



*Tomáš Středa, Jan Haberle, Jana Klimešová, Pavel Svoboda,
Hana Středová, Tomáš Khel*

Metodika odběru a hodnocení kořenového systému polních plodin

Metodika pro praxi



© Mendelova univerzita v Brně, Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.,
Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy, v.v.i.

2017

*Tomáš Středa, Jan Haberle, Jana Klimešová, Pavel Svoboda,
Hana Středová, Tomáš Khel*

Metodika odběru a hodnocení kořenového systému polních plodin

Metodika pro praxi



© Mendelova univerzita v Brně, Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.,
Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy, v.v.i.

ISBN 978-80-7509-530-5 (Mendelova univerzita v Brně)

ISBN 978-80-7427-261-5 (Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.)

Metodika vznikla za finanční podpory Ministerstva zemědělství a je výstupem řešení výzkumného projektu Národní agentury pro zemědělský výzkum č. QJ1510098 „Nové linie pšenice pro efektivnější využití vstupů a s vyšší odolností ke stresům“ (podíl 90 %).

Při zpracování metodiky byly využity výsledky projektu MZE RO0417 „Udržitelné systémy a technologie pěstování zemědělských plodin pro zlepšení a zkvalitnění produkce potravin, krmiv a surovin v podmínkách měnícího se klimatu“ (podíl 10 %).

Autoři děkují Priv.-Doz. Dr. Gernotu Bodnerovi (Universität für Bodenkultur, Wien) a prof. Ing. Oldřichu Chloupkovi, DrSc. za cenné podněty při přípravě této metodiky.

Oponenti: RNDr. Tomáš Litschmann, Ph.D., AMET – sdružení Litschmann & Suchý

Ing. Marek Batysta, Ph.D., Oddělení ochrany půdy, Ministerstvo zemědělství ČR

Metodika byla certifikována Odborem strategie a trvale udržitelného rozvoje Ministerstva zemědělství ČR vydáním osvědčení č. 73733/2017-MZe-10052 ze dne 11. 12. 2017.

© Mendelova univerzita v Brně, Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.,
Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy, v.v.i., 2017

ISBN 978-80-7509-530-5 (Mendelova univerzita v Brně)

ISBN 978-80-7427-261-5 (Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.)

OBSAH

1	Cíl metodiky.....	5
2	Úvod.....	5
3	Přehled základních instrumentálních metod pro výzkum kořenového systému rostlin	7
3.1	Základní přehled nepřímých metod	8
3.1.1	Počítačová tomografie (computed tomography, CT).....	8
3.1.2	Magnetická rezonance (MRI – magnetic resonance imaging)	8
3.1.3	Neutron radiography imaging	9
3.1.4	Ground penetrating radar (GPR).....	9
3.1.5	Elektrická kapacita.....	10
3.2	Základní přehled přímých metod	11
3.2.1	Exkavace kořenového systému	11
3.2.2	Metoda půdních bloků (monolith method)	11
3.2.3	Pinboard metoda („fakir bed“).....	12
3.2.4	Ingrowth cores metoda.....	13
3.2.5	Core-break metoda	14
3.2.6	Trench-wall (profile wall) metoda.....	15
3.2.6.1	Zjednodušené postupy pro pozorování kořenů v provozních podmínkách.....	17
3.2.7	Root windows, rhizotrony a minirhizotrony.....	17
3.2.7.1	Root windows.....	18
3.2.7.2	Rhizotrony	19
3.2.7.3	Minirhizotrony.....	19
3.2.8	Soil-core metoda	21
4	Obecná a závazná charakteristika odběru a hodnocení kořenového systému polních plodin metodou soil-core s následným hodnocením digitální analýzou obrazu.....	21
4.1	Fáze 1 – odběr vzorků.....	21
4.2	Fáze 2 – separace kořenů	26
4.3	Fáze 3 – hodnocení vzorků digitální analýzou obrazu a následnými analýzami	29
5	Hlavní zásady pro korektní odběr a hodnocení kořenového systému polních plodin metodou soil-core s následným hodnocením digitální analýzou obrazu	33
6	Příklady praktického použití metody	37
6.1	Výsledky vybraných experimentů s aplikací metody na MENDELU	37
6.2	Výsledky vybraných experimentů s aplikací metody ve VÚRV.....	40
7	Novost metody	44
8	Popis uplatnění certifikované metodiky.....	44
9	Ekonomické aspekty	45
10	Seznam použité související literatury	46
11	Seznam publikací, které předcházely metodice	52

Metodika odběru a hodnocení kořenového systému polních plodin

Metody odběru a hodnocení kořenového systému se liší prostředím, kde může být daná metoda aplikována, nároky na technické vybavení, zkoumanými znaky kořenů, časovou náročností a pracností. Pro zemědělský výzkum a šlechtění jsou pak cenné především výsledky metod aplikovaných v polních podmínkách. K odběru vzorků kořenového systému k následnému hodnocení kvantitativních i kvalitativních parametrů je standardně používána „soil-core“ metoda (metoda odběru půdních válců), často považovaná za metodu referenční. Princip metody spočívá v odběru půdního vzorku, jeho rozplavení a separaci přítomných kořenů. Na základě praktických zkušeností autorů jsou v metodice podrobně popsány postupy odběrů, určování hloubky kořenů a distribuce prokořenění v půdním profilu, metody čištění a konzervace kořenů, měření délky a dalších parametrů, včetně využití digitální analýzy obrazu. Zjednodušený postup lze použít pro určení hloubky kořenů v provozních podmínkách bez speciálního vybavení. Metodika odběru a hodnocení kořenového systému pro široké spektrum využití, včetně šlechtění rostlin, nebyla doposud standardizována a certifikována relevantní autoritou. Cílem metodiky je standardizovat postup odběru a hodnocení kořenového systému rostlin z polních podmínek.

Klíčová slova: kořenový systém, podzemní biomasa, šlechtění, sucho, soil-core

Methodology of sampling and evaluation of root system of field crops

The methods of sampling and evaluation of the root system differ in the environment where the method can be applied, the demands on the technical equipment, the studied parameters, the time consuming and labor intensities. For agricultural research and plant breeding, the results of the methods applied in field conditions are particularly valuable. For the sampling of the root system for the subsequent evaluation of both quantitative and qualitative parameters, the “soil-core” method is often used as a reference one. The principle of the method consists in offtake a soil sample, its water washing and separation of the roots contained. At the authors' institutions a root biomass sampling probe is used. Obtained sample of roots separated from soil is subsequently evaluated by digital image analysis. The methodology for collecting and evaluating of the root system for a wide range of uses, including plant breeding, has not been standardized and certified by a relevant authority yet. The aim of the methodology is to standardize the procedure of sampling and evaluation of the plant roots from field conditions.

Key words: root system, underground biomass, selection, drought, soil-core

1 Cíl metodiky

Cílem metodiky je (i) inventarizace základních metod, nejčastěji používaných pro odběr a hodnocení velikosti a architektury kořenového systému rostlin, (ii) detailní specifikace a standardizace postupu odběru vzorků kořenového systému rostlin pomocí metody půdních výkrojů (soil-core), včetně variantních řešení (iii) postup následného hodnocení parametrů kořenového systému pomocí digitální analýzy obrazu, včetně variantních řešení, (iv) uvedení příkladů úspěšné aplikace metody v zemědělském výzkumu

2 Úvod

Přestože většina zemědělských zásahů (hnojení, zavlažování, zpracování půdy) působí na rostliny prostřednictvím kořenů, přestože má kořenový systém nezastupitelný význam v sorpci živin jako potenciálních zdrojů eutrofizace¹ prostředí, a přestože je podzemní biomasa rostlin nepostradatelným zdrojem organické hmoty v půdě, je tato část rostlin z důvodu absence vhodné, jednoduché a levné metody hodnocena jen zřídka.

Znalost parametrů a vlastností kořenové soustavy je nutná zejména k vysvětlení reakcí rostlin na různou úroveň výživy a (ne)přístupnosti vody. Následně je možné modifikovat agrotechniku plodin dle jejich potřeb a otevírá se tak i cesta ke šlechtění nových tolerantnějších a výnosnějších odrůd (Bláha a Vyvadilová, 2010). K záměrnému šlechtění je třeba precizně identifikovat vhodné fenotypy². Za méně příznivých půdních podmínek a nedostatku vody a živin je větší a aktivnější kořenový systém pro daný genotyp považován za výhodu (Klimešová et al., 2017).

Současně ovšem není větší velikost kořenového systému výhodou ve všech případech. Pokud nenastane sucho, je velký kořenový systém zbytečnou investicí rostliny na úkor jiného využití produktů fotosyntézy, např. na tvorbu fotosyntetického aparátu. Z tohoto pohledu je podstatná optimální rajonizace odrůd s větším kořenovým systémem. Jejich používání v oblastech s vysokou vláhovou jistotou může být kontraproduktivní. V optimálním případě je žádoucí zohlednit i morfologii kořenového systému konkrétní odrůdy (hustotu prokořenění, hloubku a architekturu kořenového systému), případně dynamiku jeho nárůstu v průběhu vegetace. S ohledem na častou odrůdově specifickou reakci nemohou být vždy výsledky experimentů interpretovány jako všeobecné pravidlo ani u stejného (jednoho) rostlinného druhu. S jistou mírou zobecnění lze říci, že hluboce kořenící odrůdy lze doporučit do oblastí se zrnitostně těžším podorničím s vyšší retenční schopností³. Odrůdy s velkým, mělkým

¹ Eutrofizace je proces obohacování prostředí, nejčastěji vod, o živiny, zejména dusík a fosfor.

² Fenotyp je vnější projev celé genetické informace organismu – genotypu, která se projeví navenek. Na utváření fenotypu se podílí i vliv vnějšího prostředí.

³ Retenční schopnost půd je schopnost zadržet vodu v půdním profilu po delší dobu.

kořenovým systémem, lze doporučit do sušších oblastí s pravidelnými, méně vydatnými srážkami, kdy je vlhčena jen svrchní vrstva půdního profilu.

Větší kořenový systém umožňuje také lepší využití živin z půdy, a tudíž menší kontaminaci prostředí nevyužitými živinami, hlavně dusíkem a fosforem (Gewin, 2010). Například Palta et al. (2011) sledovali a prokázali výrazně vyšší absorpci dusíku a vody u linií pšenice s vitálnějším kořenovým systémem v hloubce do 0,7 m. Z důvodu omezení vyplavování živin do podzemních vod jsou parametry kořenového systému předmětem zájmu u meziplodin (Haberle a Svoboda, 2009). Existuje více publikací, které hodnotí mezidruhové, případně meziodrůdové rozdíly v produkci nadzemní biomasy meziplodin. Pouze málo autorů se přesto věnuje kvantitativnímu a kvalitativnímu hodnocení podzemní biomasy ve vazbě na dynamiku přeměn dusíku v půdě. U druhů, používaných jako meziplodiny, lze však předpokládat nejen mezidruhové, ale i meziodrůdové rozdíly v utváření kořenového systému, stejně jako u odrůd pšenice nebo ječmene (Klimešová et al., 2015). To by mohlo být ve šlechtitelských programech zúročeno při šlechtění odrůd meziplodin s větší schopností osvojování a fixace/zadržení živin v biomase.

