykazovat kořeny postranní, které přeberou funkci hlavního kořene a u nich může být diferenciaci exodermis v menším rozsahu, díky tomu, že představují mladší část kořenového systému. Tato zjištění korelují s předchozími pracemi, kde i rostliny *Zea mays* reagovaly v případě nedostatku dusíku rychlejší diferenciací bariér (Gargoš, 2021; Namyslov et al., 2020).

7 Bibliografie

- Alassimone, J., Naseer, S., & Geldner, N. (2010). A developmental framework for endodermal differentiation and polarity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *107*(11), 5214–5219. <https://doi.org/10.1073/pnas.0910772107>
- Alassimone, J., Roppolo, D., Geldner, N., & Vermeer, J. E. (2012). The endodermis—Development and differentiation of the plant’s inner skin. *Protoplasma*, *249*(3), 433–443.
- Andersen, T. G., Barberon, M., & Geldner, N. (2015). Suberization—The second life of an endodermal cell. *Current opinion in plant biology*, *28*, 9–15.
- Arafa, A. (2015). Secondary Growth Pattern In The Roots Of Two Herbaceous Species Belonging To Genus Solanum. *Journal of Plant Production*, *6*(10), 1679–1691.
- Armand, T., Cullen, M., Boiziot, F., Li, L., & Fricke, W. (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.
- Armstrong, J., & Armstrong, W. (2005). Rice: Sulfide-induced barriers to root radial oxygen loss, Fe²⁺ and water uptake, and lateral root emergence. *Annals of Botany*, *96*(4), 625–638.
- Arredondo, J., & Johnson, D. (1999). Root architecture and biomass allocation of three range grasses in response to nonuniform supply of nutrients and shoot defoliation. *The New Phytologist*, *143*(2), 373–385.
- Astolfi, S., Pii, Y., Mimmo, T., Lucini, L., Miras-Moreno, M. B., Coppa, E., Violino, S., Celletti, S., & Cesco, S. (2020). Single and Combined Fe and S Deficiency Differentially Modulate Root Exudate Composition in Tomato: A Double Strategy for

- Fe Acquisition? *International Journal of Molecular Sciences*, 21(11), Article 11.
<https://doi.org/10.3390/ijms21114038>
- Atabayeva, S., Nurmahanova, A., Akhmetova, A., Narmuratova, M., Asrandina, S., Beisenova, A., Alybayeva, R., & Lee, T. (2016). Anatomical peculiarities in wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties under copper stress. *Pakistan Journal of Botany*, 48(4), 1399–1405.
- Badri, D. V., & Vivanco, J. M. (2009). Regulation and function of root exudates. *Plant, Cell & Environment*, 32(6), 666–681. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.01926.x>
- Barberon, M. (2016). Adaptation of root function by nutrient-induced plasticity of endodermal differentiation. *Cell*, 164(3), 447–459.
- Barberon, M., & et al. (2016). Adaptation of Root Function by Nutrient-Induced Plasticity of Endodermal Differentiation. *Cell*, 164(3), 447–459.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.12.021>
- Barberon, M., & Geldner, N. (2014). Radial transport of nutrients: The plant root as a polarized epithelium. *Plant physiology*, 166(2), 528–537.
- Barberon, M., Vermeer, J. E. M., De Bellis, D., Wang, P., Naseer, S., Andersen, T. G., Humbel, B. M., Nawrath, C., Takano, J., & Salt, D. E. (2016). Adaptation of root function by nutrient-induced plasticity of endodermal differentiation. *Cell*, 164(3), 447–459.
- Basu, S., & Kumar, G. (2020). Nitrogen fixation in a legume-rhizobium symbiosis: The roots of a success story. *Plant microbe symbiosis*, 35–53.
- Bates, T. R., & Lynch, J. P. (1996). Stimulation of root hair elongation in *Arabidopsis thaliana* by low phosphorus availability. *Plant, Cell & Environment*, 19(5), 529–538.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1996.tb00386.x>

- Bates, T. R., & Lynch, J. P. (2000). The efficiency of *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae) root hairs in phosphorus acquisition. *American Journal of Botany*, 87(7), 964–970.
- Bhattacharjee, R. B., Singh, A., & Mukhopadhyay, S. (2008). Use of nitrogen-fixing bacteria as biofertiliser for non-legumes: Prospects and challenges. *Applied microbiology and biotechnology*, 80(2), 199–209.
- Biswas, J., Ladha, J., & Dazzo, F. (2000). Rhizobia inoculation improves nutrient uptake and growth of lowland rice. *Soil Science Society of America Journal*, 64(5), 1644–1650.
- Blascheová, Z. (2016). "Diplomová práce - Variabilita a mechanismy diferenciace exodermis v kořenech rostlin." Karlova univerzita, Praha.
- Boer, M. D., Santos Teixeira, J., & Ten Tusscher, K. H. (2020). Modeling of Root Nitrate Responses Suggests Preferential Foraging Arises From the Integration of Demand, Supply and Local Presence Signals. *Frontiers in Plant Science*, 11.
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2020.00708>
- Bonacorsi, N. K., & Seago Jr, J. L. (2016). Root development and structure in seedlings of *Ginkgo biloba*. *American Journal of Botany*, 103(2), 355–363.
- Bradley, L., & Hosier, S. (1999). *Guide to symptoms of plant nutrient deficiencies*.
- Brady, N. C., Weil, R. R., & Weil, R. R. (2008). *The nature and properties of soils* (Roč. 13). Prentice Hall Upper Saddle River, NJ.
- Brundrett, M. C., Enstone, D. E., & Peterson, C. A. (1988). A berberine-aniline blue fluorescent staining procedure for suberin, lignin, and callose in plant tissue. *Protoplasma*, 146, 133–142.
- Brundrett, M. C., Kendrick, B., & Peterson, C. A. (1991). Efficient lipid staining in plant material with Sudan Red 7B or Fluoral Yellow 088 in polyethylene glycol-glycerol. *Biotechnic & Histochemistry*, 66(3), 111–116.

