

2024

Ústav výzkumu globální změny AV ČR, v. v. i.



CERTIFIKOVANÁ METODIKA



Vyhodnocení architektury kořenového systému a osmotického přizpůsobení u ječmene

Karel Klem, Hana Findurová, Otmar Urban, Petr Holub

Ústav výzkumu globální změny AV ČR, v. v. i., Bělidla 986/4a, 603 00 Brno

Dedikace:

Metodika je výsledkem řešení výzkumného projektu NAZV č. QK1910197 „Strategie minimalizace dopadu sucha na udržitelnou produkci a sladovnickou kvalitu ječmene“

Oponenti:**Ing. Olga Dvořáčková**

Oddělení zkoušek užitné hodnoty

Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský

Hroznová 63/2, Pisárky, 603 00 Brno

Mgr. Pavel Matušinský, Ph.D.

Katedra botaniky

Přírodovědecká fakulta

Univerzita Palackého v Olomouci

17. listopadu 1192/12

779 00 Olomouc

Metodika byla certifikována Ústředním kontrolním a zkušebním ústavem zemědělským (ÚKZÚZ), pod osvědčením: UKZUZ 045903/2024

ISBN: 978-80-87902-40-0

Abstrakt

Tolerance vůči suchu, založená na zlepšení architektury kořenového systému, zejména pak na zvýšení hloubky zakořenění, zvýšení hustoty kořenů ve větší hloubce, nebo na schopnosti osmotického přizpůsobení, představuje jeden z nejefektivnějších způsobů adaptace k suchu, zejména pak v podmínkách, kde v období sucha zůstává dostatek vody v hlubších vrstvách půdy. Osmotické přizpůsobení navíc představuje znak, který umožňuje rostlinám příjem vody i při její omezené dostupnosti, včetně snížené dostupnosti v hlubších vrstvách půdy. Na druhou stranu se ovšem jedná o znaky, které jsou velmi obtížně vyhodnotitelné, vzhledem k jejich skrytému charakteru nebo nutnosti pracného odkrývání kořenů rostoucích v půdě. To je také důvod, proč jsou tyto znaky i přes jejich značný význam dlouhodobě přehlíženy. Šlechtění na tyto znaky probíhá fakticky pouze nepřímo pomocí vyhodnocení výnosové reakce na suchu, nebo nepřímých fyziologických či morfologických parametrů.

V této metodice jsou představeny tři metody vyhodnocení architektury kořenového systému nebo osmotického přizpůsobení, které umožňují provedení selekce na zvolené znaky kořenového systému či osmotického přizpůsobení u velkého počtu genotypů s využitím relativně jednoduché metody založené na kultivaci kořenů na černém filtračním papíru ať již hydroponicky nebo aeroponicky. Tato metoda umožňuje podrobnou analýzu parametrů architektury kořenového systému, které jsou důležité pro toleranci k suchu a rovněž také relativně snadný test osmotického přizpůsobení pomocí indukce osmotického stresu roztokem polyethylen-glykolu (PEG). Obě metody byly úspěšně validovány, v prvním případě na modelovém experimentu s deficitem živin, u kterého je známý vliv na architekturu kořenového systému, a v druhém případě na souboru genetických zdrojů a odrůd ječmene, v němž byly potvrzeny dříve získané informace o toleranci některých genotypů k suchu.

Další z prezentovaných metod je kultivace kořenů v rhizoboxech naplněných pískem se sítí hrotů, které udržují kořeny při vymývání v poloze, v jakých kořeny rostly. Tato metoda umožňuje opět posouzení architektury kořenového systému, nicméně v tomto případě v podmínkách, které lépe odpovídají reálné situaci v půdě. Validace metody proběhla u tří genotypů ječmene s kontrastní mohutností kořenového systému. Použitá metoda prokázala nejen předpokládané rozdíly v hloubce zakořenění a distribuci hustoty kořenů, ale rovněž prokázala vztah k fyziologické odezvě na sníženou dostupnost vody v podobě rychlosti fotosyntetické asimilace CO₂.

Všechny předkládané metody proto představují vhodný nástroj, který by měl pomoci šlechtitelům v selekci genotypů ječmene tolerantních k suchu.

Klíčová slova: jarní ječmen; *Hordeum vulgare*; sucho; odolnost k suchu; architektura kořenového systému; fenotypování kořenů; osmotické přizpůsobení; fyziologie rostlin.

Abstract

Drought tolerance based on improving root system architecture, in particular by increasing rooting depth, increasing root density at deeper layers, or osmotic adjustment, is one of the most effective ways of adapting to drought, especially in conditions where sufficient water remains in the deeper soil layers during the dry season. Moreover, osmotic adjustment is a trait that allows plants to take up water even when water availability is limited, including the deeper soil layers. On the other hand, however, these are traits that are very difficult to evaluate, given their hidden nature or the need to laboriously excavate roots growing in the soil. This is also the reason why, despite their considerable importance, these features have long been overlooked. Breeding for these traits is done only indirectly by evaluating yield response to drought or indirect physiological or morphological parameters.

In this methodology, three methods for evaluating root system architecture or osmotic adjustment are presented which allow selection for specific root system architecture traits or osmotic adjustment, to be carried out on a large number of genotypes, using a relatively simple method based on the cultivation of roots on black filter paper, either hydroponically or aeroponically. This method allows a detailed analysis of root system architecture parameters that are important for drought tolerance and also a relatively easy test of osmotic adjustment by inducing osmotic stress with polyethylene glycol (PEG) solution. Both methods have been successfully validated, in the first case in a model experiment with nutrient deficiency, in which the effect on root system architecture is confounded, and in the second case in a set of barley genetic resources and varieties in which previously obtained information on drought tolerance of some genotypes was confirmed.

Another of the methods presented is the cultivation of roots in rhizoboxes filled with sand with a grid of spikes that hold the roots in the position in which they grew when washed. This method again allows the root system architecture to be assessed, but in this case under conditions that more closely match real soil conditions. The method was validated in three barley genotypes with contrasting root system vigor. The method used not only demonstrated the expected differences in rooting depth and root density distribution but also showed a relationship to the physiological response to reduced water availability in terms of photosynthetic CO₂ assimilation rate.

Therefore, all the methods presented here are suitable tools to help breeders in the selection of drought-tolerant barley genotypes.

Keywords: spring barley; *Hordeum vulgare*; drought; drought tolerance; root system architecture; root phenotyping; osmotic adjustment; plant physiology.

Obsah

1	Cíle metodiky	6
2	Vlastní popis metodiky	6
2.1	Kořenový systém rostlin	6
2.2	Kořenový systém ječmene	9
2.2.1	Architektura kořenového systému pro zvýšení odběru vody z půdy	11
2.2.2	Růst a rozložení kořenového systému za sucha	13
2.2.3	Architektura kořenového systému pro podmínky se zásobou vody ve větších hloubkách	15
2.2.4	Zvětšená hloubka kořenového systému	17
2.2.5	Zvýšená hustota kořenů v hlubších vrstvách půdy a snížená hustota kořenů v povrchových vrstvách	18
2.2.6	Snížení hydraulického odporu při pohybu vody z půdy ke kořenům prostřednictvím zvýšeného růstu kořenového vlášení a většího průměru xylemu	20
2.2.7	Využitelnost znaků architektury kořenového systému	21
2.3	Metody fenotypování kořenů	22
2.4	Osmotické přizpůsobení	26
2.5	Vyhodnocení architektury kořenů u ječmene pomocí 2D fenotypovacího systému – vliv genotypu a výživy	29
2.5.1	Vlastní metodika experimentu	29
2.5.2	Výsledky vyhodnocení architektury kořenového systému	32
2.6	Vyhodnocení osmotického přizpůsobení u genotypů ječmene	36
2.6.1	Vlastní metodika experimentu	36
2.6.2	Výsledky měření osmotického přizpůsobení	38
2.7	Vyhodnocení vztahu mezi parametry kořenového systému a tolerancí k suchu	46
2.7.1	Vlastní metodika experimentu	46
2.7.2	Výsledky měření kořenového systému a fyziologických parametrů	48
3	Shrnutí dosažených výsledků a přínosy pro praxi	52
4	Srovnání novosti postupů	53
5	Popis uplatnění metodiky	53
6	Ekonomické aspekty uplatnění metodiky	54
7	Seznam použité související literatury	55
8	Seznam publikací, které předcházely metodice	64

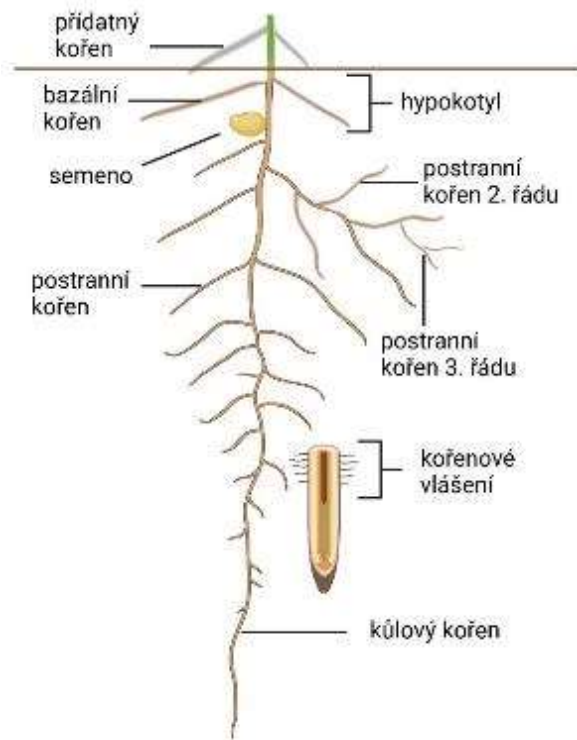
1 Cíle metodiky

Hlavním cílem této metodiky bylo navrhnout postupy usnadňující šlechtitelům selekci genotypů ječmene se zvýšenou tolerancí vůči suchu, založenou na specifických znacích architektury kořenového systému nebo osmotickém přizpůsobení. V případě selekce na znaky architektury kořenového systému byla hlavní pozornost věnována hloubce zakořenění a hustotě kořenového systému ve větších hloubkách. V případě metodiky vyhodnocení osmotického přizpůsobení bylo cílem nejen navrhnout metodu indukce osmotického stresu a vyhodnocení osmotického přizpůsobení, ale rovněž navrhnout postup, jak eliminovat efekt snížení relativního obsahu vody v rostlině na osmotický potenciál. Vedle navržení vlastního metodického postupu bylo cílem metodiky rovněž ověření funkčnosti navržených postupů na modelových experimentech zahrnujících změnu architektury kořenového systému indukovaných deficitem živin a také na souboru genotypů ječmene s kontrastní tolerancí k suchu či s kontrastní mohutností kořenového systému.

2 Vlastní popis metodiky

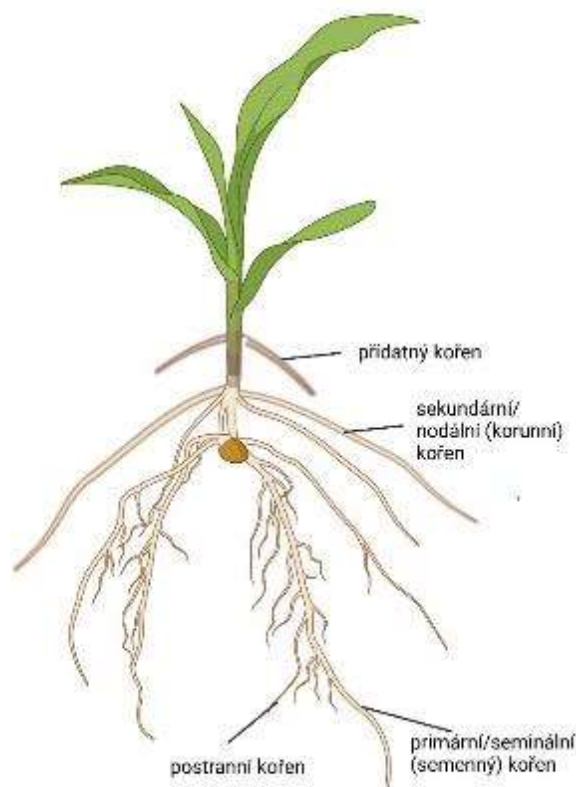
2.1 Kořenový systém rostlin

Suchozemské rostliny vytvářejí mnoho typů kořenů. Pro jednoděložné a dvouděložné rostliny existuje mírně odlišné názvosloví. Jednoděložné a dvouděložné rostliny mají rovněž odlišnou strukturu kořenového systému. Kořenový systém jednoděložných rostlin je svazčitý, zatímco dvouděložné rostliny mají často hlavní kulový kořen. Kořenový systém dvouděložných rostlin se tedy nejčastěji skládá z kulového kořene, bazálních, přídatných a postranních (laterálních) kořenů. První kořen, který vzniká u dvouděložných rostlin, se nazývá kulový kořen. Následující kořenové osy vyrůstají z mesokotyly (část spojující klíčící část/embryo s první nadzemní částí rostliny) nebo hypokotyly a nazývají se bazální kořeny. Kořeny vyrůstající z nadzemních pletiv nad povrchem půdy se nazývají přídatné nebo také adventivní kořeny (u jednoděložných rostlin mají adventivní kořeny mírně odlišný význam a obvykle znamenají nodální kořeny vyrůstající z odnožovacího uzlu pod zemí nebo z nadzemních kolének). Kromě toho z hlavního kulového kořene vyrůstají postranní (laterální) kořeny, z nichž vznikají další postranní kořeny druhého a vyšších řádů (Smith a De Smet, 2012).



Obr. 1 Kořenový systém dvouděložných rostlin s kůlovým kořenem

Svazčitý kořenový systém u jednoděložných rostlin se skládá z primárních (seminálních či semenných), sekundárních (nodálních či adventivních) a postranních (laterálních) kořenů. Seminální kořeny se vyvíjejí z primordií uvnitř semen a sekundární kořeny se vyvíjejí adventivně z dolních uzlin stonku (Maqbool a kol., 2022). Nodální kořeny vyrůstající z kolének nad povrchem půdy mohou být označovány také jako přídavné kořeny (stejně jako u dvouděložných rostlin) a mohou být funkční nebo nefunkční (Thomas a Kaspar, 1997). Funkční nodální kořeny jsou definovány jako kořeny, které vyrostly z nodu stonku, pronikly do půdy a vytvořily postranní kořeny nebo kořenové vlásky. Kořeny, které vyrostly z nadzemních uzlin stonku a nepronikly do půdy ani nevytvořily postranní kořeny, jsou definovány jako nefunkční nodální kořeny.



Obr. 2 Svazčitý kořenový systém jednoděložných rostlin

Počáteční seminální nebo nodální kořeny vytvářejí laterály (postranní kořeny), které jsou klasifikovány jako kořeny prvního řádu. Kořeny, které vznikají z kořenů prvního řádu, jsou klasifikovány jako kořeny druhého řádu a další kořeny, které vyrůstají z těchto laterálů, jsou klasifikovány jako kořeny dalších řádů (Yamauchi a kol., 1987). Nodální kořeny jsou také někdy označovány jako adventivní či korunní kořeny. Kořeny obilovin, jako je rýže, vedle seminálních a nodálních kořenů mohou zahrnovat také kořeny mesokotylové (Yoshida a Hasegawa, 1982). Mesokotylové kořeny vyrůstají z osy mezi obilkou a odnožovacím uzlem a obvykle se vyvíjejí pouze tehdy, když jsou semena zasazena velmi hluboko nebo jsou ošetřena regulátory růstu (Yoshida a Hasegawa, 1982). Semenáčky obilnin se musí spoléhat na seminální kořeny, dokud se nevyvinou adventivní (nodální) kořeny. Protože adventivní kořeny mohou vést více vody než seminální kořeny s menším průměrem, jsou adventivní kořeny pro dobré uchycení semenáčků v podmínkách s nedostatkem vody životně důležité a mohou se začít vyvíjet již 2 týdny po zasetí rostlin. Přežití semenáčků se může zvýšit, pokud jsou semena vyseta do větší hloubky půdy, kde může být stimulován zvýšený vývoj adventivních kořenů (Fageria a kol., 2006).

2.2 Kořenový systém ječmene

Ječmen má svazčitý kořenový systém, který se skládá ze dvou hlavních částí, primárních a sekundárních kořenů. Ty mají různé funkce a různou úlohu v průběhu vývoje rostliny. Primární neboli také seminální či semenné kořeny se objevují jako první po vyklíčení. Pět až sedm primárních kořenů se postupně rozrůstá a větví (vytváří postranní kořeny), ale jejich hlavní růst je dlouhivý a směřuje do větších hloubek. Tyto kořeny tvoří nejhlubší kořenový systém a mohou růst až do hloubky přibližně 2 m, pokud mají k dispozici vhodnou vlhkost a strukturu půdy (Fettell a kol., 2010). Obvykle ovšem nepřesahují hloubku 1,5 m.

Seminální kořeny jsou u obilnin silné 0,2-0,4 mm a v plně vzrostlém porostu zaujímají 5-10 % celkového objemu kořenů. Ze seminálních kořenů se vyvíjejí postranní větve (laterální kořeny) prvního, druhého a třetího řádu (Lucas a kol., 2000).

Rychlost prodlužování kořenů obilnin závisí na teplotě a na jaře dosahuje 15-25 mm za den (Lucas a kol., 2000). Celková délka kořenů jarního ječmene může během 100 dnů po zasetí dosáhnout přes 10 km m⁻² (Lucas a kol., 2000). Hloubka kořenů obilovin dosahuje maximálně 2,0 m, zatímco postranní kořeny mohou sahát až do vzdálenosti 1 m od rostliny (Lucas a kol., 2000). Kromě délky kořenů je pro zachycování živin a vody důležitá také plocha kořenů, která je však výrazně ovlivněna tvarem kořenového systému a podmínkami jeho vývoje. Plocha povrchu kořenů má vysokou pozitivní korelaci s množstvím živin a příjmem vody (Fageria a Moreira, 2011). Různé studie ukazují, že 90-95 % délky kořenů nepoškozené rostliny tvoří kořeny o průměru <0,6 mm (Zobel, 2005).

Ve svrchních 25-50 cm půdy bývá koncentrace minerálních živin nejvyšší, a proto se zde nachází většina kořenové biomasy. Hlubší kořeny nabývají na významu, pokud je omezený přísun vody. Kultivace půdy modifikuje geneticky daný charakter růstu kořenů, například v oblastech s nedostatkem vláhy (na kterékoli úrovni půdního profilu) nebo s rozdílnou dostupností živin (např. způsobené nerovnoměrným rozdělením hnojiv), kde se kořeny vyvíjejí (Lucas a kol., 2000).

Sekundární (nodální či adventivní) kořenový systém se vyvíjí z odnožovacího uzlu rostliny a jeho vývoj úzce souvisí se začátkem odnožování. Sekundární kořeny mohou vyrůstat jak z báze hlavního stébla, tak i jednotlivých odnoží, a jejich vývoj začíná obvykle s dosažením růstové fáze 3. listu ječmene. Sekundární kořeny jsou obvykle silnější než primární kořeny, nejčastěji vyrůstají vodorovně, na první pohled jsou bílé a lesklé, přičemž vyrůstají nejčastěji ve vzdálenosti 20 až 50 mm od povrchu půdy. Pro hlavní stéblo tyto kořeny začínají růst ve fázi

třetího až čtvrtého listu z odnožovacího uzlu, který se nachází nad primárním kořenovým systémem. Růst kořenového systému pokračuje až do fáze kvetení ječmene, přičemž jeho růst probíhá v podstatě paralelně s růstem rostliny a vývojem nových listů. Celková kořenová biomasa se zvětšuje s počtem odnoží a počet kořenů na jednu odnož se vyvíjí s počtem listů. Čím více je na rostlině listů, tím více vytváří kořenů (Bektas a kol., 2016). Struktura kořenového systému může být geneticky ovlivněna, jak ukazují rozdíly mezi odrůdami různého původu (Robinson a kol., 2018). Sekundární kořeny rostou po určitou dobu horizontálně, poté rostou směrem dolů a větví se; to znamená, že ve vrstvách půdy blízko povrchu převládají sekundární kořeny. Růst kořenů se po odkvětu zpomaluje, nicméně pokračuje až do dokončení vývoje zrna, a poté kořeny začnou odumírat. V podmáčených podmínkách čerpají sekundární kořeny rovněž kyslík ze vzduchových prostorů kolem kořenů, pokud však tento stav trvá delší dobu, může dojít k vyčerpání kyslíku a kořeny odumírají (Fettell a kol., 2010). Naopak v suchých podmínkách dochází k potlačení vývoje sekundárních kořenů, což znamená, že rostlina z velké části spoléhá pouze na primární kořeny a tato skutečnost může být limitující při utváření výnosu, zejména z pohledu zajištění dostatku živin.

Svazčitý kořenový systém ječmene vytváří 5-10krát větší povrch než rostliny s křivým kořenovým systémem (Fettell a kol., 2010). To představuje zejména výhodu v méně úrodných půdách, nebo půdách s nízkou vlhkostí, protože tak jsou rostliny schopné přijímat živiny a vláhu z většího objemu půdy. Kořeny jsou navíc pokryty hustým kořenovým vlášením, které výrazně zvětšuje jejich povrch. Po započtení povrchu kořenového vlášení může mít kořenový systém ječmene plochu až ve stovkách metrů čtverečních na jednu rostlinu (Fettell a kol., 2010).

V podmínkách pěstování ječmene v Austrálii (centrální část Nového Jižního Walesu) byla naměřena průměrná rychlost růstu kořenů do hloubky po založení porostu přibližně $1,1 \text{ cm den}^{-1}$, což odpovídá konečné hloubce okolo 1,4 m. Ve fázi dvou listů mají primární kořeny maximální hloubku 25 cm s hojnými nevětvenými postranními kořeny dlouhými 5 až 20 mm (Weaver, 1926). V době, kdy dosahuje rostlina zhruba poloviny výšky (stádium dvou až tří kolének), má 10 až 17 primárních (seminálních) a sekundárních (nodálních) kořenů dosahujících do hloubky 45 až 60 cm. Rostlina ječmene může mít v této fázi okolo 15 postranních (laterálních) kořenů na 25 mm délky primárních kořenů. V této fázi mají mělké kořeny vytvořené postranní kořeny dlouhé 12 až 20 mm. V době zralosti jsou primární kořeny až 1,4 m hluboké a jemně rozvětvené, s šířkou kolem 1 mm (Weaver, 1926). Existuje řada faktorů, které mohou bránit vývoji kořenů do spodních vrstev půdy. Patří mezi ně nedostatek vláhy, chemická omezení, jako je kyselost nebo vysoký obsah hliníku, a fyzikální omezení, jako je

zhutnění. Nedostatek vláhy může být limitující podmínkou pro růst kořenů do hloubky, protože kořeny nemohou prorůst suchou půdou, i když se vlhkost nachází hlouběji v půdním profilu. Na druhou stranu, mírné snížení dostupnosti vody obvykle stimuluje dlouhivý růst kořenů a kořeny tak pronikají do větších hloubek. V situacích značně proschlé půdy, kdy kořeny nemohou proniknout do hlubších vrstev půdy, mohou rostliny ječmene vývoj kořenového systému do jisté míry kompenzovat větším rozšířením kořenů v povrchové vrstvě půdy. Mírně vlhká půda umožňuje lepší pronikání kořenového systému, takže při zavlažování jsou kořeny schopny růst hlouběji za předpokladu, že neexistují omezení v podorničí (Fettell a kol., 2010). Rostliny, u nichž se vytvoří méně hlubokých kořenů, jsou po odkvětu více závislé na srážkách během vegetace, protože vlhkost uloženou v hloubce nedokážou účinně využívat. Kořeny se hojně rozvětvují v okolí dostatku vláhy a zdrojů živin, zejména fosforu (Fettell a kol., 2010).

2.2.1 Architektura kořenového systému pro zvýšení odběru vody z půdy

Objem vody, který lze z půdního profilu získat, závisí na rozložení kořenů v profilu a na rozdílu mezi polní kapacitou a bodem trvalého vadnutí (Ehlers a Goss, 2016). Proto je architektura kořenového systému, která je definována jako prostorová konfigurace kořenového systému (Lynch, 1995), důležitým faktorem určujícím schopnost rostliny odebírat vodu (López-Bucio a kol., 2003). Architektura kořenového systému proto může být důležitá pro toleranci vůči suchu (Henry a kol., 2012). Vertikální struktura rozložení kořenů má výhody v hluboké půdě, která může rostlinám umožnit přístup k vodě uložené v hlubších vrstvách půdy (Singh a kol., 2010), zatímco horizontální rozložení kořenů může být užitečné při pěstování v širokých řádcích, kdy horizontální rozložení umožňuje rostlinám přístup ke zbyvající vodě a živinám v meziřádcích (Whish a kol., 2005; Singh a kol., 2010).