Kolísající nabídka vody nebo heterogenní rozložení živin v půdě mají však za následek složitě předpověditelný růst a vývoj kořenového systému. Zejména voda v půdě modeluje strukturu kořenového systému, jeho větvení, hloubku prokořenění a i životnost kořenů. Rostliny pšenice vykazovaly vyšší hodnoty prokořenění (root length density, RLD) v suchých letech ve srovnání s ročníky srážkově bohatými (Hamblin et al., 1990). Asi největší účinek má obsah vody v půdě na hloubku prokořenění, protože ta umožňuje rostlinám dostat se k co možná největšímu množství dostupné vody. Bláha a Zámečník (2005) uvádí statisticky průkazné změny v pronikání kořenů do hloubky a jejich větvení u spektra odrůd pšenice při stresu suchem. S ubývajícími srážkami se mění poměr biomasy kořenů k nadzemní části („root:shoot“ poměr) ve prospěch kořenového systému u bylinných druhů, ale nikoliv u stromů a keřů (Gregory, 2006). Výsledky hodnocení vertikální distribuce kořenů v půdě je možné zobecnit konstatováním, že kořenový systém je v sušším prostředí hlubší. Adaptace rostlin na sucho modifikací růstu kořenů je silnější ve vegetativní fázi, např. rostliny pšenice reagovaly na sucho v období po kvetení zvýšením hloubky kořenů jen o 10–20 cm (Svoboda et al., 2014). Manske a Vlek (2002) zjistili, že k suchu tolerantní polotrpasličí⁴ odrůdy pšenice formují kořeny v hlubších vrstvách, zatímco netolerantní odrůdy měly ve stejné hloubce méně kořenů.

Adaptabilita umožňuje rostlině optimalizovat náklady vynaložené na tvorbu a udržování kořenového systému s přístupem k růstovým faktorům. Kirkegaard et al. (2007) uvádí zvýšení výnosu zrna pšenice o 59 kg.ha⁻¹ na 1 mm dodané vody do vrstvy 1,35–1,85 m při stresu suchem po odkvětu. To podporuje fenotypovou nebo genotypovou selekci na větší (hlubší) kořenový systém u obilnin. Také různé úhly větvení zárodečných kořenů u pšenice (Manschadi,

⁴ Polotrpasličí odrůdy mají v genotypu gen zakrslosti, způsobující nižší výšku rostlin, než standard. Vznikají standardními šlechtitelskými metodami.

2006) mají vztah k účinnosti příjmu vody. Fitter (2002) uvádí, že vyšší schopnost kořenů získávat živiny naznačují vysoké hodnoty SRL (specific root length; délka kořene na jednotku hmotnosti kořene v $\text{m}\cdot\text{g}^{-1}$).

Ideální metoda pro hodnocení kořenového systému by měla umožňovat získání podrobné charakteristiky širokého spektra jeho parametrů při dostatečně vysokém počtu měření. Bohužel, levná, spolehlivá a rychlá metoda, kombinující souběžné mapování morfologických, fyziologických, kvantitativních a kvalitativních vlastností kořenového systému prozatím není známa.

Používané *in situ*⁵ metody (magnetická rezonance, rentgen apod.) umožňují detailní a relativně přesné stanovení velikosti a architektury kořenového systému. Nejsou zatíženy chybou v podobě kvantitativních ztrát kořenové biomasy, ovšem za cenu vysokých pořizovacích nákladů na měřící zařízení. Neumožňují však hodnotit vyšší počet rostlin a je nereálné jejich použití v polních podmínkách. Pro detailní výzkum a 3D interpretaci parametrů kořenového systému je aktuálně populární využití metody CT (Computed Tomography – počítačové tomografie), známé z humánní medicíny. Metoda je v současnosti intenzivně rozvíjena v Centre for Plant Integrative Biology (University of Nottingham). Progresivní alternativou *in situ* metody je měření velikosti kořenového systému prostřednictvím jeho elektrické kapacity (Chloupek, 1972).

Pro stanovení velikosti kořenového systému rostlin jsou nejčastěji používány metody *ex situ*⁶, kdy je zařízeními různé konstrukce odebírán půdní monolit. Následně je kořenový systém vyplavován proudem vody a kořeny separovány na sítěch. *Ex situ* metody jsou pracovně náročné a mohou být zatížené poměrně výraznou chybou. Výhodou je však možnost

3 Přehled základních instrumentálních metod pro výzkum kořenového systému rostlin

Obecně se při hodnocení kořenového systému v širší míře uplatňují tři základní skupiny metod: (i) metody výkopové (obdobného charakteru jako postupy používané při archeologickém výzkumu), (ii) metody půdních bloků (vyjímání bloků půdy různé velikosti z půdního profilu; vyznačující se obdobně jako výkopové metody časovou náročností a pracností, avšak umožňující, stejně jako metody výkopové, hodnocení morfologických parametrů kořenového systému), (iii) metody elektrické nebo zobrazovací.

Detailní přehled metod, používaných nejčastěji pro hodnocení kořenového systému rostlin, uvádí např. Klimešová (2011) nebo Smit et al. (2000). Z důvodu absence vhodného českého

⁵ *In situ* znamená v místě růstu. V tomto případě hodnocení v místě, kde rostlina vyrostla (tj. na poli).

⁶ *Ex situ* znamená v tomto případě zkoumání mimo místo původního výskytu.

ekvivalentu jsou ponechány názvy metod v původním, tj. anglickém znění. Böhm (1979) dělí metody hodnocení kořenového systému na (i) přímé, kdy jsou naměřené hodnoty přímo využity pro charakteristiku kořenového systému (soil-core metoda – metoda odběru půdních válců, rhizotronová či rhizoboxová⁷ metoda, metoda exkavace – výkopová metoda), měření pomocí ground penetrating radar (GPR) – zemní radar a (ii) metody nepřímé, kdy pomocí měření jiného fyziologického znaku lze následně usuzovat na požadovaná selekční kritéria (např. měření příjmu vody rostlinou může napovědět o celkové velikosti a architektuře kořenového systému).

Dle prostředí, kam je metoda primárně určena, je používáno dělení na (i) polní (např. výkopové metody – metoda exkavace či soil-core metoda – metoda odběru půdních válců, a další) a (ii) metody nádobové s větším či menším vlivem nepřírodního prostředí, případně (iii) metody univerzální (např. měření elektrické kapacity kořenů). Charakter a volba nádobové metody se odvíjí od typu použitého substrátu, vlastností a habitu rostliny a sledovaného znaku kořenového systému. V laboratorních podmínkách jsou tak nejčastěji používány metody počítačové tomografie, magnetické rezonance, rhizotronová metoda, barvicí metody, izotopové metody apod. Součástí metod, které získávají přímo vzorky z půdy, je i další zpracování vzorku (vymývání kořenů, barvení kořenů, konzervace vzorku v etanolu) a analýza získaného materiálu buď manuálně (např. planimetrií⁸, hodnocením hmotnosti, délky nebo objemu), nebo po digitalizaci (skenování) kořenové biomasy pomocí počítačového software na digitální analýzu obrazu (např. program WinRHIZO)

3.1 Základní přehled nepřímých metod

3.1.1 Počítačová tomografie (computed tomography, CT)

CT skenery jsou schopny charakterizovat vnitřní strukturu a vlastnosti částic přítomných v půdě, to znamená, že mají i schopnost sledovat vývoj kořenů a jejich distribuci. Tato technika tedy představuje nedestruktivní metodu pro měření struktury kořenového systému, a i jeho fyziologických funkcí. Při CT technologii mnohonásobné snímání z různých úhlů v dané rovině poskytuje velké množství zobrazení. Pro výzkum kořenů se využívá CT technologie za použití paprsků X, γ -záření. Gregory (2006) uvádí dostupné rozlišení metody 50–100 μm . Měření je možno

3.1.2 Magnetická rezonance (MRI – magnetic resonance imaging)

Tato metoda byla poprvé použita ve výzkumu kořenového systému a příjmu vody v polovině 80. let. Magnetická rezonance byla nejdříve využita k monitorování obsahu vody v půdě

⁷ Rhizotrony, rhizoboxy – skleněné nádoby pro pěstování rostlin v laboratorních nebo vnějších podmínkách, určené speciálně pro výzkum kořenového systému.

⁸ Planimetrie – část geometrie studující rovinné útvary. V uvedeném případě lze hodnotit např. plochu kořenů.

a následně k hodnocení efektivity příjmu vody laterálních a hlavních kořenů. Počítačové programy jsou schopny kořenový systém zobrazit ve 3D, ale také provést kvantitativní měření.

Nevýhodou MRI je ovlivnění přítomností paramagnetických prvků jako je železo, mangan a měď v přirozené půdě, které mohou ovlivňovat signál, proto je možné sledované rostliny pěstovat pouze uměle vytvořených substrátech. Dalším omezením je nepřenositelnost zařízení, vysoká pořizovací cena

3.1.3 Neutron radiography imaging

Je založena na průchodu paprsku neutronů látkami a objekty obsahujícími vodíkové atomy. Takto může být monitorována především voda v rostlinném těle. Je vhodné, aby kořeny byly vysoce satureovány vodou. Také je požadována určitá tloušťka kořenů v poměru k vlnové délce neutronového paprsku. Sledované rostliny jsou pěstovány v 2–3 mm silných hliníkových nádobách, protože hliník popřípadě křemík a vápník (Moradi et al., 2009) absorbují a vychylují neutronové paprsky 50× méně než vodík, proto je pro průchod paprsků dostatečně transparentní a výsledný obraz jím není tolik ovlivněn (Nakanishi,

3.1.4 Ground penetrating radar (GPR)

GPR patří mezi geofyzikální techniky používané pro průzkum mělkých vrstev půdy. Detekce předmětů je založena na tvorbě elektromagnetického pole. GPR dovoluje opakovaná měření, protože se jedná o nedestruktivní techniku. Metoda je vhodná pro mapování rozsáhlejších a mohutnějších kořenových systémů. Tato metoda se aplikuje při výzkumu kořenového systému stromů (Čermák et al., 2000).

U všech výše uvedených metod není možné zaznamenat kořeny, které jsou překryty jinými kořeny. Možné je skenovat pouze jednoduché kořenové systémy nebo dobře odebraný a připravený kořenový systém rostlin, blízký se parametrům kořenového systému rostlin, vypěstovaných v hydroponii⁹ (Obr. 1).



Obr. 1 Kořenový systém pšenice seté z hydroponie (foto M. Majeská Čudějková)

⁹ Hydroponie je pěstování rostlin bez půdy v živném roztoku.

3.1.5 Elektrická kapacita

Při průchodu rostlinným pletivem naráží elektrický proud na bariéru, skládající se z odporu a kapacity. Rostlinné pletivo se tak při průchodu elektrického proudu chová jako kondenzátor a vykazuje paralelní elektrickou kapacitu, jejíž velikost se dá měřit ve fyzikálních jednotkách – mikro- a nanofaradech (Obr. 2). Desky kondenzátoru v tomto případě tvoří povrch kořenů a půdní prostředí. Čím větší je plocha desek kondenzátoru a jejich vzájemná vzdálenost je menší, a čím vyšší je permitivita¹⁰ dielektrika¹¹ mezi deskami, tím větší je elektrická kapacita. Naměřená kapacita odráží nejen velikost kořenového systému, ale i membránovou vitalitu, neboť odumírající membrány ztrácejí elektrickou kapacitu.

