Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Biologie

Michala Otradovcová

Stresem indukované morfogenní změny kořenového systému rostlin

Stress induced morphogenic response in plant root system

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Aleš Soukup, Ph.D.

Praha, 2015

Poděkování

Ráda bych poděkovala svému školiteli, RNDr. Aleši Soukupovi, Ph. D., za nesmírnou trpělivost a svému okolí za podporu při práci na tomto textu.

Prohlášení:

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

V Praze, 12. 8. 2015

Podpis

Abstrakt

Přizpůsobení architektury kořenového systému je jednou z možných reakcí rostliny na stresové působení okolních podmínek. Tvar kořenového systému spoluvytváří aktivita kořenových apikláních meristémů, míra elongace buněk kořene a rozsah tvorby, vývoje a uspořádání postranních a adventivních kořenů. Tato práce má za cíl popsat základní mechanismy vývoje kořenového systému a z morfologického a regulačního hlediska nastínit změny, které v tomto vývoji nastávají při působení vybraných stresových faktorů.

klíčová slova: kořenový systém, morfogeneze, stres, vývoj

The root system architecture adjustment is one of the possible plant reactions to stress effects of environmental conditions. The shape of root system is jointly formed by the root apical meristem activity, the rate of elongation of root cells and by the degree of formation, developement and organization of secondary and adventitious roots. This paper aims to describe basic mechanisms of the root system developement and outline the morphological and regulatory changes occuring during development while being affected by selected stress factors.

keywords: root system, morphogenesis, stress, development

Obsah

Seznam použitých zkratek 1

1 Úvod 2

2 Regulace růstu kořenového systému 3

2.1 Růst kořenového systému a vznik jeho architektury 3

2.2 Aktivita apikálního meristému kořene 5

2.3 Elongace buněk 8

2.4 Tvorba postranních a adventivních kořenů 11

3 Morfologické změny kořenového systému indukované stresem 16

3.1 Nutriční stres – nedostatek fosforu a dusíku 16

3.1.1 Fosfor 17

3.1.2 Dusík 19

3.2 Stres z přemíry soli 21

3.3 Stres z přemíry toxických kovů 22

3.3.1 Měď 23

3.3.2 Kadmium 24

3.3.3 Chrom, zinek, vanad, kobalt a bór 24

4 Závěr 25

5 Zdroje 27

Seznam použitých zkratek

RAM root apical meristem (kořenový apikální meristém)

PK postranní kořen/y

ROS reactive oxygen species (reaktivní formy kyslíku)

SIMR stress-induced morphogenic response (stresem indukovaná morfogenní odpověď)

BS buněčná stěna

AK adventivní kořen/y

1 Úvod

Rostliny jsou sesilní organismy a jako takové nemohou migrovat za optimálními podmínkami prostředí a nepříznivým podmínkám v místě růstu se musí umět přizpůsobit. Jakýkoliv nepříznivý faktor, který ovlivňuje či blokuje rostlinný metabolismus, růst či vývoj, je považován za stresor (Lichtenthaler, 1998). Jaké bude mít jeho působení (stres) na rostlinu vliv, záleží na jeho typu, míře, rychlosti nastolení a také na stavu, ve kterém se stresovaná rostlina právě nalézá. Následky mírného stresu mohou být kompenzovány aklimací a adaptací. Naopak pokud jde o silný či chronický stres, nebo pokud je rostlina ve špatném fyziologickém stavu či má k danému stresu jen malou toleranci, může stres způsobit rostlině vážná poškození, které mohou vést až k jejímu úhynu. (Lichtenthaler, 1998). Aklimační strategie může zahrnovat modifikaci metabolismu (např. přechod na xantofylový cyklus nebo spuštění obrany proti reaktivním formám kyslíku - reactive oxygen species, ROS),. Dalším příkladem aklimační strategie může být stresem indukovaná morfogenní odpověď (stress-induced morphogenic response, SIMR).

Koncept stresem indukované morfogenní odpovědi (SIMR) navrhl v roce 2007 Dr. Geert Potters. Jde o morfologické přizpůsobení rostliny na mírný chronický stres růstovou reorganizací v rámci vývojové plasticity rostliny. Ta se skládá ze tří složek: 1) inhibice buněčné elongace, 2) lokalizovaná stimulace buněčného dělení a 3) změna charakteru buněčné diferenciace. Koncept byl odvozen z porovnání množství studií, popisujících morfologickou odpověď různých druhů rostlin na širokou škálu stresorů. Potters předpokládá, že rostliny takto mění svoji morfologii s cílem omezit plochu svého těla, která je stresoru vystavena - mohou tak "urůst" stresovému působení. Proto konkrétní podobu morfologického přizpůsobení rostliny na určitý stresor značně ovlivňuje poloha místa, na kterou stresor působí či kterou do rostliny vstupuje. Jinými slovy, i když je SIMR odpovědí celého rostlinného těla, největšími morfologickými změnami prochází orgány, jejichž přestavbou je možno vliv stresoru na rostlinu limitovat (Potters *et al.*, 2007).

Cílem této práce je shromáždit informace o morfologických změnách v kořeni rostlin při působení vybraných stresorů a jejich regulačních souvislostech. V první části své práce tak provedu hrubý popis regulačních mechanismů, které podkládají růst kořene a vznik kořenového systému. V druhé části práce navážu popisem morfologických změn, které byly na kořenech při působení různých stresorů zaznamenány, s uvedením, jaký celkový trend

tyto změny měly. Vždy půjde o situaci, kdy stresor působil na celý kořenový systém stejně - homogenně. Ve své práci se nebudu věnovat změnám při lokálním působení stresoru. A dále na několika příkladech uvedu, jakou změnou regulačních mechanismů růstu jsou tyto morfologické změny podloženy.

Jednotlivé kořeny samy o sobě nevykazují velkou morfologickou variabilitu (hlavní morfologické rysy, ve kterých se mohou lišit, jsou poloměr, barva a vývoj kořenových vlásků). Morfologická přizpůsobení reflektující proměny okolních podmínek se proto uskutečňují v rámci změny architektury kořenového systému (Fitter, 1987). I když je architektura kořenového systému pod genetickou kontrolou (Zobbel 1995), vliv prostředí na jeho konečnou podobu je značný. Prostředím indukovaná přestavba kořenové architektury by se ale zároveň rostlině měla ekonomicky vyplatit (Fitter 1991). Hlavními funkcemi kořenového systému je příjem živin a vody z půdy a ukotvení rostliny v substrátu (Smith and De Smet, 2012). Vyvolaná změna architektury by tedy měla vést ke zlepšení v těchto oblastech vzhledem k energetické a materiálové investici.

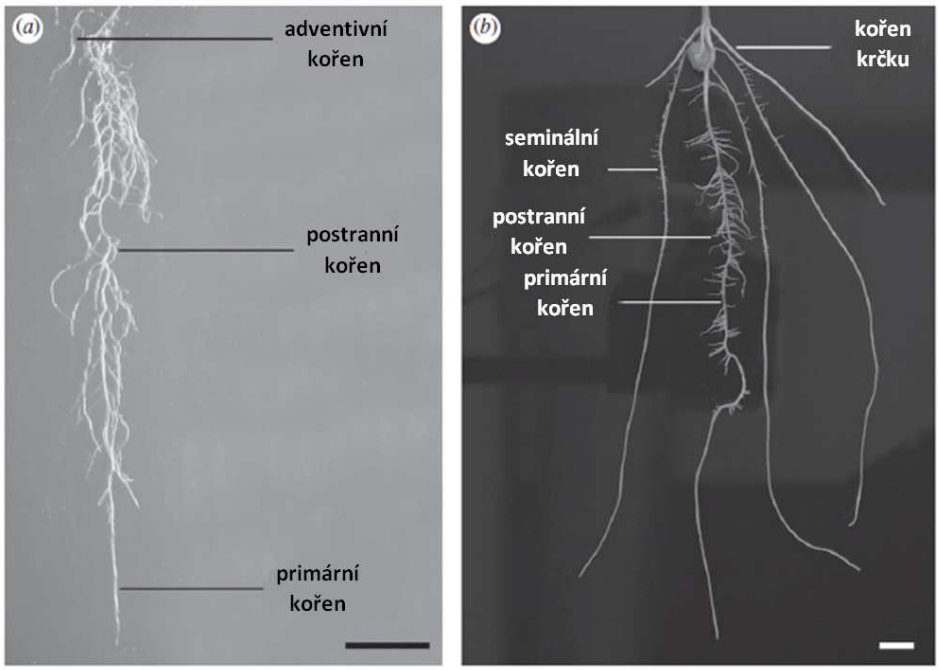
2 Regulace růstu kořenového systému

2.1 Růst kořenového systému a vznik jeho architektury

Neukončený růst dává rostlinám celoživotní možnost reagovat morfologickým přizpůsobením těla na změny v jejich okolí. Růst rostlin se uskutečňuje dělením buněk a jejich následnou elongací. Oblastí produkce nových buněk jsou meristémy, v případě primárních pletiv kořene je to kořenový apikální meristém (root apical meristem - RAM), nacházející se v kořenové špičce. Zde vznikají všechny buňky primárního pletiva kořene, a to dělením iniciál a jejích derivátů. Iniciály jsou schopny po dobu, po kterou si udrží nediferencovaný charakter, produkovat trvale nové buňky. Jejich deriváty se však dělí již jen omezenou dobu. (Scheres *et al.*, 1994) Produkty těchto dělení, prekurzory trvalých pletiv, se pak postupně prodlužují a diferencují v prodlužovací a diferenciační zóně kořene nad kořenovým meristémem. V diferenciační zóně dochází také ke vzniku primordií postranních kořenů, kterými se kořen větví.

Kořen se větví za účelem zvětšení své sorpční plochy, pro pokrytí většího objemu půdy a pro lepší stabilitu rostliny, kterou ukotvuje (Smith and De Smet, 2012). Jak jsem již uvedla,

architektura kořenového systému může nabírat značně různorodých podob. Podle místa vzniku a vývoje jednotlivých jeho částí ale můžeme kořenové systémy zhruba rozdělit na allorhizní a homorhizní.



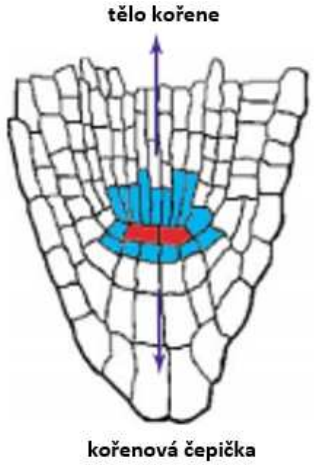
Obr. č. 1 - Kořenový systém 14denní *Arabidopsis thaliana* (a) a 10denní *Zea mays* (b). Kořenový systém *Arabidopsis thaliana* tvoří především primární kořen větvený kořeny postranními. U *Zea mays* v pozdějších fázích vývoje dominanci převezmou kořeny krčku a podpůrné kořeny. Oba typy se odvětvují z nodů stonku, kořeny krčku z podzemních, podpůrné z nadzemních. Seminální kořeny mají podobně jak primární kořen původ v embryu. (Smith and De Smet, 2012)

Allorhizie je typická pro rostliny dvojděložné, mezi které patří například *Arabidopsis thaliana* (viz Obr. č. 1a) (Smith and De Smet, 2012). U tohoto uspořádání tvoří hlavní osu celého systému primární kořen, jenž má embryonální původ (Smith and De Smet, 2012). Naopak postranní kořeny, odvětvující se od něho téměř po celé délce v akropetální vývojové sekvenci, vznikají postembryonálně (Smith and De Smet, 2012). Další částí kořenového systému mohou být adventivní kořeny, které mohou vznikat na kořenech mimo tuto akropetální sekvenci, nebo na nekořenových částech rostlinného těla, a to buď jako součást standardního vývojového programu, anebo z dalších příčin (Bellini *et al.*, 2014; Dubrovsky *et al.*, 2006). U homorhizie, typické pro jednoděložné rostliny, se také vyvíjí primární kořen. Kořenový systém je v tomto případě ale daleko komplexnější a kořen primární není jeho hlavní, dominantní osou (Smith and De Smet, 2012). U obilovin, mezi které patří *Zea mays*

(viz Obr. č. 1b) a *Oryza sativa*, tvoří hlavní masu kořene adventivní kořeny (Smith and De Smet, 2012). Jakýkoliv typ kořene se může větvit kořeny postranními (Waisel *et al.*, 2002). V případě větvení kořenů postranních vznikají postranní kořeny vyšších řádů (Malamy, 2005).

2.2 Aktivita apikálního meristému kořene

Charakter iniciál, které jsou schopné trvale produkovat nové buňky, je dlouhodobě udržován interakcí s klidovým centrem RAM (Van den Berg *et al.*, 1997) v rámci niky kmenových buněk. V případě *Arabidopsis thaliana* je klidové centrum obvykle tvořeno 4 buňkami s dlouhým buněčným cyklem. Neautonomní signalizace klidového centra má krátký dosah, proto působí pouze na iniciály s ním přímo sousedící (Van den Berg *et al.*, 1997). Poloha iniciál v kořenové špičce je tedy pozičně určena polohou klidového centra (viz Obr. č. 2), v interakci se kterým tvoří niku kmenových buněk (Vernoux and Benfey, 2005).