- Canto-Pastor, A., Kajala, K., Shaar-Moshe, L., Manzano, C., Timilsena, P., De Bellis, D., Gray, S., Holbein, J., Yang, H., & Mohammad, S. (2022). A suberized exodermis is required for tomato drought tolerance. *bioRxiv*, 2022–10.
- Cao, X., Chen, C., Zhang, D., Shu, B., Xiao, J., & Xia, R. (2013). Influence of nutrient deficiency on root architecture and root hair morphology of trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf.) seedlings under sand culture. *Scientia Horticulturae*, *162*, 100–105. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.07.034>
- Carvalhais, L. C., Dennis, P. G., Fedoseyenko, D., Hajirezaei, M., Borriss, R., & von Wirén, N. (2011). Root exudation of sugars, amino acids, and organic acids by maize as affected by nitrogen, phosphorus, potassium, and iron deficiency. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, *174*(1), 3–11.
- Coskun, D., Britto, D. T., Shi, W., & Kronzucker, H. J. (2017). How Plant Root Exudates Shape the Nitrogen Cycle. *Trends in Plant Science*, *22*(8), 661–673. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.05.004>
- Coutts, M. (1983). Root architecture and tree stability. *Tree root systems and their mycorrhizas*, 171–188.
- Cruz, C., Green, J. J., Watson, C. A., Wilson, F., & Martins-Loução, M. A. (2004). Functional aspects of root architecture and mycorrhizal inoculation with respect to nutrient uptake capacity. *Mycorrhiza*, *14*, 177–184.
- Cruz, R., Jordan, W., & Drew, M. (1991). Anatomical and hydraulic properties of *sorghum* roots exposed to water deficit. [*Sorghum bicolor*]. *Plant Physiology, Supplement; (United States)*, *96*(CONF-9107184-).
- Dakora, F. D., & Phillips, D. A. (2002). Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. *Food security in nutrient-stressed environments: exploiting plants' genetic capabilities*, 201–213.

- Damus, M., Peterson, R. L., Enstone, D. E., & Peterson, C. A. (1997). Modifications of cortical cell walls in roots of seedless vascular plants. *Botanica Acta*, *110*(2), 190–195.
- Degenhardt, B., & Gimmler, H. (2000). Cell wall adaptations to multiple environmental stresses in maize roots. *Journal of experimental botany*, *51*(344), 595–603.
- Degryse, F., Verma, V. K., & Smolders, E. (2008). Mobilization of Cu and Zn by root exudates of dicotyledonous plants in resin-buffered solutions and in soil. *Plant and Soil*, *306*, 69–84.
- Demchenko, N., Kalimova, I., & Demchenko, K. (2005). Effect of nickel on growth, proliferation, and differentiation of root cells in *Triticum aestivum* seedlings. *Russian Journal of Plant Physiology*, *52*, 220–228.
- Dennis, P. G., Miller, A. J., & Hirsch, P. R. (2010). Are root exudates more important than other sources of rhizodeposits in structuring rhizosphere bacterial communities? *FEMS Microbiology Ecology*, *72*(3), 313–327. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00860.x>
- Dinkelaker, B., Hengeler, C., & Marschner, H. (1995). Distribution and Function of Proteoid Roots and other Root Clusters. *Botanica Acta*, *108*(3), 183–200. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1995.tb00850.x>
- Dong, D., Peng, X., & Yan, X. (2004). Organic acid exudation induced by phosphorus deficiency and/or aluminium toxicity in two contrasting soybean genotypes. *Physiologia Plantarum*, *122*(2), 190–199.
- Dotaniya, M., Meena, H., Lata, M., & Kumar, K. (2013). Role of phytosiderophores in iron uptake by plants. *Agricultural Science Digest-A Research Journal*, *33*(1), 73–76.
- Doyle, J. J. (1998). Phylogenetic perspectives on nodulation: Evolving views of plants and symbiotic bacteria. *Trends in Plant Science*, *3*(12), 473–478.

- Ejiri, M., & Shiono, K. (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.
- Enstone, D. E., & Peterson, C. A. (2005). Suberin lamella development in maize seedling roots grown in aerated and stagnant conditions. *Plant, Cell & Environment*, *28*(4), 444–455.
- Enstone, D. E., Peterson, C. A., & Ma, F. (2002a). Root endodermis and exodermis: Structure, function, and responses to the environment. *Journal of Plant Growth Regulation*, *21*(4), 335–351.
- Enstone, D. E., Peterson, C. A., & Ma, F. (2002b). Root endodermis and exodermis: Structure, function, and responses to the environment. *Journal of Plant Growth Regulation*, *21*(4), 335–351.
- Espinosa-Leal, C., Mora, S., Puente-Garza, C., Alvarez-Sosa, D., & García-Lara, S. (2022). Recent advances on the use of abiotic stress (water, UV radiation, atmospheric gases, and temperature stress) for the enhanced production of secondary metabolites on in vitro plant tissue culture. *Plant Growth Regulation*, *97*.
<https://doi.org/10.1007/s10725-022-00810-3>
- Fan, T. W., Lane, A. N., Pedler, J., Crowley, D., & Higashi, R. M. (1997). Comprehensive analysis of organic ligands in whole root exudates using nuclear magnetic resonance and gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical Biochemistry*, *251*(1), 57–68.
<https://doi.org/10.1006/abio.1997.2235>
- Fenta, B. A., Beebe, S. E., Kunert, K. J., Burridge, J. D., Barlow, K. M., Lynch, J. P., & Foyer, C. H. (2014). Field phenotyping of soybean roots for drought stress tolerance. *Agronomy*, *4*(3), 418–435.