Hodnocení parametrů kořenového systému rostlin prostřednictvím měření jejich elektrické kapacity bylo úspěšně použito a publikováno u desítek druhů rostlin (Svačina et al., 2014; Středa a Heřmanská, 2015; Heřmanská et al., 2015; Chloupek et al., 2010; Středa et al., 2012; Cseresnyés et al., 2012; a další). Kromě měření elektrické kapacity kořenů *in situ* není známa metoda pro opakované hodnocení stejné rostliny v různých vývojových stádiích a hodnocení mnoha rostlin ve štěpících populacích, což je důležitým předpokladem pro úspěšné a praktické šlechtění. Aplikace metody měření velikosti kořenového systému prostřednictvím jeho elektrické kapacity, je optimální a bezproblémová u rostlinných druhů se svazčítým kořenovým systémem – např. u obilnin. U obilnin je dosahováno průkazné shody mezi elektrickou kapacitou kořenů a morfologickými parametry kořenového systému (plocha, délka, hmotnost), zjištěnými referenčními metodami (Středa et al., 2016).



Obr. 2 Měření velikosti kořenů pomocí elektrické kapacity, vlevo řepky olejné (foto K. Ullmannová), vpravo ječmene setého (foto J. Kovárník)

¹⁰ Schopnost látky polarizovat se při aplikaci elektrického pole. Relativní permitivita je látková konstanta, která vyjadřuje, kolikrát se zvětší kapacita kondenzátoru, umístí-li se mezi elektrody dielektrikum. Voda, papír (celulóza) a vzduch mají velmi rozdílnou permitivitu s relativními hodnotami 80, 3 resp. 1.

¹¹ Dielektrikum je každá látka, která se polarizuje v elektrickém poli. Pokud dielektrikum neobsahuje volné nosiče náboje (nebo jich obsahuje velmi málo), je označováno jako izolant.

3.2 Základní přehled přímých metod

3.2.1 Exkavace kořenového systému

Při exkavaci (Obr. 3) je většinou nutné zajistit nadzemní část rostliny tak, aby při odstranění zeminy zůstaly kořeny v originální pozici. 1 m široký výkop by měl být vyhlouben ve vzdálenosti 20–80 cm od rostlin (u stromů až 10 m) do hloubky přesahující o 20–30 cm nejhlubší kořeny. Rozkrývání kořenů může být provedeno několika způsoby: pomocí ručních nástrojů (dláta, párátko, kleště, špachtle), pomocí vodního proudu nebo tlakem vzduchu. Pro zabránění ztrátám kořenů je třeba citlivě volit tlak působení. Exkavaci lze použít pro zjištění délky, průměru, hmotnosti, objemu kořenů; u stromů pro studium biomasy, alokaci uhlíku a poškození kořenů při vývratech. Kořeny ve své přirozené poloze jsou zakresleny na průhledné šablony s vyznačenou mřížkou pro jejich lokalizaci a měření nebo jsou fotografovány. Výhodou metody je zmapování přirozeného kořenového systému, změn v morfologii v závislosti na půdním prostředí, možnost sledování vztahů mezi kořeny jednotlivců. Nevýhodou je fyzická i časová náročnost metody. Aby bylo zjištěno, zda je vzorek reprezentativní, je nutné prozkoumat více rostlin.



Obr. 3 Vlevo – studium kořenového systému kukuřice (převzato z Loiskandl, 2011), vpravo – detail kořenového systému (foto T.

3.2.2 Metoda půdních bloků (monolith method)

Tato metoda se využívá pro získání půdních bloků čtvercového, obdélníkového nebo kruhového tvaru se zachovanou strukturou kořenového systému ve specifické vrstvě půdy. Pomocí půdních bloků lze získat informace o objemu kořenového systému ve srovnání s okolní půdou, o hmotnosti kořenné biomasy, o pórovitosti zeminy a dalších vztazích mezi kořeny a půdou. Postup je závislý na druhu půdy, v písčitéch půdách je třeba opatrnosti, neboť půdní

částice nedrží pevně při sobě. Po vykopání jámy s hloubkou přesahující hloubku prokořenění jsou půdní bloky po vrstvách odebírány ze stěny půdního profilu. Bloky mohou dosahovat objemu stovek cm³ až několika m³. Kořeny polních plodin jsou většinou soustředěny do svrchních několika desítek cm hlubokých vrstev půdy. Pro vyjmutí vzorků jsou používány nože, ostré kovové plechy, které jsou zvláště v suchých půdách do půdy zatloukány kladivem nebo diskové přístroje opatřené kotoučem s diamantovým ostřím pro řezání půdy. Při vyzvedávání velkých půdních bloků je nutné použití zvedací techniky. Na dno jámy je vhodné umístit folii pro zachycení odrolené půdy. Vzorek se pak přenesení do nádoby a zemina se vyplaví. Často jsou vzorky vyryty ze země již v malých boxech se sítovým dnem, ve kterých jsou bloky potom přímo rozplaveny vodou. Pokud je potřeba zajistit bloky pouze ze svrchních vrstev půdy, používá se tzv. free – standing blok (Obr. 4), kolem něhož je dokola odstraněna zemina, a rostliny jsou uprostřed vzorku.

Další možností je zasazení půdního bloku, který je ještě stále připevněn vertikálně k půdnímu profilu, do dřevěného pouzdra. V tomto pouzdře je monolit rozplaven vodou bez nutnosti dělení na dílčí vzorky (Böhm, 1979). Modifikací je „klecová metoda“ (cage method), kdy se na free-standing blok potřebných rozměrů nasadí kovová klec a do ok klece se horizontálně natlačí množství ostrých drátů. Následně se od vrchních vrstev začíná monolit rozplavovat. Mříž vytvořená z drátů udržuje kořeny v přirozené poloze.

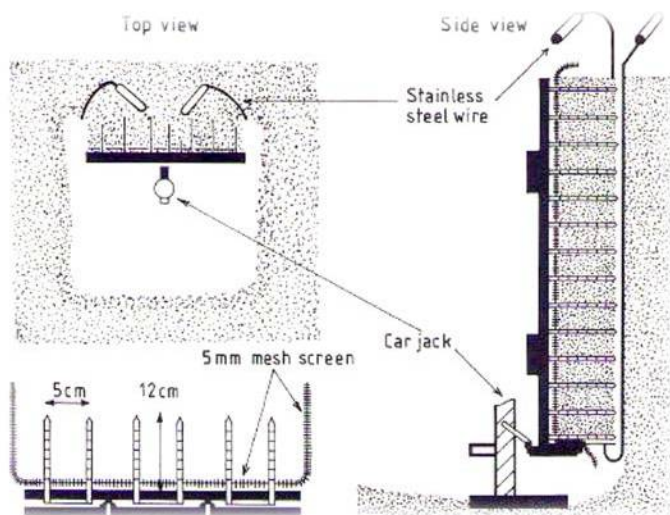


Obr. 4 Půdní blok pro hodnocení parametrů kořenového systému (převzato z Böhm,

3.2.3 Pinboard metoda („fakir bed“)

Pro objasnění vzhledu kořenového systému, jeho struktury, větvení, původu jednotlivých kořenů a reakcí kořenového systému například na úroveň hnojení lze použít pinboard metodu. Oproti další metodám využívajícím půdní vzorky, je kořenový systém souvislý a je fixován ve své přirozené poloze i během vymývání. Při odebírání vzorku se vykope jáma, jejíž rozměry závisí na hloubce a šířce prokořenění a na velikosti použitého nástroje. Stěna jámy ve vzdálenosti asi 5 cm od rostliny se urovná a ve svislé poloze je na ni přitlačena deska s 12 cm

dlouhými ocelovými hřeby. Na bázi hřebů se ještě před zasunutím desky přiloží hrubá síťová mřížka, která později zabrání vyplavování kořenů. Při aplikaci desky, většinou o rozměrech 100 × 60 × 10 cm, se používá kladivo. Stěna půdy penetrovaná deskou se pak odřeže ocelovým lankem, které je protáhnuto pod deskou vespod profilu. Při vyjímání desky je používán i hever, protože hmotnost vzorku dosahuje zhruba 100 kg (Obr. 5). Výhodou metody je rychlost při plavení vzorků a lehké rozlišení živých kořenů od mrtvých. Zároveň je ale nutná určitá dovednost a více práce než při soil-core metodě. Navíc dochází k poškození místa odebrání vzorku a mnoho jemných kořenů především na okrajích vzorku je ztraceno během plavení. Při plavení vzorku je nutné vzorek na noc nechat máčet ve vodě nebo v jiném médiu. Kvantifikace celkové kořenové biomasy se provádí výpočtem z hmotnosti kořenů naměřených ve vrstvách k adekvátnímu objemu půdy. Pro úsporu času se může vzorek hodnotit vizuálně, ale výsledky jsou závislé na subjektivním přístupu technika, který vzorek hodnotí (Oliveira et al., 2000).

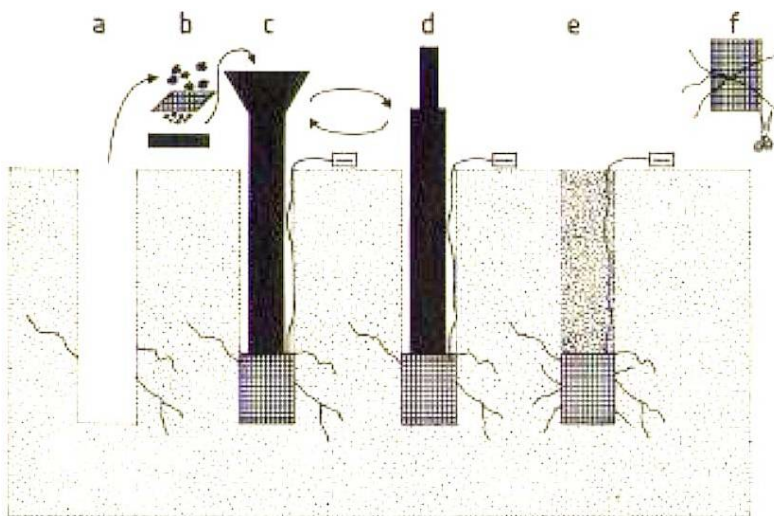


Obr. 5 Schéma odebrání vzorku půdy pinboard metodou (převzato z Oliveira et al.,

3.2.4 Ingrowth cores metoda

Tato metoda je nejčastěji využívána při sledování růstu kořenů v půdě v určitém časovém intervalu. Uplatňuje se při srovnání různých stanovišť, sezónní variability nebo působení rozdílných experimentálních podmínek. Základní pojetí této techniky předpokládá půdu zbavenou kořenů, do níž během času vrůstají jednotlivé kořeny okolních rostlin, které lze následně kvantifikovat. Pracovní postup začíná vyjmutím zeminy a vytvořením otvoru v půdě většinou o hloubce asi 30 cm a průměru 10 cm, avšak rozměry jsou závislé na rozmístění kořenového systému sledovaných rostlin. Zemina je přesáta a zbavena pokud možno všech kořenů. Na dno otvoru se umístí nylonový nebo polypropylenový vak s oky velkými asi 0,5–0,7 cm. Vak je postupně zahrnován prosátou půdou, která musí být pokládána asi v centimetrových vrstvách a řádně stlačována, protože rozdílná objemová hmotnost by mohla indukovat změněné chování kořenů. Síťový vak se po určité době vytahuje z půdy pomocí lanka, které je na něj připevněno a zároveň označuje místo vložení vaku. Po vyjmutí se musí