Obr. č. 2 - Poloha iniciál (modré) v kořenové špičce je pozičně určena polohou klidového centra (červené). (Vernoux and Benfey, 2005)

Původ klidového centra můžeme sledovat od asymetrického dělení hypofýzy během embryonálního vývoje (Scheres *et al.*, 1994). Tomuto dělení předchází tvorba auxinového maxima v této oblasti (Friml, 2003).

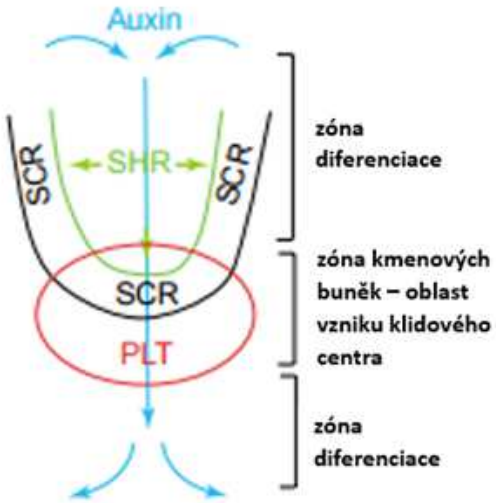
Postembryonální vývoj meristému je v podstatě prohloubením vývojového schématu, jehož rysy byly stanoveny během vývoje embryonálního a je také řízen podobnými prostředky - například jednu z klíčových rolí má auxinový gradient. Hromadění auxinu může být způsobeno polárním auxinovým transportem z prýtu, či jeho lokální syntézou (Galun, 2007). Schopnost lokální syntézy auxinu má celý mladý kořen, nejsilnější syntéza tohoto hormonu

byla zjištěna u *Arabidopsis thaliana* v kořenové špičce primárního kořene a ve vyvíjejících se kořenových špičkách postranních kořenů (Ljung *et al.*, 2005). Lokální distribuce hormonu v kořeni *Arabidopsis thaliana* je řízena jeho přenašeči PIN, AUX a LAX (Blilou *et al.*, 2005). Místem s nejsilnější odpovědí auxinem indukovaného reportérového genu je klidové centrum a kolumela, s maximem v iniciálách kolumely (Sabatini *et al.*, 1999). Pozice auxinového maxima také může ovlivnit redoxní stav jednotlivých částí kořenového meristému. Pro buňky klidového centra *Zea mays* je charakteristický jejich vysoce oxidovaný stav, v porovnání se sousedním meristematickým pletivem. Experimentální přesunutí auxinového maxima z klidového centra do okolního meristematického pletiva způsobí změnu oxidace těchto pletiv. V meristematickém pletivu oxidace vzroste, naopak v klidovém centru je snížena, což má za následek aktivaci buněčného dělení v klidovém centru. (Jiang, 2003)

Ve složité síti regulátorů, kteří udržují dynamickou rovnováhu mitotického klidu a aktivity a zachovávají tak meristém v dlouhodobě aktivním stavu, má auxin klíčové postavení. Na této regulaci se ale podílejí i další fytohormony, například ethylen a kyselina giberelová (Lee *et al.*, 2013). Dalšími klíčovými regulátory jsou například PLETHORA (PLT), SCARWCROW (SCR), SHORTROOT (SHR) a WUS-RELATED HOMEBOX 5 (WOX5) .

Geny rodiny PLT kódují transkripční faktory, které jsou esenciální pro specifikaci klidového centra a zachování aktivity kmenových buněk (Aida *et al.*, 2004). Exprese genu *PLT* je spuštěna v reakci na kumulaci auxinu v buňce, a to v klidovém centru a okolních kmenových buňkách (Aida *et al.*, 2004). Jeho produkt působí v závislosti na koncentraci – silná místní exprese *PLT* přispívá k udržení charakteru a aktivity iniciál, nižší koncentrace podporuje mitotickou aktivitu derivátů iniciál a nejnižší koncentrace přispívá k buněčné diferenciaci (Galinha *et al.*, 2007). PLT zároveň zpětně kontroluje expresi *PIN* a jejich lokalizaci (Blilou *et al.*, 2005).

Gen *SHR* je exprimován výhradně ve středním válci. Jeho produkt je symplasticky přenášen do sousední vrstvy, kde podpoří transkripci genu *SCR*, *SCR* mu zároveň zabrání v lokalizaci do dalších buněk (Nakajima *et al.*, 2001). Exprese *SCR* je důležitým buněčným autonomním signálem pro udržení charakteru klidového centra (Sabatini *et al.*, 2003). Na průsečíku expresních domén PLT a SCR vzniká klidové centrum (viz Obr. č. 3)(Vernoux and Benfey, 2005).



Obr. č. 3 - Protein SHR je produkován v centrálním válci a poté přenášen (zelené šipky) do sousedních buněk, kde aktivuje produkci SCR. Exprese *PLT* je kontrolována auxinem, který cirkuluje kořenem ve směru kořenové špičky. Klidové centrum se pak nachází v místě interakce PLT a SCR. (Vernoux and Benfey, 2005)

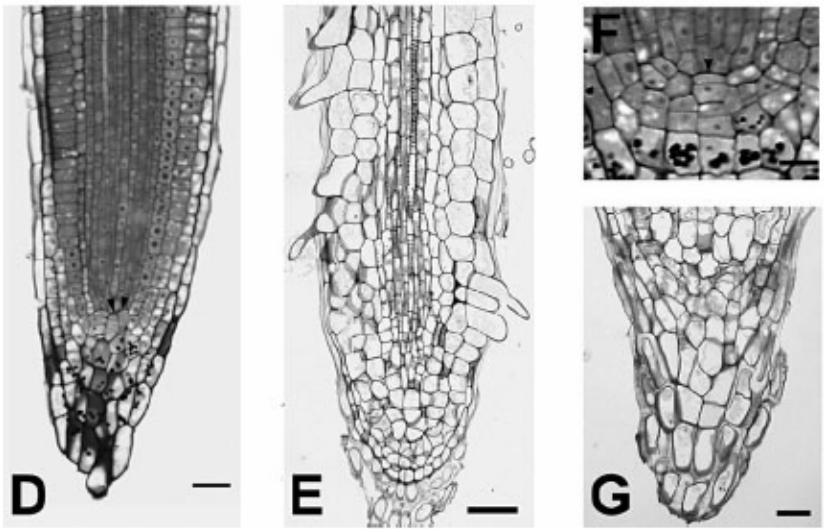
Poslední jmenovaný element nutný pro udržení identity meristému je WOX5, transkripční faktor obsahující homeodoménu (Sarkar *et al.*, 2007). Jeho exprese v klidovém centru je udržována transkripčním faktorem SCR a auxinovou signalizací (Haecker, 2004; Sarkar *et al.*, 2007).

Růst kořene je tradičně považován za nedeterminovaný, s meristémem stabilně produkujícím nové buňky. Naproti tomu mnoho prací dokazuje, že podoba kořenového apikálního meristému, a tedy i růst kořene, se s časem mění, a to i u rostlin pěstovaných v optimálních podmínkách (De Tullio 2010). Například růst primárního kořene *Arabidopsis thaliana* za optimálních podmínek ustává po 4 nebo 5 týdnech, podle toho, jak se přirozeně mění vnitřní organizace apikálního meristému kořene (Devienne-Barret *et al.*, 2006). V řadě případů může být dokonce časné zastavení růstu součástí ontogeneze, například u *Cactaceae* (Shishkova *et al.*, 2008). Silně neoptimální podmínky prostředí mohou způsobit zastavení růstu mimo standardní vývoj, v tomto případě hovoříme o nekonstitutivně determinovaném růstu (Shishkova *et al.*, 2008).

Příkladem nekonstitutivně determinovaného růstu je inhibice růstu kořene *Arabidopsis thaliana* při fosfátovém hladovění (Sanchez-Calderon, 2005). V tomto experimentu autoři srovnávali podobu kořenového meristému u *Arabidopsis thaliana* pěstované v dostatku

(1 mM) a v nedostatku (1 µM) fosfátu. Fosfátové hladovění primární kořen oproti kontrole značně zkrátilo. Po 12 dnech hladovění byly buňky z původně meristematické oblasti vysoce vakualizované, nebylo rozeznatelné klidové centrum ani iniciály a nebyla v této oblasti pozorována mitotická aktivita. Absenci mitotické aktivity dokazuje i vymizení škrobových zrn z kolumely kořene. (viz Obr. č. 4)

Nekonstitutivně determinovaného růstu bylo dosaženo i v případě, kdy stresor nepůsobil na kořenové špičky přímo – při aplikaci patogenních hub na jinou část kořene (Fusconi *et al.*, 1999). To nasvědčuje existenci signalizačního mechanismu pro přenos informace na dlouhou vzdálenost (De Tullio *et al.*, 2010).



Obr. č. 4 - D - plně zachovalá meristematická zóna u nestresovaného kořene (v detailu na obr. F se škrobovými zrny), E - po 12 dnech fosfátového hladovění je veškeré pletivo kořenové špičky diferencované a vakualizované (detail na obr. G) (Sanchez-Calderon, 2005)

2.3 Elongace buněk

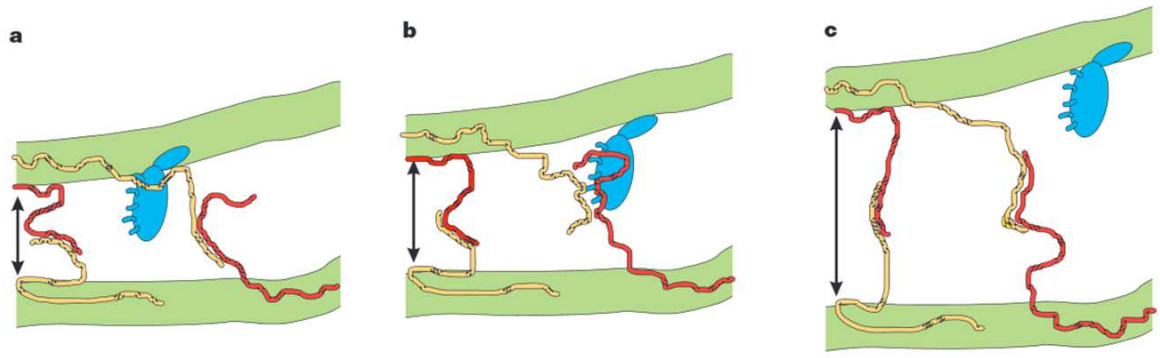
Růst buněk těsně souvisí s charakterem buněčné stěny. Hlavními stavebními složkami buněčné stěny (BS) jsou celulóza, pektiny, hemicelulózy a strukturní proteiny. Její složení určuje mechanické vlastnosti. Jmenované složky společně s bohatě glykosylovanými proteiny tvoří vzájemným provázáním četnými nekovalentními vazbami složitou prostorovou síť, která dovoluje BS být velmi dynamickou strukturou a zároveň si zachovat vnitřní integritu a regulovat růst buňky (Cosgrove, 2005).

Růst buněčné stěny probíhá tak, že se v určeném místě tato síť rozvolní a podvolí se turgoru. Zároveň s uvolňováním spojů v původní síti a jejich posunem na nové místo jsou však do

struktury zabudovávány nové stavební komponenty, takže se stěna neztenčuje a není tak ohrožena její stabilita (Cosgrove, 2005; Taiz and Zeiger, 2002). Stabilitě této struktury také velmi napomáhá schopnost jednotlivých vláken v nové poloze automaticky vytvořit na základě chemicko-fyzikálních vlastností se sousedními vlákny nové vazby (Cosgrove, 2005). Růst BS se dá vyjádřit rovnicí:

$$GR = m\,(\Psi_p - Y)$$

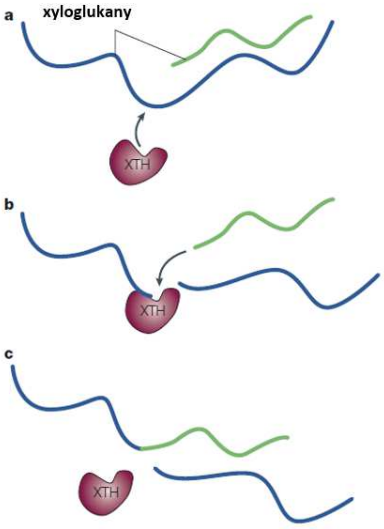
Kde GR je rychlostí růstu, Ψ_p tlakem turgoru, Y prahem poddajnosti a m roztažitelností stěny. Regulační mechanismy, které mění rychlost růstu buňky, mění jednu z těchto proměnných (Taiz and Zeiger, 2002). Regulace tlaku turgoru (Ψ_p), tedy příjmu vody do buňky, je prováděna změnou rozdílu vodního potenciálu mezi buňkou a jejím okolím (Cosgrove, 1993). Většina ostatních regulátorů má vliv na roztažitelnost BS (m). Významná je proteinová rodina expanzinů (McQueen-Mason *et al.*, 1992), která při kyselém pH neenzymaticky zeslabuje nekovalentní vazby mezi celulozovými vlákny a ostatními polysacharidy anebo vazby mezi těmito polysacharidy (viz Obr. č. 5) (Cosgrove, 2000). Rozvolňování polysacharidové sítě BS při snížení jejího pH, které expanziny svou činností podporují, nazýváme kyselým růstem (Cosgrove, 2005; Rayle and Cleland, 1970).