- Fiscus, E. L., & Markhart, A. H., III. (1979). Relationships between Root System Water Transport Properties and Plant Size in Phaseolus 1. *Plant Physiology*, 64(5), 770–773.
<https://doi.org/10.1104/pp.64.5.770>
- Fitter, A. (1987). An architectural approach to the comparative ecology of plant root systems. *New phytologist*, 106, 61–77.
- Fitter, A., Stickland, T., Harvey, M., & Wilson, G. (1991). Architectural analysis of plant root systems 1. Architectural correlates of exploitation efficiency. *New Phytologist*, 118(3), 375–382.
- Freundl, E., Steudle, E., & Hartung, W. (2000). Apoplastic transport of abscisic acid through roots of maize: Effect of the exodermis. *Planta*, 210(2), 222–231.
<https://doi.org/10.1007/PL00008129>
- Gahoonia, T. S., Asmar, F., Giese, H., Gissel-Nielsen, G., & Erik Nielsen, N. (2000). Root-released organic acids and phosphorus uptake of two barley cultivars in laboratory and field experiments. *European Journal of Agronomy*, 12(3), 281–289.
[https://doi.org/10.1016/S1161-0301\(00\)00052-6](https://doi.org/10.1016/S1161-0301(00)00052-6)
- Gahoonia, T. S., & Nielsen, N. E. (2003). Phosphorus (P) uptake and growth of a root hairless barley mutant (bald root barley, brb) and wild type in low- and high-P soils. *Plant, Cell & Environment*, 26(10), 1759–1766. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2003.01093.x>
- Gahoonia, T. S., & Nielsen, N. E. (2004). Barley genotypes with long root hairs sustain high grain yields in low-P field. *Plant and Soil*, 262(1), 55–62.
<https://doi.org/10.1023/B:PLSO.0000037020.58002.ac>
- Gargoš, O. (2021). "Diplomová práce - *Mechanismy reakce exodermis na dostupnost živin v prostředí.*" Karlova univerzita, Praha.

- Garnica, M., Bacaicoa, E., Mora, V., San Francisco, S., Baigorri, R., Zamarreño, A. M., & Garcia-Mina, J. M. (2018). Shoot iron status and auxin are involved in iron deficiency-induced phytosiderophores release in wheat. *BMC Plant Biology*, *18*, 1–14.
- Geldner, N. (2013). The endodermis. *Annual review of plant biology*, *64*, 531–558.
- Gent, M. P., Parrish, Z. D., & White, J. C. (2005). Nutrient uptake among subspecies of *Cucurbita pepo* L. is related to exudation of citric acid. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, *130*(5), 782–788.
- Gilroy, S., & Jones, D. L. (2000). Through form to function: Root hair development and nutrient uptake. *Trends in Plant Science*, *5*(2), 56–60. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(99\)01551-4](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(99)01551-4)
- Gruber, B. D., Giehl, R. F. H., Friedel, S., & von Wirén, N. (2013). Plasticity of the Arabidopsis Root System under Nutrient Deficiencies. *Plant Physiology*, *163*(1), 161–179. <https://doi.org/10.1104/pp.113.218453>
- Haichar, F. el Z., Santaella, C., Heulin, T., & Achouak, W. (2014). Root exudates mediated interactions belowground. *Soil Biology and Biochemistry*, *77*, 69–80. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.06.017>
- Harley, J. (1949). MYCORRHIZA. *NATURE*, *164*(4181), 1041–1042. <https://doi.org/10.1038/1641041a0>
- Haynes, R. J. (1990). Active ion uptake and maintenance of cation-anion balance: A critical examination of their role in regulating rhizosphere pH. *Plant and Soil*, *126*(2), 247–264. <https://doi.org/10.1007/BF00012828>
- Hoagland, D. R., & Arnon, D. I. (1950). The water-culture method for growing plants without soil. *Circular. California agricultural experiment station*, *347*(2nd edit).

- Holz, M., Zarebanadkouki, M., Kuzyakov, Y., Pausch, J., & Carminati, A. (2018). Root hairs increase rhizosphere extension and carbon input to soil. *Annals of Botany*, *121*(1), 61–69. <https://doi.org/10.1093/aob/mcx127>
- Hose, E. (2000). *Untersuchungen zum radialen Abscisinsäure-und Wassertransport in Wurzeln von Helianthus annuus L. und Zea mays L.*
- Hose, E., Clarkson, D. T., Steudle, E., Schreiber, L., & Hartung, W. (2001). The exodermis: A variable apoplastic barrier. *Journal of Experimental Botany*, *52*(365), 2245–2264.
- Hosmani, P. S., Kamiya, T., Danku, J., Naseer, S., Geldner, N., Guerinot, M. L., & Salt, D. E. (2013). Dirigent domain-containing protein is part of the machinery required for formation of the lignin-based Casparian strip in the root. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *110*(35), 14498–14503.
- Chaffey, N. (2006). Esau's Plant Anatomy, Meristems, Cells, and Tissues of the Plant Body: Their Structure, Function, and Development. 3rd edn. *Annals of Botany*, *99*.
<https://doi.org/10.1093/aob/mcm015>
- Chaiwong, N., Bouain, N., & Lacombe, B. (2018). Individual versus Combinatorial Effects of Silicon, Phosphate, and Iron Deficiency on the Growth of Lowland and Upland Rice Varieties. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*, 899.
<https://doi.org/10.3390/ijms19030899>
- Chen, A., Husted, S., Salt, D. E., Schjoerring, J. K., & Persson, D. P. (2019). The intensity of manganese deficiency strongly affects root endodermal suberization and ion homeostasis. *Plant physiology*, *181*(2), 729–742.
- Chen, Z. C., & Liao, H. (2016). Organic acid anions: An effective defensive weapon for plants against aluminum toxicity and phosphorus deficiency in acidic soils. *Genetic Control of Nutrient Utilization in Plants*, *43*(11), 631–638.
<https://doi.org/10.1016/j.jgg.2016.11.003>