odstranit přečnávající kořeny. Vzorek se následně plaví stejným způsobem jako při soil-core metodě (Obr. 6). Zásadní nevýhodou této techniky je neznámá závažnost porušení půdního profilu. Při znovunavrácení přesáté zeminy se mění struktura agregátů, která urychluje mineralizaci a ovlivňuje objemovou hmotnost a provzdušnění půdy. Zároveň je možná změna vlhkosti půdy a dostupnosti živin. Všechny tyto faktory snižují vypovídací schopnost techniky. Metoda je vhodná především pro srovnání růstu kořenů v různých typech půdy (rozdílný obsah humusu, zhutnění, přidavek specifických půdních organismů). Její výhodou při uplatnění v polních podmínkách jsou především stejné podmínky prostředí. Pokud jsou ve vaku přítomny i odumřelé kořeny, lze studovat rozklad kořenů *in situ*. Nejčastěji byla využívána v nádobových pokusech.



Obr. 6 Pracovní postup při ingrowth cores metodě (převzato z Oliveira et al.,

3.2.5 Core-break metoda

Tato metoda vznikla na začátku minulého století jako alternativa k níže popsané soil-core metodě, aby se vyhnula příliš zdoluhavému a náročnému plavení a počítání kořenů ve vzorku. Válcové vzorky o požadovaném průměru a délce se získávají stejným způsobem jako při soil-core metodě, avšak následně se válec přelomí na dvě části, na obou průřezích se spočítají viditelné kořeny. Každá část se počítá jako jeden kořen. Při velké hustotě kořenů může být počítání kořenů značně zdoluhavé. Tato metoda byla především aplikována u travních druhů (Böhm, 1979). Pro přepočítání počtu kořenů na lomu na hustotu kořenů v objemu půdy byly publikovány přepočítávací koeficienty založené na úhlu růstu a větvení kořenů (Smit et al., 2000). Výhodou této metody je rychlost a velké množství odebíraných vzorků, které částečně vyvažují vysokou variabilitu (o 50–100 % větší proměnlivost u kořenové délky než při klasickém , a pokud neexistuje dostatečné množství opakování, může být odhad nereprezentativní.

3.2.6 Trench-wall (profile wall) metoda

Tato metoda se dá považovat za modifikaci exkavace kořenů. Nejdříve byla používána pro studium kořenových systémů stromů teprve později pro polní plodiny a trávy. Hlavním smyslem metody je vytvoření svislé stěny – odkrytí půdního profilu těsně u báze rostlin do požadované hloubky. U stromů se volí různá vzdálenost od kmene. Na průřezu lze pozorovat jednotlivé kořeny v rámci přirozené pozice v půdě a mezi rostlinami. Pomocí odhadů RLD, náčrtů a fotografií je možné ohodnotit kořenový systém.

Hloubka zakořenění rostlin určuje hloubku transektu. U plodin pěstovaných v řádcích se volí pozice jámy napříč řádky, což umožní lépe pozorovat distribuci kořenů. Pokud je cílem pozorovat pouze orniční vrstvu stačí 0,3 m široká a 0,3 m hluboká jáma. V případě hlubokých výkopů je nutná šířka asi 1 m pro dobrý přístup pozorovatele ke stěně. Jestliže se tato metoda používá na pozemcích polních pokusů, většinou se situuje do okrajů pokusných ploch, aby se zamezilo zničení parcel. Pokud se při odstraňování zeminy separuje ornice od spodních vrstev, snižuje se při opětovném zasypání jámy negativní vliv na stanoviště. Pro vyhlazení stěn se používá speciální dlouhý nůž se širokou čepelí. Často je odebráno ještě několik milimetrů půdy pro pozorování kořenů pomocí vodního proudu nebo tlakem vzduchu.

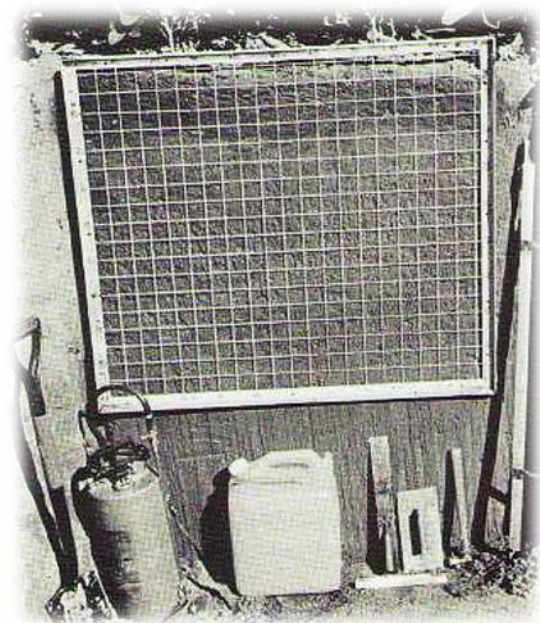
Při hodnocení kořenového systému se zaznamenává počet průřezů kořeny pomocí vzorkovací mřížky nebo se pozice kořenů zakreslí na průhlednou polyetylenovou folii či stěnu, což je více flexibilní při následné analýze dat (Obr. 7 a Obr. 8). Nejjednodušší možností je přiložení čtvercové sítě na stěnu. Její velikost (většinou 100 × 100 cm) a velikost ok (10 × 10 cm) závisí na velikosti pozorované plochy a na účelu výzkumu. Při tomto způsobu se každý kořen zaznamenává na milimetrový papír jako tečka o různém průměru v závislosti na průměru odkrytých kořenů. Kořeny mohou být také seskupeny do kategorií dle svého průměru a následně zaznamenávány. Tato část metody je velice různorodá a mnoho autorů používá různé přístupy. Existuje možnost kalibrace počtu kořenových průřezů v jednotce plochy na RLD v jednotce objemu, kdy se vyberou vzorky z různých míst mřížky většinou o velikosti ok mřížky hluboké asi 2 cm. Následně se tyto vzorky vyplaví (van Noordwijk et al., 2000). Data získaná trench-wall metodou se po digitalizaci např. pomocí skeneru mohou analyzovat různými způsoby pro odvození informací o prostorovém rozmístění kořenů (Haberle et al., 1994).

Mezi výhody této metody patří rychlý odhad celkové distribuce kořenů v profilu a detailní informace o prostorovém rozložení kořenů a jejich interakci s biologickými, chemickými a fyzikálními vlastnostmi půdy.

Nevýhodou je značná pracnost a časová náročnost metody. Zároveň dochází k poškození místa výzkumu. V transektu lze pozorovat pouze malou část kořenů nacházejících se v půdě, ve které lze někdy těžko rozlišit mrtvé a živé kořeny.

Hodnocení profilu trench-wall metody se dá provést také barvením. RWT (Rhodamine Water Tracing) barvení působí ztmavnutí kořenů oproti půdnímu profilu. Profil je fotografován na

infračervený film, fotografie je pak naskenována a průřezy, délka, hmotnost, větvení kořenů je analyzováno počítačovým programem (Ruark a Bockheim, 1988).



Obr. 7 Vzorkovací mříž připevněná na stěnu půdního profilu při použití trench-wall metody (převzato z Böhm, 1979)

		Kmen							
		1	2	3	4	5	6	7	8
A	0-10	0	1	0	0	3	2	1	0
B	10-20	9	4	5	4	4	5	8	10
C	20-30	5	4	6	18	15	8	4	2
D	30-40	1	2	4	7	8	8	4	6
E	40-50	2	0	2	6	4	3	2	1
F	50-60	0	1	0	0	1	0	1	0
G	60-70	0	0	0	0	1	0	0	0



Obr. 8 Názorné zobrazení hustoty kořenů jabloně na stěně profilu v síti o velikosti ok 10 × 10 cm. Většina kořenů má průměr 1–3 mm, kořeny s průměrem nad 10 mm jsou znázorněny modře (foto J. Haberle)

3.2.6.1 Zjednodušené postupy pro pozorování kořenů v provozních podmínkách

Metoda půdního profilu (trench wall) je nejjednodušší způsob určení hloubky a distribuce kořenů v provozních podmínkách. Podstatná informace pro agronoma je rozložení kořenů v profilu, nikoliv přesná hustota kořenů. S výhodou lze použít výkopů inženýrských sítí apod., které se často na pozemcích provádějí nebo využít techniky pro výkopové práce (při dodržení s tím spojených bezpečnostních opatření). V těchto případech není nezbytné provádět výkop v průběhu vegetace, kořeny jsou dobře viditelné i po sklizni. Výkop by měl být kolmo k řádkům, tak aby zachytil meziřadí a půdu pod kolejovými řádky. Na stěně profilu lze pozorovat kořeny plodiny, jejich hustotu a především jsou dobře patrné překážky růstu kořenů, zvláště utužené podorničí, které brání růstu kořenů do hloubky (významné u řepy, kukuřice, slunečnice). Další omezující faktory jsou vrstvy šterku nebo jílu a zamokření (zbarvení indikuje nedostatek vzduchu) nebo nahromaděné nerozložené zbytky předplodiny. Tyto poznatky poskytují pěstitelům návod, co je potřeba zlepšit, například podrýváním, větším inputem organické hmoty nebo pro zařazení vhodných sledů plodin.