Obr. č. 5 – Model uvolňování sítě BS expanzinem, a – celulozové mikrofibrily (zelené) jsou drženy ve vzájemné poloze polysacharidy matrix (žluté a červené), expanzin (modrý) může uvolňovat připojení polysacharidu matrix k povrchu celulozové mikrofibrily, nebo b - vzájemné propojení polysacharidů matrix, c – pod tlakem turgoru dojde k vzájemnému posunu, který je následován opětovným spojením polysacharidů na novém místě (Cosgrove, 2000)

Kyselé pH je v buněčné stěně vytvářeno změnou v čerpání vodíkových protonů přenašečem H^+-ATPázou skrz plasmatickou membránu (Hager 1971). Spouštěčem těchto změn je mimo jiné auxin (Cosgrove, 2005). Kromě pH auxin ovlivňuje přítomnost hydroxylových radikálů v BS (Schopfer, 2001). Zkoumání vlivu auxinu na prodlužování je obtížné, protože auxin

zároveň indukuje produkci etylenu, růstového inhibitoru. Vysoké koncentrace auxinu navíc blokují elongaci buňky samy o sobě (Swarup *et al.*, 2007). K rozvolňování sítě a zabudovávání nových vláken slouží endotransglukosylázy. Ty přerušují vlákna glukanů a na takto vzniklý volný konec napojí konec jiného (nového) glukanu (viz Obr. č. 6) (Nishitani, 1997; Smith and Fry, 1991).



Obr. č. 6 – Aktivita endotransglukosylázy/hydrolázy (XTH) jako endotransglukosylázy. a – XTH se váže k jednomu vláknu xyloglukanu b – po přerušení vlákna xyloglukanu zůstává jeden jeho nově vzniklý volný konec kovalentně uchycen ke katalytickému místu XTH, volný konec druhého xyloglukanu míří také k tomuto místu, c – po spojení vzniká nové vlákno xyloglukanu (Cosgrove, 2005)

Neenzymatické rozvolňování sítě BS může způsobovat hydroxylový radikál •OH, který způsobuje oxidativní rozvolňování polysacharidových řetězců - přidání askorbátu, peroxidu vodíku, či měďnatých iontů rozvolňování podpořilo, naopak inhbičně působilo přidání katalázy. (Fry, 1998)

Oligosacharidy odštěpené od BS během jejího přetváření mohou sloužit jako signalizační molekuly uvnitř buňky (Fry *et al.*, 1993).

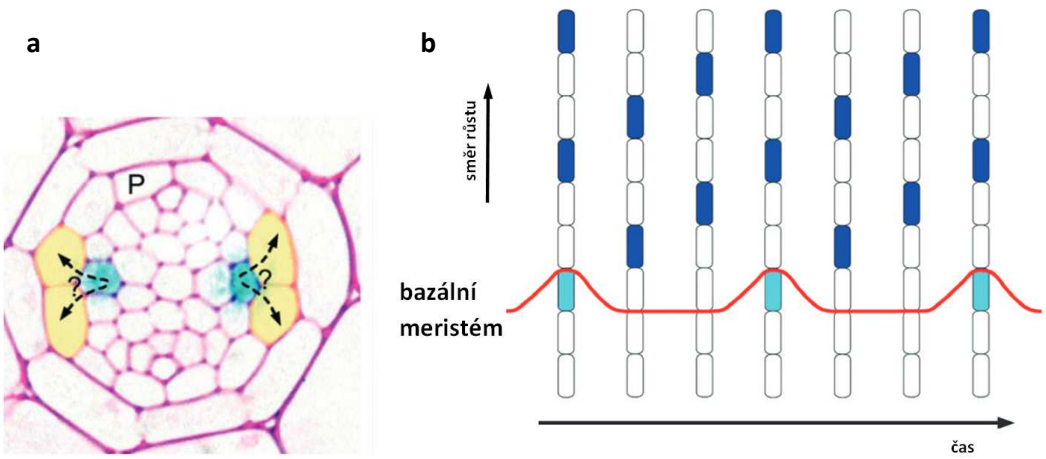
Zastavení růstu buněčné stěny je v zásadě nevratný proces, způsobený maturací buňky či vnějšími příčinami. Ukončení růstu zahrnuje změny uvnitř BS, které můžeme rozdělit do 3 skupin: 1) redukce rozvolňovacích procesů, 2) navýšení počtu vazeb mezi složkami BS, či 3) změna ve skladbě BS, tvořící více rigidní strukturu, nebo strukturu méně náchylnou k uvolňování. Určitý tlak turgoru zůstává, ale je vyrovnáván elastickým roztahováním a stahováním necelulózových polysacharadových složek buněčné stěny. Mezi změny uvnitř BS patří de-esterifikace pektinů, což má za následek tvorbu Ca^{2+} můstků a zpevnění sítě BS. Zpevnění sítě BS podporují i peroxidázy, které zde katalyzují vznik vazeb fenolických

sloučenin (Hohl *et al.*, 1995). Nově syntetizované heteropolysacharidy mohou mít jinou strukturu, tvoří pevnější spojení s celulózou a nejsou tolik náchylné k uvolňování.

2.4 Tvorba postranních a adventivních kořenů

Vznik a vývoj kořene byl podrobněji zmapován u kořenů postranních. Výzkum kořenů adventivních komplikuje velké množství buněčných typů, z nichž adventivní kořeny mohou vznikat (např. buňky pericyklu hypokotylu, parenchymatické buňky floemu či xylemu, mladé sekundární buňky floemu, nebo buňky mezisvazkového kambia blízké floemovým buňkám), různorodost rostlinných druhů, jenž je tvoří, a také odlišnost důvodů, proč je rostlina tvoří (adventivní kořeny mohou být součástí klasického kořenového systému rostlinného druhu, mohou být tvořeny pro vegetativní rozmnožování, či jsou tvořeny v reakci na vnější události) (Bellini *et al.*, 2014). Lokace vzniku postranního kořene semenných rostlin je omezena na pericykl hlavního kořene, ze kterého se odvětvuje postembryonálně (mimo vlastní RAM mateřského kořene). Podle rostlinného druhu je to pak oblast pericyklu sousedící s xylemem (u většiny sledovaných druhů - např. *Arabidopsis thaliana)*, či floemem (např. *Zea mays*) (Bellini *et al.*, 2014; Casero *et al.*, 1995). Nejintenzivnější výzkum vzniku postranních kořenů je prováděn na modelovém organismu *Arabidopsis thaliana* a dále popisovaný mechanismus, který určuje, v kterém místě na hlavním kořeni bude vytvořen kořen postranní, byl navržen právě pro něj.

V bazálním meristému kořene (nachází se mezi meristematickou a elongační zónou) dochází k oscilaci koncentrace auxinu a fluktulaci exprese dalších genů (viz Obr. č. 7b) (De Smet *et al.*, 2007). Protoxylemové buňky, které se nacházejí v bazálním meristému v době oscilačního maxima, pak regulačně ovlivňují sousední pericyklové buňky - priming (viz Obr. č. 7a). Takto pozičně označené pericyklové buňky mají potenciál v budoucnu vytvořit postranní kořen - stát se zakladatelskými buňkami postranního kořene (De Smet *et al.*, 2007). Pro nastoupení cesty vývoje v postranní kořen musí proběhnout jejich aktivace - iniciace, po které dochází k asymetrickému antiklinálnímu dělení obou zakladatelských buněk.

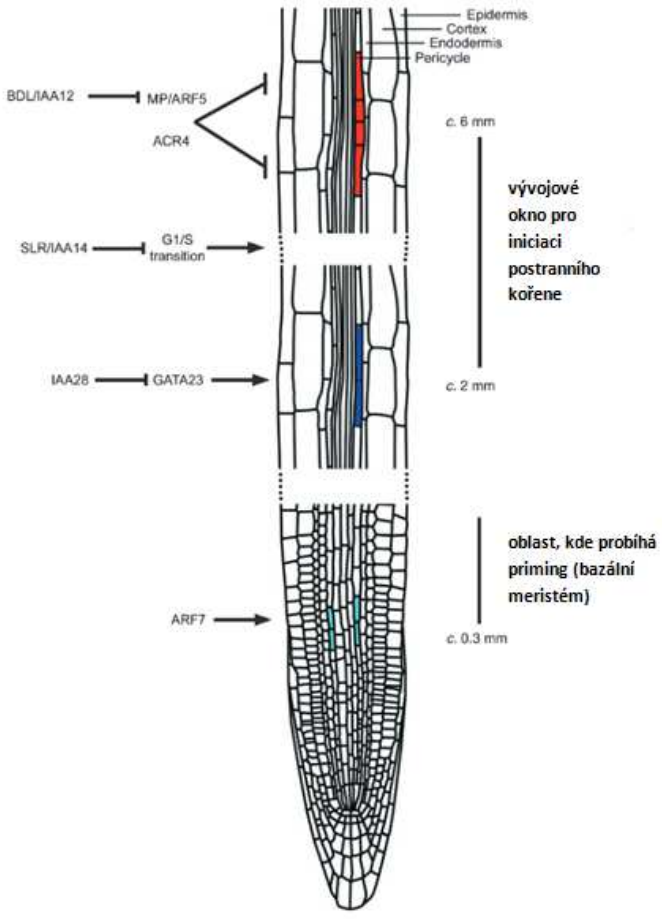


Obr. č. 7 - a - Příčný průřez bazálním meristémem, navrhovaný signál (?) putuje z protoxylemových buněk do sousedních buněk pericyklu (P), b - Oscilace koncentrace auxinu a genové exprese v bazálním meristému (červená čára) označuje jen určité buňky pericyklu, modrá = zakladatelská buňka, světle modrá = označená buňka pericyklu (De Smet, 2012)

Dalším antiklinálním dělením je pak vytvořeno jednovrstevné primordium postranního kořene prvního stupně. Když primordium prvního stupně dosáhne velikosti do 10 buněk, začnou se některé buňky v jeho středu dělit periklinálně a dají tak vzniknout dvouvrstevnému primordiu druhého stupně. Dalším dělením prostředních buněk a posléze i radiálním zvětšováním vnitřních buněk primordia nabývá primordium kupulovitého tvaru, který postupně proráží buněčné vrstvy primární kůry hlavního kořene (Norman *et al.*, 2013). Hlavní silou pro prorážení vrstev primární kůry je zvětšování objemu buněk primordia. Po proražení na povrch se v blízkosti špičky primordia začínají tvořit malé buňky - základ meristému, zdroje buněk pro další růst kořene. Od této chvíle nový rostlinný orgán nenazýváme primordiem, ale postranním kořenem (Malamy and Benfey, 1997). Ve chvíli, kdy se v kořeni meristém vytvoří, je další vývoj postranního kořene podobný kořeni mateřskému.

Jak je vidět z předchozího textu, vznik a vývoj postranního kořene má více fází. Každá z nich má své vlastní regulátory, které zaručují určitou autonomii. Ukončení jedné fáze vývoje tak neznamená automatické započetí další. Vznik postranního kořene může být ovlivněn tím, že neproběhne iniciace (Celenza *et al.*, 1995), dále se růst může zastavit krátce před proražením na povrch (Mallory *et al.*, 1970), či krátce po něm (Baum *et al.*, 1998). A stejně jako u ostatních kořenů, konečná délka kořene také značně závisí na podmínkách prostředí.