Jedním z hlavních parametrů určujících architekturu kořenového systému u obilnin je úhel seminálních kořenů. Ve studii genotypové variability růstového úhlu a počtu seminálních kořenů mezi 30 genotypy pšenice Manschadi a kol. (2006) zjistili, že odrůdy pšenice pěstované v podmínkách s pravidelnými nízkými srážkami mají tendenci mít široký kořenový úhel (velký úhel vůči vertikální ose), zatímco genotypy odolné vůči suchu v oblastech s převahou srážek v zimním období a následným čerpáním vody z hlubších vrstev půdy vykazují užší úhlové rozložení seminálních kořenů. Podobně Oyanagi a kol. (1993) uvádí, že japonské odrůdy ozimé pšenice, které upřednostňují vlhčí prostředí, vykazují zvýšený horizontální růst seminálních kořenů a nejvyšší hustotu kořenů pod povrchem půdy, zatímco genotypy adaptované na sušší prostředí mají úzký úhel seminálních kořenů a následně hlubší kořenový systém.

Kromě úhlu růstu sekundárních (nodálních) kořenů může mít na stupeň adaptace na stres suchem vliv také počet seminálních kořenů. Seminální kořeny mají tendenci růst v hlubších půdních horizontech, a mohou proto významně přispívat k příjmu vody z podloží (Watt a kol., 2008). Větší počet seminálních kořenů tak může vést k intenzivnějšímu větvení kořenů a hustotě kořenů ve větších hloubkách, což podstatně zvyšuje schopnost kořenového systému účinněji využívat vodu z těchto hloubek. Takovéto genotypy mohou být lépe přizpůsobeny prostředí, kde jsou rostliny z velké části závislé na vodě v hlubších vrstvách půdy, pokud se u nich projevuje vysoký počet seminálních kořenů v kombinaci s úzkým růstovým úhlem (Eshel a Beekman, 2013).

V rámci architektury kořenového systému Manschadi a kol. (2006) identifikovali, že pro účinnost kořenového systému z pohledu příjmu vody jsou důležité dva klíčové parametry. Jedná se o delší kořeny a větší hustotu kořenů v hlubších vrstvách půdy, což má za následek zvýšenou rychlost odběru vody. Obecně platí, že hluboké (Ehlers a Goss, 2016), více rozvětvené, kompaktní a rovnoměrné (Manschadi a kol., 2006) kořenové systémy poskytují lepší adaptaci na sucho tím, že zvyšují příjem vody. U dřevin umožňují kořeny s malým průměrem a větší specifickou délkou kořenů (SRL; délka kořenů na jednotku sušiny) rostlinám účinně zvýšit hydraulickou vodivost zvětšením plochy kořenů, která je v kontaktu s půdní vodou, zvětšením objemu půdy, který může být využit pro odběr vody, a také zvýšením hydraulické vodivosti kořenů snížením apoplastické bariéry vody vstupující do xylému (Hernández a kol., 2010; Comas a kol., 2012). V souladu s tím bylo snížení průměru kořenů navrženo jako znak pro zvýšení schopnosti rostlin získávat vodu a dosahovat vysoké produktivity za sucha (Wasson a kol., 2012). Kromě morfologických znaků kořenů, které ovlivňují získávání vody a živin prostřednictvím délky a plochy kořenů, ovlivňuje morfologie kořenů získávání zdrojů také tím, že ovlivňuje rychlost růstu kořenů, přičemž jemnější kořeny jsou spojeny s rychlejším růstem (Robinson a kol., 1991). U dřevin i bylin adaptovaných na suché podmínky bylo zjištěno, že tyto rostliny mají více jemných kořenů s menším průměrem a větší specifickou plochou kořenů (Henry a kol., 2012). Kořenové vlášení vytvářené u mnoha druhů rostlin může také výrazně zvětšovat povrch kořenů a je obzvláště efektivní při snížení dostupnosti vody a živin v půdě (Bates a Lynch, 2001). Bylo ale rovněž zjištěno, že například kořenové vlášení u rýže je důležitější pro příjem živin, zatímco jeho význam pro příjem vody je malý (Suzuki a kol., 2003). Zvětšení povrchu kořenů prostřednictvím kořenového vlášení však může kompenzovat pokles prodloužení kořenů, ke kterému dochází v extrémně suchých půdách (Mackay a Barber, 1985). Kořenové vlášení může také podporovat kontakt kořenů s

půdními částicemi při vysychání půdy a mohou tak napomáhat kořenům při získávání půdní vody (Wasson a kol., 2012). Kromě toho může zvýšený výskyt a vodivost akvaporinů, které regulují průchodnost kořene při příjmu vody, zvýšit hydraulickou vodivost kořenů (vodivost na délku kořene), aby se pokryla potřeba nadzemních částí rostlin a kompenzovala se snížená plocha kořenů (Laur a Hacke, 2013). Průměr kořenů související s průměrem xylému také ovlivňuje hydraulickou vodivost kořenů a může mít vliv na produktivitu rostlin za sucha (Tyree a kol., 1994). Tento výzkum do jisté míry podporuje zobecnění, že rostliny s velkým průměrem xylémových cév mají větší hydraulickou vodivost, ale méně konzervativní využití vody (vyšší spotřebu vody) a rovněž i větší riziko kavitace než rostliny s malým průměrem cév (Gallardo a kol., 1996).

2.2.2 Růst a rozložení kořenového systému za sucha

Sucho představuje jeden z hlavních stresů ovlivňujících růst rostlin a produkci plodin. Jeho výskyt a intenzita se v České republice v letech 1991-2014 v porovnání s obdobím 1961-1990 zvyšovaly (Trnka a kol., 2016) a do budoucna se očekává jeho další nárůst v celé Evropě (Lehner a kol., 2017). Sucho způsobuje drastický pokles výnosů plodin, který u některých druhů dosahuje dokonce až 90% snížení výnosů (Hussain a kol., 2018). Ke snížení negativních dopadů sucha využívají rostliny různé strategie. Tři hlavní strategie představují únik před suchem, zabránění suchu a tolerance k suchu (Gaur a kol., 2008). Strategie úniku před suchem znamená většinou zkrácený životní cyklus a zrychlený průběh vývojových stádií vedoucích k časnému kvetení a produkci semen (Kooyers, 2015). Zabránění suchu je zaměřeno na oddálení vysychání a mezi jeho hlavní mechanismy patří zvýšená efektivita využití vody, zvýšený růst kořenů (zejména hloubka zakořenění a zvýšená hustota kořenů ve větší hloubce) nebo ochrana proti výparu u listů (uzavření průduchů a tím zvýšení efektivity využití vody, stáčení listů, silnější kutikula, vosková vrstvička, trichomy). Naproti tomu tolerance vůči suchu je založena především na osmotickém přizpůsobení kořenů, které vede ke snížení vodního potenciálu pod úroveň vodního potenciálu půdy, a také na některých vlastnostech architektury kořenů jako jsou například vlastnosti spojené s kořenovým vlášením, větvením kořenů, či hydraulickým odporem (Kooyers, 2015).

Přizpůsobení kořenového systému je zjevně důležité jak pro strategii zabránění suchu (prostřednictvím větší hloubky kořenového systému a větší hustoty kořenového systému ve větších hloubkách), tak pro strategii tolerance k suchu díky znakům zlepšujícím příjem vody a živin (vyšší hustota kořenového vlášení). Zejména hloubka zakořenění je proto považována za prostředek ke zlepšení výkonnosti rostlin při stresu suchem, včetně zvýšení výnosu (Battisti a

Sentelhas, 2017; Wasaya a kol., 2018) nebo zmírnění dopadů sucha na fotosyntézu (Gobu a kol., 2022). Význam hloubky zakořenění byl rovněž prokázán na základě vlivu přidání malého množství vody do hlubších vrstev půdy na výnos plodin (Kirkegaard a kol., 2007). Větší hloubka zakořenění ovšem může v podmínkách dostatku vláhy představovat i určité negativní projevy, tzv. „trade-offs“, vzhledem ke zvýšené potřebě asimilátů pro růst kořenů (Abd Allah a kol., 2010). Vyšší spotřeba asimilátů může u hlouběji zakořeňujících obilovin vést k omezení odnožování, a tím i k možnému snížení výnosů, zejména v podmínkách dostatečně zásobených vodou (Ehdaie a kol., 2012). Navzdory relativně nižším výnosům za příznivých podmínek mohou tyto genotypy poskytovat vyšší výnosovou stabilitu za nepříznivých podmínek (Ehdaie a kol., 2012).

Hypotéza "vyváženého růstu", jak ji zmiňují Comas a kol. (2012), naznačuje, že některé rostliny reagují na sucho stimulací nebo udržováním růstu kořenů při současném omezení růstu nadzemních částí rostlin. Zvýšený růst kořenů oproti růstu nadzemních částí rostlin zlepšuje hydraulický stav rostlin při mírném nebo středním stresu suchem díky zvětšení poměru povrchu kořenů k listům, pokračující tvorbě nových kořenových špiček a zvýšené schopnosti rostlin získávat vodu pro podporu stávajících nadzemních částí. Základními mechanismy, které stojí za posunem v alometrii mezi nadzemními částmi a kořeny, jsou rozdíly v citlivosti růstu kořenů a nadzemních částí rostlin na vodní stres (Hsiao a Xu, 2000). Bylo však zjištěno, že při silném nedostatku vody může docházet k omezenému růstu i u kořenů z důvodu velmi nízké dostupnosti vody v půdě a vysokého hydraulického odporu (Comas a kol., 2005). V tomto případě může zvýšená produkce kořenového vlákna a akvaporinů hrát obzvláště významnou úlohu při kompenzaci redukce prodlužovacího růstu kořenů a snížení povrchu kořenů.

Hluboké kořeny mohou být důležité pro získávání vody v půdním profilu zejména pro menší rostliny (jako je například pšenice či ječmen), ale obecně mají výhody pro rostliny rostoucí v podmínkách poklesu dostupné půdní vody v zemědělských i přírodních ekosystémech (Henry a kol., 2012). Vedle rozložení kořenů ve vertikálním profilu může architektura kořenů, která zahrnuje větší hierarchickou strukturu, zvýšit hydraulický vztlak a umožnit tím větší využití vody dostupné ve velkých hloubkách (Doussan a kol., 2006). V případech, kdy by dostupnost vody v hloubce mohla podpořit produktivitu plodin přímo, nebo prostřednictvím hydraulické redistribuce, může být rovněž pro zvýšení axiální hydraulické vodivosti kořenů ve větších hloubkách příznivé zvýšení průměru xylemu (Wasson a kol., 2012). Distribuce a alokace kořenů může záviset na růstových strategiích rostlin a jejich obecné reakci na nedostatek vody, a rovněž také na vertikální distribuci dostupné půdní vody. Například kukuřice snižuje

transpiraci rychleji v důsledku konzervativnější hydraulické vodivosti ve srovnání se slunečnicí, která udržuje fotosyntetickou asimilaci oxidu uhličitého během sucha, a to i v průběhu vadnutí. Kukuřice i slunečnice v reakci na nedostatek vody zmenšují velikost nadzemních částí, zvyšují poměr plochy kořenů k ploše listů, a zvyšují relativní distribuci kořenů do větších hloubek, ačkoli slunečnice, která je typická obecně hlubším kořenovým systémem je schopna redistribuovat ještě větší procento svých kořenů do větších hloubek půdy (Comas a kol., 2012).

2.2.3 Architektura kořenového systému pro podmínky se zásobou vody ve větších hloubkách

Šlechtitelé se obecně spíše vyhýbají selekci na znaky architektury kořenů, protože mají nízkou dědičnost, jejich projev se mění v závislosti na typu půdy a srážkách a jejich hodnocení je poměrně pracné a časově náročné (Tuberosa, 2012; Malamy, 2005). Šlechtitelé proto obecně spoléhají na to, že selekce na výnos vede rovněž k nepřímému výběru odrůd s optimálním kořenovým systémem pro dané podmínky. Tento přístup byl zřejmě efektivní při šlechtění kukuřice v USA, kde bylo v suchých podmínkách dosaženo ročního genetického přírůstku výnosu o 77 kg ha⁻¹ (Duvick a kol., 2003), nicméně tato strategie je využitelná pouze pro podmínky s pravidelným každoročním výskytem sucha.

Modelové studie naznačují, že změna architektury kořenů, která vede k jejich zúžení (výraznější vertikální rozložení), je základem pro zvýšení výnosů v prostředích, která jsou charakterizována zásobami vody v hlubších vrstvách půdy (Hammer a kol., 2009). Je tedy vysoce pravděpodobné, že cílenější selekce na konkrétní znaky architektury kořenů by mohla zvýšit výnosy ve specifických suchých oblastech pěstování zemědělských plodin podle vertikální i časové distribuce vody v půdě. Důkazy pro to pocházejí například ze studií pro pšenici v Austrálii, kde se ukázalo, že selekce na hlubší kořenový systém a lepší schopnost osvojovat vodu a živiny zlepšuje příjem vody a dusíku (Manschadi a kol., 2006; Lilley a Kirkegaard, 2011).

Selekce a šlechtění založené na specifických znacích spojených s architekturou kořenového systému vhodně doplňují empirické přístupy ke šlechtění na výnos. Selekcce založená na těchto znacích má výhodu v tom, že zajišťuje dostatečnou genetickou variabilitu šlechtitelských populací, aby bylo možné dosáhnout selekčního pokroku, přičemž se očekává, že šlechtění na znaky spojené s architekturou kořenového systému se rozvine zejména s nalezením a využíváním specifických molekulárních markerů (Richards a kol., 2010). Šlechtění na znaky

architektury kořenového systému je řádově obtížnější než pro většinu znaků spojených s nadzemní biomasou. K překonání tohoto problému je třeba vyvinout rychlé laboratorní metody selekce pro kořenové znaky, které jsou spojeny s fenotypovým projevem v polních podmínkách. Kromě toho je důležité vyvinout metody tzv. nepřímé selekce pomocí snadno pozorovatelného a kvantifikovatelného znaku, který odráží to, co se děje pod zemí. V případě potřeby pak lze identifikovat a vyvinout molekulární markery, které odpovídají za významnou část variability kořenového znaku, a použít je v rámci šlechtění.

Poměrně zásadní pro dosažení požadovaného efektu šlechtění na zlepšenou architekturu kořenového systému je souběžné zajištění odolnosti kořenového systému vůči biotickým faktorům, zejména pak napadení chorobami kořenů, a také zvýšené tolerance vůči nepříznivým fyzikálním vlastnostem půdy, která je klíčová při pronikání kořenů do větších hloubek. Jedná se zejména o schopnost překonávat lokální zhutnění či nízké pH v podorničí, které by měly být nedílnou součástí programu genetického zlepšování architektury kořenů (Passioura, 2006; Haling a kol., 2010). Je rovněž zřejmé, že samotná zlepšená architektura kořenového systému nemusí být dostačující, a k efektivitě těchto znaků mohou významně přispívat agrotechnická opatření, které zvyšují zadržování vody v půdě, zlepšují zdravotní stav a tím ovlivňují vlastnosti kořenů (Passioura a Angus, 2010). Postupy, které zvyšují zadržování vody v půdě je nejlepší kombinovat s novými odrůdami se znaky architektury kořenového systému, které přispívají ke schopnosti tuto vodu efektivně přijímat.

Zaměření na zadržování a využití vody v hlubších vrstvách půdy pomocí vybraných znaků architektury kořenů ve šlechtitelském programu má dvojí význam. Zemědělec může jednak upravovat technologii, tak aby zadržel větší množství vody v hlubších vrstvách půdy, například úpravou osevního postupu, nebo zpracováním půdy a ponecháním mulče posklizňových zbytků na povrchu půdy (Hunt a Kirkegaard, 2011). Využití odrůd, které jsou schopné díky upraveným znakům architektury kořenů tyto zásoby čerpat z větších hloubek, pak představuje výrazné snížení závislosti na nerovnoměrné distribuci srážek v průběhu vegetace. Druhý význam uchování vody v hlubších vrstvách půdy spočívá v tom, že její příjem se zpravidla shoduje termínově s vývojem zrna, a voda v hlubších vrstvách půdy se tak stává dostupnou v době kdy jsou plodiny zranitelné vůči suchu, tedy v době kvetení, vývoje zrna či v době tzv. terminálního sucha během dozrávání (Passioura, 1983). Využití vody v této době má velmi vysokou efektivitu přeměny na hmotnost zrna, protože vegetativní růst je ukončen a asimiláty jsou téměř výhradně využity pro vývoj zrna. Většina nárůstu výnosu v důsledku využití hlouběji uložené vody v pozdním období vývoje je způsobena zvýšením sklizňového indexu (zvýšení poměru

hmotnosti zrna k celkové hmotnosti nadzemních částí rostliny; Passioura a Angus, 2010). Tento velký význam hlouběji uložené vody byl prokázán v nezávislých studiích v řízených i polních podmínkách. U pšenice bylo například demonstrováno, že větší délka kořenů v hlubších vrstvách půdy přispěla ke zvýšení výnosu tím, že umožnila větší odběr vody během nalévání zrna (Manschadi a kol., 2006). Modelování prokázalo, že každý další milimetr vody získaný po odkvětu díky hlubšímu kořenovému systému a čerpání vody z větší hloubky přinesl dodatečné zvýšení výnosu zrna pšenice ve výši 0,55 t ha⁻¹ (Manschadi a kol., 2006). U dalších plodin byla hloubka kořenů pozitivně korelována například s výnosem u sóji (Cortes a Sinclair, 1986) či rýže (Kamoshita a kol., 2002).

2.2.4 Zvýšená hloubka kořenového systému

Jedním z účinných postupů ke zvýšení hloubky kořenového systému je prodloužení doby vegetace do dosažení fáze kvetení. Doba prodlužovacího růstu seminálních kořenů totiž poměrně úzce souvisí s dobou od výsevu do kvetení, protože růst kořenů směrem dolů se zastavuje přibližně v době kvetení a počátku vývoje zrna (Gregory a kol., 1978). Dobu do kvetení lze rovněž prodloužit dřívějším výsevem, protože přechod do sloupkování a generativní fáze souvisí s délkou dne. Dřívější výsev tak vede k prodloužení doby od výsevu do začátku sloupkování a přechodu do generativní fáze. Efekt prodloužení doby do kvetení byl prokázán například u pšenice (Richards, 2006; Kirkegaard a kol., 2007). Ve šlechtění ječmene tak může být jedním z cílů prodloužení doby vegetativního růstu, která je řízena u ječmene zejména geny fotoperiody (Kikuchi a Handa, 2009). Nicméně i růst kořenů po kvetení může mít významný vliv na zvýšení dostupnosti vody a výnos zrna. Například v rámci genotypů pšenice byly zjištěny významné rozdíly v prostorovém rozložení růstu kořenů po kvetení (Manschadi a kol., 2006). Zvýšení růstu kořenů po kvetení ovšem vyžaduje alokaci většího množství asimilátů do kořenů, což může do určité míry snižovat výnos zrna (Wasson a kol., 2012).

Větší hloubka kořenového systému může být rovněž podmíněna vyšší rychlostí prodlužovacího růstu kořenů (Palta a Watt, 2009), nebo zvýšením ostrosti jejich úhlu vůči vertikální ose (kořeny směřují více vertikálně dolů). Z praktického hlediska je důležité zejména to, aby se rychlost prodlužovacího růstu nehodnotila jako průměrná rychlost růstu všech kořenů, ale jako rychlost růstu vztažená k maximální hloubce kořenů, protože ne všechny kořeny rostou stejnou rychlostí (Wasson a kol., 2012). Rychlejší růst kořenů závisí na procesech uvnitř kořenového vrcholu, které určují rychlost dělení a prodlužování buněk (Sharp a kol., 2004). Rychlost růstu kořenů závisí také na rychlosti fotosyntetické asimilace CO₂ a na alokaci těchto asimilátů do kořenů, především do kořenových špiček (Boyer a kol., 2010). Šlechtění na vyšší

rychlost růstu nadzemních částí proto obvykle vede i k vyšší rychlosti růstu kořenů, přičemž je zřejmé že zvýšená rychlost růstu v časných růstových fázích úzce souvisí s hloubkou kořenového systému v polních podmínkách (Watt a kol., 2005; Richards, 2006). Naproti tomu u rýže a pšenice bylo zjištěno, že genotypy s menším počtem odnoží mají hlubší kořenový systém (Yoshida a kol., 1982; Richards, 2006). Úhel seminálních kořenů má rovněž potenciál použití jako indikátoru hloubky kořenů, přičemž více ostrý úhel vůči vertikální ose poukazuje na výraznější gravitropismus, a tudíž na větší hloubku kořenového systému (Manschadi a kol., 2008). U pšenice bylo prokázáno, že genotypy, které jsou adaptované na sušší prostředí a dostupnou vodu pouze ve větších hloubkách, mají tendenci mít úzké horizontální rozložení kořenů, zatímco genotypy adaptované sice na sušší podmínky, avšak s častějšími srážkami během vegetace mají spíše širší horizontální rozložení kořenů (Manschadi a kol., 2008). U pšenice byla rovněž prokázána těsná závislost mezi úhlem seminálních kořenů a distribucí kořenů v hloubkovém profilu v polních podmínkách (Oyanagi a kol., 1993). U zdrojů divokého ječmene, které se vyvinuly v podmínkách s omezeným množstvím vody, je zřejmé, že mají v porovnání s moderními odrůdami ječmene úzký úhel vůči vertikální ose (Bengough a kol., 2004). Souhrnně lze říci, že úhel růstu kořenů v časných růstových fázích může být velmi dobrým indikátorem hloubky zakořenění. Nicméně vždy je nutné ověření skutečných rozdílů v polních podmínkách vzhledem k tomu, že na úhel růstu kořenů má velký vliv půdní struktura, množství fosforu či dusíku v půdě apod. (White a Kirkegaard, 2010). Kořenová špička řídí gravitropickou reakci mechanismem závislým na auxinu, který ovlivňuje prodlužování buněk. Podílí se na něm mnoho složek transportní dráhy auxinu (Swarup a Bennett, 2009). Silná gravitropická reakce může být markerem základní hormonální kontroly hloubky kořenů. Bylo prokázáno, že gravitropická reakce seminálních kořenů pšenice je dědičná, přičemž výsledky naznačují, že je pod kontrolou jediného dominantního genu (Oyanagi a kol., 1991). Metodiky pro vyhodnocení úhlu kořenů mohou zahrnovat různé techniky od nejjednodušších s pěstováním na filtračním papíře (Liao a kol., 2001), přes hydroponickou kultivaci (Chen a kol., 2011) až po trojrozměrnou analýzu založenou na kultivaci na gelu (Clark a kol., 2011).

2.2.5 Zvýšená hustota kořenů v hlubších vrstvách půdy a snížená hustota kořenů v povrchových vrstvách

Ačkoliv schopnost kořenů získávat vodu z půdy se může lišit dle fyzikálních vlastností půdy a od toho odvozené hydraulické vodivosti, obecně se odhaduje, že pro získání vody dostupné rostlinám v půdě je zapotřebí pro každý 1 cm³ půdy alespoň 1 cm délky kořene (Passioura, 1983). Jestliže mají některé plodiny nižší hustotu kořenů ve větších hloubkách, zanechávají pak

v těchto vrstvách více vody (Li a kol., 2002). Naopak u obilnin běžně dochází v hlubších vrstvách k intenzivnímu větvení (Watt a kol., 2008). Tam, kde se s větší hloubkou zvyšuje půdní vlhkost, která je dostupná pro rostliny, je právě výraznější větvení a větší délka postranních kořenů velmi důležitým parametrem. Větší délka postranních kořenů je důsledkem včasné iniciace a vývoje primordií postranních kořenů v pericyklu, rychlejšího prodlužování těchto kořenů a opožděného nástupu ukončení růstu meristémů postranních kořenů (Wasson a kol., 2012). Příklad asimilátů je pravděpodobně klíčovým faktorem určujícím rychlost prodlužování kořenů, zatímco zahájení vývoje postranních kořenů a ukončení prodlužování je pravděpodobně řízeno jinými mechanismy, například rostlinnými hormony. Selekcí genotypů na zvýšenou hustotu kořenů se zabýval Hurd (1964), který pěstoval genotypy pšenice v rhizoboxech s průhlednou čelní stěnou. Následně prokázal, že genotypy s vysokou hustotou kořenů vykazují vysoké výnosy v suchých ročních i v polních podmínkách. Podobně také odrůdy čiroku pocházející ze suchých oblastí vykazují vysokou hustotu kořenů a vyšší stupeň větvení (Masi a Maranville, 1998).