I v provozních podmínkách lze využít zjednodušenou metodu core-break. Půda odebraná půdním vrtákem, sondýrkou nebo ze stěny výkopu se nechá rozplavit ponecháním několik hodin v roztoku běžné krystalické sody (do 3 %). Rozplavení urychluje použití teplé vody a rozmělnění hrud půdy (pozor na zamazání pórů na povrchu agregátů). U těžkých jílovitých půd, zvláště při vysoké vlhkosti, je rozplavení obtížné, v takovém případě je vhodné nechat půdu nejdříve částečně vyschnout a použít teplý roztok sody. Příliš velké vzorky nad 0,5–1 kg se rozplavují obtížně. Půda se rozplavuje mírným proudem vody, k zachycení lze použít síta s malou velikostí ok nebo síťoviny natažené na rámečku. Množství vyplavených kořenů indikuje růst kořenů v ornici a podorničí. V případě zájmu lze určit i délku kořenů ve vzorku s pomocí metody odpočtu křížení se čtvercovou sítí (Tennant, 1975). Pokud je znám objem odebraného vzorku, lze vypočítat hustotu kořenů. Například pro čtvercovou síť s velikostí ok 1 cm × 1 cm je celková délka kořenů v daném vzorku rovna počtu všech křížení kořenů

3.2.7 Root windows, rhizotrony a minirhizotrony

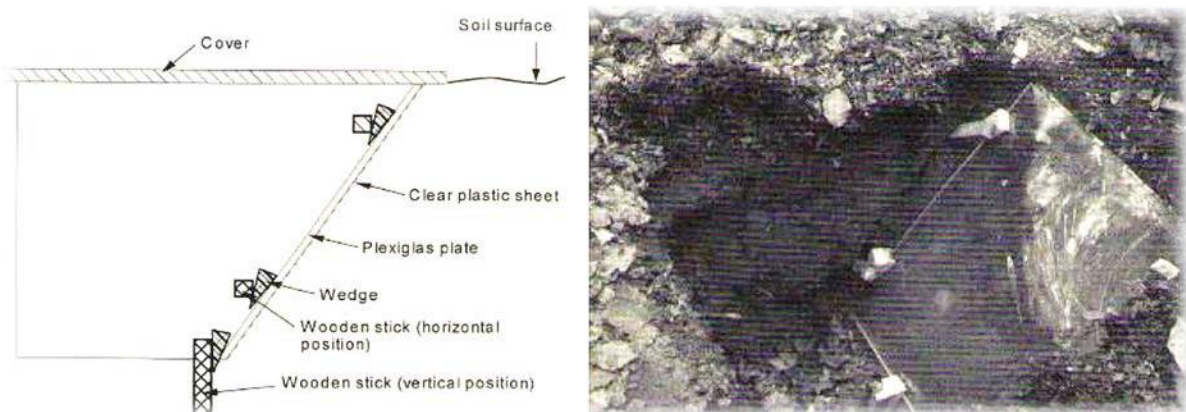
Protože většina metod používaných k měření velikosti kořenového systému je destruktivních a časově náročných a neumožňuje pozorovat růst a vývoj kořenového systému v čase a přímo na stanovišti, vznikla metoda pozorování kořenů pomocí „skleněných stěn“ (root windows, rhizotrony). První rhizotrony začaly vznikat již začátkem 20. století. Pomocí této metody lze zkoumat interakce mezi kořenovým systémem a prostředím nebo mezi jedinci navzájem, odhadovat hloubku prokořenění a také morfologické charakteristiky – větvení, průměr a délku kořenů, průběh a rychlost růstu a vývoje a životnost kořenů.

3.2.7.1 Root windows

Root window je průhledná deska vyrobená ze skla nebo plexiskla, instalovaná do půdy umožňující nedestruktivní pozorování růstu kořenů a jejich vztah s okolní půdou, morfologické a fenologické změny a mortalitu jednotlivých kořenů. Na rozdíl od minirhizotronů je zobrazená plocha o mnoho větší a zároveň je pozorování levné ve srovnání s rhizotrony. Při instalaci se nejdříve do hloubky pozorování kladivem zatluče těžký ocelový plát asi 50 cm široký pod požadovaným úhlem (většinou 45 nebo 60°). Úhel je závislý na pozorované rostlině, půdním typu a technickém vybavení, kterým bude růst kořenů pozorován. Plát musí být zasazen bez jakéhokoliv vybočení, aby byla stěna hladká. Půda před zasazeným plátem se odstraní a vznikne jáma. Poté se vyjme i plát na jeho místo se přiloží deska z plexiskla stejných rozměrů většinou o tloušťce několika mm a ta se k půdě připevní pomocí klínů. V kamenitých půdách nelze dosáhnout jemné stěny bez prázdných míst a nerovností, proto se proseje tenká vrstva zeminy a vyplní se jí mezera mezi neporušenou půdou a sklem. Je nutné zamezit pronikání světla a vlivu mrazu, nahřívání apod. na pozorovací plochu. Proto se jáma zakrývá deskou izolačního materiálu (Obr. 9).

Pro získání dostatečných informací je většinou nutné instalovat více desek na jednotku plochy. Umístění „oken“ v terénu je závislé na rostlině, která je sledována. U rostlin pěstovaných v řádku různé umístění desek umožňuje studovat prostorovou variabilitu dynamiky růstu kořenů. U stromů se vzdálenost od kmene pohybuje kolem 1 – 2 metrů. Nevýhodou této metody je občasná kondenzace vody na vnitřní straně skla, která může zavinit tzv. border efekt, kdy kořeny preferují růst podél skla (Polomski a Kuhn, 2002).

Délka kořenů je většinou obkreslena barevnými popisovači na průhlednou folii. Během pozorování by měla být minimalizován vliv světla na kořeny. Folie mohou být později zanalyzovány pomocí skeneru nebo analýzou obrazu. Největší výhodou je především možnost pozorování změn v růstu a životnosti kořenů.



Obr. 9 Root window (převzato ze Smit et al., 2000)

3.2.7.2 Rhizotrony

Rhizotrony jsou podzemní laboratoře, které slouží ke stejným účelům jako root windows (pozorování růstu, morfologických charakteristik, vývoje kořenů v polních podmínkách), ale jejich rozměry jsou mnohonásobně větší. Stěny těchto až několik desítek metrů dlouhých chodeb jsou tvořeny z různě členěných skleněných tabulí dle potřeb výzkumu. Kořenový systém pozorovaný v tabulích se vyvíjí v přirozeném prostředí pro rostlinu, protože nadzemní části rostlin jsou vystaveny normálním polním podmínkám. Výhodou je možnost nepřetržitého pozorování chování stejných rostlin po dlouhou dobu a současného monitoringu obsahu vody, živin a dalších půdních vlastností. Největší rhizotrony byly vybudovány např. na univerzitě Wageningen v Nizozemí nebo v East Malling Research Station v Anglii (Böhm, 1979). Vysoce sofistikovanou modifikací rhizotronů jsou rhizolaby. Rhizolaby poskytují plně kontrolované podmínky prostředí jak v půdě, tak pro nadzemní části rostlin.

Metody záznamu a výpočtu požadovaných parametrů mohou být prakticky stejné jako u root windows. Při výpočtu je možné taktéž použít line-intersect metodu jako u soil-core metody. I u rhizotronů je třeba zamezit delšímu působení světla v laboratoři na rostoucí kořeny, které mohou měnit rychlost růstu nebo snižovat vývoj laterálních kořenů. Zároveň se mohou na skle vyskytnout zelené řasy, které omezují pozorovací plochu. Také se pár měsíců po instalaci rhizotronů mohou objevit vzduchové bubliny, a to především v půdě, která byla při budování rhizotronů kompletně přesáta a znovu umístěna na původní místo. Pokud mají laboratoře fungovat dlouhodobě, hrozí například hromadění humusu a organických zbytků na sklech. Nevýhodou je také to, že málokdy lze pozorovat růst kořenů až do maximální hloubky zakořenění a množství opakování parcel je malé, takže mnohdy nelze pokusy statisticky vyhodnotit

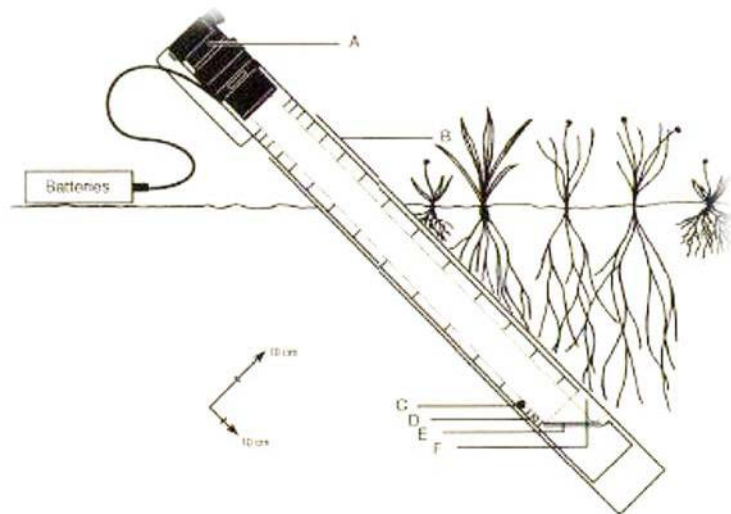
3.2.7.3 Minirhizotrony

Tato technika je založena na sledování a zaznamenávání kořenů *in situ* díky průhledné tubě, která je vsunuta do substrátu, kde se kořeny nacházejí. Takto lze měřit přímo a opakovaně stejný kořen. Pomocí minirhizotronu se měří fluktuace, životnost, produkce kořenů, ale není uzpůsoben k měření topologie kořenů a architektury z důvodu limitovaného pozorovacího prostoru. Jeho výhodou je úspora času a práce ve srovnání s klasickými destruktivními metodami a také o mnoho menší finanční náročnost a výrazná flexibilita ve srovnání se rhizotrony. Minirhizotronem lze pozorovat i větvení kořenů, přítomnost kořenových vlásků nebo infekce mykorhizními houbami.

Myšlenku pozorování rostlin pomocí skleněných zdí a tubusů navrhnul už v 30. letech Bates, metodu dále rozvinul např. Böhm (1979), který pomocí vrtáku vytvořil 1,1 m hluboké díry, do které zavedl 1,3 m dlouhý a 6 – 6,5 cm široký tubus, který měl na spodním konci gumový nárazník proti poškození a vrchní část, která zůstala 20 cm nad povrchem, byla natřena černou barvou, aby nešířila světlo ke kořenům. Pro dosažení dobrého kontaktu mezi půdou a tubou

může být volný prostor zasypán suchou, přesátou zeminou. Kořeny byly pozorovány kruhovým zrcátkem osvětleným žárovkami. V současnosti se používají minirhizotrony vyrobené ze skla, plexiskla nebo polykarbonátů. Běžně používané minirhizotrony jsou 60–200 cm dlouhé o průměru 3–6 cm (Obr. 10). Pro záznam pozorovaných kořenů je mnoho možností. Jsou to zrcátka, fotoaparát spojený s endoskopem nebo periskopem nebo videokamery, které se mohou pohybovat uvnitř tuby. Nakaji et al. (2008) prezentovali novou metodu rozlišení a hodnocení kořenů a jiných objektů v rhizosféře pomocí „multi-spectral imaging system“, který využívá jak viditelného tak UV světla pro rozeznání mrtvých a živých kořenů.

Mezi nedostatky této metody lze počítat podhodnocení hustoty prokořenění ve svrchních vrstvách. Vysycháním půdy během pozorování je možné oddělení půdy od plochy minirhizotyonu a to vede k chybám měření. Přeseknutím kořenů instalací minirhizotyonu je způsoben nežádoucí překotný růst kořenů. Vzhledem k malé pozorovací ploše je nutné realizovat větší množství pozorování, což zvyšuje negativa instalace minirhizotyonu do půdy a finanční náklady na vybavení. Minirhizotrony v místě pozorování způsobují porušení půdní struktury a je potřeba 1 měsíc až 2 roky, než se půdní vlastnosti upraví na původní stav (Majdi a Nylund, 1996).