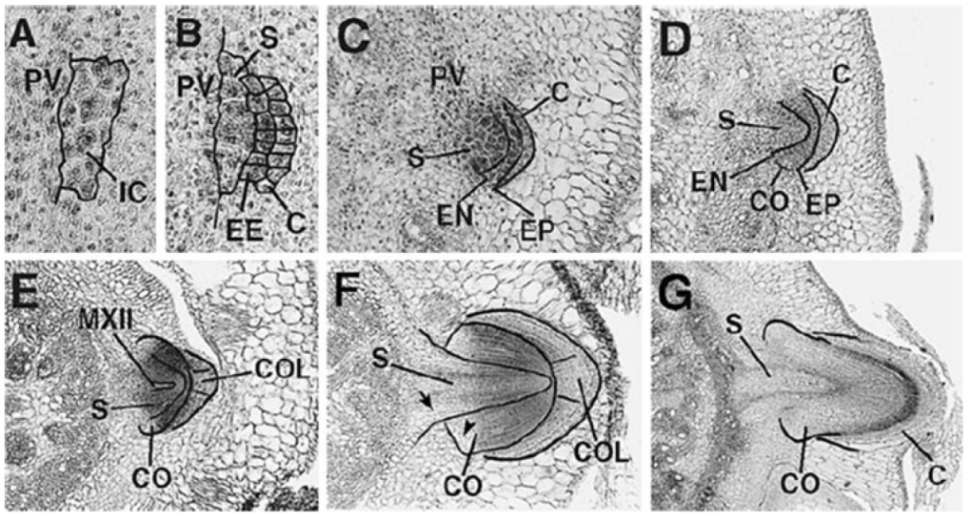
Ve všech fázích vývoje PK má dominantní roli auxin (viz obr. č. 10) (Benková and Bielach, 2010), opět většinou funguje ve spolupráci či v opozici proti dalším hormonům. Například v počátečních fázích vývoje je oproti pozdějším fázím obsah cytokininu snížen a úpravy jeho koncentrace mají vliv na formaci PK (Bielach *et al.*, 2012). Jak uvádím výše, zcela první fází vývoje je označení (priming) určitých skupin pericyklových buněk oscilačním působením auxinu a dalších genů (Moreno-Risueno *et al.*, 2010). Specifikace zakladatelských buněk probíhá v širokém vývojovém okně, kde je obsah auxinu redukován (viz Obr. č. 8) (Dubrovsky *et al.*, 2011). V buňkách označených primingem ale přetrvává vyšší obsah auxinu a tedy i vyšší exprese genů jím indukovaných (Dubrovsky *et al.*, 2008). V tomto okně také osciluje exprese *GATA23* a míra její exprese spoluurčuje, která z buněk se stane buňkou zakladatelskou. Její exprese je opět ovlivněná auxinem (De Rybel *et al.*, 2010).



Obr. č. 8 - Vpravo vyznačení oblastí, ve kterých probíhá priming, ustanovení zakladatelských buněk a iniciace tvorby PK. Vlevo vyznačené regulační dráhy, kterým dominuje auxin. světle modrá = primingem označené buňky pericyklu, tmavě modrá = zakladatelské buňky, červená = asymetrické dělení (De Smet, 2012)

Jakmile proběhne specifikace zakladatelských buněk, relativně brzy poté proběhne iniciace primordia, a to v diferenciační zóně kořene (Dubrovsky *et al.*, 2011). Pro iniciaci postranního kořene je klíčová správná regulace a společné načasování asymetrického dělení všech zúčastněných buněk. Klíčové jsou tedy regulátory, které způsobí přechod z buněčné fáze G1 do S a také další regulátory buněčného cyklu (De Smet, 2012). Bylo navrženo, že ALF4 protein udržuje tyto buňky v mitoticky kompetentním stavu (DiDonato *et al.*, 2004). Po prvním asymetrickém dělení auxinové maximum přechází do středu vytvořených malých buněk (Benková *et al.*, 2003) a další regulace je soustředěna kolem *MP/ARF5* a *BDL/IAA12* genů (De Smet *et al.*, 2010). Pro odlišení osudu malé a velké buňky vzniklé asymetrickým dělením probíhá rozdílná genová exprese – například receptorová kináza ACR4 je exprimovaná pouze v malé dceřinné buňce (De Smet *et al.*, 2008).

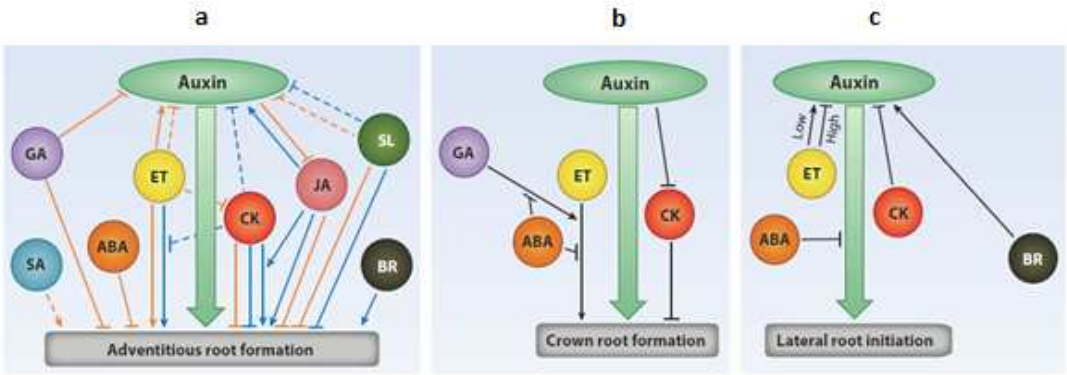
Adventivní kořeny (AK) mohou vznikat v rozmanitých místech a z různých důvodů, vždy však v blízkosti vodivých pletiv (Bellini *et al.*, 2014). Jejich vývoj můžeme shrnout na 3 fyziologické fáze: 1) indukční fázi - příprava na budoucí histologické změny, 2) iniciační fázi, během kterých buněčná dělení vedou k tvorbě vnitřních meristémů a 3) expresní fázi, zahrnující růst primordia a prorůstání AK povrchem mateřského orgánu (de Klerk *et al.*, 1999). Podrobněji je vývoj AK uveden na Obr. č. 9.



Obr. č. 9 – Vývoj kořenu krčku u rýže: A – ustanovení iniciál, B – ustanovení iniciál epidermis-endodermis a iniciál kořenové čepičky, C – diferenciace epidermis–endodermis iniciál do epidermis a endodermis, D – diferenciace primární kůry, E – ustanovení základního uspořádání kořenového primordia, F – počátek buněčné vakualizace (hrot šipky) v primární kůře a elongace (šipka) v centrálním válci, G – proražení crown kořene na povrch, IC = iniciály, PV = periferní cylindr cévního svazku, C = kořenová čepička či iniciála kořenové čepičky, EE = epidermis-endodermis iniciály, S = centrální válec, EP = epidermis, EN = endodermis, CO = primární kůra, COL = kolumela, MXII = pozdní metaxylemová céva (Itoh 2005)

Pro nepřítomnost specializovaných meristematických buněk u většiny vegetativně rozmnožovaných rostlin je před indukční fázi zařazena dediferenciace buněk pletiva, jichž se bude iniciace týkat. Naopak u některých dřevnatých rostlin, například u vrby, byly zaznamenány preformované iniciály AK (Hartmann and Kester, 1968).

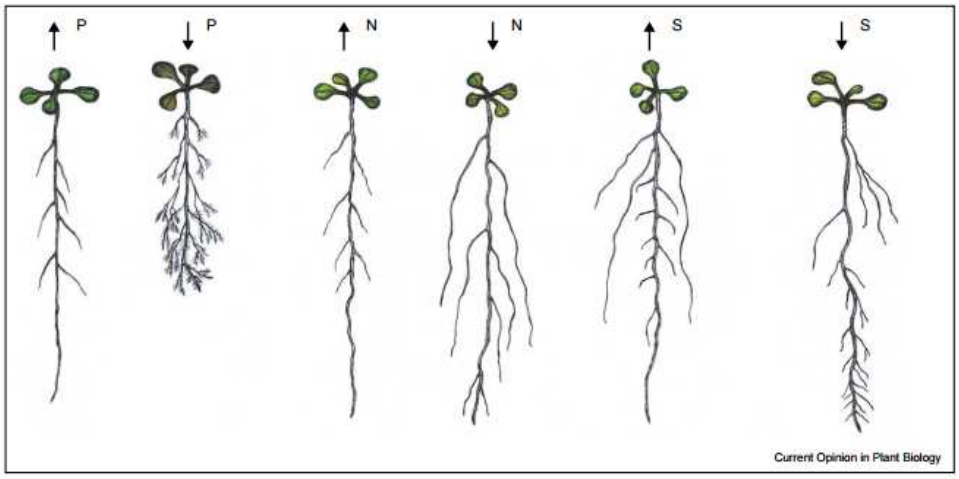
Kontrola vývoje postranních a adventivních kořenů má společné prvky, jak ale dokazují mutanti schopní tvořit pouze jeden typ těchto kořenů, má i své specifické regulační mechanismy (Bellini *et al.*, 2014). Jedním ze společných znaků je centrální role auxinu (viz Obr č. 10). Omezení jeho syntézy a transportu mění četnost adventivních kořenů a u *Zea mays, Oryza sativa* a *Arabidopsis thaliana* bylo identifikováno mnoho regulátorů z rodiny AUX/IAA, které mají na tvorbu těchto kořenů vliv (Zhi-Guo *et al.*, 2012). MikroRNA hraje důležitou roli při přenosu auxinového signálu (Meng *et al.*, 2009). Cytokinin má opět k auxinu opoziční funkci (2002). S působením cytokininu mohou být spojeny například geny *WOX11* a *OsMT2b* (Yuan *et al.*, 2008; Zhao *et al.*, 2009). Další hormony zapojené do této regulace jsou vyznačeny na obrázku č. 10. Do vývoje AK může být zapojen i oxid dusný (NO). Významnou roli mají geny zapojené do regulace kořenového apikálního meristému – například gen *WUSCHEL* (Kamiya *et al.*, 2003).



Obr. č. 10 - Interakce fytohormonů ovlivňující vývoj kořene u: a – tvorba adventivních kořenů u dvojděložných rostlin, b – tvorba crown kořenů u jednoděložných rostlin, c –iniciace laterálního kořene u *Arabidopsis thaliana*; přerušovanou čarou vyznačeny ne plně potvrzené vztahy, oranžové čáry se vztahují k tvorbě adventivního kořene u nenarušených rostlin, modré k tvorbě adventivních kořenů u odříznutých stonků; (Bellini *et al.*, 2014)

3 Morfologické změny kořenového systému indukované stresem

Už v roce 1934 S. N. Smith publikuje, že vysoký poměr sekundárních a podpůrných kořenů ku primárním u *Zea mays* je spojen s vyšší efektivitou v příjmu fosfátu. Uvádí ale, že tento zvýšený poměr je pouze dědičným znakem, neovlivněným médiem, ve kterém rostlina vyrůstá (Smith, 1934). Nastiňuje tak vliv kořenové morfologie na příjem živin. Dnes víme, že tento vztah funguje i obráceně, jak pro jednotlivé prvky ilustruje Obr. č. 11 (López-Bucio *et al.*, 2003).



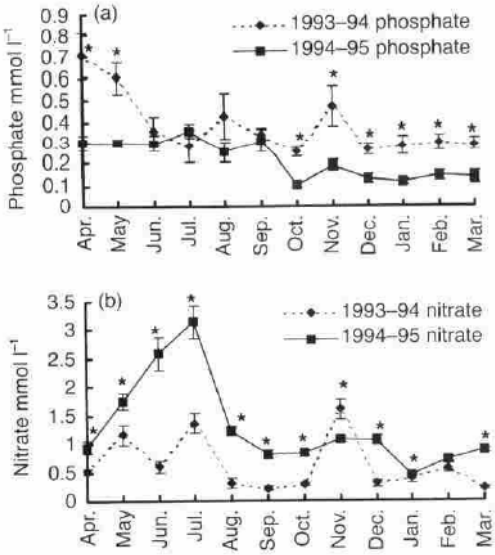
Obr. č. 11 - Při nedostatku živin je změněna morfologie kořene u *Arabidopsis thaliana*. (López-Bucio *et al.*, 2003)

Snížená dostupnost živin ale není jediný stresový faktor, který tyto změny může vyvolat. V následujícím textu uvedu výsledky publikovaných experimentů, které se těmito morfologickými změnami kořenového systému zabývaly. Výsledky jsou řazeny do kapitol podle typu stresoru, který byl použit. Pro tuto práci jsem se omezila pouze na tyto stresory: stres z nedostatku živin (konkrétně fosfor a dusík), stres z přemíry soli a stres vyvolaný přítomností těžkých kovů.

3.1 Nutriční stres – nedostatek fosforu a dusíku

Na rozdíl od laboratorních podmínek, kde se nitrát a fosfát standardně přidávají v silném nadbytku (např. u Hoaglandova živného roztoku je to 2 mM fosfátu, a 16 mM nitrátu) (Epstein and Bloom, 2005; Taiz and Zeiger, 2002), jsou v přirozeném prostředí tyto látky

často hlavními limitujícími živinami (Linkohr *et al.*, 2002). Fosfát i nitrát jsou v půdním horizontu rozloženy nerovnoměrně a jejich koncentrace se mění podle ročního období (viz Obr. č. 12) a lokality – např. déšť živiny odplavuje, bohatý opad listu v listnatém lese obsah živin v půdě navyšuje a podobně (Cain *et al.*, 1999; Farley and Fitter, 1999).



Obr č. 12 – Změna koncentrace nitrátů a fosfátů v půdě v průběhu dvou let (Farley and Fitter, 1999)

3.1.1 Fosfor

Celkový obsah fosforu v půdě může být vysoký, jeho větší část ale tvoří s dalšími složkami půdy nerozpustné komplexy. Největší množství dostupného fosfátu je u povrchu půdy a klesá s její hloubkou (Lynch, 2013). Pro laboratorní podmínky v případě *Arabidopsis thaliana* živné médium s fosfátem o koncentraci 2,5 mM je považováno na tuto živinu bohatě dostačující, růst limitující koncentrace se pohybuje okolo 0,1 Mm (Williamson *et al.*, 2001).