U většiny hustě setých obilnin je hustota kořenů v povrchových vrstvách asi 3-5 cm cm⁻³ a teoreticky tak převyšuje hustotu potřebnou k získání dostupné vody (Passioura, 1983). Obilniny pěstované v podmínkách, kde se ve druhé polovině vegetace očekávají omezené srážky, mohou mít tudíž prospěch z redukce hustoty kořenů ve svrchní vrstvě půdy, aniž by to ovlivnilo příjem vody v počátku vegetace (Wasson a kol., 2012). Nadměrná délka kořenů totiž může znamenat vysoké náklady rostlin ve formě asimilátů na neefektivní tvorbu kořenů, přičemž tyto asimiláty pak mohou chybět ke konci vegetace, kdy se stávají limitujícím faktorem nedostatečné srážky. Na druhou stranu, vysoká hustota kořenů ve svrchní vrstvě půdy může být důležitá pro příjem živin v podmínkách s nedostatečným uvolňováním živin přijatelných pro rostliny (Wasson a kol., 2012).

Studie u kukuřice naznačila, že vyšší hustota kořenů ve svrchních, snadno vysychajících vrstvách půdy může být také spojena se zvýšeným tokem kyseliny abscisové (ABA) směrem k listům, což zpomaluje transpiraci a tvorbu zrna (Giuliani a kol., 2005). Podobně také experiment s rýží s variantami zaplavení a sucha ukázal, že průduchová vodivost a transpirace byly sníženy dříve, než došlo ke snížení vodního potenciálu listů, což je časná reakce na sucho spojená se zvýšeným množstvím ABA (Siopongco a kol., 2008). Studie na ječmeni ukázala, že nezávisle na množství vody dostupné pro kořenový systém rostliny měly odrůdy s menším počtem kořenů ve vysychající svrchní vrstvě půdy větší růst listů a méně listové ABA než odrůdy s větším počtem kořenů (Martin-Vertedor a Dodd, 2011). Listová ABA však nemusí

být nejvhodnějším měřítkem této signalizace, protože se ukázalo, že isogenní linie prosa, které se lišily v listové koncentraci ABA, se nelišily v celkové schopnosti přijímat vodu kořeny (Kholová a kol., 2010).

Kořeny ve svrchní vrstvě půdy starších rostlin hustě setých obilnin jsou především sekundární (nodální) kořeny a jejich větve. Tyto kořeny je možné částečně přesměrovat do hlubších vrstev, například výběrem genotypů s ostřejším úhlem sklonu kořenů vůči vertikální ose. Případně lze také provádět selekci na menší počet sekundárních kořenů (Oyanagi a kol., 1993). Při selekci na snížený počet sekundárních kořenů je ovšem nutné být obezřetný z pohledu možného dopadu na jiné znaky kořenového systému, protože tvorba sekundárních kořenů je spojena s genem *WOX11*, indukovaného auxiny a cytokininy (Zhao a kol., 2009), přičemž je zde patrný překryv s větvením kořenů (Deveaux a kol., 2008). Ovlivnění tvorby sekundárních kořenů tak může mít nežádoucí účinky na větvení seminálních kořenů, a tím omezovat snahu o zvýšení hustoty kořenů ve větších hloubkách. Dalším nežádoucím efektem snížení počtu sekundárních kořenů může být snížení příjmu živin (Wasson a kol., 2012). Vyšší hustota kořenů ve svrchní vrstvě půdy může být ovšem cennou vlastností v suchých podmínkách, kde je růst rostlin závislý na pravidelném přídělu malého množství srážek (Sadras a Rodriguez, 2007).

2.2.6 Snížení hydraulického odporu při pohybu vody z půdy ke kořenům prostřednictvím zvýšeného růstu kořenového vlášení a většího průměru xylému

Příjmu půdní vody kořeny mohou bránit dva typy odporu. Jedná se jednak o radiální odpor při průchodu vody z půdy do kořene a následně do xylému, a také axiální odpor při toku vody z kořene do nadzemních částí. Radiální odpor je pro příjem vody mnohem významnější než odpor axiální (Wasson a kol., 2012). Richards a Passioura (1989) se zabývali zmenšením průměru xylému seminálních kořenů, aby zvýšili jejich axiální odpor při průchodu vody z kořenového systému do nadzemních částí a tím, aby se snížil příjem vody z půdy na začátku vegetace a půdní vlhkost zůstala k dispozici později během tvorby zrna. Výnosy se díky tomuto znaku zlepšily v letech s nedostatkem vody, přičemž současně snížený průměr xylému neměl nepříznivý vliv na výnosy při dostatku srážek. Kombinací vysokého axiálního odporu u báze kořenového systému s nižším axiálním odporem v kořenech umístěných hlouběji v půdě je možné posunout využití půdní vody až do kvetení a vývoje zrna tak, aby se zvýšilo využití vody z hlubších vrstev půdy (Wasson a kol., 2012).

Nízké využití vody se přičítá radiálnímu odporu na rozhraní půdy a kořenů (Passioura, 1991). Kořenové vlášení představuje hlavní možnost, kterou lze maximalizovat kontakt kořenů s půdou a minimalizovat tak radiální odpor. Segal a kol. (2008) analyzovali příjem vody mutanty ječmene, kterým chybělo kořenové vlášení, a ukázali, že navzdory většímu větvení měly kořeny bez vlášení menší příjem vody a menší příjem na jednotku délky kořene. Selektce na vyšší hustotu a délku kořenového vlášení může být ovšem složitá, vzhledem k velkému vlivu prostředí a vzhledem k tomu že výsledky z laboratorních podmínek jsou obvykle značně odlišné od výsledků z polních podmínek (Wasson a kol., 2012).

2.2.7 Využitelnost znaků architektury kořenového systému

Jednotlivé znaky kořenového systému, které vedou ke zlepšení příjmu vody, jsou limitovány specifickými půdními podmínkami. Klíčovým faktorem pro uplatnění konkrétních znaků je zejména skutečnost, zda se jedná o prostředí řízené zásobou vody či prostředí řízené rovnoměrnou nabídkou vody. Prostředí řízené zásobou vody je obecně typické v období sucha vertikálním rozvrstvením, při kterém množství dostupné vody stoupá směrem do větších hloubek, zatímco v prostředí řízeném nabídkou vody za suchých podmínek obvykle množství dostupné vody směrem do větších hloubek klesá (Bodner a kol., 2015). V našich podmínkách systém řízený zásobou vody představuje zejména jižní Morava, Haná a Polabí, tedy úrodné půdy v teplejších oblastech, kde v půdě může být uloženo více vody ze zimního období díky vyššímu obsahu organické hmoty a vyšší hladině spodní vody. Na druhou stranu zde dochází k vyšší evapotranspiraci díky vyšším teplotám, a svrchní vrstvy půdy rychle vysychají. Systém řízený nabídkou vody v našich podmínkách představuje hlavně oblast Vysočiny a podhorské oblasti, kde je typické rovnoměrnější rozložení srážek v průběhu roku, ale tyto půdy jsou často kamenité nebo písčité, s nižším obsahem organické hmoty a nejsou proto schopné zadržet vodu po delší dobu. Obvykle je v těchto podmínkách typická i hlubší hladina spodní vody.

Zatímco v podmínkách řízených zásobou vody se velmi dobře uplatňují znaky spojené s vyšší hloubkou zakořenění, vyšší hustotou kořenového systému v hlubších vrstvách půdy, a naopak malou hustotou kořenů ve svrchní vrstvě půdy, spojenou obvykle s ostrým úhlem kořenů vůči vertikální ose, u podmínek řízených nabídkou vody se uplatňuje vyšší počet sekundárních kořenů, jejich výraznější větvení těsně pod povrchem, větší úhel kořenů vůči vertikální ose, vyšší hustota kořenů pod povrchem půdy a vyšší délka i hustota kořenového vlášení. V podmínkách řízených zásobou vody se může ještě uplatnit vyšší axiální odpor, který vede k pomalejšímu vyčerpání zásob vody a tato pak zůstává k dispozici pro období, které je kritické pro vývoj zrna (Wasson a kol., 2012). V prostředí s obzvláště mělkými půdami není

hlubší kořenový systém přínosem a místo toho je třeba se zaměřit na lepší zadržení srážek (pokud jsou k dispozici) prostřednictvím zlepšené infiltrace a zvýšení obsahu organické hmoty v půdě, zajišťující zvýšení polní vodní kapacity. Dále je nutné se zaměřit na znaky minimalizující dopad vodního deficitu na transpiraci rostlin a vlastnosti umožňující rovnoměrně zásobovat rostlinu vodou po celé vegetační období (např. zvýšení odporu xylému) (Wasson a kol., 2012).

2.3 Metody fenotypování kořenů

Nejvhodnější a nejkratší cestou pro identifikaci žádoucích fenotypů kořenů a jejich začlenění do šlechtitelského programu je fenotypování přímo na poli. Nicméně tento přístup je v současné době prakticky nerealizovatelný vzhledem k tomu, že prakticky neexistují vhodné vysoce výkonné metody pro fenotypování kořenů v polních podmínkách, které by umožňovaly vyhodnocení stovek až jednotek tisíců genetických zdrojů a kříženců v relativně krátkém časovém úseku.

Tradiční studie se zaměřují na vykopání kořenů, na jejichž základě lze určit hloubku a délku kořenů. Výkopy jsou ovšem extrémně pracné a pomalé (van Noordwijk a kol., 2000). Výrazného zvýšení počtu porovnávaných genotypů lze v polních podmínkách dosáhnout pomocí mechanizovaných vývrtů, ve kterých se provádí počítání kořenů na jednotlivých zlomech vývrtů prováděných v pravidelných intervalech hloubky, přičemž tyto hodnoty velmi dobře korelují s hustotou promytých kořenů (Bennie a kol., 1987). Zpracování vývrtů může být rovněž urychleno použitím automatických promývacích systémů (Pallant a kol., 1993), při současné automatizaci vyhodnocení promývaných kořenů na skenerech a software pro analýzu obrazu (Lobet a kol., 2011). Jak uvádí Wasson a kol. (2012), v polních podmínkách lze pomocí jádrového (dutého) hydraulického vrtáku namontovaného na traktor a čtyř lidí vyhodnotit za jeden den přibližně 50 genotypů ve 4 opakováních (tedy asi 200 vzorků). Přitom jsou prováděny vývrty do hloubky 2 m a rozložení kořenů je hodnoceno v segmentech vývrtu po 10 cm, kde jsou počítány kořeny. Pearsonův korelační koeficient s množstvím kořenů v promytých vzorcích pak dosahoval hodnoty 0,75.

Alternativu k náročným výkopovým pracím pak představují rovněž minirhizotrony, kdy se do půdy zasune průhledná trubice a kořeny, které přiléhají k této trubici jsou skenovány kamerou, která je zasunuta do trubice (Smit a kol., 2000). Protože minirhizotrony nejsou destruktivní, je možné měření provádět opakovaně, a tím sledovat růst a vývoj kořenů. Nicméně rozhraní mezi průhlednou trubicí a půdou představuje do určité míry umělé prostředí, které pak

může vést k nesprávnému posouzení charakteristik kořenového systému. Bylo prokázáno, že minirhizotrony nadhodnocují nebo podhodnocují hustotu kořenů v závislosti na zkoumaném druhu a úhlu instalace (Rytter a Rytter, 2012; Vamerali a kol., 2012).

Další technikou pro měření kořenů v polních podmínkách představuje radar pro průzkum podpovrchových vrstev půdy (ground penetrating radar), ale kvůli nízkému rozlišení je jeho použití omezeno spíše jen na dřeviny (Zenone a kol., 2008). Dále lze využít elektrickou odporovou tomografii, která byla aplikována k mapování fyzikálních vlastností půdy (Basso a kol., 2010) nebo k využívání půdní vody kořeny v porostu (Srayeddin a Doussan, 2009). V obou případech se ale jedná o nepřímá měření kořenů vyhodnocením půdních charakteristik.

Měření velikosti kořenového systému pomocí elektrické kapacitance bylo poprvé provedeno v 70. letech minulého století (Chloupek, 1977). Následně byl také vypracován teoretický základ vyhodnocení těchto měření, který ukazuje na možné faktory ovlivňující výsledky měření, zejména pak vliv vlhkosti půdy a umístění elektrody na bázi stonku (Dalton, 1995). V další studii byla elektrická kapacitance korelována s velikostí kořenového systému u kukuřice v době kvetení, přičemž efektivní měření bylo velmi silně závislé na tom, zda je půda v době měření vlhká, a proto je doporučováno provádět měření po závlaze či po dešti a v ranních hodinách (6:00-9:00), kdy ještě nedochází k vyčerpání vody v okolí kořenů (van Beem a kol., 1998). Současně je doporučováno umísťovat elektrodu vždy ve stejné vzdálenosti od povrchu půdy. Tato metoda byla rovněž úspěšně použita při studiu kořenů stromů (Ellis a kol., 2013).

Vzhledem k tomu, že polní fenotypování kořenů se zatím potýká s řadou omezení, z nichž hlavními jsou nižší výkonnost a omezený počet znaků, které je možné sledovat, je stále velký důraz kladen na fenotypování kořenů v laboratorních podmínkách. Samozřejmě i fenotypování v laboratorních (obvykle skleníkových podmínkách) má řadu omezení, přičemž hlavní problém je ve vyhodnocení znaků v dospělém stavu, tedy od fáze metání do fáze zrání (Wasson a kol., 2012). To je dáno zejména vysokými náklady na pěstování rostlin ve skleníkových podmínkách až do zralosti, a především také technickými omezeními kultivace a sledování kořenů v hloubkách větších než 1 m. Klíčové znaky architektury kořenů jako je hloubka zakořenění či hustota kořenů ve větších hloubkách jsou proto u fenotypování v laboratorních podmínkách nahrazovány nepřímým vyhodnocením zástupných znaků, které jsou důsledkem daného znaku nebo s ním těsně korelují. Tak lze například úhel sekundárních kořenů považovat za zástupný znak pro hlubší kořenový systém i v polních podmínkách. Podobně lze hloubku kořenů poměrně dobře odhadovat podle rychlosti růstu nadzemních částí (Wasson a kol., 2012).

Fenotypování v laboratorních podmínkách lze obecně rozdělit na 2D a 3D fenotypování. Vzhledem k jednoduchosti, menším prostorovým nárokům i snadnějšímu a přesnějšímu vyhodnocení parametrů architektury kořenového systému je běžnější používání 2D metod fenotypování. Tyto se dále rozdělují na metody kultivace bez půdy a metody kultivace v půdě (Li a kol., 2022). V případě kultivace bez půdy se jedná buďto o hydroponické či o aeroponické pěstování, metodu „pouch-and-wick“ založenou na růstu kořenů na filtračním papíře, a konečně pak také metodu kultivace kořenů na agarovém gelu (Kuijken a kol., 2015). Aeroponické systémy transformují živný roztok do mikrokapiček o velikosti 5-50 μm obvykle pomocí ultrazvukového zmlžovače a tyto jsou pak přiváděny do prostoru kořenů (Pingault a kol., 2018). Kořeny tak rostou volně v prostoru a je tak k nim možný snadný a pravidelný přístup ať již pro vyhodnocení architektury kořenového systému či pro provedení inokulace, infekce nebo pro odběry kořenových exsudátů. Aeroponická kultivace byla využita například při fenotypování morfologie kořenů, efektivity využití dusíku a výnosových parametrů u odrůd bramboru (Tiwari a kol., 2022). Zpočátku se k záznamu 2D snímků kořenového systému používaly digitální kamery a skenery, po nichž následovala jejich analýza pomocí zobrazovacích softwarů. Z praktických důvodů byly rostliny pro 2D zobrazování pěstovány buď hydroponicky, nebo na růstových systémech na bázi gelu/agaru (Zhu a kol., 2011). Nedávno Rattanapichai a Klem (2016) vyvinuli nový systém fenotypování kořenů, v němž byly kořeny pěstovány na černých filtračních papírech s recirkulačním mikrozavlažovacím systémem mezi dvěma černými plastovými fóliemi. Tento systém byl otestován pro vyhodnocení efektu hlavních živin na architekturu kořenového systému u ječmene. Hlavní předností je možnost opakovaného měření a tím možnost vyhodnocení dynamických změn architektury kořenového systému. Pro vyhodnocení parametrů architektury 2D kořenového systému existuje celá řada softwarových nástrojů z nichž k nejznámějším patří software SmartRoot, umožňující například vyhodnocení úhlu seminálních a postranních kořenů, délky a hustoty kořenů (Lobet a kol., 2011). U ječmene byly dále úspěšně ověřeny softwarové nástroje EZ-Rhizo a WinRhizo (Kumar a kol., 2014). Další výkonnou metodou je rentgenová (X-ray) počítačová tomografie (CT), která umožňuje 3D vizualizaci kořenů rostlin pěstovaných v rhizotronu naplněném půdou či jiným růstovým substrátem (Hargreaves a kol., 2009; Mairhofer a kol., 2017). Jahnke a kol. (2009) použili ještě další sofistikované metody (magnetickou rezonanci – MRI, a pozitronovou emisní tomografii – PET a jejich kombinaci) pro přehledné a přesné 3D fenotypování architektury kořenového systému.

Vzhledem k tomu, že architektura kořenového systému je do značné míry ovlivněna půdními podmínkami, jako je půdní druh, obsah živin (hlavně fosforu a dusíku) a rovněž fyzikální stav půdy (zhutnění, pórovitost, půdní agregáty), je vždy potřebné zjištěné výsledky z laboratorního fenotypování ověřit i v polních podmínkách. V polních podmínkách totiž mohou být zjištěné rozdíly mezi genotypy modifikovány interakcemi s půdním prostředím a zejména v případě znaků, které jsou typické až v dospělosti (hloubka zakořenění a hustota kořenů ve větších hloubkách), tak rozdíly mezi genotypy mohou být značně odlišné v polních podmínkách oproti fenotypování v laboratorních podmínkách (Pfeifer a kol., 2014). Kompromisní řešení kombinující kultivaci rostlin v semi-reálných půdních podmínkách a jednoduchost analýzy 2D zobrazování představuje kultivace rostlin v plochých rhizoboxech, které jsou nakloněny pod úhlem 43° a boční strana směřující dolů je odnímatelná s další transparentní přepážkou pro skenování kořenů (Nagel a kol., 2012). Tohoto systému bylo úspěšně použito například pro vyhodnocení rozdílů ve vertikální distribuci kořenů v půdním profilu u starých zemských odrůd a divokých zdrojů pšenice (Nakhforoosh a kol., 2021). Divoké zdroje dominovaly větším podílem postranních (laterálních) kořenů a významným podílem sekundárních (nodálních) kořenů na celkové délce kořenů. Zemská odrůda *Triticum durum* vykazovala nejvyšší hustotu kořenů v hlubších vrstvách půdy tvořenou zejména seminálními kořeny.

Kořeny mladých rostlin v laboratoři nemusí vykazovat vývojové znaky dospělých kořenů. Proto se obvykle fenotypování v laboratoři kombinuje s fenotypováním v polních podmínkách, kdy se v polních podmínkách používají tzv. zástupné znaky, které indikují určité vlastnosti kořenového systému (Wasson a kol., 2012). Při použití zástupných znaků se předpokládá, že genetika, která řídí expresi zástupného znaku v laboratoři, řídí také expresi požadovaného znaku na poli. Vzhledem ke složitým mechanismům exprese genů, podmíněných často více faktory prostředí, to tak ale velmi často není. Kombinace laboratorního a polního fenotypování by se proto měla doplňovat tak, aby selekce na požadovaný znak byla co nejúčinnější. Fenotypování v laboratoři se proto vedle klíčových parametrů architektury kořenového systému zaměřuje rovněž na znaky, které jsou i v polních podmínkách snadno měřitelné a současně vykazují vysokou korelaci k cílovým znakům kořenového systému. Tyto nepřímé znaky se pak využívají k potvrzení přítomnosti daného znaku v polních podmínkách. K takovým znakům patří například produkce nadzemní biomasy, výnos zrna, schopnost udržení zelené listové plochy (odolnost k předčasné senescenci - stay green) (Wasson a kol., 2012). Poměrně dobrým znakem pro vyhodnocení kořenového systému je měření teploty porostu (nebo lépe teplotní diference vůči teplotě vzduchu) pomocí termální infračervené kamery. Nižší teplota porostu indikuje

vyšší transpiraci a tím vyšší schopnost osvojovat si méně přístupnou vodu (například z větší hloubky) pomocí kořenového systému (Blum a kol., 1989; Garrity a O'Toole, 1995). Termální infračervená kamera byla použita například pro dálkový průzkum vyhodnocení linií pšenice s hlubokými kořeny, přičemž teplota porostu negativně korelovala s hmotností kořenů ve větších hloubkách (Lopes a Reynolds, 2010). Na teplotu porostu ovšem v době snímkování může mít vliv celá řada faktorů nezávislých na hloubce kořenů. Tyto faktory, jako jsou rychlost větru, vodní sytostní doplněk či intenzita slunečního záření, je proto důležité zohlednit při výběru genotypů na základě teploty porostu (Rebetzke a kol., 2012).

Cenným ukazatelem rozdílů v přístupu k vodě pomocí dospělého kořenového systému může být také izotopový signál uhlíku v zrna (Araus a kol., 2003). Genotypy s kořeny, které mají přístup k hlouběji uložené vodě a udržují dostatečnou listovou plochu, fotosyntetickou aktivitu a průduchovou vodivost během nalévání zrna, vytváří zrno s odlišným poměrem $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ než genotypy, které jsou odkázané na uhlík fixovaný rostlinou stresovanou suchem a tudíž s nízkou průduchovou vodivostí. Využití diskriminace $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ovšem závisí na dobrém porozumění procesům probíhajícím u testovaných populací, tzn. že nedochází k záměně vlivu spotřeby vody před kvetením a schopnosti remobilizace asimilátů ukládaných v dřívějším období ve stéble následně do zrna (Rebetzke a kol., 2008). Současně musí být experiment zaměřený na selekci s využitím izotopové diskriminace $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ navržen tak, aby primárně neprobíhala selekce na vyšší efektivitu využití vody, což je znak ovlivňující izotopovou diskriminaci $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ opačným způsobem. Zvýšená efektivita využití vody je totiž spojena negativně s nízkým výnosovým potenciálem (Blum, 2009). Skutečnost že využití izotopové diskriminace $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ je pro vyhodnocení znaků architektury kořenů a odolnosti k suchu problematické, prokázali u genotypů bramboru Wishart a kol. (2014), kteří nenalezli žádnou korelaci s odezvou na suchu.

2.4 Osmotické přizpůsobení

Osmotické přizpůsobení a akumulace osmolytů v buňkách představují klíčovou úlohu v adaptaci rostlin na dehydrataci, zejména prostřednictvím udržování turgoru a ochrany specifických buněčných funkcí pomocí konkrétních osmoticky aktivních látek v roztoku (Blum, 2017). Ačkoliv existuje v literatuře určitá skepse ohledně významu a potenciálu osmotického přizpůsobení, ukazuje se, že většina studií zaměřených na osmotické přizpůsobení u nejrůznějších zemědělských plodin vykazuje průkazný pozitivní vztah mezi osmotickým přizpůsobením a výnosem (Blum, 2017). Původně bylo předpokládáno, že osmotické přizpůsobení je významné pouze pro přežití rostliny za extrémního vysušení, a že jeho úloha

pro zajištění vysokého výnosu v podmínkách sucha je nízká (Serraj a Sinclair, 2002). Nicméně práce sledující vztah mezi osmotickým přizpůsobením, růstem kořenů a schopností rostlin získávat vodu z půdy (Kusaka a kol., 2005; Velázquez-Márquez a kol., 2015) jednoznačně prokazují jeho pozitivní úlohu v růstu a tvorbě výnosu v podmínkách sucha. Je ovšem nutné si uvědomit některé skutečnosti, které mohou do určité míry omezit účinnost osmotického přizpůsobení. Předně je osmotické přizpůsobení adaptivní proces, který je zahájen poklesem stavu vody v rostlině, nicméně vyžaduje určitý čas a rychlá dehydratace rostliny neumožňuje spuštění mechanismů osmotického přizpůsobení, tedy hromadění osmoticky aktivních látek – osmolytů či osmoprotektantů. K osmotickému přizpůsobení může docházet ve chvíli, kdy je poklesem stavu vody redukován růst rostlin, ale fotosyntéza je stále ovlivněna relativně málo, takže v rostlině dochází k akumulaci asimilátů (Blum, 2017). Jakmile je nezbytné snížit v rostlině vodní potenciál, který je potřebný pro zajištění příjmu vody za sucha, osmotické přizpůsobení díky akumulaci osmoticky aktivních látek vede k tomuto poklesu vodního potenciálu, aniž by došlo ke ztrátě turgoru. Ačkoliv je osmotické přizpůsobení obvykle měřeno v nadzemních částech, jeho úloha je primárně v kořenech, kde zajišťuje schopnost příjmu vody do rostliny (Blum, 2017).