Obr. 10 Minirhizotron a pozorovací sada v polních podmínkách; schéma instalace minirhizotyonu (převzato ze Smit et al., 2000)

3.2.8 Soil-core metoda

V současnosti nejpoužívanější metodou pro praktická hodnocení velikosti, distribuce a architektury kořenového systému rostlin je technika získávání vzorků půdy „soil-core“ (metoda půdních výkrojů).

Princip metody spočívá v získání půdního vzorku vzorkovačem, jeho rozplavení a separaci přítomných kořenů. Pro kvantitativní a kvalitativní hodnocení kořenů (hmotnost, délka, průměr, počet kořenových špiček atd.) je pak možné použít více návazných metod (line-intersect metoda, metoda vizuálního odhadu, skenování kořenů a jejich analýza pomocí software). Metoda je destruktivní pro rostlinu i půdu, ve které kořenový systém roste, a neumožňuje tak hodnotit identickou rostlinu opakovaně během vegetace. Pověstná je časovou náročností přípravy vzorků a jejich analýzy. Přesto se používá nejčastěji pro získání základních dat o hustotě prokořenění, hloubce prokořenění, hmotnosti, povrchu, délce a průměru kořenů. O pravděpodobném zatížení výsledků určitou chybou ztrátami jemných kořenů svědčí výstupy z laboratorních pokusů v rhizotronech, které ukazují, že kořeny o průměru menším než 0,25 mm představují téměř 95 % z celkové délky kořenů. Podobně Costa et al. (2001) a Zobel (2008) uvádí, že až 80 % celkové délky kořenového systému je tvořeno jemnými kořeny a kořenovými vlásky, které mají průměr menší než 0,30 mm.

Detailní popis této metody, specifikace její novosti a následné zhodnocení ekonomických

4 Obecná a závazná charakteristika odběru a hodnocení kořenového systému polních plodin metodou soil-core s následným hodnocením digitální analýzou obrazu

4.1 Fáze 1 – odběr vzorků

Vzorky půdy s kořenovou biomasou lze odebírat ručně (Obr. 11) nebo pomocí mechanizovaných vzorkovačů. Ruční vzorkování je nejčastější. Běžně používaným vzorkovačem je standardní půdní vrták, v pedologii používaný pro odběr nepoškozených půdních vzorků, zakončený válcovitým tubusem s ostrou hranou (Obr. 12). Tubus bývá 15 cm dlouhý o průměru 7 cm. Pomocí ručního vrtáku může být zaveden až do hloubky 1 m. Vrták je doplněn razníkem, který vysune odebraný vzorek z tuby. Tento základní typ byl mnohými autory modifikován. Vzorkovače jsou nejčastěji vyráběny z nerezové oceli. Při získávání vzorků z velkých hloubek, nebo z těžkých či kamenitých půd je možné použít mechanizaci (vzorkovač upevněný na traktor a poháněný jeho hydraulickým pohonem).



Obr. 11 Ruční odběr půdních válců soil-core metodou (foto T. Středa)



Obr. 12 Půdní vrták pro odběr vzorků půdy s kořenovým systémem (foto T. Středa)

Na Universität für Bodenkultur Wien a Mendelově univerzitě v Brně (Dostál et al., 2008; Středa et al., 2009) je používán vzorkovač složený z ocelového válcového tubusu o délce 1 m, vnitřním průměru tubusu 63 mm, silou stěny 5 mm s navařenou kalenou zkosenou hranou (korunkou) ve spodní části pro snadnější pronikání do půdy (Obr. 13 – vlevo). Na horním konci tubu jsou kolmo na vzorkovač navařena madla, která se používají při vytahování vzorkovače z půdy. Před zaváděním vzorkovače do půdy se na horní konec nasadí ocelová hlavice (brání poškození stěn vzorkovačem kladivem; Obr. 13 – vpravo) a pomocí kladiva je vzorkovač zaražen do požadované hloubky (Obr. 14).



Obr. 13 Vzorkovač pro odběr vzorků půdy s kořenovým systémem (foto T. Středa)



Obr. 14 Zavádění vzorkovače do půdy (foto T. Středa)

Při vyjímání vzorkovače z půdy je možno použít jednoduchý pákový mechanismus (Obr. 15 – vlevo). Až metr dlouhý vzorek půdy je po vytažení z půdy vytlačen z trubky razníkem, tj. tyčí s koncovým průměrem identickým jako vnitřní průměr vzorkovače (Obr. 15 – vpravo). Hloubka vzorkování je závislá na předpokládané hloubce prokořenění rostliny. Jackson et al. (1996) shromáždili databázi 250 studií kořenů (délka a biomasa) a na jejím základě stanovili funkci popisující distribuci kořenů. Obecně se dá říci, že průměrně napříč biomy a typy vegetace se 30 % kořenové hmoty nachází do 0,1 m hloubky, 50 % do 0,2 m a 75 % se nachází v hloubce

do 40 centimetrů. Minimální hloubka vzorkování je odvislá také dle účelu vzorkování. Pro obilniny by měla činit minimálně 60 cm.



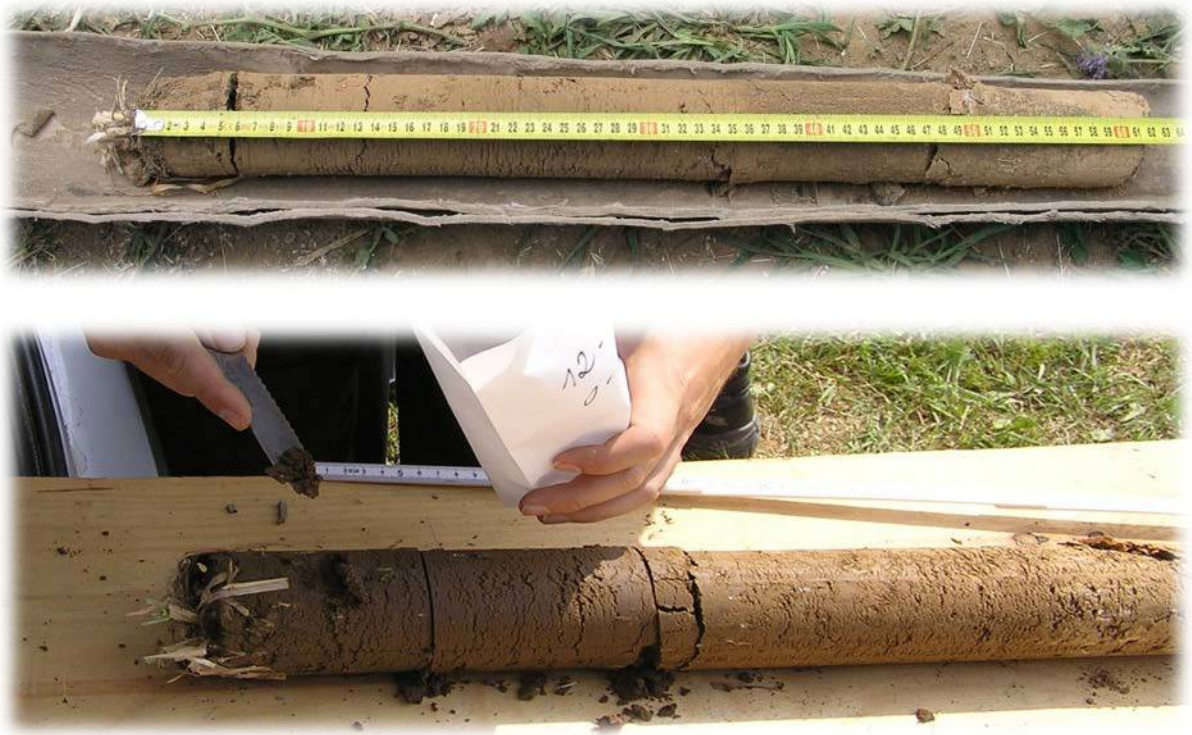
Obr. 15 Použití pákového mechanismu pro vysunutí vzorkovače z půdy (vlevo); razník pro vytlačení vzorku ze vzorkovače – červeně označeno na snímku vpravo (foto T. Středa)

Protože válec půdy obsahuje pouze malou část celkového objemu půdy, ve kterém se kořeny rostliny nachází, je nutné odebírat z více míst. V pokusech s porovnáním odrůd stačí jedna vzorkovací pozice na jednu variantu pokusu, které se v rámci experimentu opakují. U obilnin je zpravidla používán systém s umístěním vzorkované rostliny do středu vzorkovacího válce. U plodin s dřevnatějícím masivním kořenem je odběr vzorků prováděn v meziřadí, při dodržení jednotného metodického postupu u všech sond.

Odebrané vzorky půdy s kořenovou biomasou (Obr. 16) se před dalším zpracováním segmentují na válce o délce 10 cm (Obr. 17 – vlevo) pro možnost hodnocení vertikální distribuce kořenového systému a hodnocení kvantitativních a kvalitativních parametrů v různé hloubce půdního profilu.

Na základě dynamiky tvorby kořenové biomasy, dynamiky výnosotvorných prvků, rizik výskytu sucha a dlouholetých zkušeností doporučujeme hodnotit kompletní kořenový systém obilnin okolo růstové fáze plnění zrn (BBCH 70 dle Meier, 1997).

Vzorky se skladují při teplotě $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ v polyethylenových sáčcích tak, aby nedošlo k nežádoucímu rozkladu kořenů. Ke ztrátě na hmotnosti (5–10 %) dochází díky dýchání kořenů již v době 24 hodin po odběru, pokud vzorky nejsou drženy v chladu ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$). Dle zamýšleného cíle analýzy je možné je uložit i v roztoku vody s alkoholem, vysušit nebo při krátkém intervalu mezi vzorkováním a plavením je lze uchovat při teplotě $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ pouze ve vodě po dobu 2–5 dnů, než se začnou kořeny rozkládat.



Obr. 16 Vzorek půdy s kořenovou biomasou z odlišných půdních podmínek (foto T. Středa)



Obr. 17 Rozdělení vzorku na části (nahore), dole – zmražený vzorek půdy (foto T. Středa)

4.2 Fáze 2 – separace kořenů

Časově a manuálně nejnáročnější částí soil-core metody je separace kořenů plavením půdy tekoucí vodou (Obr. 18 – vlevo). Vzorky písčitých půd je možné přesívat i za sucha, ale tím se zachytí pouze velké kořeny zpravidla s průměrem větším než 2 mm. Plavení vzorků může být ruční se soustavou sít, metodou flotace¹² nebo je zajišťováno automatickými přístroji (např. hydropneumatický systém dle Benjamin a Nielsen, 2004; Obr. 18 – vpravo). Flotační metoda spočívá v ponoření vzorku do nádoby s vysoko umístěnou výlevkou. Vzorek je rozplavován proudem vody přitékající hadicí do nádoby a směs kořenů a půdy se nálevkou dostane do nádoby se síťovým dnem. Kořeny se na něm usadí, kdežto zemina a voda unikají pryč. Tato metoda je zdoluhavější, ale zároveň šetrnější ke kořenům. Pokud půda obsahuje vysoký podíl jílovitých částic a jílu, je možné použít i chemikálie pro lepší disperzi půdních částic (Böhm, 1979; Oliveira et al., 2000).