- Cheng, H., Jiang, Z., Liu, Y., Ye, Z., Wu, M.-L., Sun, C.-C., Sun, F.-L., Fei, J., & Wang, Y.-S. (2014). Metal (Pb, Zn and Cu) uptake and tolerance by mangroves in relation to root anatomy and lignification/suberization. *Tree physiology*, 34.
<https://doi.org/10.1093/treephys/tpu042>
- Iannucci, A., Canfora, L., Nigro, F., De Vita, P., & Beleggia, R. (2021). Relationships between root morphology, root exudate compounds and rhizosphere microbial community in durum wheat. *Applied Soil Ecology*, 158, 103781.
<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103781>
- Janoušková, J. (2018). "Diplomová práce - Vliv diferenciace exodermis na lokalizaci příjmu živin v kořeni." Karlova univerzita, Praha.
- Jungk, A. (2001). Root hairs and the acquisition of plant nutrients from soil. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 164(2), 121–129. [https://doi.org/10.1002/1522-2624\(200104\)164:2<121::AID-JPLN121>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/1522-2624(200104)164:2<121::AID-JPLN121>3.0.CO;2-6)
- Kamiya, T., Borghi, M., Wang, P., Danku, J. M. C., Kalmbach, L., Hosmani, P. S., Naseer, S., Fujiwara, T., Geldner, N., & Salt, D. E. (2015). The MYB36 transcription factor orchestrates Casparian strip formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(33), 10533–10538. <https://doi.org/10.1073/pnas.1507691112>
- Kamula, S. A., Peterson, C. A., & Mayfield, C. I. (1994). Impact of the exodermis on infection of roots by *Fusarium culmorum*. *Plant and soil*, 167(1), 121–126.
- Karahara, I., Ikeda, A., Kondo, T., & Uetake, Y. (2004). Development of the Casparian strip in primary roots of maize under salt stress. *Planta*, 219(1), 41–47.
<https://doi.org/10.1007/s00425-004-1208-7>
- Khorassani, R., Hettwer, U., Ratzinger, A., Steingrobe, B., Karlovsky, P., & Claassen, N. (2011). Citramalic acid and salicylic acid in sugar beet root exudates solubilize soil phosphorus. *BMC Plant Biology*, 11(1), 1–8.

- Kiran Karthik Raj, Pandey, R. N., Singh, B., Talukdar, A., Meena, M. C., & Chobhe, K. A. (2020). Evidences for the use of ¹⁴C content in the root exudates as a novel application of radiocarbon labelling for screening iron deficiency tolerance of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) genotypes. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 326(1), 487–496. <https://doi.org/10.1007/s10967-020-07284-5>
- Kirchner, T. W., Niehaus, M., Rössig, K. L., Lauterbach, T., Herde, M., Küster, H., & Schenk, M. K. (2018). Molecular Background of Pi Deficiency-Induced Root Hair Growth in *Brassica carinata* – A Fasciclin-Like Arabinogalactan Protein Is Involved. *Frontiers in Plant Science*, 9. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2018.01372>
- Končalová, H., Květ, J., Pokorný, J., & Hauser, V. (1993). Effect of flooding with sewage water on three wetland sedges. *Wetlands Ecology and Management*, 2, 199–211.
- Kozłowski, T. T. (1984). *Flooding and plant growth*.
- Krouk, G., Crawford, N. M., Coruzzi, G. M., & Tsay, Y.-F. (2010). Nitrate signaling: Adaptation to fluctuating environments. *Current Opinion in Plant Biology*, 13(3), 266–273. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.12.003>
- Kuzyakov, Y., & Razavi, B. S. (2019). Rhizosphere size and shape: Temporal dynamics and spatial stationarity. *Soil Biology and Biochemistry*, 135, 343–360. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2019.05.011>
- Lamb, J. A., Fernandez, F. G., & Kaiser, D. E. (2014). Understanding nitrogen in soils. *University of Minnesota Extension, (Revised)*, 1–5.
- Laštůvka, Z., & Minář, J. (1967). *Metoda vodních kultur vyšších rostlin*. Univerzita Jana Evangelisty Purkyně, Ústí nad Labem.