Celá řada prací prokazuje, že mezi schopností osmotického přizpůsobení a výnosem neexistuje negativní korelace jako je tomu například v případě efektivity využití vody (Blum a kol., 1999; Chimenti a kol., 2002; Mahmood a kol., 2020). Jednoznačná pozitivní vazba mezi osmotickým přizpůsobením a výnosem byla prokázána i u ječmene, kde výnos u různých genotypů byl pozitivně korelován s osmotickým přizpůsobením a turgorem v praporcovém listu (González a kol., 2008).

Osmoprotektanty a osmolyty jsou malé molekuly s neutrálním elektrickým nábojem nebo ionty, které nejsou v běžných koncentracích toxické a chrání membrány a proteiny proti denaturaci v podmínkách abiotického stresu (Munns, 2002). Osmolyty navíc představují osmoticky aktivní látky nahromaděné v cytoplazmatických kompartmentech, které mají zásadní význam pro zachování buněčného turgoru (Rontein a kol., 2002). Osmoprotektanty a osmolyty zahrnují více anorganických iontů a organických látek, které snižují osmotický potenciál zvýšením své koncentrace, a tím zvyšují retenci vody v buňkách během vodního stresu (Fang a Xiong, 2015). Při překonávání škodlivých účinků v podmínkách abiotického stresu mají rostliny tendenci zvyšovat osmotický potenciál na buněčné úrovni syntézou a akumulací osmolytů, jako jsou rozpustné sacharidy, bílkoviny, volné aminokyseliny, glycin-betain a prolin (Ozturk a kol., 2021). U rostlin jsou ve stresových podmínkách nejčastějšími

osmolyty glycin-betain a prolin (Rontein a kol., 2002). Anorganické ionty přispívající k osmotickému přizpůsobení jsou především Na^+ , K^+ , Ca^{2+} a Cl^- . Anorganické ionty se významně podílejí na osmotickém přizpůsobení prostřednictvím iontových transportních procesů s příslušnými iontovými antiporty a iontovými kanály (Chen a Jiang, 2010). U některých rostlin hrají anorganické ionty v osmotickém přizpůsobení důležitější roli než organické osmolyty. Patakas a kol. (2002) uvádějí, že produkce organických osmolytů je metabolicky nákladnější než akumulovat dostatečně vysoký obsah iontů z půdy.

Významnou otázkou zůstává podíl jednotlivých osmoticky aktivních látek na osmotickém přizpůsobení. Osmolyty, které se hromadí při osmotickém přizpůsobení jsou velmi rozmanité. Bylo prokázáno, že v průběhu osmotického přizpůsobení se hromadí cukry, jako je sacharóza, glukóza a fruktóza (Sánchez a kol., 1998). Nicméně podíl cukrů na osmotickém přizpůsobení je obecně nižší, přičemž u čiroku se cukry podílely na osmotickém přizpůsobení přibližně 30 %, u hrachu 7-17 % a u slunečnice jen 7 % (Jones a Turner, 1980; Sánchez a kol., 1998). Naproti tomu anorganické kationty a anionty, zejména draslík, hořčík, chloridy a dusičnany, se na osmotickém přizpůsobení podílely u čiroku 52 %, u řepky 30-60 % a u slunečnice 73 % (Jones a Turner, 1980; Ma a Turner, 2006). Bylo rovněž prokázáno, že prolin a glycin-betain se zvyšují, když rostlina reaguje na nedostatek vody (Ma a Turner, 2006; Nio a kol., 2011; Wang a kol., 2019). Příspěvek prolinu a glycin-betainu k osmotickému přizpůsobení je ovšem rovněž relativně nízký (Bohnert a Shen, 1998; Turner, 2018), a jejich příspěvek se zvyšuje až při pomalejším a delším vysychání (Nio a kol., 2011). Je ovšem zřejmé že osmotické přizpůsobení je poměrně komplexní jev, při kterém je udržován turgor, a na kterém se podílí hormonální signál (ABA) z kořenů, vedoucí k uzavírání průduchů, zastavení růstu listů, a udržení turgoru díky zvýšené akumulaci osmoticky aktivních látek. Současně se na osmotickém přizpůsobení podílí elasticita buněk a pletiv (Turner, 2018).

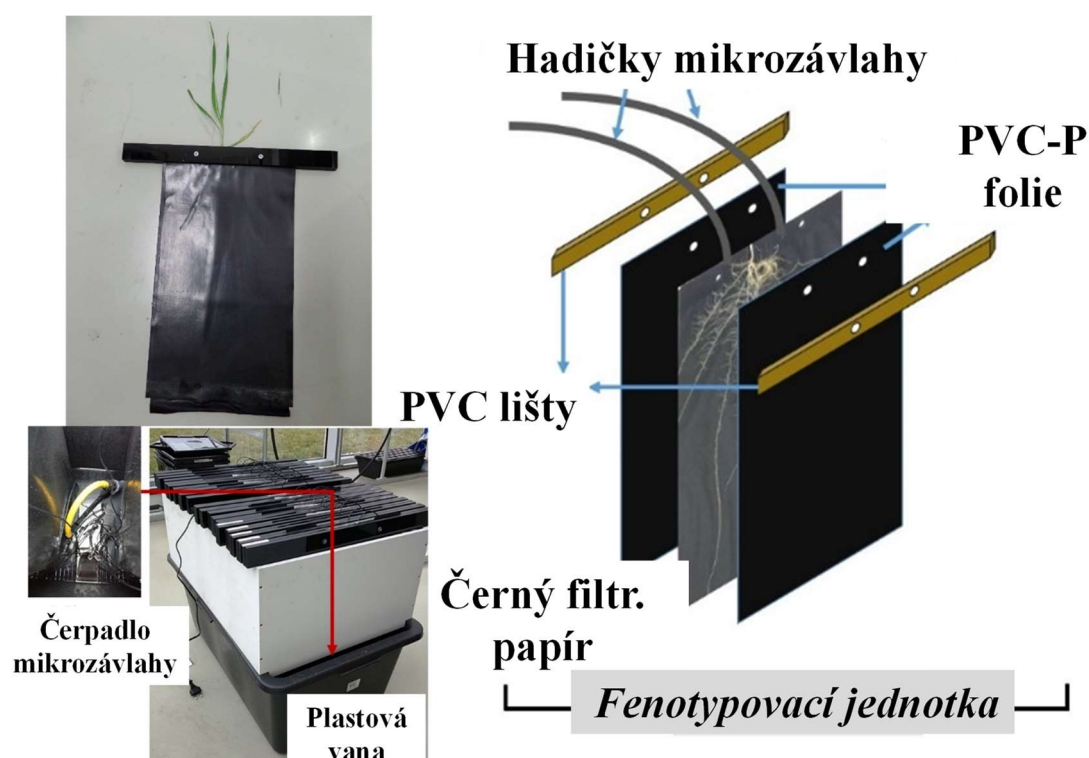
Vzhledem k tomu, že osmotický potenciál klesá jednak díky akumulaci osmolytů a jednak díky vysychání rostliny, je stanovení osmotického přizpůsobení poměrně obtížné souběžně s indukcí stresu sucha. Proto se doporučuje měřit osmotický potenciál při plném turgoru (dostatečná závlaha), porovnávat relativní změnu osmotického potenciálu při dostatečné závlaze a za sucha a nebo měřit souběžně s osmotickým potenciálem relativní obsah vody a korigovat změnu osmotického potenciálu na tuto hodnotu (Turner, 2018). K osmotickému přizpůsobení dochází, pokud se relativní obsah vody nemění a osmotický potenciál klesá. Jestliže osmotický potenciál klesá společně s poklesem relativního vodního potenciálu, jedná se o efekt zvýšení koncentrace vlivem ztráty vody (Morgan, 1980). Vzhledem k tomu, že

osmotické přizpůsobení je na jednu stranu indukováno působením poklesu stavu vody v rostlině, a na druhou stranu stav vody v rostlině přímo ovlivňuje osmotický potenciál a vede tak k nadhodnocení osmotického přizpůsobení, doporučuje se měření osmotického potenciálu provádět po opětovné re-hydrataci rostliny (přes noc) či korigovat hodnotu osmotického potenciálu na relativní obsah vody v listech (Turner, 2018).

2.5 Vyhodnocení architektury kořenů u ječmene pomocí 2D fenotypovacího systému – vliv genotypu a výživy

2.5.1 Vlastní metodika experimentu

V rámci tohoto experimentu byl dokončen vývoj a validována funkčnost 2D fenotypovacího systému založeného na kultivaci kořenů na černém filtračním papíře. Fenotypovací systém (obr. 3) se skládal z plastové vany sloužící jako zásobník živného roztoku, na níž byl dále postaven plastový rám, který zvyšoval výšku vany na 55 cm, a který umožňoval přesné a stabilní posazení jednotlivých fenotypovacích jednotek. Do každé vany bylo možné umístit maximálně 36 fenotypovacích jednotek (36 jednotlivých rostlin). Fenotypovací jednotka byla vždy tvořena dvěma PVC lištami, které byly k sobě sešroubovány tak, aby držely černý filtrační papír mezi dvěma silnými černými foliemi. Základem každé fenotypovací jednotky (obr. 3) byl list černého filtračního papíru (typ 551, Hahnemühle FineArt GmbH, Dassel, Německo) o rozměrech 25 × 50 cm pokrytý z obou stran černou plastovou (PVC-P) fólií o rozměrech 25 × 50 cm (Aquaplast 805, Fatra a.s., Napajedla, Česká republika) a tloušťce 0,5 mm. Při založení experimentu byly černé PVC lišty rozšroubovány, na spodní polovinu byla položena černá folie, na ni pak černý filtrační papír, který byl navlhčen ručním rozstřikovačem, a v místě otvoru v liště bylo vloženo naklíčené zrno. To bylo následně překryto bílým filtračním papírem o velikosti 10 x 10 cm a ten znovu navlhčen ručním rozstřikovačem. Současně byly vloženy hadičky mikrozávlahy umístěné po obou stranách otvoru pro semeno ve vzdálenosti 3 cm. Pro mikrozávlahové hadičky byly vyvrtány do lišt vodící otvory. Následně byly přiložena druhá folie pak druhá polovina lišty, tak aby všechny tři otvory v obou lištách lícovaly (1 větší otvor pro semeno a 2 menší otvory po stranách pro hadičky mikrozávlahy), a středový otvor vytvořil prostor pro růst kořenů i nadzemních částí rostlin. Lišty byly následně sešroubovány dvěma šrouby a celá jednotka vložena do kultivační vany. Hadičky mikrozávlahy byly napojeny na čerpadlo mikrozávlahového systému (Grow in AG, Berlín, Německo) (obr. 3). Čerpadlo s rozdělovačem bylo umístěno na dně vany se zásobníkem a živný roztok byl přiváděn hadičkami mikrozávlahy do dvou kanálek v každé fenotypovací jednotce. Živný roztok protékal kořenovým systémem na filtračním papíru gravitačně a odkapával zpět do zásobní vany.



Obr. 3 Schéma uspořádání fenotypovací jednotky (vpravo), sestavená fenotypovací jednotka s rostoucím ječmenem (vlevo nahoře) a celý systém v jedné vaně včetně detailu čerpadla mikrozávlahy (vlevo dole)

Experiment byl proveden se dvěma odrůdami jarního ječmene (Barke a Bojos). Osivo obou odrůd bylo poskytnuto z genové banky ječmene Zemědělského výzkumného ústavu Kroměříž s. r. o., Česká republika. Odrůdy byly vybrány na základě svých kontrastních morfologických vlastností nadzemních částí. Obilky byly naklíčeny na navlhčeném klíčícím papíru po dobu 48 h při 26 °C ve tmě. Naklíčené obilky byly poté přesazeny do fenotypovací jednotky a rostliny byly podrobeny čtyřem variantám výživy, které poskytovaly Knopovy hydroponické roztoky: kompletní živný roztok (Kontrola, NPK+), deficit dusíku (N-), deficit fosforu (P-) a deficit draslíku (K-). Složení živných roztoků je uvedeno v tabulce 1. Hodnota pH všech živných roztoků se pohybovala mezi 5 a 6 a pH byla kontrolována každé dva dny. Živný roztok byl vyměňován každých 7 dní experimentu. Kultivace rostlin probíhala v řízených podmínkách růstových komor FS-SI 4600 (PSI, Drásov, CZ) (obr. 4). Rostliny byly pěstovány 28 dní od přesazení v režimu 15 h den a 9 h noc. Minimální noční teplota byla nastavena na 20 °C a maximální denní teplota na 30 °C. Maximální relativní vlhkost vzduchu během noci byla nastavena na 80 % a minimální během noci na 60 %. Maximální intenzita fotosynteticky

aktivního záření byla $680 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Noční hodnoty byly udržovány konstantní po dobu 9 h, zatímco denní maximum bylo udržováno po dobu 3 h a hodnoty se plynule měnily z denního maxima na noční minimum a z nočního minima na denní maximum (po dobu 6 h ráno a 6 h odpoledne). Každá kombinace variant (odrůda \times živiny) byla třikrát replikována a randomizována v rámci fenotypovacího systému - vany (randomizace odrůd) a dále randomizována v čase (každých 7 dní) výměnou mezi jednotlivými růstovými komorami (randomizace variant výživy).



Obr. 4 Rostliny ječmene kultivované na 2D fenotypovacích jednotkách (v rámci jedné kultivační vany) v růstové komoře FS-SI 4600 - varianta deficitu dusíku (N-)

Na konci experimentu s deficitem živin byly snímky kořenů pořízeny digitální zrcadlovkou Pentax K-x (Ricoh Imaging Company, Ltd., Tokio, Japonsko) upevněnou na stativu ze vzdálenosti přibližně 60 cm od snímaného objektu (obr. 5). Byla použita citlivost ISO-800, velikost clony F4 a rychlost závěrky 1/10 sekundy. Rozlišení snímků bylo 6500 pixelů na cm^2 . Následně byly parametry architektury kořenů vyhodnoceny pomocí volně dostupného programu SmartRoot (Université Catholique de Louvain, Belgie, Lobet a kol., 2011) založeného (plug-in) na softwaru ImageJ. Parametry, které byly vyhodnoceny představují: celková délka seminálních kořenů (TSL), celková délka laterálních kořenů (TLL), celková

plocha kořenů (TSA), celkový objem kořenů (TRV), průměr kořenů (ARD), průměrný úhel větvení (ABA), celkový počet laterálních kořenů (TNL) a hustota laterálních kořenů (LD).

Tabulka 1 Složení Knopových živných roztoků pro kompletní výživu (kontrola, NPK+), variantu deficitu dusíku (N-), variantu nedostatku fosforu (P-) a variantu nedostatku draslíku (K-).

Sloučenina	Množství (g/l)	Kontrola (NPK+)	Deficit N (N-)	Deficit P (P-)	Deficit K (K-)
Ca (NO ₃) ₂	1,0 g	√	-	√	√
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,25 g	√	√	√	√
FeCl ₃ .6H ₂ O	0,01 g	√	√	√	√
KH ₂ PO ₄	0,25 g	√	√	-	√
KCl	0,125 g	√	√	√	-
NaCl	0,09 g	-	-	-	√
CaCl ₂	0,03 g	-	√	-	-

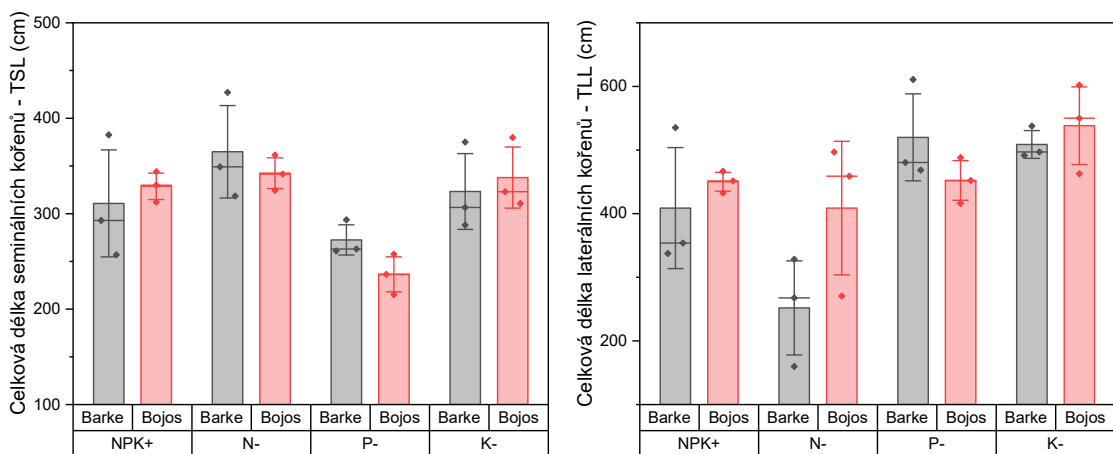


Obr. 5 Snímání kořenů pomocí digitální kamery Pentax K-x ze vzdálenosti asi 60 cm (vpravo) a snímek kořenového systému ječmene (vlevo).

2.5.2 Výsledky vyhodnocení architektury kořenového systému

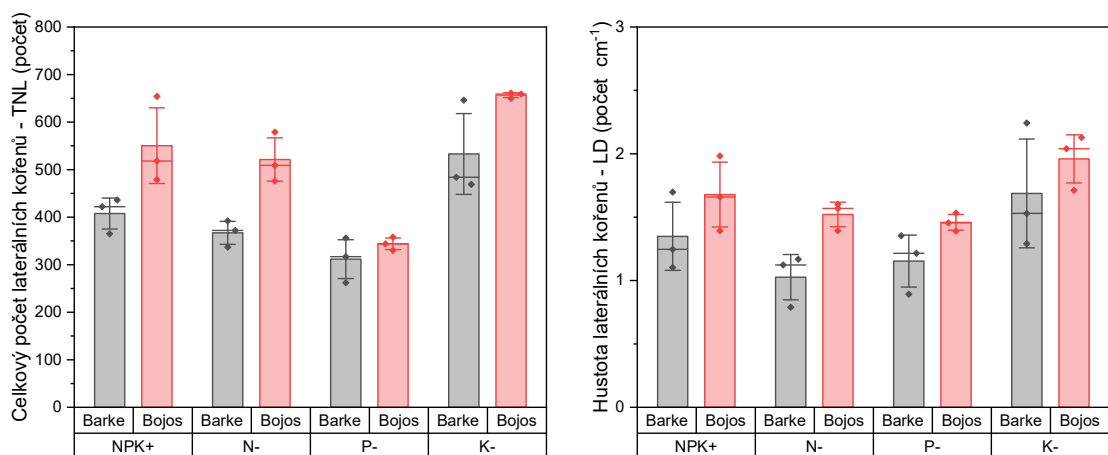
Vyhodnocení celkové délky seminálních (TSL – total seminal root length) a celkové délky laterálních kořenů (TLL – total lateral root length) ukazuje odlišnou reakci těchto dvou kategorií kořenů na výživu, ale i určité odlišnosti v reakci obou genotypů ječmene (obr. 6).

Délka seminálních kořenů se mírně zvyšuje vlivem deficitu dusíku, a naopak se zkracuje vlivem deficitu fosforu. Relativní vliv deficitu dusíku ve srovnání s kontrolou (NPK+) je vyšší u odrůdy Barke, zatímco vliv deficitu fosforu je větší u odrůdy Bojos. Vliv deficitu draslíku se na délce seminálních kořenů projevil minimálně. Vliv deficitu živin na délku laterálních kořenů se projevil značně odlišně pro jednotlivé genotypy. Ačkoliv u obou odrůd vykazoval nedostatek dusíku pokles celkové délky laterálních kořenů, tento byl výrazný u odrůdy Barke, a naopak minimální u odrůdy Bojos. Zatímco u odrůdy Barke vedl deficit fosforu i draslíku ke zvýšení délky laterálních kořenů ve srovnání s kontrolou (NPK+), u odrůdy Bojos se tento vliv projevil pouze pro deficit draslíku.



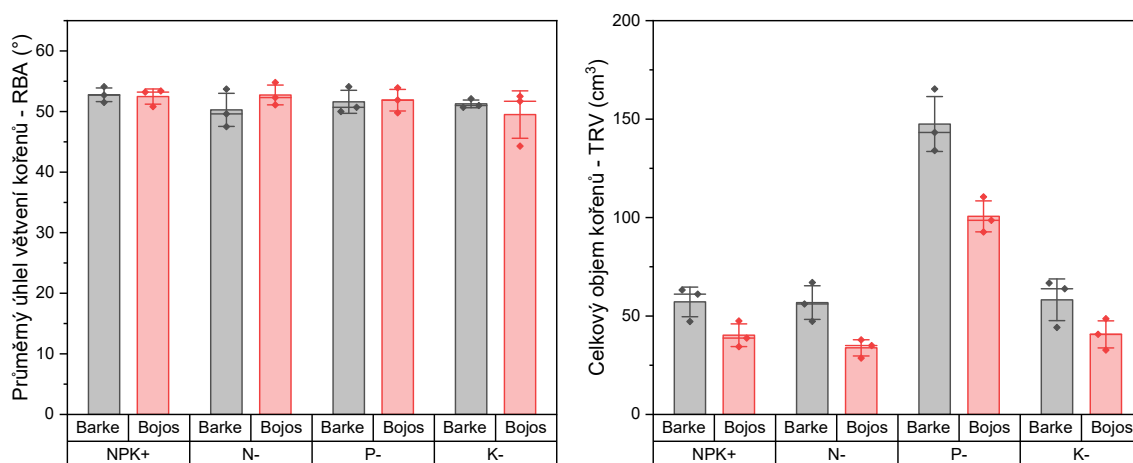
Obr. 6 Vyhodnocení vlivu deficitu výživy jednotlivými živinami na délku seminálních kořenů (TSL, vlevo) a délku laterálních kořenů (TLL, vpravo) u odrůd ječmene Barke (šedé sloupce) a Bojos (světle červené sloupce). Sloupce reprezentují průměr, vodorovná čára medián, chybové úsečky 1,5 násobek střední chyby průměru a body představují jednotlivá měření. NPK+ plná výživa dusíkem, fosforem a draslíkem, N- deficit dusíku, P- deficit fosforu, K- deficit draslíku ($n=3$).

Vyhodnocení celkového počtu laterálních kořenů (TNL – total lateral root number) a hustoty laterálních kořenů (LD – lateral root density), vykazuje obdobné charakteristiky jak z pohledu výživy, tak i efektu genotypu ječmene. Rozdíly jsou ovšem obecně vyšší a průkaznější u celkového počtu laterálních kořenů. Zásadní vliv zde má odrůda, přičemž u odrůdy Bojos je pozorován vyšší počet laterálních kořenů. Současně je pozorován pokles počtu laterálních kořenů při nedostatku fosforu a nárůst při nedostatku draslíku. Vliv fosforu je přitom vyšší u odrůdy Bojos, zatímco vliv draslíku ve srovnání s kontrolou (NPK+) je výraznější u odrůdy Barke. Hustota laterálních kořenů byla rovněž vyšší u odrůdy Bojos napříč všemi variantami výživy. Pozorované rozdíly mezi odrůdami jsou ovšem nižší než v případě celkového počtu laterálních kořenů. Rovněž efekt výživy je v případě hustoty laterálních kořenů nižší než pro celkový počet laterálních kořenů. Zatímco nárůst hustoty vlivem deficitu draslíku byl pozorován u obou odrůd, podobně jako v případě celkového počtu laterálních kořenů, pokles hustoty laterálních kořenů byl u odrůdy Barke zaznamenán pro deficit dusíku a u odrůdy Bojos pro deficit fosforu. Obecně jsou ale oba tyto efekty nízké.



Obr. 7 Vyhodnocení vlivu deficitu výživy jednotlivými živinami na celkový počet laterálních kořenů (TNL, vlevo) a hustotu laterálních kořenů (LD, vpravo) u odrůd ječmene Barke (šedé sloupce) a Bojos (světle červené sloupce). Sloupce reprezentují průměr, vodorovná čára medián, chybové úsečky 1,5 násobek střední chyby průměru a body představují jednotlivá měření. NPK+ plná výživa dusíkem, fosforem a draslíkem, N- deficit dusíku, P- deficit fosforu, K- deficit draslíku (n=3).