Před plavením musí být zmrazené vzorky rozmrazeny při laboratorní teplotě nebo ve vodní lázni. Vyšší teplota vody urychluje rozpad půdních částic a usnadňuje plavení. Při ručním plavení jsou poté kořeny z půdy vymývány jemným proudem vody, aby se zamezilo ztrátám a poškození. Před plavením je dobré nechat vzorek odmočit ve vodě a jemně ho rozprostřít.

Velikost ok výplně použitých sít je zásadní pro zamezení ztrátám kořenů. Nicméně, není definován žádný mezinárodní standard pro velikost ok sít, které mají být použity pro konkrétní rostlinný druh či účel. Velikost ok se obvykle pohybuje mezi 0,2 a 2,0 mm. Pro většinu analýz je vhodné síto o velikosti ok 0,6 mm. Často je používána soustava sít s různými průměry ok. Bylo zjištěno, že podle velikosti ok se liší množství zachycené kořenové biomasy a kořenové délky. Amato a Pardo (1994) zjistili, že síta s oky o rozměru 2 mm² zachytí 55 % kořenové biomasy pšenice a fazole, ale pouze 10 % jejich délky ve srovnání se sítem o velikosti ok 0,2 mm². Livesley et al. (1999) doporučují velikost 0,5 mm² a větší pro zjišťování kořenové biomasy, ale 0,25 mm² pro odhad délky kořenů. Böhm (1979) při pokusech s rostlinami ječmene zjistil, že při plavení kořenového systému mladých rostlin nedochází k žádným ztrátám při použití sít s velikostí ok 0,5 mm², u starších rostlin, když se začíná část kořenů rozkládat, byla zjištěna ztráta ne více jak 10 % u celkové kořenové biomasy. S klesající velikostí ok síta stoupá množství zachycených minerálních částic, detritu¹³ a rostlinných zbytků, které zvyšují nároky na dočištění vzorků. Dle dosavadních zkušeností doporučujeme k zachycení rostlinných zbytků a včetně kořenového systému využít soustavu sít o velikosti ok 1,6 mm a 0,6 mm (Obr. 19 – vlevo).

Kořeny jsou ze sít následně manuálně vybírány a oplachovány ve vodě (Obr. 20). Velkou péčí je nutné věnovat oddělení kořenů od ostatních rostlinných zbytků a kořenů jiných druhů rostlin, které vyžaduje zkušenosti pracovníka. K identifikaci nejjemnějších kořenů na sítech je vhodné použít laboratorní lampu s lupou (Obr. 21 – vlevo). S ohledem na cíl analýzy mohou

¹² Flotace je způsob rozduřování, tedy třídění jemného materiálu, o různém složení ve vzduchu či ve vodě.

¹³ Detrit – organická hmota v různém stupni rozkladu.

být poté pro uchování kořeny vysušeny při 60–75 °C nebo zamraženy v plastové nádobě s menším množstvím vody, případně s přídavkem chloraminu (1–3 %) pro zamezení rozkladných procesů. Pro delší dobu skladování kořenů v nezměněném stavu je nutné použít roztok vody a chemikálií. Nejčastěji je používán formalín v 5% koncentraci nebo roztok alkoholu. Množství alkoholu v roztoku je nepřímo úměrné teplotě skladování. Při správné konzervaci je možné vzorky skladovat několik měsíců. Vyplavené kořeny doporučujeme uchovávat ve zkumavkách v roztoku alkoholu a vody v poměru 1:2 (Obr. 22).



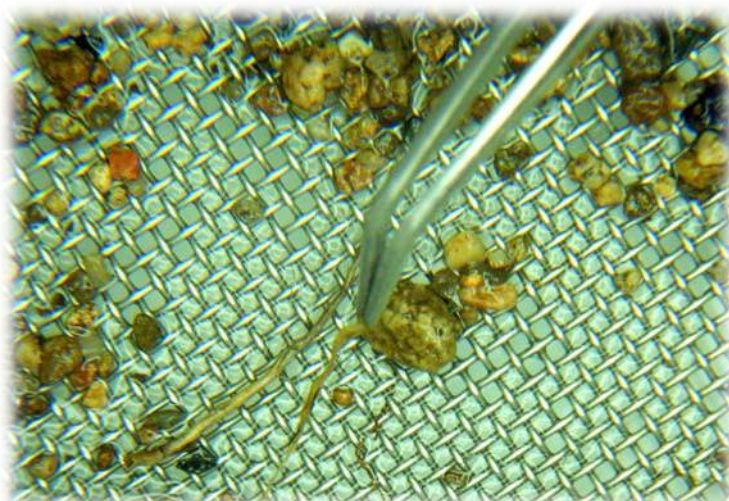
Obr. 18 Plavení vzorků kořenů ručně pod tekoucí vodou (vlevo; foto T. Středa), vpravo – s použitím automatického přístroje (převzato z Benjamin a Nielsen, 2004)



Obr. 19 Plavení na sítích (vlevo); vpravo – vyplavený vzorek (foto T. Středa)



Obr. 20 Zpracování vyplavených vzorků (foto T. Středa)



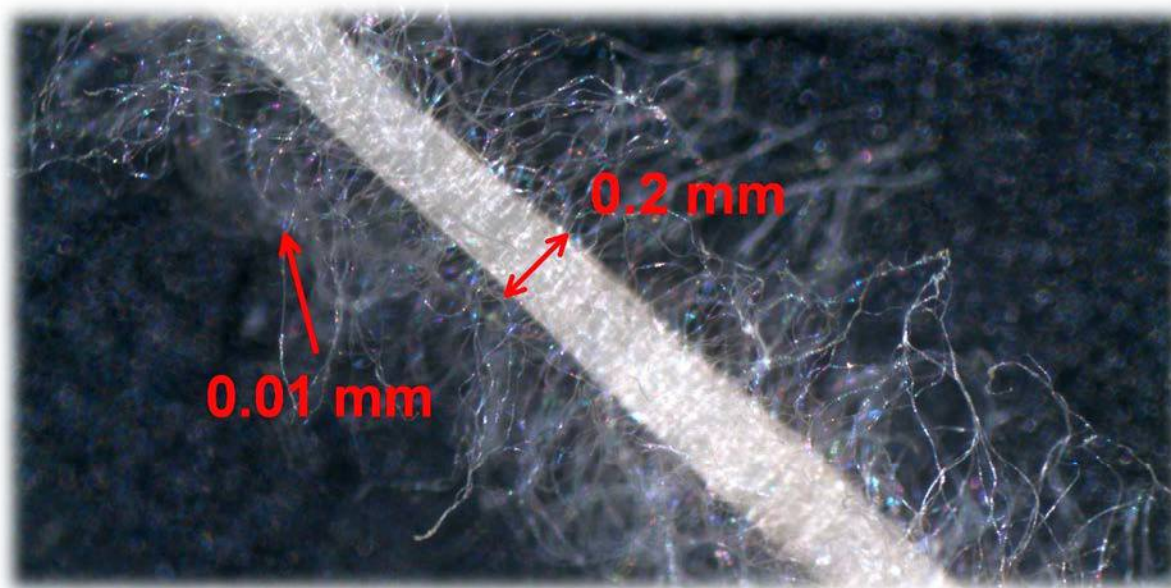
Obr. 21 Laboratorní lamp a s lupou (vlevo); vpravo – vzorek na sítích (foto T. Středa)



Obr. 22 Finální podoba vzorku kořenového systému, připraveného k uchování (vlevo); vpravo – vzorky kořenů uchované v roztoku alkoholu pro delší skladování (foto T. Středa)

4.3 Fáze 3 – hodnocení vzorků digitální analýzou obrazu a následnými analýzami

Následnou fází je kvantifikace a analýza morfologických parametrů kořenového systému. Při analýze se hodnotí hmotnost kořenů (nejčastěji po vysušení při 65–75 °C), průměr a povrch kořenů. Tyto hodnoty je možno dopočítat z ostatních parametrů nebo použít mikroskop s mikrometrem (Obr. 23). V současnosti jsou tyto charakteristiky nejčastěji hodnoceny pomocí počítačové analýzy obrazu. Délku kořenů je možno určit více způsoby např. pomocí line-intersect metody, počítačového programu či vizuálním odhadem.

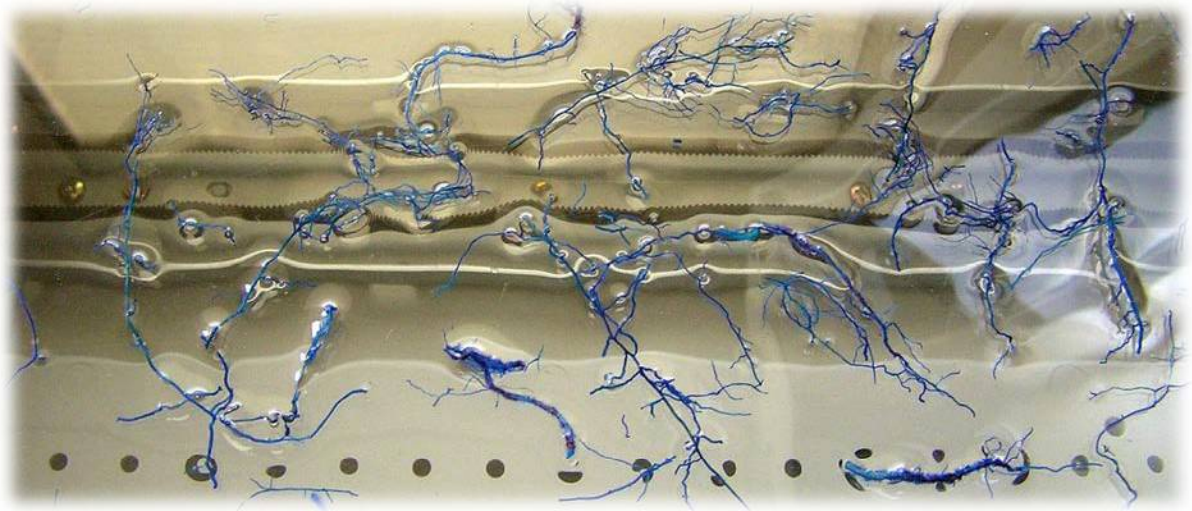


Obr. 23 Analýza jemných struktur kořenů digitálním mikroskopem s nadstavbou pro měření velikosti objektů (foto T. Středa)

Analýza obrazu je dostupná pomocí mnoha komerčně dodávaných počítačových programů. Umožňuje rychlou analýzu vlastností kořenů, která významně zkrátí čas výpočtu a zamezí chybám způsobeným lidským faktorem. Vzorek, který bude podroben analýze, by měl být bez cizorodých předmětů, protože některé programy neumí rozlišit kořeny od organických zbytků.