- Lee, Y., Rubio, M. C., Alassimone, J., & Geldner, N. (2013). A Mechanism for Localized Lignin Deposition in the Endodermis. *Cell*, *153*(2), 402–412.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.02.045>
- Li, X., Zeng, R., & Liao, H. (2016). Improving crop nutrient efficiency through root architecture modifications. *Journal of Integrative Plant Biology*, *58*(3), 193–202.
<https://doi.org/10.1111/jipb.12434>
- Lima, J. E., Kojima, S., Takahashi, H., & von Wirén, N. (2010). Ammonium triggers lateral root branching in Arabidopsis in an AMMONIUM TRANSPORTER1;3-dependent manner. *The Plant Cell*, *22*(11), 3621–3633. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.076216>
- Lin, C., Zhu, T., Ogorek, L. L. P., Wang, Y., Sauter, M., & Pedersen, O. (2022). The Pyramiding of Three Key Root Traits Aid Breeding of Flood-Tolerant Rice. *Plants*, *11*(15), Article 15. <https://doi.org/10.3390/plants11152033>
- Líška, D., Martinka, M., Kohanová, J., & Lux, A. (2016). Asymmetrical development of root endodermis and exodermis in reaction to abiotic stresses. *Annals of Botany*, *118*(4), 667–674.
- Liu, J., Han, L., Chen, F., Bao, J., Zhang, F., & Mi, G. (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), 272–282.
- López-Ráez, J., & Pozo, M. (2013). *Chemical Signalling in the Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis: Biotechnological Applications* (s. 215–232). https://doi.org/10.1007/978-3-642-39317-4_11
- Lux, A., & Luxová, M. (2001). *Secondary dilatation growth in the root endodermis* (s. 31–37). https://doi.org/10.1007/978-94-017-2858-4_4
- Lux, A., Morita, S., Abe, J., & Ito, K. (2005). An improved method for clearing and staining free-hand sections and whole-mount samples. *Annals of Botany*, *96*(6), 989–996.

- Lynch, J. (1995). Root Architecture and Plant Productivity. *Plant Physiology*, 109(1), 7–13.
<https://doi.org/10.1104/pp.109.1.7>
- Lynch, J. (2005). Root architecture and nutrient acquisition. *Nutrient acquisition by plants: an ecological perspective*, 147–183.
- Lynch, J. P. (2022). Harnessing root architecture to address global challenges. *The Plant Journal*, 109(2), 415–431. <https://doi.org/10.1111/tpj.15560>
- Ma, F., & Peterson, C. A. (2003). Current insights into the development, structure, and chemistry of the endodermis and exodermis of roots. *Canadian Journal of Botany*, 81(5), 405–421.
- Ma, Z., Bielenberg, D., Brown, K., & Lynch, J. (2001). Regulation of root hair density by phosphorus availability in *Arabidopsis thaliana*. *Plant, cell & environment*, 24(4), 459–467.
- Maeght, J.-L., Rewald, B., & Pierret, A. (2013). How to study deep roots—And why it matters. *Frontiers in Plant Science*, 4.
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2013.00299>
- Marhavý, P., & Siddique, S. (2021). Histochemical Staining of Suberin in Plant Roots. *Bio-protocol*, 11(3), e3904–e3904.
- Marschner, H. (2011). *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. Academic press.
- Meyer, C. J., Seago Jr, J. L., & Peterson, C. A. (2009). Environmental effects on the maturation of the endodermis and multiseriate exodermis of *Iris germanica* roots. *Annals of Botany*, 103(5), 687–702.
- Miguel, M. A., Postma, J. A., & Lynch, J. P. (2015). Phenotypic Synergism between Root Hair Length and Basal Root Growth Angle for Phosphorus Acquisition. *Plant Physiology*, 167(4), 1430–1439. <https://doi.org/10.1104/pp.15.00145>

- Mirza, M. S., Rasul, G., Mehnaz, S., Ladha, J. K., So, R. B., Ali, S., & Malik, K. A. (2000). Beneficial effects of inoculated nitrogen-fixing bacteria on rice. *The quest for nitrogen fixation in rice*, 191–204.
- Miura, K., Lee, J., Gong, Q., Ma, S., Jin, J. B., Yoo, C. Y., Miura, T., Sato, A., Bohnert, H. J., & Hasegawa, P. M. (2011). SIZ1 Regulation of Phosphate Starvation-Induced Root Architecture Remodeling Involves the Control of Auxin Accumulation. *Plant Physiology*, 155(2), 1000–1012. <https://doi.org/10.1104/pp.110.165191>
- Mostajeran, A., & Rahimi-Eichi, V. (2008). Drought stress effects on root anatomical characteristics of rice cultivars (*Oryza sativa* L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11(18), 2173–2183.
- Mounier, E., Pervent, M., Ljung, K., Gojon, A., & Nacry, P. (2014). Auxin-mediated nitrate signalling by NRT 1.1 participates in the adaptive response of *Arabidopsis* root architecture to the spatial heterogeneity of nitrate availability. *Plant, cell & environment*, 37(1), 162–174.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Namyslov, J. (2018). "Diplomová práce - *Diferenciace exodermis v podmínkách nedostatku živin, vliv fytohormonů.*" *Karlova univerzita, Praha*.
- Namyslov, J., Bauriedlová, Z., Janoušková, J., Soukup, A., & Tylová, E. (2020). Exodermis and endodermis respond to nutrient deficiency in nutrient-specific and localized manner. *Plants*, 9(2), 201.
- Naseer, S., Lee, Y., Lapierre, C., Franke, R., Nawrath, C., & Geldner, N. (2012). Casparian strip diffusion barrier in *Arabidopsis* is made of a lignin polymer without suberin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(25), 10101–10106.