Vyhodnocení úhlu větvení kořenů (RBA – root branching angle) vykazuje jen minimální rozdíly nejen mezi odrůdami, ale také mezi variantami výživy. V případě odrůdy Barke je patrný velmi malý pokles úhlu větví při deficitu dusíku, zatímco u odrůdy Barke byl podobný pokles pozorován při deficitu draslíku. Naopak parametr celkového objemu kořenů (TRV – total root volume), který v sobě integruje plochu kořenů a jejich průměr, vykazuje významné efekty odrůdy ječmene a zejména pak výživy fosforem. Obecně větší celkový objem kořenů vykazuje odrůda Barke. Deficit fosforu pak více jak dvojnásobně zvyšuje celkový objem kořenů u obou odrůd (mírně více u odrůdy Barke), zatímco vliv deficitu dusíku či draslíku na celkový objem kořenů je minimální a neprůkazný.



Obr. 8 Vyhodnocení vlivu deficitu výživy jednotlivými živinami na průměrný úhel větvení kořenů (RBA, vlevo) a celkový objem kořenů (TRV, vpravo) u odrůd ječmene Barke (šedé sloupce) a Bojos (světle červené sloupce). Sloupce reprezentují průměr, vodorovná čára medián, chybové úsečky 1,5 násobek střední chyby průměru a body představují jednotlivá měření. NPK+ plná výživa dusíkem, fosforem a draslíkem, N- deficit dusíku, P- deficit fosforu, K- deficit draslíku (n=3).

2.6 Vyhodnocení osmotického přizpůsobení u genotypů ječmene

2.6.1 Vlastní metodika experimentu

V roce 2019 proběhl experiment v růstových komorách založený na nově vyvinutém systému pro fenotypizaci kořenů. Tento 2D systém spočívá v mírné modifikaci metodiky kultivace kořenů na černém filtračním papíře (typ 551, Hahnemühle FineArt GmbH, Dassel, Německo) o rozměrech 25 x 50 cm, uvedené v předchozí části. Rostliny jsou uchyceny ve fenotypovací jednotce, tvořené dvěma PVC lištami, které jsou k sobě sešroubovány tak, aby svíraly černý filtrační papír a černou plastovou (PVC-P) fólií o rozměrech 25 × 50 cm (Aquaplast 805, Fatra a.s., Napajedla, Česká republika), ke které po navlhčení černý filtrační papír přilne. Folie zajišťuje, že nedojde k protržení filtračního papíru při manipulaci s rostlinami v průběhu měření. Mezi lištami je vyvrtán otvor, který umožňuje umístění semene a prorůstání kořenů dolů otvorem po filtračním papíře, zatímco nadzemní část vyrůstá otvorem nahoru nad lištou (obr. 9). Tento způsob kultivace zajišťuje oproti hydroponickému pěstování dostatek vzduchu pro kořeny a současně možnost, aby kořeny rostly v přirozeném úhlu jako v půdě, díky opoře filtračního papíru, a tím umožňuje snadné a objektivní vyhodnocení parametrů architektury kořenů.



Obr. 9 Umístění rostliny v liště a růst kořenů na černém filtračním papíře

Kořenové prostředí s filtračním papírem je udržováno jako aeroponické pomocí mlžících trysek, které rozstříkují Hoaglandův živný roztok, ten pak stéká po filtračním papíře dolů do kultivační vany, a z ní hadicí do nádržky ze které je znovu čerpán tlakovým čerpadlem přes filtr do mlžících trysek. Mlžení probíhalo intervalově: 10 minut mlžení a 20 minut pauza s řízením pomocí spínacích hodin. Živný roztok byl vyměňován za nový v intervalu 4 dny. Experiment probíhal na celkem 50 genotypech ječmene ve 3 opakováních, přičemž byly vybrány odrůdy běžně pěstované v sortimentu jarního ječmene a současně genové zdroje z genové banky v Kroměříži, u kterých byla snaha zařadit genotypy s předpokládanou nebo již publikovanou tolerancí k suchu, a současně zajistit co největší variabilitu původu. Osivo bylo nejprve ponecháno po dobu 2-3 dnů k naklíčení na vlhkém filtračním papíře, a pouze klíčící zrna byla umístěna do fenotypovacích jednotek. PVC lišty byly rozšroubovány, na spodní polovinu byla položena černá folie, na ni pak černý filtrační papír, který byl navlhčen ručním rozstříkovačem, a v místě otvoru v liště bylo vloženo naklíčené zrno. To bylo následně překryto bílým filtračním papírem o velikosti 10 x 10 cm a ten znovu navlhčen ručním rozstříkovačem. Následně byla přiložena druhá polovina lišty, tak aby otvor v obou lištách lícovál a vytvořil tak prostor pro růst kořenů i nadzemních částí rostlin. Lišty byly následně sešroubovány dvěma šrouby a celá jednotka vložena do kultivační vany. Mezi dvě jednotky, které byly k sobě vloženy filtračními papíry, byla vložena další lišta, ve které byl uprostřed vyvrtán otvor s vloženou mikrotryskou zajišťující mlžení. Lišty byly k sobě přitlačeny těsně tak, aby nedocházelo k pronikání světla ke kořenům. Po vložení do růstových komor byla ke každé trysce připojena hadička a tyto pak byly napojeny přes manifold k tlakovému membránovému čerpadlu s integrovaným přetlakovým by-pass ventilem SHURflo 8000-543-250 (SHURflo, Costa Mesa, California, USA).

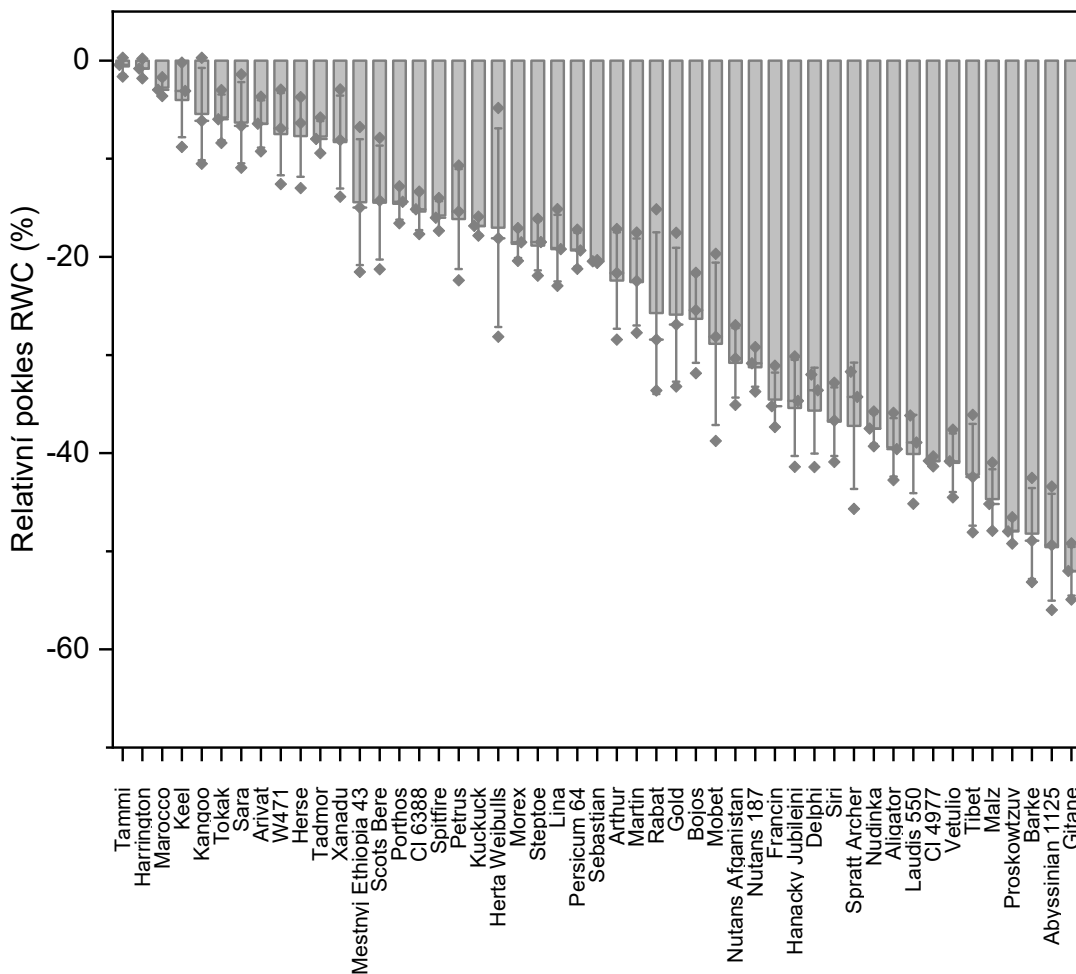
Následně probíhala kultivace v růstových komorách FytoScope FS-SI 3400 (PSI, Drásov, CZ) při režimu 12 h den/12 h noc, s teplotami 20 °C/15 °C, relativní vlhkostí vzduchu 60%/90% a intenzitou fotosynteticky aktivní radiace 1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ /0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ až do fáze 3-4 odnoží (DC 23-24). Růstové fáze DC 23-24 bylo dosaženo po 24 dnech kultivace. Následně byl indukován osmotický stres použitím 20% roztoku polyethylenglykolu (PEG-6000). Roztok PEG byl aplikován stejným způsobem jako živný roztok, pouze mlžící trysky byly vyměněny za standardní kuželové trysky s velkým průměrem. Indukce osmotického stresu probíhala 48 hodin. Veškerá měření a odběry byly vždy provedeny na hlavní odnoži případně na odnoži srovnatelné velikostí s hlavní odnoží, a to vždy na 2-3 listu shora, který byl plně vyvinutý, ale současně ještě nevykazoval známky stárnutí. Před indukcí a po indukci stresu byla provedena

veškerá nedestruktivní fyziologická měření a stanovení relativního obsahu vody v listech (Relative Water Content – RWC). RWC bylo stanoveno tak, že segment listu byl zvážen s přesností na tisícinu gramu (čerstvá hmotnost – FW), následně vložen do uzavíratelné nádoby naplněné destilovanou vodou a nádoba pak ponechána po dobu 12 hodin v chladničce při 4 °C pro hydrataci (dosažení turgidního stavu). Po uplynutí této doby byl segment listu vyndán, osušen pomocí buničiny a filtračního papíru a opět zvážen s přesností na tisícinu gramu (turgidní hmotnost – TW) a pak přesunut do sušárny a vysušen po dobu 48 hodin při teplotě 70 °C (suchá hmotnost – DW). RWC pak bylo vypočteno následovně:

$$RWC = 100 \times ((FW - DW) / (TW - DW))$$
. Světlem saturovaná rychlost asimilace CO₂ (A_{max}), stomatální vodivost (G_s), rychlost transpirace (E) a efektivita využití vody (WUE) byly měřeny pomocí gazometrického systému Li-6800 (LI-COR Biosciences, Lincoln, Nebraska, USA). Parametry chlorofylové fluorescence byly měřeny pomocí přístroje FluorPen po temnotní adaptaci ca 20 minut pomocí listových klipů. Chlorofylová fluorescence byla měřena s využitím tzv. protokolu rychlé fluorescenční indukce (křivka OJIP). Osmotický potenciál byl měřen pomocí psychrometrického systému PSYPRO (Wescor Inc., Logan, Utah, USA), přičemž segmenty byly okamžitě po odštížení zamrazeny v tekutém dusíku a uchovány v hlubokomrazícím boxu, před vlastním měřením pak ponechány po dobu 1 h k roztání ve vialce a okamžitě vylišovány na listovém lisu LP-27 (Wescor Inc.) na terčík filtračního papíru. Na něm pak byl v komůrce C52 (Wescor Inc.) změřen osmotický potenciál.

2.6.2 Výsledky měření osmotického přizpůsobení

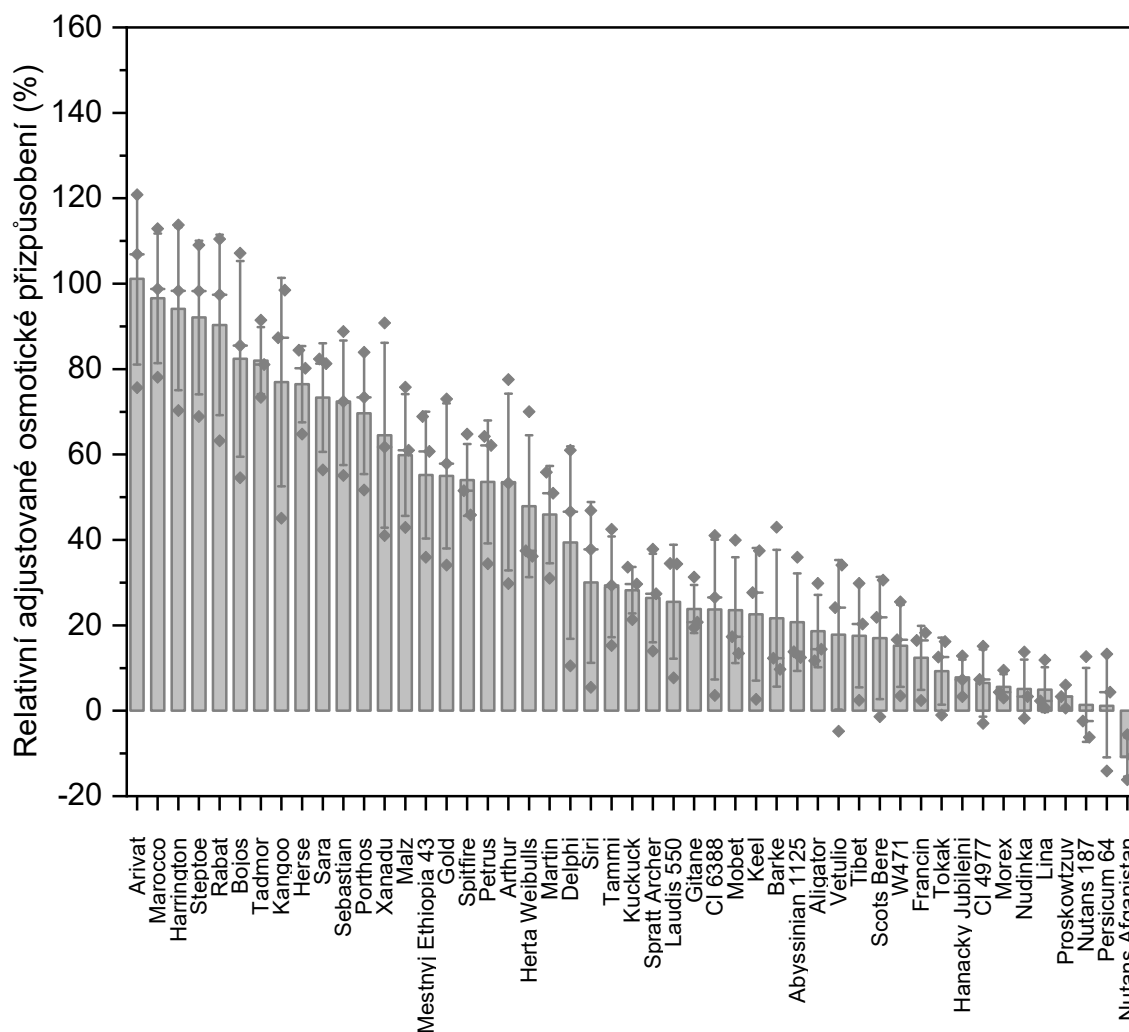
Výsledky redukce relativního obsahu vody (RWC) ukazují, že mezi genotypy existují značné rozdíly v odezvě na vysychání, přičemž rozsah poklesu RWC činí od několika % u tolerantních genotypů až po hodnoty okolo 50 % u citlivých genotypů (obr. 10). K tolerantním genotypům z pohledu poklesu RWC lze řadit např. Tammi, Harrington, Marocco, Keel, Tokak, Sara, Arivat, W471, Herse, Tadmor, a Xanadu u nichž redukce RWC nepřesahuje 10 %. Naopak k velmi citlivým genotypům z pohledu poklesu RWC patří Gitane, Abyssinian 1125, Barke, Proskowtzu nebo Malz (obr. 10).



Obr. 10 Relativní pokles relativního obsahu vody v listech (RWC) v důsledku působení osmotického stresu u jednotlivých genotypů ječmene, seřazený od nejmenšího po největší

Vzhledem k tomu, že osmotický potenciál po indukci osmotického stresu je ovlivněn nejen schopností osmotického přizpůsobení, tedy schopností snižovat osmotický potenciál díky akumulaci osmoticky aktivních látek, ale jedná se do značné míry rovněž o výsledek poklesu relativního obsahu vody, bylo před vlastním posouzením osmotického přizpůsobení přistoupeno k vyhodnocení tzv. adjustovaného osmotického potenciálu (obr. 11). Ten je vypočítán tak, že naměřené hodnoty osmotického potenciálu jsou nejprve vynásobeny hodnotou RWC vydělené 100. Relativní změna osmotického potenciálu i relativní změna adjustovaného osmotické přizpůsobení vykazují do určité míry odlišné výsledky v porovnání s redukcí RWC, nicméně řada genotypů vykazuje podobné charakteristiky reakce na osmotický stres u obou znaků. Z pohledu osmotického přizpůsobení patří k tolerantním genotypům např.

Arivat, Marocco, Harrington, Steptoe, Rabat, Bojos, Tadmor, Kangoo, Herse, Sara či Sebastian. Všechny tyto genotypy vykazovaly zvýšení adjustovaného osmotického potenciálu nejméně o 50 %. Naopak nízké osmotické přizpůsobení bylo patrné u genotypů Nutans Afganistan, Persicum 64, Nutans 187, Proskowtzův, Lina, Nudinka, Morex, CI 4977 či Hanácký Jubilejní, které vykazovaly zvýšení adjustovaného osmotického potenciálu jen do 10 % (obr. 11).



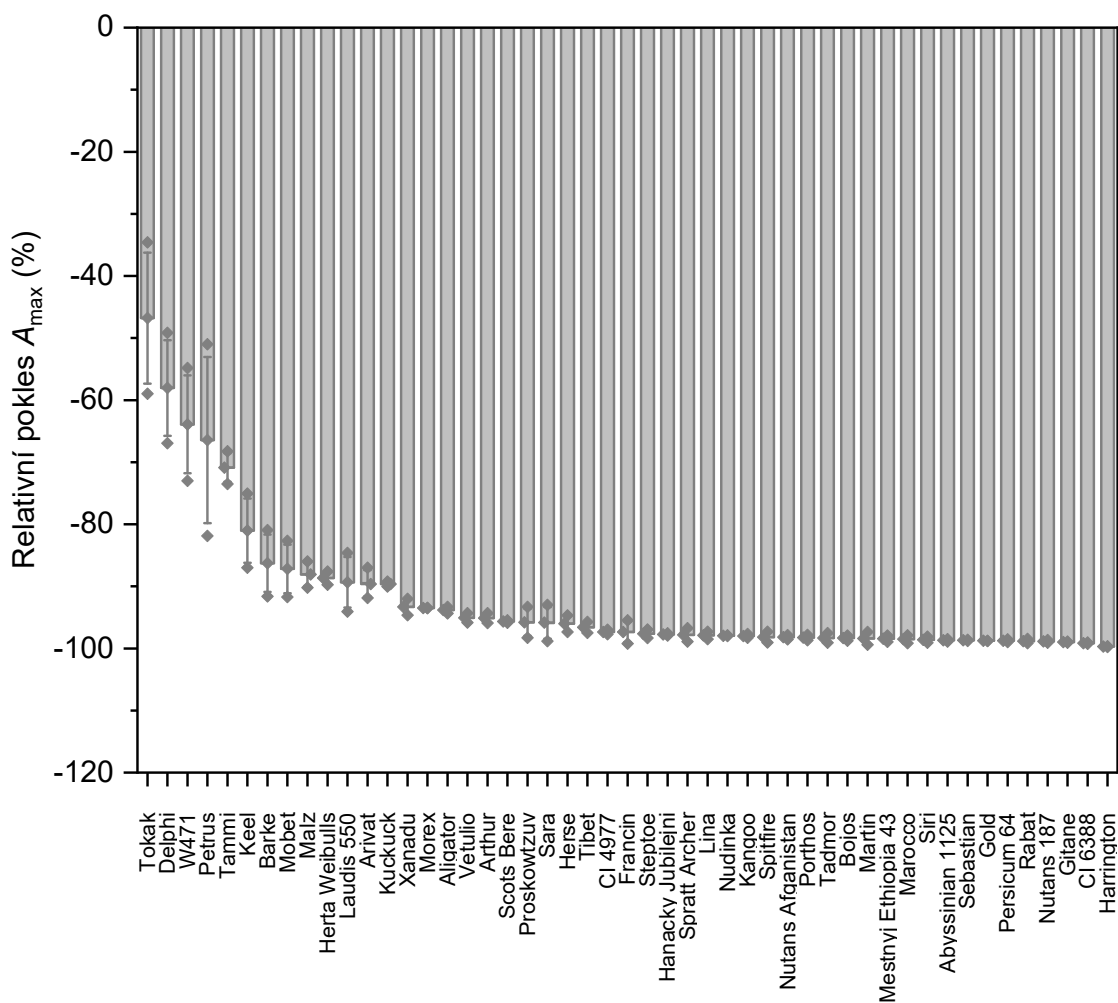
Obr. 11 Relativní zvýšení/pokles adjustovaného osmotického potenciálu – relativní osmotické přizpůsobení v důsledku působení osmotického stresu u jednotlivých genotypů ječmene, seřazený od největšího po nejmenší

Gazometrické parametry zahrnující rychlost světlem saturované fotosyntetické asimilace CO₂ (A_{max}), rychlost transpirace, stomatální vodivost a efektivitu využití vody byly stanoveny pomocí gazometrického systému Li-6800 (obr. 12) a vykazují výrazně vyšší citlivost

k působení sucha než ostatní měřené parametry (obr. 13). Více než 2/3 genotypů vykazuje např. redukcí rychlosti fotosyntetické asimilace CO₂ vyšší jak 90 % a pomocí tohoto parametru nelze mezi odrůdami odlišit jednoznačně toleranci k suchu. Ke genotypům, které z pohledu rychlosti asimilace CO₂ vykazují nejvyšší toleranci pak patří Tokak, Delphi, W471, Petrus, Tammi, u kterých pokles A_{\max} nepřesáhl 80 % (obr. 13).

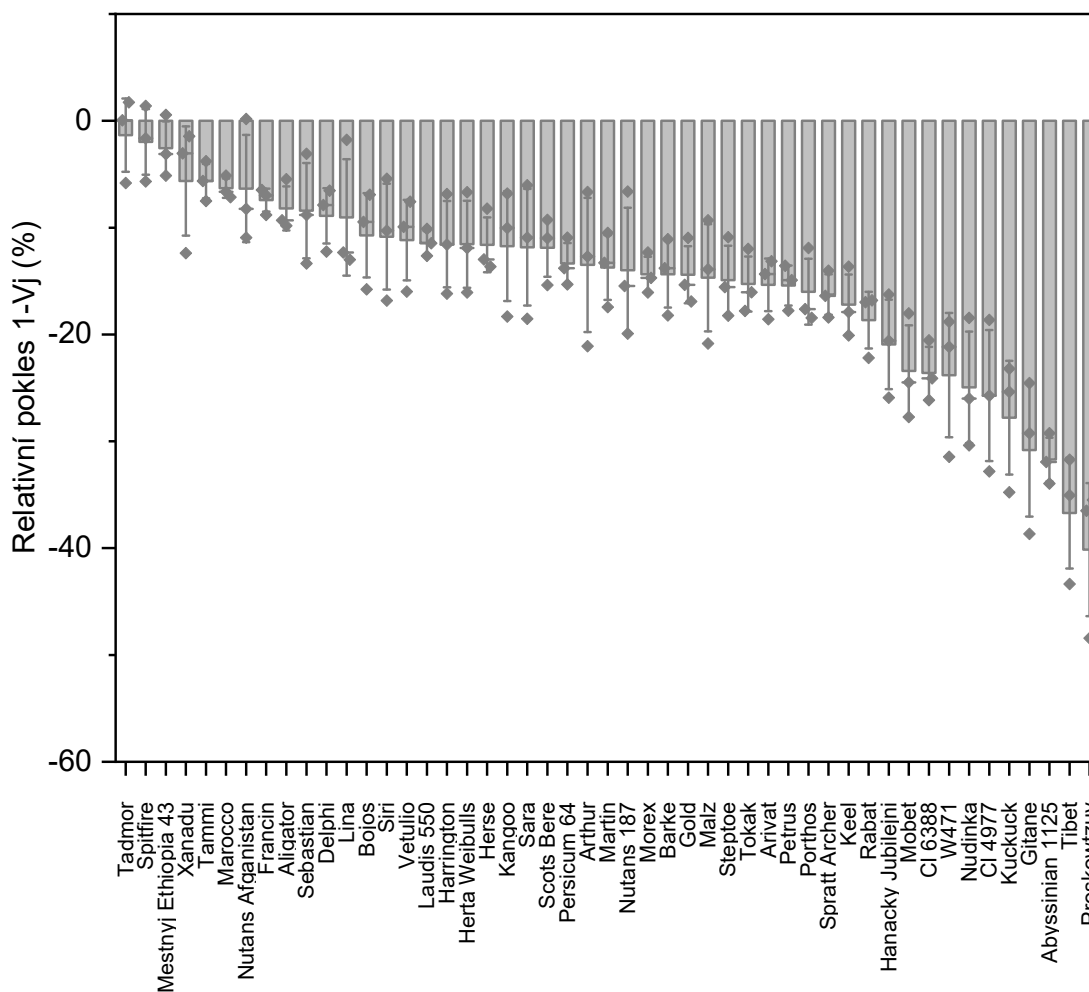


Obr. 12 Měření fotosyntetických parametrů pomocí přístroje Li-6800 na rostlinách ječmene kultivovaných na fenotypovacích jednotkách



Obr. 13 Relativní pokles rychlosti světlem saturované fotosyntetické asimilace CO_2 (A_{max}) vlivem působení osmotického stresu u jednotlivých genotypů ječmene, seřazený od nejmenšího po největší

Parametry chlorofylové fluorescence byly naopak ovlivněny působením osmotického stresu méně (obr. 14). Relativní pokles parametru 1-Vj byl nejnižší u genotypů Tadmor, Spitfire, Mestnyj Ethiopia 43, Xanadu, Tammi, Marocco, Nutans Afghanistan, Francin, Aligator, Sebastian, Delphi a Lina, u kterých pokles nepřesáhl 10 %. Naopak pokles pod 30 % byl zaznamenán u genotypů Proskowzuv, Tibet a Abyssinian 1125 (obr. 14).