Specifikem fosfátu je, že jeho nedostatek indukuje tvorbu a elongaci kořenových vlásků (Bates and Lynch, 1996), jenž zvyšují aktivní sorpční povrch kořene (Fitter *et al.*, 2002). Dalšími morfologickými reakcemi na nedostatek fosfátu v půdě je u *Arabidopsis thaliana* redukce délky primárního kořene (Linkohr *et al.*, 2002; López-Bucio *et al.*, 2002; Williamson *et al.*, 2001). Kinetické studie exprese markerů buněčného cyklu a markerů identity klidového centra ukázaly, že v podmínkách snížené přítomnosti fosfátu redukci v proliferaci buněk v primárním kořeni předchází změny v klidovém centru (Sanchez-Calderon, 2005). Naopak postranní kořeny se prodlužují (Linkohr *et al.*, 2002; Williamson *et al.*, 2001) a zvyšuje se i jejich počet a hustota (Bates and Lynch, 1996; Linkohr *et al.*, 2002; López-Bucio

et al., 2002). Dále se zkracuje vzdálenost mezi špičkou hlavního kořene a prvním postranním kořenem (López-Bucio *et al.*, 2002; Williamson *et al.*, 2001). Popsané změny mohou být způsobeny zvýšenou citlivostí kořenů *Arabidopsis thaliana* k auxinu, která byla u této rostliny při nedostatku fosfátu pozorována (López-Bucio *et al.*, 2002), a která souvisí s degradací AUX/IAA represorů auxinové odpovědi a zvýšenou expresí *TIR1* (Pérez-Torres *et al.*, 2008).

U *Oryza sativa* nedostatek fosfátu způsobuje prodlužování seminálních i postranních kořenů, hustota postranních kořenů se ale zmenšuje. Redukce živin stimuluje produkci strigolaktonů, které působí přes modulaci transportu auxinu ze stoku do kořene a vede tak ke změně morfologie kořene. Mutanti defektní v syntéze strigolaktonů byli méně citliví na změny v přísunu N a P - u mutantních rostlin se tak nevyvinula tak silná morfologická odpověď na nedostatek těchto prvků (Sun *et al.*, 2014).

Následující dva články věnující se reakcím *Zea mays* dělí veškeré kořeny pouze na dvě skupiny. Jednou skupinou jsou kořeny postranní a do druhé řadí všechny ostatní kořeny - tedy všechny, které nevznikly jako větev jiného kořene. Tyto kořeny popisují jako primární či axiální. Mechanismus experimentů mají ale značně odlišný, což vysvětluje odlišnost dosažených výsledků. V prvním případě byly semenáčky 11 dní staré, když byla polovina z nich přenesena do média zcela bez fosfátu a pěstovaná na něm byla po dobu 16 dnů. Po 6 dnech se u fosfát-deprivovaných rostlin přestaly tvořit axiální kořeny, které se do té doby tvořily v podobném množství jako u kontroly. Mezi 9. a 14. dnem hladovění byly axiální kořeny na třetí fytomeře oproti kontrole znatelně delší, ale kvůli nižšímu počtu axiálních kořenů byla celková délka těchto kořenů srovnatelná s kontrolou. Hustota postranních kořenů byla u všech na fosfát hladovějících rostlin oproti kontrole nižší, ale jen zřídka signifikantně. Rychlost elongace PK byla těsně po odebrání fosfátu podpořena, po krátké době ale opět poklesla na hodnotu srovnatelnou s kontrolou a po delší době byla zaznamenána znatelná redukce v rychlosti elongace (Mollier and Pellerin, 1999). V druhém případě byly semenáčky staré pouze týden a obsah fosforu v médiu, na kterém po 10 dní rostly, byl pouze snížen. Délka a rychlost růstu primárních kořenů byla u fosfát-hladovějících kořenů vyšší, ale naopak počet postranních kořenů byl nižší (Li *et al.*, 2012).

Morfologické přizpůsobení kořenů dřevin na snížený příjem fosfátu jsem nalezla jen pro jasan *Fraxinus mandshurica*. Zde redukce fosfátu redukovala rychlost elongace primárního kořene, ale větvící zóna primárního kořene se prodlužovala a celkový počet primordií PK se zvýšil. Postranní kořeny byly delší, což bylo způsobeno změnami v produkci a elongaci

nových buněk. V meristematické zóně postranních kořenů byly buňky oproti kontrole kratší, což naznačuje rychlejší buněčné dělení v této oblasti. Naopak buňky v elongační a maturační zóně byly oproti kontrole delší (Wu *et al.*, 2005).

Morfologická odpověď jednoděložných a dvojděložných rostlin na nedostatek fosfátu v živném médiu se logicky liší pro odlišnou architekturu jejich kořenového systému. U všech rostlin ale můžeme sledovat redistribuci růstu, ne jeho prosté zastavení, pokud je přítomnost fosfátu v médiu pouze snížena a rostlina tak není nucena delší dobu fungovat zcela bez něho. Pokud rostlina veškeré vnější i vnitřní zdroje této živiny vyčerpá, nemá energii na redistribuci a její růst ustává. Redistribuce růstu u dvouděložných byla prováděna redukcí délky primárního kořene, naopak podpořený růst byl směřován do kořenů postranních (viz Obr č. 19). U jednoděložných docházelo k nárůstu délky kořenů prvního řádu i kořenů postranních, naopak jejich počet byl redukován. Většina uvedených článků používala určitý gradient koncentrací fosfátu a podle použitého gradientu se morfologické reakce prohlubují. Morfologická odpověď na stres a její intenzita je tedy koncentračně závislá.

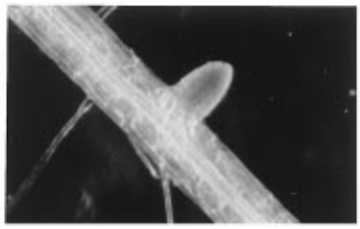
3.1.2 Dusík

Hlavním zdrojem anorganického dusíku, přijímaného vyššími rostlinami v přírodě, jsou nitrát (NO_3^-) a ionty amonné (NH_4^+) (Marschner, 1995). Poměr, v jakém jsou v půdě přítomny, mění rostlinnou morfologii a příjem dalších prvků. Víc rostlin preferuje NO_3^- jako zdroj dusíku, jen menšina reaguje pozitivně, když je hlavním zdrojem dusíku NH_4^+ (Na *et al.*, 2014). Lokálně vysoká koncentrace NH_4^+ dokonce působí jako stresor (Moody *et al.*, 1995). Podobně jako fosfor je většina dusíku v půdě organicky vázána, podíl anorganického dusíku je většinou méně než 5%. Přesné množství anorganického dusíku v půdě se odvíjí od mnoha proměnných (viz výše). Pokud se omezíme jen na dusičnan, tak u 61% z odebraných vzorků půdních roztoků byla stanovena koncentrace v rozmezí 51 a 150 mg/l, celkové rozmezí koncentrace nitrátu bylo 0 až víc než 1000 mg/l (Reisenauer, 1966).

Nejdůležitější rozdíl mezi dusíkem a fosforem pro potřeby rostlinné výživy je odlišná mobilita. Zatímco difuze iontů $H_2PO_4^-$ půdou je značně pomalá (difuzní koeficient v rozmezí 10^{-12} až 10^{-15} m^2/s), dusičnanové ionty se vyznačují velkou mobilitou, s difuzním koeficientem

10^{-10} až 10^{-11} m^2/s (Waisel *et al.*, 2002). Jediný kořen tak může čerpat živiny z velkých objemů půdy (Fitter *et al.*, 2002).

Ve všech následujících experimentech, jejichž výsledky použiji k ilustraci morfologických změn kořenové architektury po redukci obsahu dusíku v živném médiu, byl přísun dusíku modifikován formou snížení koncentrace nitrátových iontů (NO_3^-). Opět nejvíc článků popisovalo morfologické změny na rostlině *Arabidopsis thaliana*. Zhang and Forde (1998) uvádějí, že podle jejich výsledků elongace primárního kořene *Arabidopsis thaliana* není citlivá na koncentraci nitrátu a že je toto zjištění v souladu s výsledky získané pro jiné rostlinné druhy. Naopak Linkohr *et al.* (2002) pozoroval s úbytkem nitrátu v médiu prodlužování primárního kořene. Vývoj postranních kořenů je silně redukován nadmírou nitrátu v médiu – většina PK je přitom zastavena ve fázi primordia do velikosti 0,5 mm (viz Obr. č. 12) (Zhang *et al.*, 1999).

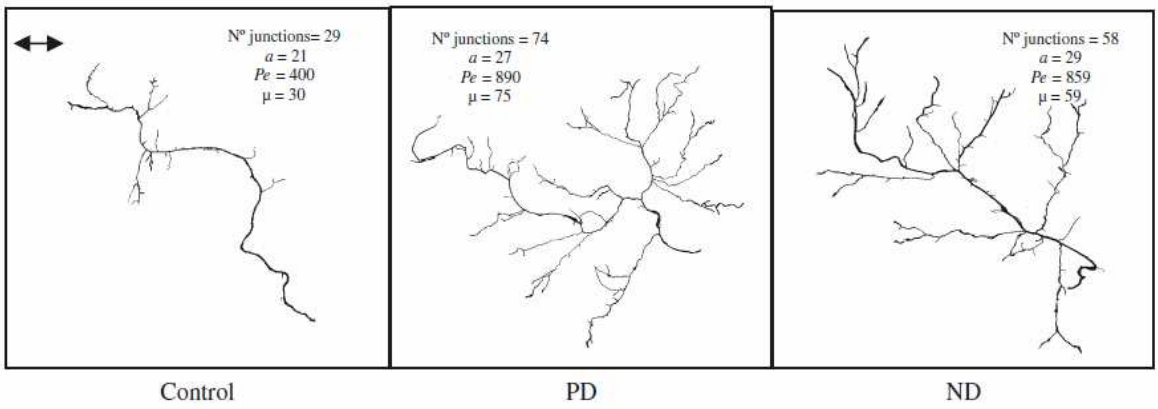


Obr. č. 12 – Primordium zastavené ve vývoji, *Arabidopsis thaliana*, 50 mM KNO_3, zvětšeno (viditelný primární kořen má průměr cca 0,2 mm) (Zhang *et al.*, 1999)

S redukcí nitrátu se délka PK zvyšovala, ale pouze do bodu kolem 1 mM, další redukce živiny v médiu už efekt neprohlubovala (Linkohr *et al.*, 2002; Zhang and Forde, 1998). Hustota PK se nemění (Linkohr *et al.*, 2002). *Oryza sativa* reagovala na redukci nitrátu prodloužením seminálních a postranních kořenů, naproti tomu hustota PK byla snížena (Sun *et al.*, 2014). Wang *et al.* (2004) podrobil zkoumání morfologické odpovědi pěti imbredních linií kukuřice (478, H21, Wu312, Zong 31, a Baici). Jeho výsledky by se daly shrnout takto: délka primárních kořenů s redukcí nitrátu rostla až do bodu 0,4 mM, ale při další redukci živiny klesala, počet primárních kořenů i jejich délka s redukcí živiny klesala.

Obdobně jako v minulé kapitole, morfologické změny kořenů indukované nedostatkem nitrátu v živném médiu vedou k redistribuci tohoto systému v půdě, jak je patrné na obr. č. 13. Konkrétní morfologické změny ale značně závisí na konkrétní koncentraci

zkoumaného prvku v médiu v závislosti na použité plodině. Některé články dokonce uvádějí zlomové body koncentrace prvku, po jejichž překonání se morfologická změna již neprojeví.



Obr. č. 13 - Redistribuce růstu kořenů *Pistacia letiscus* při nutričním stresu: kontrola (Control), médium bez fosfátu (PD), médium bez nitrátu (ND) (Trubat *et al.*, 2012)

3.2 Stres z přemíry soli

Solný stres má složku osmotickou a ionickou, jeho efekt na rostlinu tedy nezávisí tedy pouze na osmotickém potenciálu dané soli, ale i na chemickém složení solného média (Cramer *et al.*, 1988). Tomu také odpovídá fyziologická odpověď rostliny na tento stres (Munns and Tester, 2008). Na otázku, která složka solného stresu má hlavní vliv na změněnou morfologii, se odpovědi různí. K osmotickému potenciálu se přiklání Deak and Malamy (2005), naopak Pritchard *et al.* (1987) na první místo dává solné ionty jako takové, které mění vlastnosti buněčných stěn prodlužujících se buněk. Podobně jak u živin, ani obsah solí není v půdním profilu uniformní - u povrchu půdy je nízký a s přibývající hloubkou stoupá (Dang *et al.*, 2006). V intenzivním zemědělství je hlavní příčinou nadměrné koncentrace solí v půdě zavlažování - až jedna třetina zavlažovaných půd trpí přesolením (Mamo *et al.*, 1996). Půda je charakterizovaná jako slaná, když je její ECe 4 dS/m nebo vyšší (ARS [online] - 2015), což odpovídá přibližně 40 mM NaCl a generuje osmotický tlak o hodnotě zhruba 0,2 MPa.