- Nazari, M. (2021). Plant mucilage components and their functions in the rhizosphere. *Rhizosphere*, *18*, 100344. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100344>
- Nestler, J., & Wissuwa, M. (2016). Superior Root Hair Formation Confers Root Efficiency in Some, But Not All, Rice Genotypes upon P Deficiency. *Frontiers in Plant Science*, *7*. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2016.01935>
- Novoa, R., & Loomis, R. (1981). Nitrogen and plant production. *Plant and soil*, *58*, 177–204.
- Parker, M. A. (1999). Mutualism in metapopulations of legumes and rhizobia. *The American Naturalist*, *153*(S5), S48–S60.
- Patra, A., Sharma, V. K., Jatav, H. S., Dutta, A., Rekwari, R. K., Chattopadhyay, A., Trivedi, A., Mohapatra, K. K., & Anil, A. S. (2021). Chapter 19—Iron in the soil–plant–human continuum. In T. Aftab & K. R. Hakeem (Ed.), *Frontiers in Plant-Soil Interaction* (s. 531–546). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90943-3.00009-2>
- Pérez-Torres, C.-A., Lopez-Bucio, J., Cruz-Ramírez, A., Ibarra-Laclette, E., Dharmasiri, S., Estelle, M., & Herrera-Estrella, L. (2008). Phosphate availability alters lateral root development in Arabidopsis by modulating auxin sensitivity via a mechanism involving the TIR1 auxin receptor. *The Plant Cell*, *20*(12), 3258–3272.
- Perumalla, C. J., Peterson, C. A., & Enstone, D. E. (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.
- Perumalla, C., Peterson, C., & Enstone, D. (2008). 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*, 93–112. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1990.tb00176.x>
- Peterson, C. A. (1988). Exodermal Casparian bands: Their significance for ion uptake by roots. *Physiologia Plantarum*, *72*(1), 204–208.

- Peterson, C. A. (1989). *Significance of the exodermis in root function*. 35–40.
- Peterson, C. A., & Enstone, D. E. (1996). Functions of passage cells in the endodermis and exodermis of roots. *Physiologia Plantarum*, 97(3), 592–598.
- Peterson, C. A., & Perumalla, C. J. (1990). A survey of angiosperm species to detect hypodermal Casparian bands. II. Roots with a multiseriate hypodermis or epidermis. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 103(2), 113–125.
- Peterson, R. (1992). Adaptations of root structure in relation to biotic and abiotic factors. *Canadian Journal of Botany*, 70(4), 661–675.
- Puhr, L. F. (1945). *Soil changes as influenced by cropping and fertilizer treatment*.
- Ranathunge, K., Kim, Y. X., Wassmann, F., Kreszies, T., Zeisler, V., & Schreiber, L. (2017). The composite water and solute transport of barley (*Hordeum vulgare*) roots: Effect of suberized barriers. *Annals of Botany*, 119(4), 629–643.
- Ranathunge, K., Schreiber, L., Bi, Y.-M., & Rothstein, S. J. (2016). Ammonium-induced architectural and anatomical changes with altered suberin and lignin levels significantly change water and solute permeabilities of rice (*Oryza sativa* L.) roots. *Planta*, 243, 231–249.
- Rao, S., Armstrong, R., Silva-Perez, V., Tefera, A. T., & Rosewarne, G. M. (2021). Pulse Root Ideotype for Water Stress in Temperate Cropping System. *Plants*, 10(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/plants10040692>
- Rasouli-Sadaghiani, M., Hassani, A., Barin, M., Danesh, Y. R., & Sefidkon, F. (2010). Effects of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi on growth, essential oil production and nutrients uptake in basil. *The Journal of Medicinal Plants Research*, 4(21), 2222–2228.

- Redjala, T., Zelko, I., Sterckeman, T., Legué, V., & Lux, A. (2011). Relationship between root structure and root cadmium uptake in maize. *Environmental and Experimental Botany*, *71*(2), 241–248.
- Reinhardt, D., & Rost, T. (1995). Salinity accelerates endodermal development and induces an exodermis in cotton seedling roots. *Environmental and experimental Botany*, *35*(4), 563–574.
- Reinhold-Hurek, B., & Hurek, T. (1998). Life in grasses: Diazotrophic endophytes. *Trends in microbiology*, *6*(4), 139–144.
- Robbins, N. E., Trontin, C., Duan, L., & Dinneny, J. R. (2014). Beyond the barrier: Communication in the root through the endodermis. *Plant physiology*, *166*(2), 551–559.
- Robinson, D., & Rorison, I. H. (1987). Root Hairs and Plant Growth at Low Nitrogen Availabilities. *The New Phytologist*, *107*(4), 681–693.
- Robinson, J. (1995). Nutrient Deficiencies and Toxicities in Crop Plants. Edited By WF Bennett. St. Paul, Minnesota: APS Press (1993), pp. 202, 74.00. ISBN 0-89054-151-5. *Experimental Agriculture*, *31*(3), 391–391.
- Roppolo, D., De Rybel, B., Dénervaud Tendon, V., Pfister, A., Alassimone, J., Vermeer, J. E. M., Yamazaki, M., Stierhof, Y.-D., Beeckman, T., & Geldner, N. (2011). A novel protein family mediates Casparian strip formation in the endodermis. *Nature*, *473*(7347), 380–383. <https://doi.org/10.1038/nature10070>
- Saengwilai, P., Strock, C., Rangarajan, H., Chimungu, J., Salungyu, J., & Lynch, J. P. (2021). Root hair phenotypes influence nitrogen acquisition in maize. *Annals of Botany*, *128*(7), 849–858. <https://doi.org/10.1093/aob/mcab104>
- Sakazono, S., Nagata, T., Matsuo, R., Kajihara, S., Watanabe, M., Ishimoto, M., Shimamura, S., Harada, K., Takahashi, R., & Mochizuki, T. (2014). Variation in Root