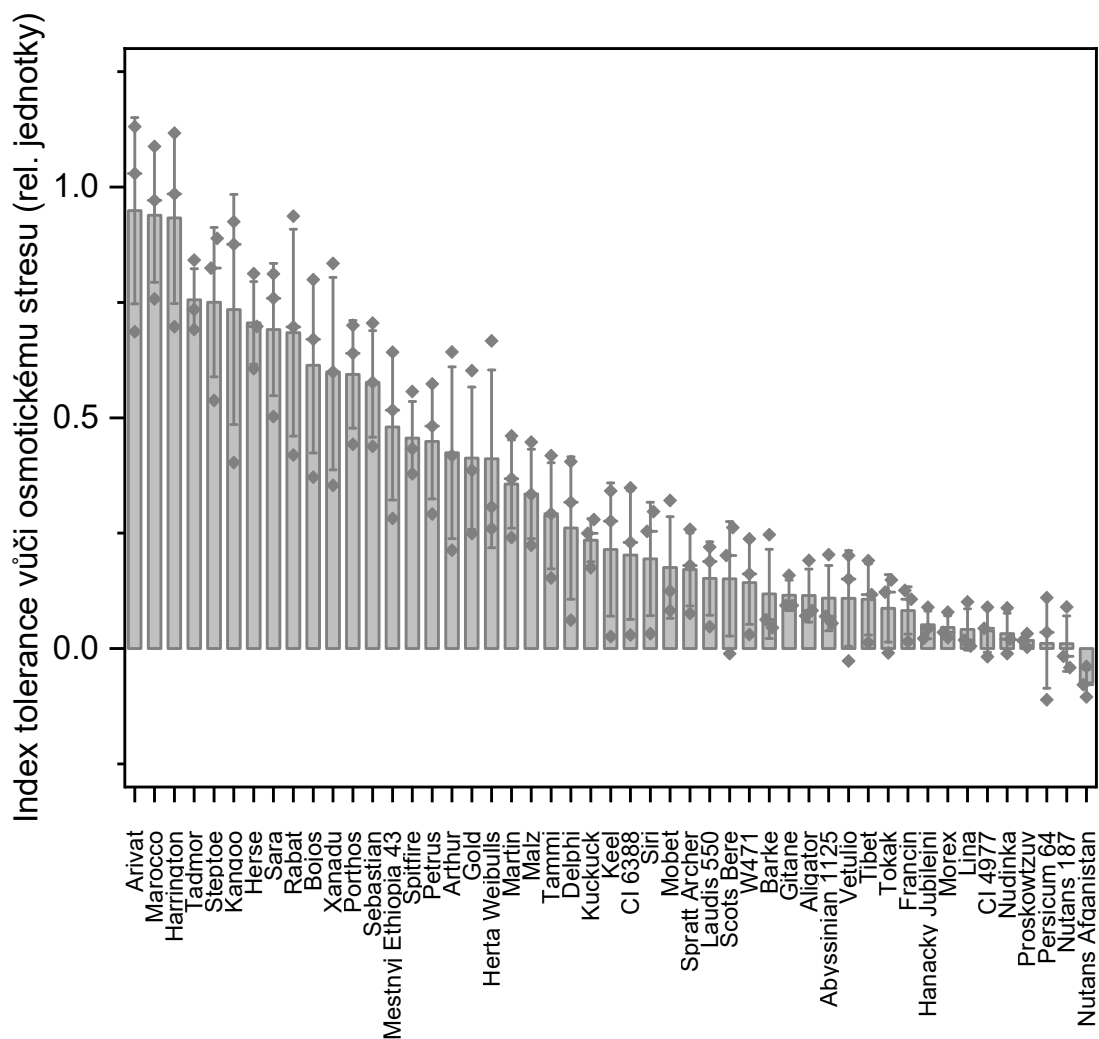


Obr. 14 Relativní pokles parametru chlorofylové fluorescence 1-Vj vlivem působení osmotického stresu u jednotlivých genotypů ječmene, seřazený od nejmenšího po největší

Vzhledem k tomu, že tolerance k suchu je obvykle komplexní znak, skládající se z řady dílčích znaků, a rovněž proto, že většina znaků přispívajících k toleranci vede buďto k omezení výdeje vody nebo ke schopnosti příjmu vody i při nižší dostupnosti vody, byl proto dále pro vyhodnocení komplexní tolerance k osmotickému stresu zaveden tzv. index tolerance k osmotickému stresu, který zahrnuje jak parametr relativní redukce RWC, tak i relativní adjustované osmotické přizpůsobení. Index tolerance (ITOS) je vypočítán následovně:

$$\text{ITOS} = (\text{rAOP}/100) \times ((100 - \text{rRWC})/100),$$

kde rAOP je relativní adjustovaný osmotický potenciál a rRWC je relativní změna RWC.



Obr. 15 Index tolerance vůči suchu (ITOS) vypočtený z relativní redukce RWC a relativního adjustovaného osmotického přizpůsobení vlivem působení osmotického stresu u jednotlivých genotypů ječmene, seřazený od nejvyššího po nejmenší

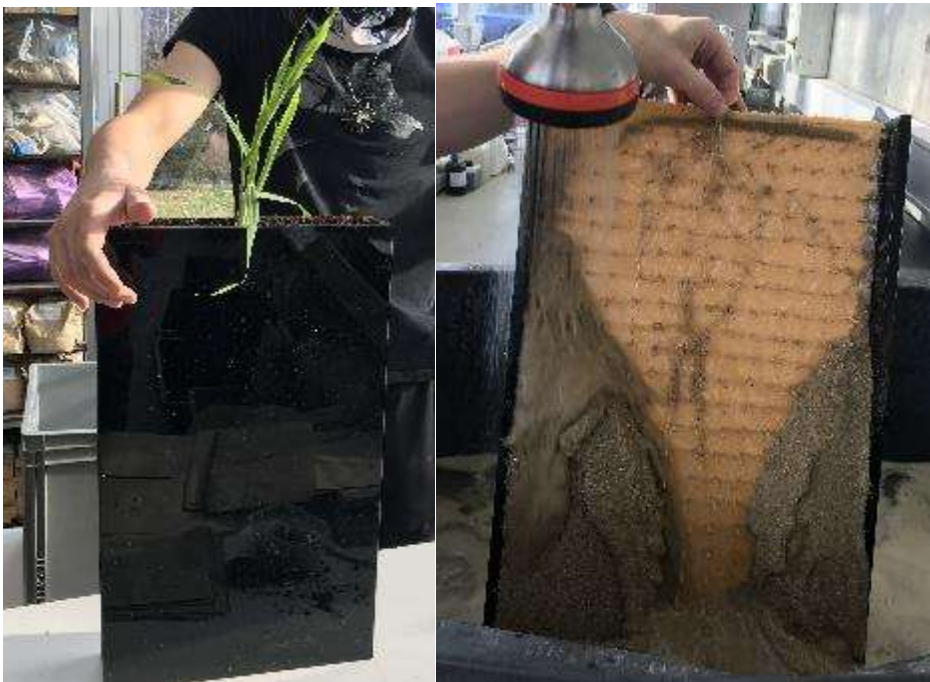
Z genotypů, které tedy vykazují nejvyšší schopnost omezovat ztráty vody při osmotickém stresu a současně vykazují vysokou schopnost adjustovaného osmotického přizpůsobení dosahují nejlepších výsledků genotypy Arivat, Marocco, Harrington, Tadmor, Steptoe, Kangoo, Herse, Sara či Rabat. Z pěstovaných odrůd pak nejvyšší hodnoty indexu tolerance dosahují Bojos, Sebastian a Spitfire (obr. 15). Tyto výsledky dobře korespondují i s výsledky fenotypizačního experimentu, který jsme provedli na automatizované fenotypovací platformě (Findurová a kol., 2023). V rámci tohoto experimentu byly genotypy Herse a Sara potvrzeny jako odolné vůči suchu, genotyp Laudis 550 jako středně odolný až náchylnější vůči suchu a genotypy Abyssinian 1125 a Persicum 64 patřily k vysoce náchylným vůči suchu.

Je nutné poznamenat, že řada z genotypů, které dosahují vysokého indexu tolerance (IT) vykazuje vysoké hodnoty poklesu fotosyntetických parametrů v důsledku osmotického stresu. To souvisí se schopností těchto genotypů uzavřít průduchy, čímž dochází k omezení výdeje vody. Fakticky tím ale také dochází k zastavení fotosyntetické fixace CO₂. Při krátkodobém působení osmotického stresu či stresu suchem neovlivňují tyto procesy zásadněji růst a vývoj rostlin. Při dlouhodobém působení stresu suchem či osmotického stresu (více jak týden) ovšem již dochází k nevratným poškozením metabolismu, růstu a vývoje rostlin. Parametr rychlosti asimilace CO₂ je tak vhodný pro vyhodnocení efektu sucha a tolerance genotypů až po delším období, a spíše až po opětovné krátkodobé regeneraci rostlin, protože v případě stresovaných rostlin rychlost asimilace CO₂ vykazuje významný pokles u všech genotypů, a mezi genotypy nejsou patrné rozdíly.

2.7 Vyhodnocení vztahu mezi parametry kořenového systému a tolerancí k suchu

2.7.1 Vlastní metodika experimentu

V rámci tohoto experimentu byl porovnáván kořenový systém tří genotypů jarního ječmene pěstovaných v rhizoboxech naplněných pískem a jejich reakce na mírné suchu, zejména pak odezva fotosyntetické asimilace CO₂. Pro tento experiment byly vybrány tři genotypy jarního ječmene: BCC093 (silný kořenový systém; Jia a kol., 2019), BCC719 (slabý kořenový systém; Jia a kol., 2019) a středně suchovzdorná odrůda Unicorn (Hasanuzzaman a kol., 2019). Osivo genotypů BCC093 a BCC719 bylo dodáno z Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Německo. Osivo genotypu Unicorn bylo získáno ze Zemědělského výzkumného ústavu Kroměříž, s. r. o., Česká republika. Obilky byly naklíčeny na vlhkém filtračním papíru při pokojové teplotě po dobu tří dnů. Pro pokus byly použity pouze naklíčené obilky jednotné velikosti. Naklíčené obilky byly následně přesazeny do rhizoboxů (vnitřní rozměr 49 × 28 × 3 cm) obsahujících síť z hrotů (v hustotě 2 x 2 cm) krytou plastovou fólií, jak popisuje (Nguyen a Stangoulis, 2019), naplněných navlhčeným křemenným pískem (obr. 16).



Obr. 16 Rhizobox s rostlinou ječmene (vlevo) a otevřený rhizobox při promývání písku z kořenů (vpravo). Síť z hrotů slouží k zachycení kořenů v původní poloze

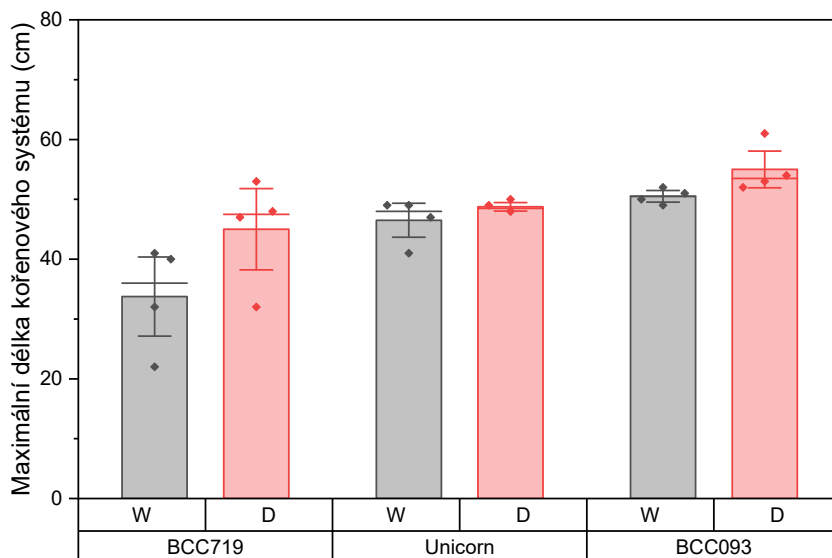
Rostliny byly pěstovány uvnitř růstových komor Fytoscope FS-SI 4600 (PSI, Drásov, Česká republika) tak, že rhizoboxy byly umístěny pod úhlem 70°, v režimu simulujícím denní průběh fotosynteticky aktivní radiace (PAR), relativní vlhkosti a teploty. Denní režim měl dvě konstantní fáze a to denní, od 10:00 do 15:00 s teplotou vzduchu 25 °C, relativní vlhkostí vzduchu 60 % a intenzitou PAR 1200 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, a pak noční od 20:00 do 5:00 s teplotou 15 °C, relativní vzdušnou vlhkostí 90 % a PAR 0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Mezi těmito dvěma fázemi se všechny parametry lineárně plynule měnily. Rostliny byly zavlažovány dvakrát týdně 100 ml plného roztoku Hoagland's No. 2 Basal Salt Mixture (Sigma-Aldrich), který byl aplikován rovnoměrně po celém povrchu písku, aby byl písek v celém profilu vlhký. Deset dní po vyklíčení bylo zahájena simulace sucha, a to tak, že polovině rostlin byla na následujících 10 dní zastavena závlaha. Na konci období sucha byla horní třetina vrstvy písku v rhizoboxech vystavených suchu vyschlá, zatímco spodní dvě třetiny zůstaly stále vlhké. To představovalo povrchové vysychání během rané fáze sucha, kdy je ještě možné dosáhnout vody v hlubších vrstvách půdy. Na konci tohoto období, kdy rostliny dosáhly počátku fáze odnožování (BBCH 21), byla provedena všechna měření. Světlem saturovaná rychlost fotosyntetické asimilace CO₂ (A_{max}) a stomatální vodivost byly stanoveny pomocí gazometrického systému LI-6800 (LI-COR, Nebraska, USA) na prvním plně vyvinutém listu během denního maxima PAR. Podmínky v listové komoře gazometrického systému odpovídaly podmínkám v růstové komoře. Nadzemní část rostlin byla následně odstřižena na úrovni povrchu písku a nadzemní část byla vysušena v sušárně při 70 °C do konstantní hmotnosti pro získání hmotnosti sušiny nadzemní biomasy. Poté byly rhizoboxy otevřeny a písek byl jemně odstraněn proudem vody (obr. 17). Kořeny byly opatrně vyjmuty z hrotů vytažením podpůrné fólie a naskenovány. Kořeny byly následně vyjmuty z fólie, narovnány a byla změřena maximální délka kořenů. Poté byly kořeny vysušeny v sušárně při 70 °C do konstantní hmotnosti, aby se získala hmotnost sušiny podzemní biomasy. Suchá nadzemní a podzemní biomasa byla použita k výpočtu poměru kořenů a nadzemních částí (root-to-shoot ratio). Skeny kořenového systému byly analyzovány pomocí programu ImageJ. Celková promítnutá plocha kořenů byla určena jako procento bílých pixelů (kořenů) na černém pozadí a snímky byly dále segmentovány do pruhů představujících jeden centimetr hloubky při plné šířce rhizoboxu. Pro vyhodnocení distribuce hustoty kořenového systému byla vyhodnocena plocha kořenů v hloubce 0-15 cm a její poměr k celkové ploše kořenů. Hloubka zakořenění byla vyhodnocena jako maximální hloubka, do které pronikly kořeny.



Obr. 17 Kořenový systém ječmene zachycený po promytí písku na folii a síti z hrotů

2.7.2 Výsledky měření kořenového systému a fyziologických parametrů

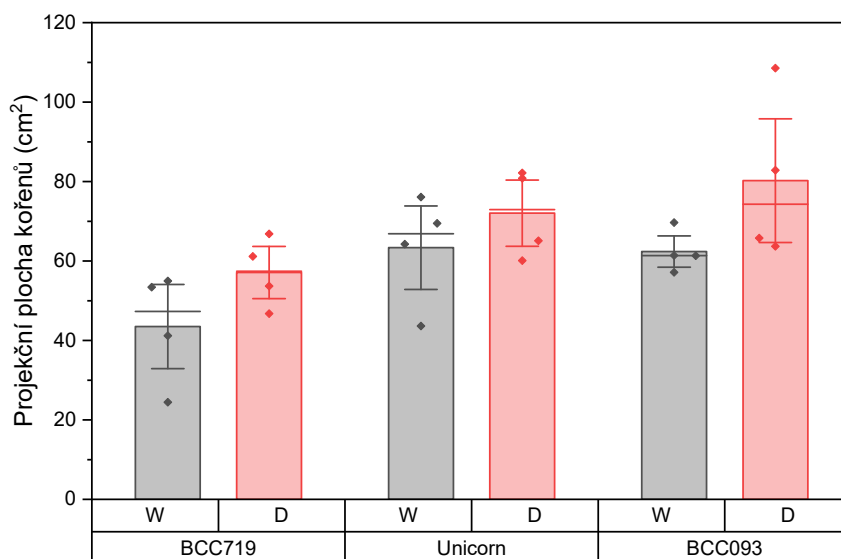
Vyhodnocení maximální délky kořenového systému podporuje informace z literatury, dokladující, že genotyp BCC093 vykazuje nejmohutnější kořenový systém, zatímco genotyp BCC719 naopak nejslabší kořenový systém (obr. 18). Odrůda Unicorn se pak vyznačuje v tomto porovnání střední maximální délkou kořenů. Současně je z těchto měření zřejmé, že indukce sucha podporuje větší hloubku zakořenění, což je nejvíce patrné u genotypu BCC719. Tyto výsledky dokladují, že metodika kultivace v rhizoboxech naplněných pískem a se sítí hrotů umožňuje velmi dobré posouzení rozdílů mezi genotypy z pohledu jejich schopnosti hloubky zakořenění.



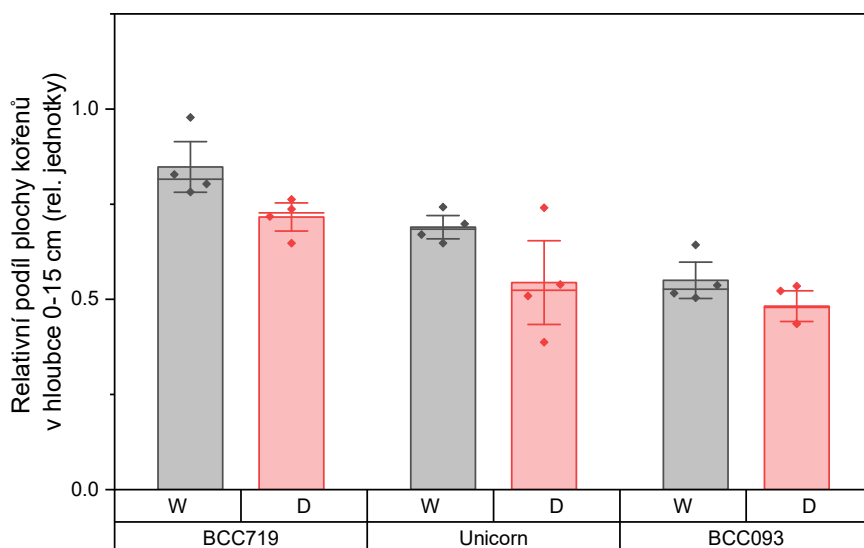
Obr. 18 Maximální hloubka zakořenění u jednotlivých genotypů ječmene s dostatečnou závlahou (*W* – šedé sloupce) a vystavených mírnému stresu suchem (*D* – světle červené sloupce). Sloupce reprezentují průměr, vodorovná čára medián, chybové úsečky 1,5 násobek střední chyby průměru a body představují jednotlivá měření ($n=4$).

Podobně také projekční plocha kořenů vykazovala rozdíly odpovídající deklarované mohutnosti kořenového systému dle literatury (obr. 19). Rozdíly v projekční ploše kořenů byly méně patrné v podmínkách dostatečné závlahy mezi genotypy Unicorn a BCC093, zvýraznily se ale vlivem mírného sucha. Sucho vedlo ke zvýšení projekční plochy kořenů u všech genotypů, a za sucha bylo patrné odstupňování od genotypů s nejmenším kořenovým systémem (BCC719) až po genotyp s nejmohutnějším kořenovým systémem (BCC093).

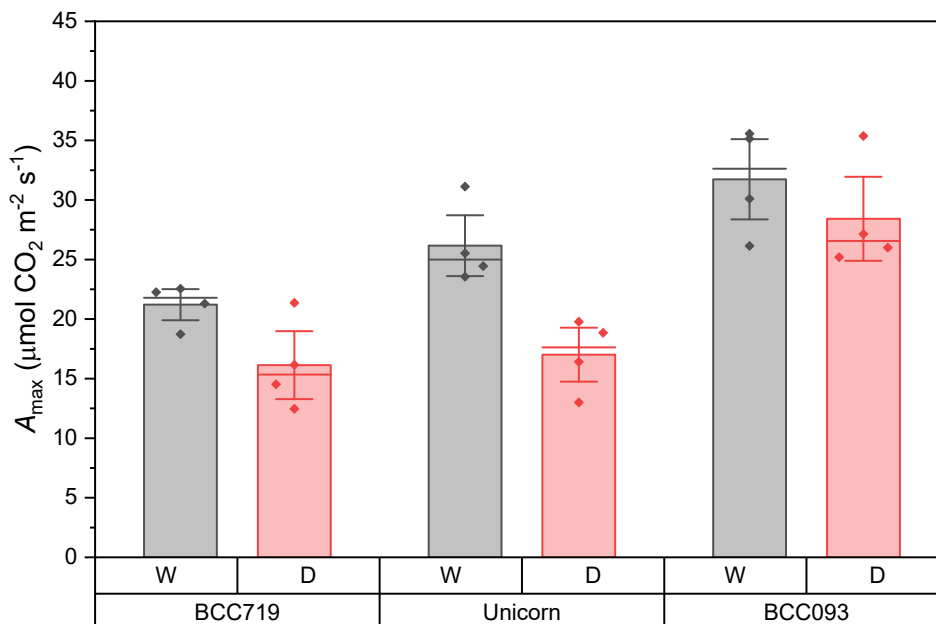
Jednoznačný a opačný trend je patrný pro podíl kořenů ve svrchní vrstvě 0-15 cm. Genotyp se slabším kořenovým systémem BCC719 má vysoký podíl kořenů ve svrchní vrstvě (okolo 80 %), zatímco u genotypu s mohutným kořenovým systémem BCC093 činí tento podíl jen necelých 60 % (obr. 20). Podíl kořenů ve svrchní vrstvě rovněž klesá při vystavení mírnému stresu suchem, a to podobně u všech genotypů.