Kořenový systém *Arabidopsis thaliana* reaguje na stres ze zesílené koncentrace NaCl redukcí délky primárního kořene (Burssens *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2009), přičemž podle (Burssens *et al.*, 2000) 1% roztok této soli způsobí zkrácení meristematické zóny primárního kořene o 56%. Reakce počtu postranních kořenů se zdá být značně závislá na síle soli v živném roztoku a experimentálním postupu, který pro zkoumání těchto reakcí zvolíme.

V kořenových špičkách *Arabidopsis thaliana* solný stres způsobil pokles exprese cyklin-dependentní kinázy CDC2aAt a mitotických cyklinů CycB1;1 a CycA2;1, což naznačuje, že solný stres ovlivňuje buněčný cyklus a tím růst zasaženého kořene (Burssens *et al.*, 2000). V závislosti na množství NaCl v živném médiu byla též změněna distribuce a množství auxinu v kořenové špičce (Wang *et al.*, 2009). Zolla *et al.* (2010) i Wang *et al.* (2009) sice publikovali data, která shodně ukazují, že při koncentraci soli kolem 50 mM je počet postranních kořenů podpořen a že výrazně vyšší koncentrace soli počet PK naopak redukuje (v tomto závěru je podporují i výsledky (Burssens *et al.*, 2000)). Konkrétní podoba závislostní křivky koncentrace soli – počet kořenů se ale liší. Mírná salinita také podporuje tvorbu laterál druhého řádu (Zolla *et al.*, 2010). Délka postranních kořenů stoupá od mírné salinity až po hodnotu 150 mM NaCl (Wang *et al.*, 2009). 150 mM NaCl podpořilo i růst adventivních kořenů.

Rychlost růstu primárního kořene *Zea mays* reaguje již na mírný osmotický stres způsobený solí $CaCl_2$ zpomalením, je ale zajímavé, že úplně nebyl růst primárního kořene zastaven ani silným stresem. Elongační zóna se s klesajícím vodním potenciálem progresivně zkracuje (Sharp *et al.*, 1988). Cosgrove (1996) pozoruje při suchu u kukuřice zvýšenou aktivitu expanzinů, které indukují změnu prodlužovacího růstu kořene.

Morfologická reakce kořenů dřevin *Picea mariana*, *Picea glauca*, *Pinus baksiana* na stoupající koncentraci solí NaCl i Na_2SO_4 v živném roztoku se podle Croser *et al.* (2001) shoduje – délka primárního i počet postranních kořenů postupně klesá, jen s výjimkou *Picea glauca*. Tato dřevina si až na nejsilnější koncentrace udržuje stálý počet postranních kořenů.

Výstupů z publikovaných článků není v této kapitole uveden dostatek pro náležité mezidruhové srovnání morfologické reakce architektury kořenového systému na stres z přemíry soli. Všechny výstupy se alespoň shodují na redukčním účinku přemíry soli v případě elongace hlavních kořenů. Také je patrné, že konkrétní podoba morfologické změny značně závisí na koncentraci stresoru.

3.3 Stres z přemíry toxických kovů

Toxické kovy jsou definovány jako kovy, jejichž zvýšená koncentrace má toxický vliv na rostlinu. Některé z těchto kovů se v rostlinách běžně vyskytují jako mikroelementy s určitou fyziologickou funkcí (Fe, Mn, Co, Ni, Zn a Cu), naopak kovy Pb, Cd a Hg fyziologickou funkci v rostlinách nemají (až na velmi specifické výjimky). I některé neesenciální kovy (například

kadmium a olovo) ale mohou mít při nízkých koncentracích na určité rostliny mírný stimulační účinek (Hirt, 2009). Těžké kovy mají původ v rudonosných horninách a v činnosti člověka. Postupující okyselování půd způsobuje uvolňování iontů kovů do půdního roztoku. Těžké kovy navíc nemohou být přirozeně rozloženy, a tak se postupem času akumulují, hlavně v horní vrstvě půdy a v kořenech rostlin (Kahle, 1993).

3.3.1 Měď

Měď je významnou složkou mnoha oxidáz, fenoláz a laktáz, které se podílejí na lignifikaci pletiv. Více než polovina mědi lokalizované v chloroplastech je složkou plastocyaninu, který přenáší elektrony na fotosystém I. (Procházka, 1998). Její obvyklý obsah v sušině může být okolo 6 µg/g (Taiz and Zeiger, 2002).

Nejvíc informací o morfogenetických změnách kořenového systému indukovaných tímto stresorem jsem už tradičně nalezla pro *Arabidopsis thaliana*. Zřejmě vinou odlišného laboratorního postupu byl u jednoho experimentu primární kořen inhibován vzrůstající měrou s tím, jak sílila koncentrace mědi v živném roztoku (Lequeux *et al.*, 2010), druhý experiment vykázal redukci délky primárního kořene jen u druhé nejvyšší použité koncentrace (Kolbert *et al.*, 2012). Zkracování délky meristematické zóny při 50 µM Cu^{2+} posouvá kořenové vlásky do blízkosti kořenové špičky a indikuje tak posun mezi rychlostí diferenciace a růstu kořene. Počet postranních kořenů reaguje kladně na nižší koncentrace mědi, při vyšší koncentraci je počet PK srovnatelný s kontrolou či dokonce nižší (Kolbert *et al.*, 2012; Lequeux *et al.*, 2010). Lequeux *et al.* (2010) zdůrazňuje, že od koncentrace 50 µM Cu^{2+} v živném roztoku začaly nad ostatními převažovat PK kratší než 0,3 cm. Délku kořenového systému *Zea mays* podpořilo přidání 10 µM mědi do živného roztoku, další zvyšování koncentrace tohoto prvku ale způsobilo silnou redukci. Tato inhibice růstu je daná do souvislosti s nižším mitotickým indexem v kořenové špičce (Jiang *et al.*, 2001). Morfologické reakce kořenů rostlin *Brassica juncea* a *Brassica napus* na stres z tohoto těžkého kovu jsou podle Feigl *et al.* (2013) podobné. Délka hlavního a postranních kořenů byla stresem zkrácena. Počet kořenů postranních se lišil podle toho, jak dlouho byly rostliny mědí stresovány – po 7 dnech mírná koncentrace Cu^{2+} počet PK navýšila, měření po 14 dnech trvání experimentu zaznamenalo hodnotu srovnatelnou s kontrolou. V obou případech silná koncentrace měďnatých iontů tvorbu PK snížila. Příjem měďnatých kationtů rostlinou vyvolává nárůst koncentrace redoxně aktivních molekul (ROS a NO), které pak

modifikují strukturu buněčné stěny, což má za následek inhibici růstu rostliny (Feigl *et al.*, 2013).

3.3.2 Kadmium

Kadmium většinou nemá u rostlin fyziologickou funkci (Procházka, 1998). V půdě se přirozeně vyskytuje v koncentraci přibližně 0,2 µg na 1 gram půdy (Roberts *et al.*, 1994).

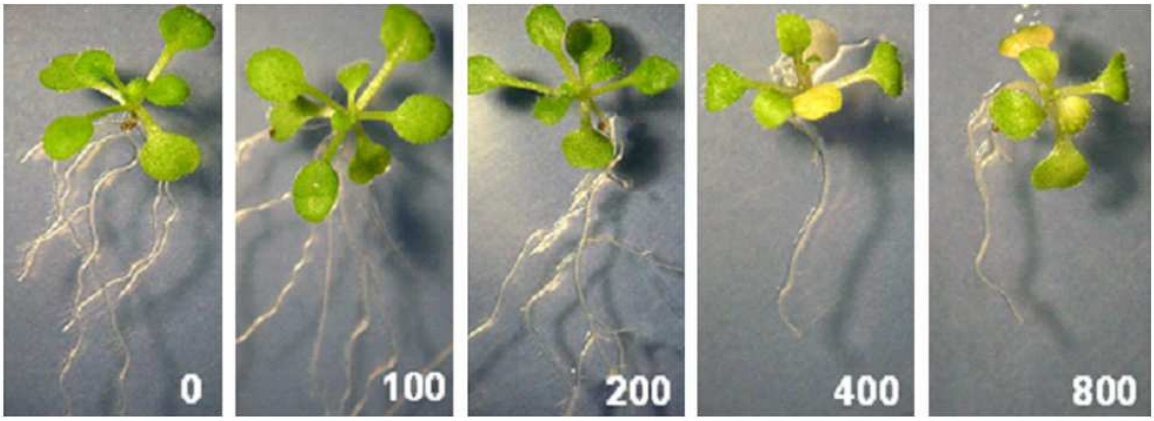
Kadmium se do živných roztoků přidávalo v podobě kademnatých solí. Nízká koncentrace chloridu kademnatého (50 µM) měla na počet postranních kořenů *Arabidopsis thaliana* stimulující účinek, silnější koncentrace počet PK snížila na hodnotu menší, než byla u kontroly. 100 µM chloridu kademnatého je hodnota, která již na *Arabidopsis thaliana* působila negativně, rostliny *Solanum nigrum* ale měly při této koncentraci počty postranních kořenů oproti kontrole stále navýšené. Také u nich byl zaznamenán větší počet adventivních kořenů oproti kontrole (Xu *et al.*, 2011a). U rostliny *Oryza sativa* pěstované v 0,1 mM $Cd(NO_3)_2$ se kořenová morfologie oproti kontrole lišila takto: primární, postranní a adventivní kořeny byly delší a byl navýšen počet postranních kořenů.

3.3.3 Chrom, zinek, vanad, kobalt a bór

Zinek je důležitým mikroprvkem pro správnou funkci desítek enzymů, bór není součástí enzymů, je vyžadován například pro dostatečný floemový transport sacharózy (Procházka, 1998), ostatní jmenované fyziologickou funkci nemají. Obvyklý obsah zinku i boru v sušině je okolo 20 µg/g (Taiz and Zeiger, 2002).

Koncentrace 200 µM dichromanu draselného u *Arabidopsis thaliana* způsobila trojnásobné navýšení hustoty postranních kořenů oproti kontrole. Růst primárního kořene byl 150 µM redukován z 50 %, 200 µM způsobilo úplnou redukci jeho růstu (viz Obr č. 14). Kořen měl přitom velmi zkrácenou elongační zónu, takže se kořenové vlásky tvořily těsně u špičky kořene (Castro *et al.*, 2007). Zinek dodaný do živného média ve formě soli $ZnSO_4.7H_2O$ rostlinám *Lolium perenne a Trifolium repens* snižoval elongaci kořenů (Lambrechts *et al.*, 2014). I *Phaseolus vulgaris* rostoucí v médiu s vanadem měl kratší hlavní kořen a menší množství postranních kořenů (Saco *et al.*, 2013). Naopak kobaltnatá sůl přidaná v menší koncentraci (do 20 µM) u rostliny *Lycopersicon esculentum* délku primárního kořene nezměnila, vyšší koncentrace ji redukovala a zároveň způsobila zvýšení počtu postranních

kořenů. Jedinec pěstovaný na silné koncentraci této soli má počet PK srovnatelný s kontrolou (Xu *et al.*, 2011b). 50% inhibici růstu kořene způsobila 5 mM koncentrace soli H_3BO_3 u *Arabidopsis thaliana* byl negativní, koncentrace kovu 5 mM způsobila jeho 50% inhibici a podstatné zkrácení jeho meristému (Aquea *et al.*, 2012).



Obr. č. 14 – Morfologická odpověď rostliny *Arabidopsis thaliana* na vzrůstající koncentraci dichromanu v roztoku (koncentrace v µM v pravém dolním rohu obrázků) (Castro *et al.*, 2007)

Abych shrnula výše uvedené výstupy výzkumu reakcí rostlin na stres z těžkých kovů, musím poznamenat, že reakce rostlin silně ovlivňuje řada proměnných. Jak některé výstupy dokládají, morfologické přizpůsobení kořenů na tento stresor ovlivňuje délka, po kterou mu byly vystaveny, síla koncentrace kovu v růstovém médiu, stáří použité rostliny, její druh a také její citlivost na daný kov. Například odlišné reakce *Arabidopsis thaliana* a *Solanum nigrum* jsou způsobeny tím, že *Solanum nigrum* je hyperakumulátorem kadmia. Všechny výše uvedené proměnné určují, zda rostlině zbývá energie na rozvinutí morfologické odpovědi, či jsou podmínky natolik nepříznivé, že svůj růst zcela zastaví. Pokud dojde k morfologické změně kořenového systému, pak byl často podpořen růst kořenů postranních, naopak hlavní kořeny byly častěji v růstu redukovány.

4 Závěr

Kořeny jsou hlavním místem příjmu vody a živin do rostliny a mají tak zásadní vliv na její růst a vývoj. Se zhoršujícím se stavem životního prostředí a rostoucími nutričními nároky zvětšující se populace Země se tato část rostliny dostává do popředí zájmu vědeckého výzkumu. Vědeckých článků věnujícím se kořenovému systému jako celku v reakci na stres je

však stále málo a nemají velkou variabilitu ve výběru modelových organismů - nalézala jsem výsledky převážně jen pro *Arabidopsis thaliana*, *Zea mays* a *Oryza sativa*. Získané výsledky potvrdily, že kořeny rostlin na stresové podmínky reagují spíše přesměrováním růstu než jeho pouhým zastavením. Značně však záleží na síle působícího stresoru, délce jeho působení, stavu vybrané rostliny a dalších proměnných. Regulační pozadí morfologických změn logicky vychází z regulačních mechanismů klasického vývoje, jenž jsem popsala v první části práce.