- Development Response to Flooding among 92 Soybean Lines during Early Growth Stages. *Plant Production Science*, 17, 228–236. <https://doi.org/10.1626/pps.17.228>
- Salisbury, F. B., & Parke, R. V. (1970). The Secondary Plant Body. In *Vascular Plants: Form and Function* (s. 133–139). Springer.
- Sánchez-Calderón, L., López-Bucio, J., Chacón-López, A., Cruz-Ramírez, A., Nieto-Jacobo, F., Dubrovsky, J. G., & Herrera-Estrella, L. (2005). Phosphate starvation induces a determinate developmental program in the roots of *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology*, 46(1), 174–184.
- Sasse, J., Martinoia, E., & Northen, T. (2018). Feed your friends: Do plant exudates shape the root microbiome? *Trends in plant science*, 23(1), 25–41.
- Sattelmacher, B. (2001). The apoplast and its significance for plant mineral nutrition. *New Phytologist*, 149(2), 167–192.
- Serra, O., Mähönen, A. P., Hetherington, A. J., & Ragni, L. (2022). The Making of Plant Armor: The Periderm. *Annual Review of Plant Biology*, 73, 405–432.
<https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-102720-031405>
- Shelden, M. C., & Munns, R. (2023). Crop root system plasticity for improved yields in saline soils. *Frontiers in Plant Science*, 14.
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2023.1120583>
- Shen, J., Li, H., Neumann, G., & Zhang, F. (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), 837–845.
<https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.10.017>
- Shen, J., Xu, G., & Zheng, H. Q. (2015). Apoplastic barrier development and water transport in *Zea mays* seedling roots under salt and osmotic stresses. *Protoplasma*, 252, 173–180.

- Shukla, V., & Barberon, M. (2021). Building and breaking of a barrier: Suberin plasticity and function in the endodermis. *Current Opinion in Plant Biology*, *64*, 102153.
- Shukla, V., Han, J.-P., Cléard, F., Lefebvre-Legendre, L., Gully, K., Flis, P., Berhin, A., Andersen, T. G., Salt, D. E., & Nawrath, C. (2021). Suberin plasticity to developmental and exogenous cues is regulated by a set of MYB transcription factors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *118*(39), e2101730118.
- Scheres, B., Di Lorenzo, L., Willemsen, V., Hauser, M.-T., Janmaat, K., Weisbeek, P., & Benfey, P. N. (1995). Mutations affecting the radial organisation of the Arabidopsis root display specific defects throughout the embryonic axis. *Development*, *121*(1), 53–62.
- Schraut, D., Heilmeyer, H., & Hartung, W. (2005). Radial transport of water and abscisic acid (ABA) in roots of *Zea mays* under conditions of nutrient deficiency. *Journal of experimental botany*, *56*(413), 879–886.
- Schreiber, L., Franke, R., & Hartmann, K. (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*, 333–339.
- Schreiber, L., Hartmann, K., Skrabs, M., & Zeier, J. (1999). Apoplastic barriers in roots: Chemical composition of endodermal and hypodermal cell walls. *Journal of Experimental Botany*, *50*(337), 1267–1280.
- Smith, S. E., Jakobsen, I., Grønlund, M., & Smith, F. A. (2011). Roles of Arbuscular Mycorrhizas in Plant Phosphorus Nutrition: Interactions between Pathways of Phosphorus Uptake in Arbuscular Mycorrhizal Roots Have Important Implications for Understanding and Manipulating Plant Phosphorus Acquisition. *Plant Physiology*, *156*(3), 1050–1057. <https://doi.org/10.1104/pp.111.174581>

- Song, Y., Ye, L., & Nii, N. (2011). Effects of soil water availability on development of suberin lamellae in the endodermis and exodermis and on cortical cell wall thickening in red bayberry (*Myrica rubra* Sieb. Et Zucc.) tree roots. *Scientia Horticulturae*, *129*(4), 554–560.
- Soukup, A. (2014). Selected simple methods of plant cell wall histochemistry and staining for light microscopy. *Plant cell morphogenesis: methods and protocols*, 25–40.
- Soukup, A., Armstrong, W., Schreiber, L., Franke, R., & Votrubová, O. (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), 264–278.
- Soukup, A., Votrubová, O., & Čížková, H. (2002). Development of anatomical structure of roots of *Phragmites australis*. *New Phytologist*, *153*(2), 277–287.
- Sposito, G. (2008). *The chemistry of soils*. Oxford university press.
- Stasovski, E., & Peterson, C. A. (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. <https://doi.org/10.1139/b93-080>
- Stetter, M. G., Schmid, K., & Ludewig, U. (2015). Uncovering genes and ploidy involved in the high diversity in root hair density, length and response to local scarce phosphate in *Arabidopsis thaliana*. *PLOS one*, *10*(3), e0120604.
- Steudle, E. (2000). Water uptake by roots: Effects of water deficit. *Journal of Experimental Botany*, *51*(350), 1531–1542. <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.350.1531>
- Steudle, E., & Peterson, C. A. (1998). How does water get through roots? *Journal of experimental Botany*, *49*(322), 775–788.