Obr. 19 Projekční plocha kořenů u jednotlivých genotypů ječmene s dostatečnou závlahou (*W* – šedé sloupce) a vystavených mírnému stresu suchem (*D* – světle červené sloupce). Sloupce reprezentují průměr, vodorovná čára medián, chybové úsečky 1,5 násobek střední chyby průměru a body představují jednotlivá měření ($n=4$).



Obr. 20 Relativní podíl projekční plochy kořenů v hloubce 0-15 cm vůči celkové projekční ploše kořenů u jednotlivých genotypů ječmene s dostatečnou závlahou (*W* – šedé sloupce) a vystavených mírnému stresu suchem (*D* – světle červené sloupce). Sloupce reprezentují průměr, vodorovná čára medián, chybové úsečky 1,5 násobek střední chyby průměru a body představují jednotlivá měření ($n=4$).



Obr. 21 Světlem saturovaná rychlost fotosyntetické asimilace CO_2 (A_{max}) u jednotlivých genotypů ječmene s dostatečnou závlahou (W – šedé sloupce) a vystavených mírnému stresu suchem (D – světle červené sloupce). Sloupce reprezentují průměr, vodorovná čára medián, chybové úsečky 1,5 násobek střední chyby průměru a body představují jednotlivá měření ($n=4$).

Světlem saturovaná rychlost asimilace CO_2 (A_{max}) vykazuje významnou odezvu na působení mírného sucha, a to zejména u genotypu Unicorn a BCC719. Současně je patrné, že mezi genotypy existují rovněž rozdíly i při dostatečném zásobení vodou, přičemž genotyp se slabým kořenovým systémem (BCC719) má nejnižší A_{max} a naopak genotyp s nejmohutnějším kořenovým systémem vykazuje nejvyšší A_{max} . Rovněž je zřejmé, že genotyp s mohutným kořenovým systémem (BCC093) vykazuje nižší odezvu na působení sucha, a tudíž i vyšší toleranci k suchu (obr. 21).

3 Shrnutí dosažených výsledků a přínosy pro praxi

Předložená metodika popisuje a představuje na příkladech tři metodické přístupy využitelné pro vyhodnocení tolerance ječmene či dalších plodin vůči suchu, založené na charakteristikách kořenového systému rostlin. Jedná se v zásadě o postupy fenotypování architektury kořenového systému a vyhodnocení osmotického přizpůsobení genotypů ječmene. První metodický přístup je založený na 2D fenotypování, kdy kořenový systém roste na černém filtračním papíře a tento je rovnoměrně zavlažován živným roztokem pomocí mikrozávlahy. Druhý systém vychází z prvního metodického přístupu, ale je založen na aeroponické kultivaci kořenů a je proto vhodnější z pohledu přístupu ke kořenům či navození osmotického stresu. Poslední metodický přístup je založený na kultivaci kořenů v rhizoboxech plněných pískem, ve kterých je vložena síť z hrotů zadržujících pozici kořenů při vymývání písku. Cílem všech tří metodických přístupů je navrhnout pro šlechtitele ječmene postupy, které by jim usnadnily selekci genotypů tolerantních k suchu na základě znaků založených na architektuře kořenového systému či osmotickém přizpůsobení. Všechny tyto znaky jsou velmi obtížně sledovatelné v polních podmínkách. Dostupné metody využitelné v laboratorních či skleníkových podmínkách (založené na hydroponii či standardních rhizoboxech) jsou navíc buďto velmi komplikované, nebo neumožňují snadné vyhodnocení požadovaných znaků. Předložené metody zajišťují pro šlechtitele relativně snadné postupy jak vyhodnotit u velkého počtu genotypů znaky klíčové pro toleranci vůči suchu jako je hloubka zakořenění, hustota kořenového systému, jeho distribuce v hloubkovém profilu apod. Metodika rovněž poukazuje na některá úskalí vyhodnocení osmotického přizpůsobení, a navrhuje postup, jak omezit při vyhodnocování vliv ztráty vody na osmotický potenciál. Výsledky prvního metodického přístupu rovněž dokladují, že navržené fenotypovací systémy mohou být použity také pro účely vyhodnocení efektu živin na změnu architektury kořenového systému, ale podobně lze tyto systémy využít rovněž pro vyhodnocení efektu regulátorů růstu či jiných pomocných látek. Vedle klíčového využití ve šlechtění má tedy metodika potenciál využití pro testování hnojiv, pomocných látek a regulátorů růstu. Výhodou prvních dvou metodik je také snadný přístup ke kořenovému systému, který je významný například při vyhodnocení infekce nebo naopak kolonizace kořenů rostlině prospěšnými mikroorganismy a umožňuje tak hodnocení různých zásahů ochrany rostlin, včetně přípravků na ochranu rostlin po infekci a také snadnou inokulaci a vyhodnocení stimulačního efektu bakterií či mykorhizních hub. Metodika je tudíž využitelná rovněž v oblasti vývoje a zkoušení přípravků na ochranu rostlin, pomocných látek a stimulujících mikroorganismů.

4 Srovnání novosti postupů

Předložená metodika využívá inovativní postupy, které sice částečně vycházejí z dostupných metod, ale jejich zkoušením a vývojem byly postupně odstraňovány jejich nedostatky a byly tak vyvinuty metody, které jsou zásadně odlišné od aktuálně dostupných metodik. Především princip kultivace kořenů na černém filtračním papíře v kombinaci s mikrozávlahou či aeroponií žádná z dostupných metod nevyužívá. Hlavními výhodami přitom je uchycení kořenů na papíře a tudíž možnost vyhodnocení parametrů jako je úhel kořenů, hustota postranních (laterálních) kořenů, délka kořenů apod. Další výhodou je velmi snadné skenování kořenů s vysokým rozlišením, které zajišťuje kontrast mezi světlými kořeny a černým pozadím, a to i v případě tenkých kořenů. Tento fenotypizační systém rovněž umožňuje snadnou kontrolu a ošetření například při nadměrném výskytu bakterií a plísní. Jak fenotypování kořenů, tak zejména selekce genotypů na osmotické přizpůsobení jsou celosvětově v počátcích, a to i u jiných plodin než u ječmene. Pro Českou republiku je otázka šlechtění na zvýšenou toleranci k suchu naprosto zásadní pro zajištění stabilních výnosů zemědělských plodin. S ohledem na nedostupnost fenotypovacích technik však bylo šlechtění zaměřené na zvýšení hloubky zakořenění, zvýšení mohutnosti kořenového systému zejména ve větších hloubkách a také šlechtění na osmotické přizpůsobení doposud prakticky opomíjeno. Metodika tak přináší nástroje, které umožňují výrazné posílení a podporu šlechtění zemědělských plodin na toleranci vůči suchu.

5 Popis uplatnění metodiky

Metodika bude perspektivně sloužit pro dvě skupiny uživatelů. První a klíčovou skupinu představují šlechtitelé ječmene a dalších plodin, kteří budou metodiku využívat pro selekci genotypů s hlubokým kořenovým systémem, vyšší hustotou kořenů v hlubších vrstvách půdy či genotypů s vysokou schopností osmotického přizpůsobení. Druhou skupinu uživatelů představují uživatelé z oblasti vývoje a výroby hnojiv, přípravků na ochranu rostlin, pomocných látek či přípravků se stimulačními mikroorganismy, pro které je důležitý přístup ke kořenovému systému k provedení inokulace, aplikace přípravků či hnojiv a vyhodnocení efektu na kořenový systém. Nepřímo mohou metodiku využívat firmy zaměřující se na výrobu fenotypovacích linek, přičemž v České republice sídlí jedna z firem, které v této oblasti představují světovou špičku (PSI Drásov). Tato firma se tak může inspirovat v dalším vývoji systému pro fenotypování kořenů a uplatnit výsledky a zkušenosti z této metodiky ve výrobě nových linek pro fenotypování kořenů.

6 Ekonomické aspekty uplatnění metodiky

Ekonomický přínos metodiky spočívá především ve snížení negativních dopadů sucha v ČR na výnos a kvalitu ječmene, zejména pak ječmene určeného pro výrobu sladu. Šlechtění ječmene na toleranci k suchu doposud probíhá zejména na základě výnosového hodnocení a hodnocení morfologických či fyziologických znaků nadzemních částí ječmene. Klíčové znaky pro zvýšení tolerance ječmene vůči suchu (zvýšení hloubky zakořenění, zvýšení hustoty kořenů v hlubších vrstvách půdy a osmotické přizpůsobení) jsou ve velké míře při šlechtění zanedbávány, protože projevy těchto znaků jsou skryty pod zemí, a jejich případný efekt je hodnocen jen nepřímo prostřednictvím výnosové odezvy. Přitom ale znaky spojené s kořenovým systémem rostlin mají vyšší potenciál eliminovat negativní dopady sucha než znaky spojené například se zkrácením vegetační doby, zvýšením efektivity využití vody nebo znaky oddálení senescence (stay-green). Jestliže počítáme, že v dlouhodobém průměru sucho způsobuje u ječmene pokles výnosů o ca 5-7 % a schopnost odrůd s hlubokým kořenovým systémem eliminovat tyto ztráty lze odhadnout mezi 50-75 %, tak se dostáváme na možnost zvýšení výnosů až o 4 %. Při pěstitelské ploše ječmene 200 tis. hektarů a průměrném výnosu 5 t/ha se může jednat při optimistickém scénáři až o 40 tis. tun úspory ročně. Při aktuálním podílu pěstování sladovnického a krmného jarního ječmene a aktuálních cenách se průměrná cena za 1 t jarního ječmene vyprodukovaného v ČR (bez ohledu na využití) pohybuje okolo 5 tis. Kč/t. Výsledná úspora při využití odrůd ječmene s hlubokým a mohutným kořenovým systémem a s osmotickým přizpůsobením na 25 % ploch může činit až okolo 50 mil. Kč za rok.

Další ekonomické přínosy plynou z využití metodiky firmami, které vyrábějí technologie pro fenotypování rostlin, vyvíjejí a zkoušejí přípravky na ochranu rostlin, pomocné látky, regulátory růstu, nebo biologické přípravky stimulující růst kořenů. V tomto případě lze očekávat ekonomické přínosy v jednotkách milionů Kč ročně.

7 Seznam použité související literatury

- Abd Allah, A. A., Badawy, S. A., Zayed, B. A., El-Gohary, A. A. (2010). The role of root system traits in the drought tolerance of rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Plant Production* 1, 621–631. doi: 10.21608/jpp.2010.86384
- Araus, J. L., Villegas, D., Aparicio, N., del Moral, L. F. G., El Hani, S., Rharrabti, Y., et al. (2003). Environmental Factors Determining Carbon Isotope Discrimination and Yield in Durum Wheat under Mediterranean Conditions. *Crop Science* 43, 170–180. doi: 10.2135/cropsci2003.1700
- Basso, B., Amato, M., Bitella, G., Rossi, R., Kravchenko, A., Sartori, L., et al. (2010). Two-Dimensional Spatial and Temporal Variation of Soil Physical Properties in Tillage Systems Using Electrical Resistivity Tomography. *Agronomy Journal* 102, 440–449. doi: 10.2134/agronj2009.0298
- Bates, T. R., Lynch, J. P. (2001). Root hairs confer a competitive advantage under low phosphorus availability. *Plant and Soil* 236, 243–250. doi: 10.1023/A:1012791706800
- Battisti, R., Sentelhas, P. C. (2017). Improvement of Soybean Resilience to Drought through Deep Root System in Brazil. *Agronomy Journal* 109, 1612–1622. doi: 10.2134/agronj2017.01.0023
- Bektas, H., Hohn, C. E., Waines, J. G. (2016). Root and shoot traits of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) landraces and cultivars. *Euphytica* 212, 297–311. doi: 10.1007/s10681-016-1770-7
- Bengough, A. G., Gordon, D. C., Al-Menaie, H., Ellis, R. P., Allan, D., Keith, R., et al. (2004). Gel observation chamber for rapid screening of root traits in cereal seedlings. *Plant and Soil* 262, 63–70. doi: 10.1023/B:PLSO.0000037029.82618.27
- Bennie, A. T. P., Taylor, H. M., Georgen, P. G. (1987). An assessment of the core-break method for estimating rooting density of different crops in the field. *Soil and Tillage Research* 9, 347–353. doi: 10.1016/0167-1987(87)90059-6
- Blum, A. (2009). Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. *Field Crops Research* 112, 119–123. doi: 10.1016/j.fcr.2009.03.009
- Blum, A. (2017). Osmotic adjustment is a prime drought stress adaptive engine in support of plant production. *Plant, Cell & Environment* 40, 4–10. doi: 10.1111/pce.12800
- Blum, A., Shpiler, L., Golan, G., Mayer, J. (1989). Yield stability and canopy temperature of wheat genotypes under drought-stress. *Field Crops Research* 22, 289–296. doi: 10.1016/0378-4290(89)90028-2
- Blum, A., Zhang, J., Nguyen, H. T. (1999). Consistent differences among wheat cultivars in osmotic adjustment and their relationship to plant production. *Field Crops Research* 64, 287–291. doi: 10.1016/S0378-4290(99)00064-7
- Bodner, G., Nakhforoosh, A., Kaul, H.-P. (2015). Management of crop water under drought: a review. *Agron. Sustain. Dev.* 35, 401–442. doi: 10.1007/s13593-015-0283-4
- Bohnert, H. J., Shen, B. (1998). Transformation and compatible solutes. *Scientia Horticulturae* 78, 237–260. doi: 10.1016/S0304-4238(98)00195-2
- Boyer, J. S., Silk, W. K., Watt, M. (2010). Path of water for root growth. *Functional Plant Biol.* 37, 1105–1116. doi: 10.1071/FP10108
- Chen, H., Jiang, J.-G. (2010). Osmotic adjustment and plant adaptation to environmental changes related to drought and salinity. *Environ. Rev.* 18, 309–319. doi: 10.1139/A10-014

- Chen, Y. L., Dunbabin, V. M., Diggle, A. J., Siddique, K. H. M., Rengel, Z. (2011). Development of a novel semi-hydroponic phenotyping system for studying root architecture. *Functional Plant Biol.* 38, 355–363. doi: 10.1071/FP10241
- Chimenti, C. A., Pearson, J., Hall, A. J. (2002). Osmotic adjustment and yield maintenance under drought in sunflower. *Field Crops Research* 75, 235–246. doi: 10.1016/S0378-4290(02)00029-1
- Chloupek, O. (1977). Evaluation of the size of a plant's root system using its electrical capacitance. *Plant Soil* 48, 525–532. doi: 10.1007/BF02187258
- Clark, R. T., MacCurdy, R. B., Jung, J. K., Shaff, J. E., McCouch, S. R., Aneshansley, D. J., et al. (2011). Three-Dimensional Root Phenotyping with a Novel Imaging and Software Platform. *Plant Physiology* 156, 455–465. doi: 10.1104/pp.110.169102
- Comas, L. H., Anderson, L. J., Dunst, R. M., Lakso, A. N., Eissenstat, D. M. (2005). Canopy and environmental control of root dynamics in a long-term study of Concord grape. *New Phytologist* 167, 829–840. doi: 10.1111/j.1469-8137.2005.01456.x
- Comas, L. H., Mueller, K. E., Taylor, L. L., Midford, P. E., Callahan, H. S., Beerling, D. J. (2012). Evolutionary Patterns and Biogeochemical Significance of Angiosperm Root Traits. *International Journal of Plant Sciences* 173, 584–595. doi: 10.1086/665823
- Cortes, P. M., Sinclair, T. R. (1986). Water Relations of Field-Grown Soybean under Drought1. *Crop Science* 26, crops1986.0011183X002600050031x. doi: 10.2135/crops1986.0011183X002600050031x
- Dalton, F. N. (1995). In-situ root extent measurements by electrical capacitance methods. *Plant Soil* 173, 157–165. doi: 10.1007/BF00155527
- Deveaux, Y., Toffano-Nioche, C., Claisse, G., Thareau, V., Morin, H., Laufs, P., et al. (2008). Genes of the most conserved WOX clade in plants affect root and flower development in *Arabidopsis*. *BMC Evolutionary Biology* 8, 291. doi: 10.1186/1471-2148-8-291
- Doussan, C., Pierret, A., Garrigues, E., Pagès, L. (2006). Water Uptake by Plant Roots: II – Modelling of Water Transfer in the Soil Root-system with Explicit Account of Flow within the Root System – Comparison with Experiments. *Plant Soil* 283, 99–117. doi: 10.1007/s11104-004-7904-z
- Duvick, D. N., Smith, J. S. C., Cooper, M. (2003). “Long-Term Selection in a Commercial Hybrid Maize Breeding Program,” in *Plant Breeding Reviews* (John Wiley & Sons, Ltd), 109–151. doi: 10.1002/9780470650288.ch4
- Ehdaie, B., Layne, A. P., Waines, J. G. (2012). Root system plasticity to drought influences grain yield in bread wheat. *Euphytica* 186, 219–232. doi: 10.1007/s10681-011-0585-9
- Ehlers, W., Goss, M. (2016). The root - the plant's organ for water uptake. *Water dynamics in plant production*, 60–76.
- Ellis, T. W., Murray, W., Paul, K., Kavalieris, L., Brophy, J., Williams, C., et al. (2013). Electrical capacitance as a rapid and non-invasive indicator of root length. *Tree Physiology* 33, 3–17. doi: 10.1093/treephys/tps115
- Eshel, A., Beeckman, T. (2013). *Plant Roots: The Hidden Half, Fourth Edition*. CRC Press.
- Fageria, N. K., Baligar, V. C., Clark, R. (2006). *Physiology of Crop Production*. CRC Press.
- Fageria, N. K., Moreira, A. (2011). “Chapter Four - The Role of Mineral Nutrition on Root Growth of Crop Plants,” in *Advances in Agronomy*, ed. D. L. Sparks (Academic Press), 251–331. doi: 10.1016/B978-0-12-385531-2.00004-9
- Fang, Y., Xiong, L. (2015). General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. *Cell. Mol. Life Sci.* 72, 673–689. doi: 10.1007/s00018-014-1767-0

- Fettell, N., Bowden, P., McNee, T., & Border, N. (2010). Barley growth and development. *Industry and Investment NSW*.
- Findurová, H., Veselá, B., Panzarová, K., Pytela, J., Trtílek, M., Klem, K. (2023). Phenotyping drought tolerance and yield performance of barley using a combination of imaging methods. *Environmental and Experimental Botany* 209, 105314. doi: 10.1016/j.envexpbot.2023.105314
- Gallardo, M., Eastham, J., Gregory, P. J., Turner, N. C. (1996). A comparison of plant hydraulic conductances in wheat and lupins. *Journal of Experimental Botany* 47, 233–239. doi: 10.1093/jxb/47.2.233
- Garrity, D. P., O’Toole, J. C. (1995). Selection for Reproductive Stage Drought Avoidance in Rice, Using Infrared Thermometry. *Agronomy Journal* 87, 773–779. doi: 10.2134/agronj1995.00021962008700040027x
- Gaur, P. M., Krishnamurthy, L., Kashiwagi, J. (2008). Improving Drought-Avoidance Root Traits in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) —Current Status of Research at ICRISAT. *Plant Production Science* 11, 3–11. doi: 10.1626/pp.s.11.3
- Giuliani, S., Sanguineti, M. C., Tuberosa, R., Bellotti, M., Salvi, S., Landi, P. (2005). Root-ABA1, a major constitutive QTL, affects maize root architecture and leaf ABA concentration at different water regimes. *Journal of Experimental Botany* 56, 3061–3070. doi: 10.1093/jxb/eri303
- Gobu, R., Dash, G. K., Lal, J. P., Swain, P., Mahender, A., Anandan, A., et al. (2022). Unlocking the Nexus between Leaf-Level Water Use Efficiency and Root Traits Together with Gas Exchange Measurements in Rice (*Oryza sativa* L.). *Plants* 11, 1270. doi: 10.3390/plants11091270
- González, A., Martín, I., Ayerbe, L. (2008). Yield and Osmotic Adjustment Capacity of Barley Under Terminal Water-Stress Conditions. *Journal of Agronomy and Crop Science* 194, 81–91. doi: 10.1111/j.1439-037X.2007.00289.x
- Gregory, P. J., McGowan, M., Biscoe, P. V., Hunter, B. (1978). Water relations of winter wheat: 1. Growth of the root system. *The Journal of Agricultural Science* 91, 91–102. doi: 10.1017/S0021859600056653
- Haling, R. E., Richardson, A. E., Culvenor, R. A., Lambers, H., Simpson, R. J. (2010). Root morphology, root-hair development and rhizosheath formation on perennial grass seedlings is influenced by soil acidity. *Plant Soil* 335, 457–468. doi: 10.1007/s11104-010-0433-z
- Hammer, G. L., Dong, Z., McLean, G., Doherty, A., Messina, C., Schussler, J., et al. (2009). Can Changes in Canopy and/or Root System Architecture Explain Historical Maize Yield Trends in the U.S. Corn Belt? *Crop Science* 49, 299–312. doi: 10.2135/cropsci2008.03.0152
- Hargreaves, C. E., Gregory, P. J., Bengough, A. G. (2009). Measuring root traits in barley (*Hordeum vulgare* ssp. *vulgare* and ssp. *spontaneum*) seedlings using gel chambers, soil sacs and X-ray microtomography. *Plant Soil* 316, 285–297. doi: 10.1007/s11104-008-9780-4
- Hasanuzzaman, Md., Shabala, L., Brodribb, T. J., Zhou, M., Shabala, S. (2019). Understanding physiological and morphological traits contributing to drought tolerance in barley. *Journal of Agronomy and Crop Science* 205, 129–140. doi: 10.1111/jac.12307
- Henry, A., Cal, A. J., Batoto, T. C., Torres, R. O., Serraj, R. (2012). Root attributes affecting water uptake of rice (*Oryza sativa*) under drought. *Journal of Experimental Botany* 63, 4751–4763. doi: 10.1093/jxb/ers150
- Hernández, E. I., Vilagrosa, A., Pausas, J. G., Bellot, J. (2010). Morphological traits and water use strategies in seedlings of Mediterranean coexisting species. *Plant Ecol* 207, 233–244. doi: 10.1007/s11258-009-9668-2

- Hsiao, T. C., Xu, L. (2000). Sensitivity of growth of roots versus leaves to water stress: biophysical analysis and relation to water transport. *Journal of Experimental Botany* 51, 1595–1616. doi: 10.1093/jexbot/51.350.1595
- Hunt, J. R., Kirkegaard, J. A. (2011). Re-evaluating the contribution of summer fallow rain to wheat yield in southern Australia. *Crop Pasture Sci.* 62, 915–929. doi: 10.1071/CP11268
- Hurd, E. A. (1964). Root study of three wheat varieties and their resistance to drought and damage by soil cracking. *Can. J. Plant Sci.* 44, 240–248. doi: 10.4141/cjps64-046
- Hussain, M., Farooq, S., Merfield, C., Jabran, K. (2018). “Chapter 8 - Mechanical Weed Control,” in *Non-Chemical Weed Control*, eds. K. Jabran and B. S. Chauhan (Academic Press), 133–155. doi: 10.1016/B978-0-12-809881-3.00008-5
- Jahnke, S., Menzel, M. I., Van Dusschoten, D., Roeb, G. W., Bühler, J., Minwuyelet, S., et al. (2009). Combined MRI–PET dissects dynamic changes in plant structures and functions. *The Plant Journal* 59, 634–644. doi: 10.1111/j.1365-313X.2009.03888.x
- Jia, Z., Liu, Y., Gruber, B. D., Neumann, K., Kilian, B., Graner, A., et al. (2019). Genetic Dissection of Root System Architectural Traits in Spring Barley. *Frontiers in Plant Science* 10. Available at: <https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2019.00400> (Accessed February 11, 2024).
- Jones, M. M., Turner, N. C. (1980). Osmotic Adjustment in Expanding and Fully Expanded Leaves of Sunflower in Response to Water Deficits. *Functional Plant Biol.* 7, 181–192. doi: 10.1071/pp9800181
- Kamoshita, A., Wade, L., Ali, M., Pathan, M., Zhang, J., Sarkarung, S., et al. (2002). Mapping QTLs for root morphology of a rice population adapted to rainfed lowland conditions. *Theor Appl Genet* 104, 880–893. doi: 10.1007/s00122-001-0837-5
- Kholová, J., Hash, C. T., Kumar, P. L., Yadav, R. S., Kočová, M., Vadez, V. (2010). Terminal drought-tolerant pearl millet [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.] have high leaf ABA and limit transpiration at high vapour pressure deficit. *Journal of Experimental Botany* 61, 1431–1440. doi: 10.1093/jxb/erq013
- Kikuchi, R., Handa, H. (2009). Photoperiodic control of flowering in barley. *Breeding Science* 59, 546–552. doi: 10.1270/jsbbs.59.546
- Kirkegaard, J. A., Lilley, J. M., Howe, G. N., Graham, J. M. (2007). Impact of subsoil water use on wheat yield. *Aust. J. Agric. Res.* 58, 303–315. doi: 10.1071/AR06285
- Kooyers, N. J. (2015). The evolution of drought escape and avoidance in natural herbaceous populations. *Plant Science* 234, 155–162. doi: 10.1016/j.plantsci.2015.02.012
- Kuijken, R. C. P., van Eeuwijk, Fred. A., Marcelis, L. F. M., Bouwmeester, H. J. (2015). Root phenotyping: from component trait in the lab to breeding. *Journal of Experimental Botany* 66, 5389–5401. doi: 10.1093/jxb/erv239
- Kumar, P., Huang, C., Cai, J., and Miklavcic, S. J. (2014). Root phenotyping by root tip detection and classification through statistical learning. *Plant Soil* 380, 193–209. doi: 10.1007/s11104-014-2071-3
- Kusaka, M., Lalusin, A. G., Fujimura, T. (2005). The maintenance of growth and turgor in pearl millet (*Pennisetum glaucum* [L.] Leeke) cultivars with different root structures and osmo-regulation under drought stress. *Plant Science* 168, 1–14. doi: 10.1016/j.plantsci.2004.06.021
- Laur, J., Hacke, U. G. (2013). Transpirational demand affects aquaporin expression in poplar roots. *Journal of Experimental Botany* 64, 2283–2293. doi: 10.1093/jxb/ert096
- Lehner, F., Coats, S., Stocker, T. F., Pendergrass, A. G., Sanderson, B. M., Raible, C. C., et al. (2017). Projected drought risk in 1.5°C and 2°C warmer climates. *Geophysical Research Letters* 44, 7419–7428. doi: 10.1002/2017GL074117