5 Zdroje

Aida, M., Beis, D., Heidstra, R., Willemsen, V., Blilou, I., Galinha, C., Nussaume, L., Noh, Y.-S., Amasino, R., and Scheres, B. (2004). The PLETHORA genes mediate patterning of the Arabidopsis root stem cell niche. Cell *119*, 109–120.

Aquea, F., Federici, F., Moscoso, C., Vega, A., Jullian, P., Haseloff, J., and Arce-Johnson, P. (2012). A molecular framework for the inhibition of Arabidopsis root growth in response to boron toxicity. Plant Cell Environ. *35*, 719–734.

Bates, T.R., and Lynch, J.P. (1996). Stimulation of root hair elongation in Arabidopsis thaliana by low phosphorus availability. Plant Cell Environ. *19*, 529–538.

Baum, S.F., Karanastasis, L., and Rost, T.L. (1998). Morphogenetic effect of the herbicide Cinch on Arabidopsis thaliana root development. J. Plant Growth Regul. *17*, 107–114.

Bellini, C., Pacurar, D.I., and Perrone, I. (2014). Adventitious Roots and Lateral Roots: Similarities and Differences. Annu. Rev. Plant Biol. *65*, 639–666.

Benková, E., and Bielach, A. (2010). Lateral root organogenesis — from cell to organ. Curr. Opin. Plant Biol. *13*, 677–683.

Benková, E., Michniewicz, M., Sauer, M., Teichmann, T., Seifertová, D., Jürgens, G., and Friml, J. (2003). Local, efflux-dependent auxin gradients as a common module for plant organ formation. Cell *115*, 591–602.

Van den Berg, C., Willemsen, V., Hendriks, G., Weisbeek, P., and Scheres, B. (1997). Short-range control of cell differentiation in the Arabidopsis root meristem. Nature *390*, 287–289.

Bielach, A., Podlešáková, K., Marhavý, P., Duclercq, J., Cuesta, C., Müller, B., Grunewald, W., Tarkowski, P., and Benková, E. (2012). Spatiotemporal Regulation of Lateral Root Organogenesis in Arabidopsis by Cytokinin. Plant Cell *24*, 3967–3981.

Blilou, I., Xu, J., Wildwater, M., Willemsen, V., Paponov, I., Friml, J., Heidstra, R., Aida, M., Palme, K., and Scheres, B. (2005). The PIN auxin efflux facilitator network controls growth and patterning in Arabidopsis roots. Nature *433*, 39–44.

Burssens, S., Himanen, K., van de Cotte, B., Beeckman, T., Van Montagu, M., Inzé, D., and Verbruggen, N. (2000). Expression of cell cycle regulatory genes and morphological alterations in response to salt stress in Arabidopsis thaliana. Planta *211*, 632–640.

Cain, M.L., Subler, S., Evans, J.P., and Fortin, M.J. (1999). Sampling spatial and temporal variation in soil nitrogen availability. Oecologia *118*, 397–404.

Casero, P.J., Casimiro, I., and Lloret, P.G. (1995). Lateral root initiation by asymmetrical transverse divisions of pericycle cells in four plant species: Raphanus sativus, Helianthus annuus, Zea mays, and Daucus carota. Protoplasma *188*, 49–58.

Castro, R.O., Trujillo, M.M., López Bucio, J., Cervantes, C., and Dubrovsky, J. (2007). Effects of dichromate on growth and root system architecture of Arabidopsis thaliana seedlings. Plant Sci. *172*, 684–691.

Celenza, J.L., Grisafi, P.L., and Fink, G.R. (1995). A pathway for lateral root formation in Arabidopsis thaliana. Genes Dev. *9*, 2131–2142.

Cosgrove, D.J. (1993). Water uptake by growing cells: an assessment of the controlling roles of wall relaxation, solute uptake, and hydraulic conductance. Int. J. Plant Sci. 10–21.

Cosgrove, D.J. (1996). Plant cell enlargement and the action of expansins. BioEssays News Rev. Mol. Cell. Dev. Biol. *18*, 533–540.

Cosgrove, D.J. (2000). Loosening of plant cell walls by expansins. Nature *407*, 321–326.

Cosgrove, D.J. (2005). Growth of the plant cell wall. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. *6*, 850–861.

Cramer, G.R., Epstein, E., and Läuchli, A. (1988). Kinetics of Root Elongation of Maize in Response to Short-Term Exposure to NaCl and Elevated Calcium Concentration. J. Exp. Bot. *39*, 1513–1522.

Croser, C., Renault, S., Franklin, J., and Zwiazek, J. (2001). The effect of salinity on the emergence and seedling growth of Picea mariana, Picea glauca, and Pinus banksiana. Environ. Pollut. *115*, 9–16.

Dang, Y.P., Routley, R., McDonald, M., Dalal, R.C., Singh, D.K., Orange, D., and Mann, M. (2006). Subsoil constraints in Vertosols: crop water use, nutrient concentration, and grain yields of bread wheat, durum wheat, barley, chickpea, and canola. Aust. J. Agric. Res. *57*, 983–998.

Deak, K.I., and Malamy, J. (2005). Osmotic regulation of root system architecture. Plant J. *43*, 17–28.

Devienne-Barret, F., Richard-Molard, C., Chelle, M., Maury, O., and Ney, B. (2006). Ara-Rhizotron: An Effective Culture System to Study Simultaneously Root and Shoot Development of Arabidopsis. Plant Soil *280*, 253–266.

DiDonato, R.J., Arbuckle, E., Buker, S., Sheets, J., Tobar, J., Totong, R., Grisafi, P., Fink, G.R., and Celenza, J.L. (2004). Arabidopsis ALF4 encodes a nuclear-localized protein required for lateral root formation: Lateral root formation in Arabidopsis. Plant J. *37*, 340–353.

Dubrovsky, J.G., Gambetta, G.A., Hernández-Barrera, A., Shishkova, S., and González, I. (2006). Lateral Root Initiation in Arabidopsis: Developmental Window, Spatial Patterning, Density and Predictability. Ann. Bot. *97*, 903–915.

Dubrovsky, J.G., Sauer, M., Napsucialy-Mendivil, S., Ivanchenko, M.G., Friml, J., Shishkova, S., Celenza, J., and Benková, E. (2008). Auxin acts as a local morphogenetic trigger to specify lateral root founder cells. Proc. Natl. Acad. Sci. *105*, 8790–8794.

Dubrovsky, J.G., Napsucialy-Mendivil, S., Duclercq, J., Cheng, Y., Shishkova, S., Ivanchenko, M.G., Friml, J., Murphy, A.S., and Benková, E. (2011). Auxin minimum defines a developmental window for lateral root initiation. New Phytol. *191*, 970–983.

Epstein, E., and Bloom, A.J. (2005). Mineral nutrition of plants: principles and perspectives (Sunderland, Mass: Sinauer Assoc).

Farley, R.A., and Fitter, A.H. (1999). Temporal and spatial variation in soil resources in a deciduous woodland. J. Ecol. *87*, 688–696.

Feigl, G., Kumar, D., Lehotai, N., Tugyi, N., Molnár, Á., Ördög, A., Szepesi, Á., Gémes, K., Laskay, G., Erdei, L., *et al.* (2013). Physiological and morphological responses of the root system of Indian

mustard (Brassica juncea L. Czern.) and rapeseed (Brassica napus L.) to copper stress. Ecotoxicol. Environ. Saf. *94*, 179–189.

Fitter, A.H. (1987). An Architectural Approach to the Comparative Ecology of Plant Root Systems. New Phytol. *106*, 61–77.

Fitter, A., Williamson, L., Linkohr, B., and Leyser, O. (2002). Root system architecture determines fitness in an Arabidopsis mutant in competition for immobile phosphate ions but not for nitrate ions. Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci. *269*, 2017–2022.

Friml, J. (2003). Auxin transport — shaping the plant. Curr. Opin. Plant Biol. *6*, 7–12.

Fry, S.C. (1998). Oxidative scission of plant cell wall polysaccharides by ascorbate-induced hydroxyl radicals. Biochem. J. *332 (Pt 2)*, 507–515.

Fry, S.C., Aldington, S., Hetherington, P.R., and Aitken, J. (1993). Oligosaccharides as signals and substrates in the plant cell wall. Plant Physiol. *103*, 1–5.

Fusconi, A., Gnavi, E., Trotta, A., and Berta, G. (1999). Apical meristems of tomato roots and their modifications induced by arbuscular mycorrhizal and soilborne pathogenic fungi. New Phytol. *142*, 505–516.

Galinha, C., Hofhuis, H., Luijten, M., Willemsen, V., Blilou, I., Heidstra, R., and Scheres, B. (2007). PLETHORA proteins as dose-dependent master regulators of Arabidopsis root development. Nature *449*, 1053–1057.

Galun, E. (2007). Plant patterning: structural and molecular genetic aspects (Hackensack, NJ: World Scientific).

Haecker, A. (2004). Expression dynamics of WOX genes mark cell fate decisions during early embryonic patterning in Arabidopsis thaliana. Development *131*, 657–668.

Hartmann, H.T., and Kester, D.E. (1968). Plant Propagation: Principles and Practices. 702 pp.

Hirt, H. (2009). Plant stress biology: from genomics to systems biology (Weinheim: Wiley-Blackwell, Wiley-VCH).

Hohl, M., Greiner, H., and Schopfer, P. (1995). The cryptic-growth response of maize coleoptiles and its relationship to H2O2-dependent cell wall stiffening. Physiol. Plant. *94*, 491–498.

Jiang, K. (2003). Quiescent center formation in maize roots is associated with an auxin-regulated oxidizing environment. Development *130*, 1429–1438.

Jiang, W., Liu, D., and Liu, X. (2001). Effects of copper on root growth, cell division, and nucleolus of Zea mays. Biol. Plant. *44*, 105–109.

Kahle, H. (1993). Response of roots of trees to heavy metals. Environ. Exp. Bot. *33*, 99–119.

Kamiya, N., Nagasaki, H., Morikami, A., Sato, Y., and Matsuoka, M. (2003). Isolation and characterization of a rice WUSCHEL-type homeobox gene that is specifically expressed in the central cells of a quiescent center in the root apical meristem. Plant J. *35*, 429–441.

de Klerk, G.-J., van der Krieken, W., and de Jong, J.C. (1999). Review the formation of adventitious roots: new concepts, new possibilities. Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant *35*, 189–199.

Kolbert, Z., Pető, A., Lehotai, N., Feigl, G., and Erdei, L. (2012). Long-term copper (Cu2+) exposure impacts on auxin, nitric oxide (NO) metabolism and morphology of Arabidopsis thaliana L. Plant Growth Regul. *68*, 151–159.

Lambrechts, T., Lequeue, G., Lobet, G., Godin, B., Bielders, C.L., and Lutts, S. (2014). Comparative analysis of Cd and Zn impacts on root distribution and morphology of Lolium perenne and Trifolium repens: implications for phytostabilization. Plant Soil *376*, 229–244.

Lee, Y., Lee, W.S., and Kim, S.-H. (2013). Hormonal regulation of stem cell maintenance in roots. J. Exp. Bot. *64*, 1153–1165.

Lequeux, H., Hermans, C., Lutts, S., and Verbruggen, N. (2010). Response to copper excess in Arabidopsis thaliana: Impact on the root system architecture, hormone distribution, lignin accumulation and mineral profile. Plant Physiol. Biochem. *48*, 673–682.

Li, Z., Xu, C., Li, K., Yan, S., Qu, X., and Zhang, J. (2012). Phosphate starvation of maize inhibits lateral root formation and alters gene expression in the lateral root primordium zone. BMC Plant Biol. *12*, 89.

Lichtenthaler, H.K. (1998). The stress concept in plants: an introduction. Ann. N. Y. Acad. Sci. *851*, 187–198.

Linkohr, Williamson, L.C., Fitter, A.H., and Leyser, H.M.O. (2002). Nitrate and phosphate availability and distribution have different effects on root system architecture of Arabidopsis. Plant J. *29*, 751–760.

Ljung, K., Hull, A.K., Celenza, J., Yamada, M., Estelle, M., Normanly, J., and Sandberg, G. (2005). Sites and Regulation of Auxin Biosynthesis in Arabidopsis Roots. Plant Cell Online *17*, 1090–1104.

López-Bucio, J., Hernández-Abreu, E., Sánchez-Calderón, L., Nieto-Jacobo, M.F., Simpson, J., and Herrera-Estrella, L. (2002). Phosphate Availability Alters Architecture and Causes Changes in Hormone Sensitivity in the Arabidopsis Root System. Plant Physiol. *129*, 244–256.

López-Bucio, J., Cruz-Ramírez, A., and Herrera-Estrella, L. (2003). The role of nutrient availability in regulating root architecture. Curr. Opin. Plant Biol. *6*, 280–287.

Lynch, J.P. (2013). Steep, cheap and deep: an ideotype to optimize water and N acquisition by maize root systems. Ann. Bot. *112*, 347–357.