- Ström, L. (1997). Root Exudation of Organic Acids: Importance to Nutrient Availability and the Calcifuge and Calcicole Behaviour of Plants. *Oikos*, 80(3), 459–466.
<https://doi.org/10.2307/3546618>
- Sun, R., Sun, X., Wang, S., Zhu, W., & Wang, X. (2002). Ester and ether linkages between hydroxycinnamic acids and lignins from wheat, rice, rye, and barley straws, maize stems, and fast-growing poplar wood. *Industrial Crops and Products*, 15(3), 179–188.
- Suzuki, M., Takahashi, M., Tsukamoto, T., Watanabe, S., Matsubishi, S., Yazaki, J., Kishimoto, N., Kikuchi, S., Nakanishi, H., & Mori, S. (2006). Biosynthesis and secretion of mugineic acid family phytosiderophores in zinc-deficient barley. *The Plant Journal*, 48(1), 85–97.
- Šantrůčková, H., Kaštovská, E., Bárta, J., Miko, L., & Tajovský, K. (2018). *Ekologie půdy*. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích.
- Šoln, K., & Koce, J. (2021). Allelopathic root inhibition and its mechanisms. *Allelopathy Journal*, 52, 181–198. <https://doi.org/10.26651/allelo.j/2021-52-2-1315>
- Šustr, M. (2015). "Diplomová práce - Zapojení přenašečů *AtKT/HAK/KUP* v příjmu K^+ a Ca^{2+} rostlinami." Karlova univerzita, Praha.
- Tabata, R., Sumida, K., Yoshii, T., Ohshima, K., Shinohara, H., & Matsubayashi, Y. (2014). Perception of root-derived peptides by shoot LRR-RKs mediates systemic N-demand signaling. *Science (New York, N.Y.)*, 346, 343–346.
<https://doi.org/10.1126/science.1257800>
- Taleisnik, E., Peyrano, G., Cordoba, A., & Arias, C. (1999). Water retention capacity in root segments differing in the degree of exodermis development. *Annals of Botany*, 83(1), 19–27.

- Tawarayama, K., Horie, R., Saito, S., Wagatsuma, T., Saito, K., & Oikawa, A. (2014). Metabolite Profiling of Root Exudates of Common Bean under Phosphorus Deficiency. *Metabolites*, 4(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/metabo4030599>
- Turlier, M.-F., Eparvier, A., & Alabouvette, C. (1994). Early dynamic interactions between *Fusarium oxysporum* f. Sp. Lini and the roots of *Linum usitatissimum* as revealed by transgenic GUS-marked hyphae. *Canadian Journal of Botany*, 72(11), 1605–1612.
- Tylová, E., Pecková, E., Blascheová, Z., & Soukup, A. (2017). Casparian bands and suberin lamellae in exodermis of lateral roots: An important trait of roots system response to abiotic stress factors. *Annals of Botany*, 120(1), 71–85.
- Vaculík, M., Konlechner, C., Langer, I., Adlassnig, W., Puschenreiter, M., Lux, A., & Hauser, M.-T. (2012). Root anatomy and element distribution vary between two *Salix caprea* isolates with different Cd accumulation capacities. *Environmental Pollution*, 163, 117–126.
- Van Der Heijden, M. G. A., Bakker, R., Verwaal, J., Scheublin, T. R., Rutten, M., Van Logtestijn, R., & Staehelin, C. (2006). Symbiotic bacteria as a determinant of plant community structure and plant productivity in dune grassland. *FEMS Microbiology Ecology*, 56(2), 178–187. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2006.00086.x>
- Varma, A., Prasad, R., & Tuteja, N. (2018). *Mycorrhiza-nutrient uptake, biocontrol, ecorestoration*. Springer.
- Walker, T. S., Bais, H. P., Grotewold, E., & Vivanco, J. M. (2003). Root exudation and rhizosphere biology. *Plant physiology*, 132(1), 44–51.
- Wander, M. (2004). Soil organic matter fractions and their relevance to soil function. *Soil organic matter in sustainable agriculture*. CRC Press, Boca Raton, FL, 67–102.
- Wang, H., Inukai, Y., & Yamauchi, A. (2006). Root development and nutrient uptake. *Critical reviews in plant sciences*, 25(3), 279–301.

- Wanzek, T., Keiluweit, M., Baham, J., Dragila, M. I., Fendorf, S., Fiedler, S., Nico, P. S., & Kleber, M. (2018). Quantifying biogeochemical heterogeneity in soil systems. *Geoderma*, 324, 89–97.
- Williamson, L. C., Ribrioux, S. P. C. P., Fitter, A. H., & Leyser, H. M. O. (2001). Phosphate Availability Regulates Root System Architecture in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 126(2), 875–882. <https://doi.org/10.1104/pp.126.2.875>
- Young, I. M., & Crawford, J. W. (2004). Interactions and self-organization in the soil-microbe complex. *Science*, 304(5677), 1634–1637.
- Zeier, J., Ruel, K., Ryser, U., & Schreiber, L. (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, 1–12.
- Zhang, F. S., Ma, J., & Cao, Y. P. (1997). Phosphorus deficiency enhances root exudation of low-molecular weight organic acids and utilization of sparingly soluble inorganic phosphates by radish (*Raghanus satiuvs* L.) and rape (*Brassica napus* L.) plants. *Plant and Soil*, 196(2), 261–264. <https://doi.org/10.1023/A:1004214410785>
- Zhu, L., Liu, L., Sun, H., Zhang, Y., Liu, X., Wang, N., Chen, J., Zhang, K., Bai, Z., Wang, G., Tian, L., & Li, C. (2022). The responses of lateral roots and root hairs to nitrogen stress in cotton based on daily root measurements. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 208(1), 89–105. <https://doi.org/10.1111/jac.12525>
- Ziegler, J., Schmidt, S., Chutia, R., Müller, J., Böttcher, C., Strehmel, N., Scheel, D., & Abel, S. (2016). Non-targeted profiling of semi-polar metabolites in Arabidopsis root exudates uncovers a role for coumarin secretion and lignification during the local response to phosphate limitation. *Journal of Experimental Botany*, 67(5), 1421–1432. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv539>

Zimmermann, H. M., & Steudle, E. (1998). Apoplastic transport across young maize roots: Effect of the exodermis. *Planta*, 206, 7–19.