- Li, A., Zhu, L., Xu, W., Liu, L., Teng, G. (2022). Recent advances in methods for in situ root phenotyping. *PeerJ* 10, e13638. doi: 10.7717/peerj.13638
- Li, Y., Fuchs, M., Cohen, S., Cohen, Y., Wallach, R. (2002). Water uptake profile response of corn to soil moisture depletion. *Plant, Cell & Environment* 25, 491–500. doi: 10.1046/j.1365-3040.2002.00825.x
- Liao, H., Rubio, G., Yan, X., Cao, A., Brown, K. M., Lynch, J. P. (2001). Effect of phosphorus availability on basal root shallowness in common bean. *Plant and Soil* 232, 69–79. doi: 10.1023/A:1010381919003
- Lilley, J. M., Kirkegaard, J. A. (2011). Benefits of increased soil exploration by wheat roots. *Field Crops Research* 122, 118–130. doi: 10.1016/j.fcr.2011.03.010
- Lobet, G., Pagès, L., Draye, X. (2011). A Novel Image-Analysis Toolbox Enabling Quantitative Analysis of Root System Architecture. *Plant Physiology* 157, 29–39. doi: 10.1104/pp.111.179895
- Lopes, M. S., Reynolds, M. P. (2010). Partitioning of assimilates to deeper roots is associated with cooler canopies and increased yield under drought in wheat. *Functional Plant Biol.* 37, 147–156. doi: 10.1071/FP09121
- López-Bucio, J., Cruz-Ramírez, A., Herrera-Estrella, L. (2003). The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Current Opinion in Plant Biology* 6, 280–287. doi: 10.1016/S1369-5266(03)00035-9
- Lucas, M. E., Hoad, S. P., Russell, G., Bingham, I. J. (2000). Management of cereal root systems. *Management of cereal root systems*. Available at: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20000708169> (Accessed January 7, 2024).
- Lynch, J. (1995). Root Architecture and Plant Productivity. *Plant Physiol* 109, 7–13.
- Ma, Q., Turner, D. W. (2006). Osmotic adjustment segregates with and is positively related to seed yield in F3 lines of crosses between *Brassica napus* and *B. juncea* subjected to water deficit. *Aust. J. Exp. Agric.* 46, 1621–1627. doi: 10.1071/EA05247
- Mackay, A. D., Barber, S. A. (1985). Soil Moisture Effects on Root Growth and Phosphorus Uptake by Corn1. *Agronomy Journal* 77, 519–523. doi: 10.2134/agronj1985.00021962007700040004xa
- Mahmood, T., Abdullah, M., Ahmar, S., Yasir, M., Iqbal, M. S., Yasir, M., et al. (2020). Incredible Role of Osmotic Adjustment in Grain Yield Sustainability under Water Scarcity Conditions in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plants* 9, 1208. doi: 10.3390/plants9091208
- Mairhofer, S., Pridmore, T., Johnson, J., Wells, D. M., Bennett, M. J., Mooney, S. J., et al. (2017). X-Ray Computed Tomography of Crop Plant Root Systems Grown in Soil. *Current Protocols in Plant Biology* 2, 270–286. doi: 10.1002/cppb.20049
- Malamy, J. E. (2005). Intrinsic and environmental response pathways that regulate root system architecture. *Plant, Cell & Environment* 28, 67–77. doi: 10.1111/j.1365-3040.2005.01306.x
- Manschadi, A. M., Christopher, J., deVoil, P., Hammer, G. L. (2006). The role of root architectural traits in adaptation of wheat to water-limited environments. *Functional Plant Biol.* 33, 823–837. doi: 10.1071/FP06055
- Manschadi, A. M., Hammer, G. L., Christopher, J. T., deVoil, P. (2008). Genotypic variation in seedling root architectural traits and implications for drought adaptation in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Soil* 303, 115–129. doi: 10.1007/s11104-007-9492-1
- Maqbool, S., Hassan, M. A., Xia, X., York, L. M., Rasheed, A., He, Z. (2022). Root system architecture in cereals: progress, challenges and perspective. *The Plant Journal* 110, 23–42. doi: 10.1111/tpj.15669

- Martin-Vertedor, A. I., Dodd, I. C. (2011). Root-to-shoot signalling when soil moisture is heterogeneous: increasing the proportion of root biomass in drying soil inhibits leaf growth and increases leaf abscisic acid concentration. *Plant, Cell & Environment* 34, 1164–1175. doi: 10.1111/j.1365-3040.2011.02315.x
- Masi, C. E. A., Maranville, J. W. (1998). Evaluation of sorghum root branching using fractals. *The Journal of Agricultural Science* 131, 259–265. doi: 10.1017/S0021859698005826
- Morgan, J. M. (1980). Osmotic Adjustment in the Spikelets and Leaves of Wheat. *Journal of Experimental Botany* 31, 655–665. doi: 10.1093/jxb/31.2.655
- Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell & Environment* 25, 239–250. doi: 10.1046/j.0016-8025.2001.00808.x
- Nagel, K. A., Putz, A., Gilmer, F., Heinz, K., Fischbach, A., Pfeifer, J., et al. (2012). GROWSCREEN-Rhizo is a novel phenotyping robot enabling simultaneous measurements of root and shoot growth for plants grown in soil-filled rhizotrons. *Functional Plant Biol.* 39, 891–904. doi: 10.1071/FP12023
- Nakhforoosh, A., Nagel, K. A., Fiorani, F., Bodner, G. (2021). Deep soil exploration vs. topsoil exploitation: distinctive rooting strategies between wheat landraces and wild relatives. *Plant Soil* 459, 397–421. doi: 10.1007/s11104-020-04794-9
- Nguyen, V. L., Stangoulis, J. (2019). Variation in root system architecture and morphology of two wheat genotypes is a predictor of their tolerance to phosphorus deficiency. *Acta Physiol Plant* 41, 109. doi: 10.1007/s11738-019-2891-0
- Nio, S. A., Cawthray, G. R., Wade, L. J., Colmer, T. D. (2011). Pattern of solutes accumulated during leaf osmotic adjustment as related to duration of water deficit for wheat at the reproductive stage. *Plant Physiology and Biochemistry* 49, 1126–1137. doi: 10.1016/j.plaphy.2011.05.011
- Oyanagi, A., Nakamoto, T., Wada, M. (1993). Relationship between Root Growth Angle of Seedlings and Vertical Distribution of Roots in the Field in Wheat Cultivars. *Japanese journal of crop science* 62, 565–570. doi: 10.1626/jcs.62.565
- Oyanagi, A., Sato, A., Wada, M. (1991). Varietal Differences in Geotropic Response of Primary Seminal Root in Japanese Wheat. *Japanese journal of crop science* 60, 312–319. doi: 10.1626/jcs.60.312
- Ozturk, M., Turkyilmaz Unal, B., García-Caparrós, P., Khursheed, A., Gul, A., Hasanuzzaman, M. (2021). Osmoregulation and its actions during the drought stress in plants. *Physiologia Plantarum* 172, 1321–1335. doi: 10.1111/ppl.13297
- Pallant, E., Holmgren, R. A., Schuler, G. E., McCracken, K. L., Drbal, B. (1993). Using a fine root extraction device to quantify small diameter corn roots (≥ 0.025 mm) in field soils. *Plant Soil* 153, 273–279. doi: 10.1007/BF00013000
- Palta, J., Watt, M. (2009). Vigorous Crop Root Systems: Form and Function for Improving the Capture of Water and Nutrients.
- Passioura, J. (2006). Increasing crop productivity when water is scarce—from breeding to field management. *Agricultural Water Management* 80, 176–196. doi: 10.1016/j.agwat.2005.07.012
- Passioura, J. B. (1983). “Roots and Drought Resistance,” in *Developments in Agricultural and Managed Forest Ecology* plant production and management under drought conditions. , eds. J. F. Stone and W. O. Willis (Elsevier), 265–280. doi: 10.1016/B978-0-444-42214-9.50025-9
- Passioura, J. B. (1991). Soil structure and plant growth. *Soil Res.* 29, 717–728. doi: 10.1071/sr9910717

- Passioura, J. B., Angus, J. F. (2010). “Chapter 2 - Improving Productivity of Crops in Water-Limited Environments,” in *Advances in Agronomy* Advances in Agronomy v106. , ed. D. L. Sparks (Academic Press), 37–75. doi: 10.1016/S0065-2113(10)06002-5
- Patakas, A., Nikolaou, N., Zioziou, E., Radoglou, K., Noitsakis, B. (2002). The role of organic solute and ion accumulation in osmotic adjustment in drought-stressed grapevines. *Plant Science* 163, 361–367. doi: 10.1016/S0168-9452(02)00140-1
- Pfeifer, J., Faget, M., Walter, A., Blossfeld, S., Fiorani, F., Schurr, U., et al. (2014). Spring barley shows dynamic compensatory root and shoot growth responses when exposed to localised soil compaction and fertilisation. *Functional Plant Biol.* 41, 581–597. doi: 10.1071/FP13224
- Pingault, L., Zogli, P., Brooks, J., Libault, M. (2018). Enhancing Phenotyping and Molecular Analysis of Plant Root System Using Ultrasound Aeroponic Technology. *Current Protocols in Plant Biology* 3, e20078. doi: 10.1002/cppb.20078
- Rattanapichai, W., Klem, K. (2016). Two-dimensional root phenotyping system based on root growth on black filter paper and recirculation micro-irrigation. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* 52, 64–70.
- Rebetzke, G. J., Condon, A. G., Farquhar, G. D., Appels, R., Richards, R. A. (2008). Quantitative trait loci for carbon isotope discrimination are repeatable across environments and wheat mapping populations. *Theor Appl Genet* 118, 123–137. doi: 10.1007/s00122-008-0882-4
- Rebetzke, G. J., Rattey, A. R., Farquhar, G. D., Richards, R. A., Condon, A. (Tony) G. (2012). Genomic regions for canopy temperature and their genetic association with stomatal conductance and grain yield in wheat. *Functional Plant Biol.* 40, 14–33. doi: 10.1071/FP12184
- Richards, R. A. (2006). Physiological traits used in the breeding of new cultivars for water-scarce environments. *Agricultural Water Management* 80, 197–211. doi: 10.1016/j.agwat.2005.07.013
- Richards, R. A., Passioura, J. B. (1989). A breeding program to reduce the diameter of the major xylem vessel in the seminal roots of wheat and its effect on grain yield in rain-fed environments. *Aust. J. Agric. Res.* 40, 943–950. doi: 10.1071/ar9890943
- Richards, R. A., Rebetzke, G. J., Watt, M., Condon, A. G. (Tony), Spielmeyer, W., Dolferus, R. (2010). Breeding for improved water productivity in temperate cereals: phenotyping, quantitative trait loci, markers and the selection environment. *Functional Plant Biol.* 37, 85–97. doi: 10.1071/FP09219
- Robinson, D., Linehan, D. J., Caul, S. (1991). What limits nitrate uptake from soil? *Plant, Cell & Environment* 14, 77–85. doi: 10.1111/j.1365-3040.1991.tb01373.x
- Robinson, H., Kelly, A., Fox, G., Franckowiak, J., Borrell, A., Hickey, L. (2018). Root architectural traits and yield: exploring the relationship in barley breeding trials. *Euphytica* 214, 151. doi: 10.1007/s10681-018-2219-y
- Rontein, D., Basset, G., Hanson, A. D. (2002). Metabolic Engineering of Osmoprotectant Accumulation in Plants. *Metabolic Engineering* 4, 49–56. doi: 10.1006/mben.2001.0208
- Rytter, R.-M., Rytter, L. (2012). Quantitative estimates of root densities at minirhizotrons differ from those in the bulk soil. *Plant Soil* 350, 205–220. doi: 10.1007/s11104-011-0896-6
- Sadras, V. O., Rodriguez, D. (2007). The limit to wheat water-use efficiency in eastern Australia. II. Influence of rainfall patterns. *Aust. J. Agric. Res.* 58, 657–669. doi: 10.1071/AR06376
- Sánchez, F. J., Manzanares, M., de Andres, E. F., Tenorio, J. L., Ayerbe, L. (1998). Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crops Research* 59, 225–235. doi: 10.1016/S0378-4290(98)00125-7

- Segal, E., Kushnir, T., Mualem, Y., Shani, U. (2008). Water Uptake and Hydraulics of the Root Hair Rhizosphere. All rights reserved. No part of this periodical may be reproduced or transmitted in any form or by any means, electronic or mechanical, including photocopying, recording, or any information storage and retrieval system, without permission in writing from the publisher. *Vadose Zone Journal* 7, 1027–1034. doi: 10.2136/vzj2007.0122
- Serraj, R., Sinclair, T. R. (2002). Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant, Cell & Environment* 25, 333–341. doi: 10.1046/j.1365-3040.2002.00754.x
- Sharp, R. E., Poroyko, V., Hejlek, L. G., Spollen, W. G., Springer, G. K., Bohnert, H. J., et al. (2004). Root growth maintenance during water deficits: physiology to functional genomics*. *Journal of Experimental Botany* 55, 2343–2351. doi: 10.1093/jxb/erh276
- Singh, V., van Oosterom, E. J., Jordan, D. R., Messina, C. D., Cooper, M., Hammer, G. L. (2010). Morphological and architectural development of root systems in sorghum and maize. *Plant Soil* 333, 287–299. doi: 10.1007/s11104-010-0343-0
- Siopongco, J. D.L.C., Sekiya, K., Yamauchi, A., Egdane, J., Ismail, A. M., Wade, L. J. (2008). Stomatal Responses in Rainfed Lowland Rice to Partial Soil Drying ; Evidence for Root Signals. *Plant Production Science* 11, 28–41. doi: 10.1626/pp.s.11.28
- Smit, A. L., George, E., Groenwold, J. (2000). “Root Observations and Measurements at (Transparent) Interfaces with Soil,” in *Root Methods: A Handbook*, eds. A. L. Smit, A. G. Bengough, C. Engels, M. van Noordwijk, S. Pellerin, and S. C. van de Geijn (Berlin, Heidelberg: Springer), 235–271. doi: 10.1007/978-3-662-04188-8_8
- Smith, S., De Smet, I. (2012). Root system architecture: insights from Arabidopsis and cereal crops. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 367, 1441–1452. doi: 10.1098/rstb.2011.0234
- Srayeddin, I., Doussan, C. (2009). Estimation of the spatial variability of root water uptake of maize and sorghum at the field scale by electrical resistivity tomography. *Plant Soil* 319, 185–207. doi: 10.1007/s11104-008-9860-5
- Suzuki, N., Taketa, S., Ichii, M. (2003). “Morphological and physiological characteristics of a root-hairless mutant in rice (*Oryza sativa* L.),” in *Roots: The Dynamic Interface between Plants and the Earth: The 6th Symposium of the International Society of Root Research, 11–15 November 2001, Nagoya, Japan* Developments in Plant and Soil Sciences., ed. J. Abe (Dordrecht: Springer Netherlands), 9–17. doi: 10.1007/978-94-017-2923-9_2
- Swarup, R., Bennett, M. J. (2009). “Root Gravitropism,” in *Annual Plant Reviews Volume 37: Root Development* (John Wiley & Sons, Ltd), 157–174. doi: 10.1002/9781444310023.ch6
- Thomas, A. L., Kaspar, T. C. (1997). Maize Nodal Root Response to Time of Soil Ridging. *Agronomy Journal* 89, 195–200. doi: 10.2134/agronj1997.00021962008900020008x
- Tiwari, J. K., Buckseth, T., Singh, R. K., Zinta, R., Thakur, K., Bhardwaj, V., et al. (2022). Aeroponic evaluation identifies variation in Indian potato varieties for root morphology, nitrogen use efficiency parameters and yield traits. *Journal of Plant Nutrition* 45, 2696–2709. doi: 10.1080/01904167.2022.2046080
- Trnka, M., Balek, J., Petr Štěpánek, Zahradníček, P., Možný, M., Eitzinger, J., et al. (2016). Drought trends over part of Central Europe between 1961 and 2014. *Climate Research* 70, 143–160. doi: 10.3354/cr01420
- Tuberosa, R. (2012). Phenotyping for drought tolerance of crops in the genomics era. *Frontiers in Physiology* 3. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2012.00347> (Accessed December 22, 2023).
- Turner, N. C. (2018). Turgor maintenance by osmotic adjustment: 40 years of progress. *Journal of Experimental Botany* 69, 3223–3233. doi: 10.1093/jxb/ery181

- Tyree, M. T., Davis, S. D., Cochard, H. (1994). Biophysical Perspectives of Xylem Evolution: is there a Tradeoff of Hydraulic Efficiency for Vulnerability to Dysfunction? *IAWA Journal* 15, 335–360. doi: 10.1163/22941932-90001369
- Vamerli, T., Bandiera, M., Mosca, G. (2012). “Minirhizotrons in Modern Root Studies,” in *Measuring Roots: An Updated Approach*, ed. S. Mancuso (Berlin, Heidelberg: Springer), 341–361. doi: 10.1007/978-3-642-22067-8_17
- van Beem, J., Smith, M. E., Zobel, R. W. (1998). Estimating Root Mass in Maize Using a Portable Capacitance Meter. *Agronomy Journal* 90, 566–570. doi: 10.2134/agronj1998.00021962009000040021x
- van Noordwijk, M., Brouwer, G., Meijboom, F., do Rosário G. Oliveira, M., Bengough, A. G. (2000). “Trench Profile Techniques and Core Break Methods,” in *Root Methods: A Handbook*, eds. A. L. Smit, A. G. Bengough, C. Engels, M. van Noordwijk, S. Pellerin, and S. C. van de Geijn (Berlin, Heidelberg: Springer), 211–233. doi: 10.1007/978-3-662-04188-8_7
- Velázquez-Márquez, S., Conde-Martínez, V., Trejo, C., Delgado-Alvarado, A., Carballo, A., Suárez, R., et al. (2015). Effects of water deficit on radicle apex elongation and solute accumulation in *Zea mays* L. *Plant Physiology and Biochemistry* 96, 29–37. doi: 10.1016/j.plaphy.2015.07.006
- Wang, X., Mao, Z., Zhang, J., Hemat, M., Huang, M., Cai, J., et al. (2019). Osmolyte accumulation plays important roles in the drought priming induced tolerance to post-anthesis drought stress in winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Environmental and Experimental Botany* 166, 103804. doi: 10.1016/j.envexpbot.2019.103804
- Wasaya, A., Zhang, X., Fang, Q., Yan, Z. (2018). Root Phenotyping for Drought Tolerance: A Review. *Agronomy* 8, 241. doi: 10.3390/agronomy8110241
- Wasson, A. P., Richards, R. A., Chatrath, R., Misra, S. C., Prasad, S. V. S., Rebetzke, G. J., et al. (2012). Traits and selection strategies to improve root systems and water uptake in water-limited wheat crops. *Journal of Experimental Botany* 63, 3485–3498. doi: 10.1093/jxb/ers111
- Watt, M., Kirkegaard, J. A., Rebetzke, G. J. (2005). A wheat genotype developed for rapid leaf growth copes well with the physical and biological constraints of unploughed soil. *Functional Plant Biol.* 32, 695–706. doi: 10.1071/FP05026
- Watt, M., Magee, L. J., McCully, M. E. (2008). Types, structure and potential for axial water flow in the deepest roots of field-grown cereals. *New Phytologist* 178, 135–146. doi: 10.1111/j.1469-8137.2007.02358.x
- Weaver, J. E. (1926). *Root development of field crops*. McGraw-Hill Book Company
- Whish, J., Butler, G., Castor, M., Cawthray, S., Broad, I., Carberry, P., et al. (2005). Modelling the effects of row configuration on sorghum yield reliability in north-eastern Australia. *Aust. J. Agric. Res.* 56, 11–23. doi: 10.1071/AR04128
- White, R. G., Kirkegaard, J. A. (2010). The distribution and abundance of wheat roots in a dense, structured subsoil – implications for water uptake. *Plant, Cell & Environment* 33, 133–148. doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.02059.x
- Wishart, J., George, T. S., Brown, L. K., White, P. J., Ramsay, G., Jones, H., et al. (2014). Field phenotyping of potato to assess root and shoot characteristics associated with drought tolerance. *Plant Soil* 378, 351–363. doi: 10.1007/s11104-014-2029-5
- Yamauchi, A., Kono, Y., Tatsumi, J. (1987). Quantitative Analysis on Root System Structures of Upland Rice and Maize. *Japanese journal of crop science* 56, 608–617. doi: 10.1626/jcs.56.608
- Yoshida, S., & Hasegawa, S. (1982). The rice root system: its development and function. *Drought resistance in crops with emphasis on rice*, 10, 97-134.

- Yoshida, S., Bhattacharjee, D. P., Cabuslay, G. S. (1982). Relationship between plant type and root growth in rice. *Soil Science and Plant Nutrition* 28, 473–482. doi: 10.1080/00380768.1982.10432387
- Zenone, T., Morelli, G., Teobaldelli, M., Fischanger, F., Matteucci, M., Sordini, M., et al. (2008). Preliminary use of ground-penetrating radar and electrical resistivity tomography to study tree roots in pine forests and poplar plantations. *Functional Plant Biol.* 35, 1047–1058. doi: 10.1071/FP08062
- Zhao, Y., Hu, Y., Dai, M., Huang, L., Zhou, D.-X. (2009). The WUSCHEL-Related Homeobox Gene *WOX11* Is Required to Activate Shoot-Borne Crown Root Development in Rice. *The Plant Cell* 21, 736–748. doi: 10.1105/tpc.108.061655
- Zhu, J., Ingram, P. A., Benfey, P. N., Elich, T. (2011). From lab to field, new approaches to phenotyping root system architecture. *Current Opinion in Plant Biology* 14, 310–317. doi: 10.1016/j.pbi.2011.03.020
- Zobel, R. W. (2005). “Tertiary Root Systems,” in *Roots and Soil Management: Interactions between Roots and the Soil* (John Wiley & Sons, Ltd), 33–56. doi: 10.2134/agronmonogr48.c3

8 Seznam publikací, které předcházely metodice

Metodika z velké části navazuje na publikaci:

Rattanapichai, W., Klem, K. (2016). Two-dimensional root phenotyping system based on root growth on black filter paper and recirculation micro-irrigation. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* 52, 64–70. doi: 10.17221/121/2015-CJGPB

Její výsledky rozvíjí, a rozšiřuje, přičemž se zaměřuje zejména na praktické aspekty a význam kořenového systému v odolnosti vůči suchu.

Nepřímo metodika navazuje rovněž na publikaci:

Findurová, H., Veselá, B., Panzarová, K., Pytela, J., Trtílek, M., Klem, K., 2023. Phenotyping drought tolerance and yield performance of barley using a combination of imaging methods. *Environmental and Experimental Botany* 209, 105314. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2023.105314>

Tato publikace se věnuje rovněž znakům tolerance ječmen vůči suchu, ale zaměřuje se pouze na vyhodnocení na nadzemních částech rostlin, a tím cílí na jiné znaky než předložená metodika.