Malamy, J.E. (2005). Intrinsic and environmental response pathways that regulate root system architecture. Plant Cell Environ. *28*, 67–77.

Malamy, J.E., and Benfey, P.N. (1997). Organization and cell differentiation in lateral roots of Arabidopsis thaliana. Development *124*, 33–44.

Mallory, T.E., Chiang, S.-H., Cutter, E.G., and Gifford, E.M. (1970). Sequence and Pattern of Lateral Root Formation in Five Selected Species. Am. J. Bot. *57*, 800.

Mamo, T., Richter, C., and Heiligtag, B. (1996). Salinity Effects on the Growth and Ion Contents of Some Chickpea (Cicer arietinum L.) and Lentil (Lens culinaris Medic.) Varieties. J. Agron. Crop Sci. *176*, 235–247.

Marschner, H. (1995). Mineral nutrition of higher plants (London: Acad. Press).

McQueen-Mason, S., Durachko, D.M., and Cosgrove, D.J. (1992). Two endogenous proteins that induce cell wall extension in plants. Plant Cell *4*, 1425–1433.

Meng, Y., Huang, F., Shi, Q., Cao, J., Chen, D., Zhang, J., Ni, J., Wu, P., and Chen, M. (2009). Genome-wide survey of rice microRNAs and microRNA–target pairs in the root of a novel auxin-resistant mutant. Planta *230*, 883–898.

Mollier, A., and Pellerin, S. (1999). Maize root system growth and development as influenced by phosphorus deficiency. J. Exp. Bot. *50*, 487–497.

Moody, P., Aitken, R., Yo, S., Edwards, D., and Bell, L. (1995). Effect of banded fertilizers on soil solution composition and short-term root-growth .1. Ammonium-sulfate, ammonium-nitrate, potassium-nitrate and calcium nitrate. Soil Res. *33*, 673–687.

Moreno-Risueno, M.A., Van Norman, J.M., Moreno, A., Zhang, J., Ahnert, S.E., and Benfey, P.N. (2010). Oscillating Gene Expression Determines Competence for Periodic Arabidopsis Root Branching. Science *329*, 1306–1311.

Munns, R., and Tester, M. (2008). Mechanisms of Salinity Tolerance. Annu. Rev. Plant Biol. *59*, 651–681.

Na, L., Li, Z., Xiangxiang, M., Ara, N., Jinghua, Y., and Mingfang, Z. (2014). Effect of Nitrate/Ammonium Ratios on Growth, Root Morphology and Nutrient Elements Uptake of Watermelon (Citrullus Lanatus) Seedlings. J. Plant Nutr. *37*, 1859–1872.

Nakajima, K., Sena, G., Nawy, T., and Benfey, P.N. (2001). Intercellular movement of the putative transcription factor SHR in root patterning. Nature *413*, 307–311.

Nishitani, K. (1997). The Role of Endoxyloglucan Transferase in the Organization of Plant Cell Walls. In International Review of Cytology, (Elsevier), pp. 157–206.

Norman, J.M.V., Xuan, W., Beeckman, T., and Benfey, P.N. (2013). To branch or not to branch: the role of pre-patterning in lateral root formation. Development *140*, 4301–4310.

Pérez-Torres, C.-A., López-Bucio, J., Cruz-Ramírez, A., Ibarra-Laclette, E., Dharmasiri, S., Estelle, M., and Herrera-Estrella, L. (2008). Phosphate Availability Alters Lateral Root Development in Arabidopsis by Modulating Auxin Sensitivity via a Mechanism Involving the TIR1 Auxin Receptor. Plant Cell Online *20*, 3258–3272.

Potters, G., Pasternak, T.P., Guisez, Y., Palme, K.J., and Jansen, M.A.K. (2007). Stress-induced morphogenic responses: growing out of trouble? Trends Plant Sci. *12*, 98–105.

Pritchard, J., Tomos, A.D., and Jones, R.G.W. (1987). Control of Wheat Root Elongation Growth I. Effects of ions on growth rate, wall rheology and cell water relations. J. Exp. Bot. *38*, 948–959.

Procházka, S. (1998). Fyziologie rostlin (Praha: Academia).

Rayle, D.L., and Cleland, R. (1970). Enhancement of Wall Loosening and Elongation by Acid Solutions. Plant Physiol. *46*, 250–253.

Reisenauer, H.M. (1966). Mineral nutrients in soil solution. Environ. Biol. 507–508.

Roberts, A.H.C., Longhurst, R.D., and Brown, M.W. (1994). Cadmium status of soils, plants, and grazing animals in New Zealand. N. Z. J. Agric. Res. *37*, 119–129.

De Rybel, B., Vassileva, V., Parizot, B., Demeulenaere, M., Grunewald, W., Audenaert, D., Van Campenhout, J., Overvoorde, P., Jansen, L., Vanneste, S., *et al.* (2010). A Novel Aux/IAA28 Signaling Cascade Activates GATA23-Dependent Specification of Lateral Root Founder Cell Identity. Curr. Biol. *20*, 1697–1706.

Sabatini, S., Beis, D., Wolkenfelt, H., Murfett, J., Guilfoyle, T., Malamy, J., Benfey, P., Leyser, O., Bechtold, N., Weisbeek, P., *et al.* (1999). An auxin-dependent distal organizer of pattern and polarity in the Arabidopsis root. Cell *99*, 463–472.

Sabatini, S., Heidstra, R., Wildwater, M., and Scheres, B. (2003). SCARECROW is involved in positioning the stem cell niche in the Arabidopsis root meristem. Genes Dev. *17*, 354–358.

Saco, D., Martín, S., and José, P.S. (2013). Vanadium distribution in roots and leaves of Phaseolus vulgaris: morphological and ultrastructural effects. Biol. Plant. *57*, 128–132.

Sanchez-Calderon, L. (2005). Phosphate Starvation Induces a Determinate Developmental Program in the Roots of Arabidopsis thaliana. Plant Cell Physiol. *46*, 174–184.

Sarkar, A.K., Luijten, M., Miyashima, S., Lenhard, M., Hashimoto, T., Nakajima, K., Scheres, B., Heidstra, R., and Laux, T. (2007). Conserved factors regulate signalling in Arabidopsis thaliana shoot and root stem cell organizers. Nature *446*, 811–814.

Scheres, B., Wolkenfelt, H., Willemsen, V., Terlouw, M., Lawson, E., Dean, C., and Weisbeek, P. (1994). Embryonic origin of the Arabidopsis primary root and root meristem initials. Development *120*, 2475–2487.

Schopfer, P. (2001). Hydroxyl radical-induced cell-wall loosening in vitro and in vivo: implications for the control of elongation growth. Plant J. Cell Mol. Biol. *28*, 679–688.

Sharp, R.E., Silk, W.K., and Hsiao, T.C. (1988). Growth of the Maize Primary Root at Low Water Potentials I. Spatial Distribution of Expansive Growth. Plant Physiol. *87*, 50–57.

Shishkova, S., Rost, T.L., and Dubrovsky, J.G. (2008). Determinate Root Growth and Meristem Maintenance in Angiosperms. Ann. Bot. *101*, 319–319.

De Smet, I. (2012). Lateral root initiation: one step at a time. New Phytol. *193*, 867–873.

De Smet, I., Tetsumura, T., Rybel, B.D., Frey, N.F. dit, Laplaze, L., Casimiro, I., Swarup, R., Naudts, M., Vanneste, S., Audenaert, D., *et al.* (2007). Auxin-dependent regulation of lateral root positioning in the basal meristem of Arabidopsis. Development *134*, 681–690.

De Smet, I., Vassileva, V., De Rybel, B., Levesque, M.P., Grunewald, W., Van Damme, D., Van Noorden, G., Naudts, M., Van Isterdael, G., De Clercq, R., *et al.* (2008). Receptor-Like Kinase ACR4 Restricts Formative Cell Divisions in the Arabidopsis Root. Science *322*, 594–597.

De Smet, I., Lau, S., Voss, U., Vanneste, S., Benjamins, R., Rademacher, E.H., Schlereth, A., De Rybel, B., Vassileva, V., Grunewald, W., *et al.* (2010). Bimodular auxin response controls organogenesis in Arabidopsis. Proc. Natl. Acad. Sci. *107*, 2705–2710.

Smith, S.N. (1934). Response of inbred lines and crosses in maize to variations of nitrogen and phosphorus supplied as nutrients. J Amer Soc Agron *26*, 785–804.

Smith, R.C., and Fry, S.C. (1991). Endotransglycosylation of xyloglucans in plant cell suspension cultures. Biochem J *279*, 529–535.

Smith, S., and De Smet, I. (2012). Root system architecture: insights from Arabidopsis and cereal crops. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. *367*, 1441–1452.

Sun, H., Tao, J., Liu, S., Huang, S., Chen, S., Xie, X., Yoneyama, K., Zhang, Y., and Xu, G. (2014). Strigolactones are involved in phosphate- and nitrate-deficiency-induced root development and auxin transport in rice. J. Exp. Bot. *65*, 6735–6746.

Swarup, R., Perry, P., Hagenbeek, D., Straeten, D.V.D., Beemster, G.T.S., Sandberg, G., Bhalerao, R., Ljung, K., and Bennett, M.J. (2007). Ethylene Upregulates Auxin Biosynthesis in Arabidopsis Seedlings to Enhance Inhibition of Root Cell Elongation. Plant Cell *19*, 2186–2196.

Taiz, L., and Zeiger, E. (2002). Plant physiology (Sunderland, Mass: Sinauer Associates).

Trubat, R., Cortina, J., and Vilagrosa, A. (2012). Root architecture and hydraulic conductance in nutrient deprived Pistacia lentiscus L. seedlings. Oecologia 170, 899–908.

US Salinity Laboratory : Research Databases. ARS [online]. 2015 [cit. 2015-08-11]. Dostupné z: http://www.ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=8908

De Tullio, M.C., Jiang, K., and Feldman, L.J. (2010). Redox regulation of root apical meristem organization: Connecting root development to its environment. Plant Physiol. Biochem. 48, 328–336.

Vernoux, T., and Benfey, P.N. (2005). Signals that regulate stem cell activity during plant development. Curr. Opin. Genet. Dev. *15*, 388–394.

Waisel, Y., Eshel, A., and Kafkafi, U. (2002). Plant roots: the hidden half (New York: M. Dekker).

Wang, Y., Mi, G., Chen, F., Zhang, J., and Zhang, F. (2004). Response of Root Morphology to Nitrate Supply and its Contribution to Nitrogen Accumulation in Maize. J. Plant Nutr. *27*, 2189–2202.

Wang, Y., Li, K., and Li, X. (2009). Auxin redistribution modulates plastic development of root system architecture under salt stress in Arabidopsis thaliana. J. Plant Physiol. *166*, 1637–1645.

Williamson, L.C., Ribrioux, S.P.C.P., Fitter, A.H., and Leyser, H.M.O. (2001). Phosphate Availability Regulates Root System Architecture in Arabidopsis. Plant Physiol. *126*, 875–882.

Wu, C., Wei, X., Sun, H.-L., and Wang, Z.-Q. (2005). Phosphate Availability Alters Lateral Root Anatomy and Root Architecture ofFraxinus mandshuricaRupr. Seedlings. J. Integr. Plant Biol. *47*, 292–301.

Xu, J., Wang, W., Sun, J., Zhang, Y., Ge, Q., Du, L., Yin, H., and Liu, X. (2011a). Involvement of auxin and nitric oxide in plant Cd-stress responses. Plant Soil *346*, 107–119.

Xu, S., Zhang, B., Cao, Z.-Y., Ling, T.-F., and Shen, W.-B. (2011b). Heme oxygenase is involved in cobalt chloride-induced lateral root development in tomato. BioMetals *24*, 181–191.

Yuan, J., Chen, D., Ren, Y., Zhang, X., and Zhao, J. (2008). Characteristic and Expression Analysis of a Metallothionein Gene, OsMT2b, Down-Regulated by Cytokinin Suggests Functions in Root Development and Seed Embryo Germination of Rice. PLANT Physiol. *146*, 1637–1650.

Zhang, H., and Forde, B.G. (1998). An Arabidopsis MADS box gene that controls nutrient-induced changes in root architecture. Science *279*, 407–409.

Zhang, H., Jennings, A., Barlow, P.W., and Forde, B.G. (1999). Dual pathways for regulation of root branching by nitrate. Proc. Natl. Acad. Sci. *96*, 6529–6534.

Zhao, Y., Hu, Y., Dai, M., Huang, L., and Zhou, D.-X. (2009). The WUSCHEL-Related Homeobox Gene WOX11 Is Required to Activate Shoot-Borne Crown Root Development in Rice. PLANT CELL ONLINE *21*, 736–748.

Zhi-Guo, E., Lei, G., and Wang, L. (2012). Molecular mechanism of adventitious root formation in rice. Plant Growth Regul. *68*, 325–331.

Zolla, G., Heimer, Y.M., and Barak, S. (2010). Mild salinity stimulates a stress-induced morphogenic response in Arabidopsis thaliana roots. J. Exp. Bot. *61*, 211–224.