Barvení kořenů umožní získat ostrý kontrast mezi kořeny a pozadím, který je pro zpracování obrazu vyžadován. Barvení podle potřeby a použitého barviva může trvat několik minut až hodin. Výhodou některých barviv je, že prostoupí jen do pletiv živých kořenů. Mezi používaná barviva patří např. methylenová modř (Obr. 24). Barvivo je třeba ohřát na teplotu 40 °C. Doba barvení je 10 minut. Před vlastním umístěním kořenů na skener je nutné barvivo vymýt, aby nedošlo k zabarvení nádoby, ve které jsou kořeny skenovány. Po obarvení se tak kořeny proplachují pod tekoucí vodou asi 3 minuty. Kořeny se rozprostřou po rámečku o známé ploše naplněném 2–3 mm vysokou hladinou vody, tj. v tenké vodní vrstvě tak, aby nevznikaly vzduchové bubliny, které by znehodnocovaly naskenovaný obraz a zároveň se kořeny ve vodě nepohybovaly a nedocházelo k nežádoucímu překryvu. Důležité je náhodné rozmístění kořenů, jejich vodorovné uložení na skenovací plochu (problém nutnosti převést 3D rozměry

kořenového systému na „2D“) a omezení překryvu kořenů, které mohou způsobit podhodnocení měřených parametrů. Dobré rozpoznání kořenů je do značné míry závislé na optických schopnostech použitého zařízení. Proto jsou často výrobci programů pro hodnocení kořenového systému doporučovány poloprofesionální skenery, např. Epson Perfection 700 Photo (nebo novější), se svrchním i spodním osvětlením skenovací plochy pro eliminaci stínů. Při použití skeneru s tímto typem osvětlení není nutné kořeny barvit (Obr. 25).



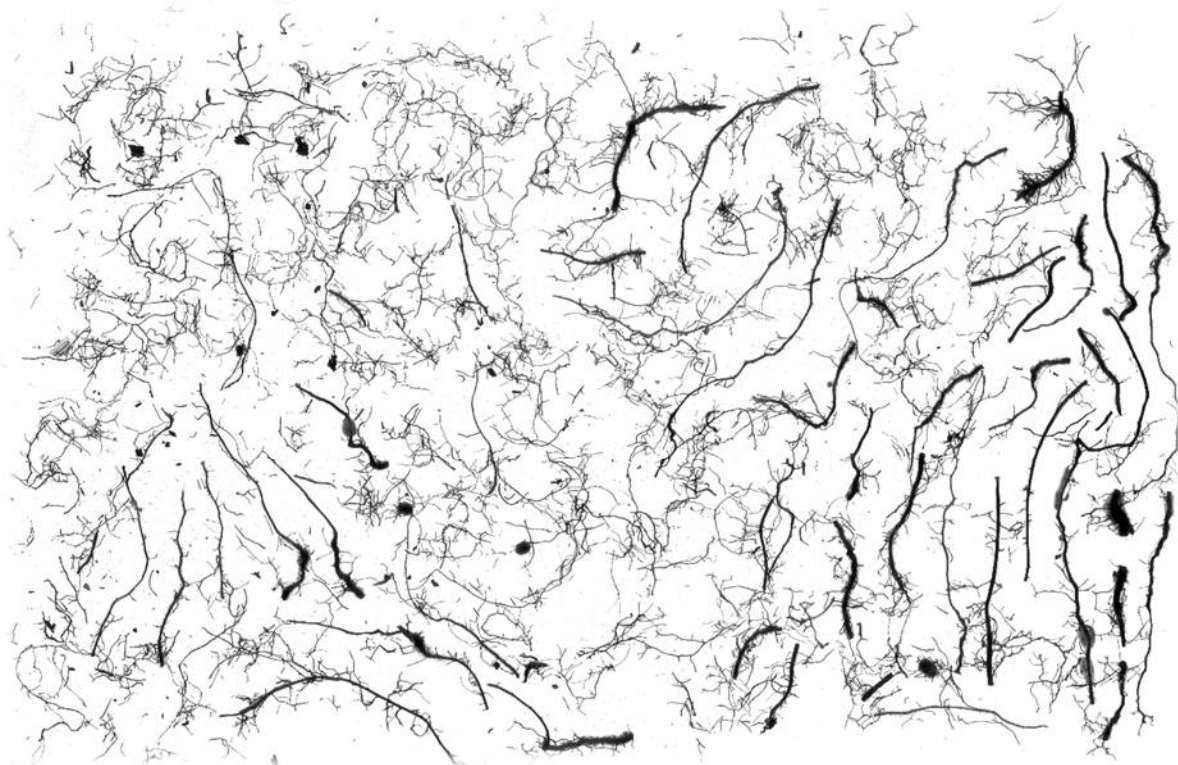
Obr. 24 Kořeny obarvené methylenovou modří, připravené ke skenování (foto V. Dostál)



Obr. 25 Příprava neobarveného (vlevo) a obarveného (vpravo) vzorku kořenů ke skenování (foto T. Středa)

Kritickým parametrem skeneru je rozlišení. To je dáno počtem pixelů na jednotku plochy, která určuje, jak velký může být nejmenší předmět, který dokáže rozpoznat. Kořeny o velikosti jednoho pixelu už jsou na hranici rozlišení. Konvenční skenery s rozlišením 600 dpi jsou schopny rozeznat kořeny o průměru až 130 μm (Richner et al., 2000).

Rozlišení obrazu je proces, při kterém je daný obraz rozdělen na různé úrovně šedě zbarvených oblastí, které jsou následně přiřazeny buď k ploše skenovaných předmětů, nebo k ploše pozadí. Tento postup tedy vede k dosažení binárního (bílá a černá) obrazu, který může být dále analyzován (Obr. 26). Proto je důležité pomocí barvení dosáhnout vysokého kontrastu.



Obr. 26 Sken vzorku kořenového systému, převedený do černobílého spektra, připravený k digitální analýze obrazu (foto J. Klimešová)

Vlastní analýza kořenů může být provedena více metodami. Pomocí line-intersect metody (nejrozšířenější postup), kdy je délka kořenů vypočítána z průsečíků řádků obrazu s pixely kořenů nebo pomocí „chain“ metody, kdy je délka pixelů sjednocena do řetězu s korekcí délky pro diagonálně připojené pixely.

Line-intersect metoda modifikována Tennantem (1975) vychází ze vztahu délky kořenů a počtu průsečíků mezi kořeny, které jsou rozprostřeny po ploše o známém obsahu, která je pokryta pravidelnou mřížkou. Kořeny se rozprostřou ve vodní hladině na skleněné desky tak, aby se, pokud možno, nepřekrývaly. Je spočítán počet průsečíků kořenů s horizontálními

i vertikálními linkami mřížky dle stanoveného pravidla a délka kořenů v cm se pak spočítá z rovnice: Délka kořenů (cm) = $\pi/4 \times$ počet průsečíků \times jednotka sítě (cm) (Tennant, 1975). Chyby, které se mohou vyskytnout u této techniky, jsou způsobeny především lidským faktorem. Na druhou stranu není pro stanovení délky nutné tak dokonalé dočištění, protože se počítají pouze křížení kořenů, které lze ve vzorku snadno rozlišit. Variační koeficient pro tuto metodu bývá 10 – 15 % (Böhm, 1979).

Alternativní metoda vizuálního odhadu vznikla z důvodu úspory času při hodnocení vzorků. Z množství vyplavených vzorků je vybrána menší skupina vzorků zahrnující celou škálu kořenových délek. Délka kořenů vybraných vzorků je spočtena line-intersect metodou a tento soubor pak zahrnuje standardní vzorky o známé délce kořenů. Délka kořenů u ostatních vzorků se pak určí vizuálním odhadem ve srovnání se standardy. Standardy by měly být vytvořeny pro každý druh (odrůdu) rostliny (Oliveira et al., 2000).

Mezi celosvětově nejpoužívanější programy používané pro analýzu obrazu a následné hodnocení parametrů kořenového systému patří WinRHIZO/MacRHIZO (Régent Instruments Inc., Quebec, Kanada) navržené pro operační systém Windows a Macintosh. Software měří délku, plochu, průměr, objem, počet kořenových špiček, větvení kořenů, topologii, analýzu fraktálů pomocí metody skeletonizace a další parametry (Obr. 27). Následně je možné vypočítat charakteristiky jako hustota prokořenění RLD (root length density, délka kořenů na jednotku objemu půdy, $\text{cm} \cdot \text{cm}^{-3}$); RSD (root surface density, plocha kořenů na jednotku objemu půdy, $\text{cm}^2 \cdot \text{cm}^{-3}$) a specifická délka kořenů SRL (specific root length, délka kořenů na jednotku hmotnosti kořene, $\text{m} \cdot \text{g}^{-1}$).

Po ukončení analýzy je možné vzorky kořenového systému vysušit do konstantní hmotnosti a zvážit pro analýzu hmotnosti biomasy kořenů.



Obr. 27 Ukázka digitální analýzy kořenů programem WinRHIZO (foto J. Klimešová)

Pro jednoduchou digitální analýzu obrazu byly při výzkumu kořenového systému použity i jiné programy, např. ROOTEDGE (National Soil Tilth Laboratory, Ames, IA, USA), NIH Image (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA), Delta-T SCAN (Delta-T Devices Ltd., Burwell, Cambridge, UK), RMS (Root measurement system; The University of Georgia, Athens), KS 300 rel. 3.0 (Carl Zeiss Vision, München, Germany), DART software, a jiné.

Analýza obrazu se používá pro výpočet parametrů kořenů kromě soil-core metody také u ingrowth core, pinboard a monolith metod. Zároveň jsou analýzou obrazu hodnoceny snímky pořízené v rhizotronech, minirhizotronech a rhizoboxech

5 Hlavní zásady pro korektní odběr a hodnocení kořenového systému polních plodin metodou soil-core s následným hodnocením digitální analýzou obrazu

V rámci celistvosti rostliny ovlivňují parametry kořenového systému výkonnost celé rostliny. Kořeny jsou velmi vnímavé k podmínkám půdního prostředí a jsou často prvním orgánem rostliny, který reaguje na stres (Bláha a Středa, 2016). Na stresové podmínky jako je nedostatek živin, sucho, utužení půdy, extrémní teploty, nízké pH nebo zasolení kořeny reagují v závislosti na druhu rostliny a délce trvání stresu (Haberle et al., 2015a). Adaptabilita kořenové soustavy potvrzuje výbornou schopnost kořenů měnit svoje morfologické a fyziologické vlastnosti pro dosažení optimálního růstu celé rostliny. Tento, pro rostlinu jistě pozitivní fakt, však komplikuje volbu optimálního termínu pro odběr a hodnocení kořenové biomasy. Vlivem stresových podmínek mohou být parametry kořenového systému značně modifikovány. To sehrává roli i při dimenzování optimálního (minimálního) počtu hodnocených rostlin z různých prostředí, s ohledem na jejich variabilitu. Důležitou otázkou je tak správné načasování měření kořenového systému pro hodnocení souvislosti s výnosem nebo kvalitou produkce. Zejména u ozimých plodin je vymezení optimálního termínu problematické. Údaje o kořenovém systému z fáze klíčení semen a zakořeňování rostlin jsou využitelné jen omezeně (během dlouhé vegetace ovlivňuje formování kořenů značné množství faktorů). Identicky i hodnoty parametrů kořenového systému z konce vegetace mohou být zatíženy značnou chybou (odumírání a rozklad kořenové biomasy, působení škůdců kořenového systému, zásadní vliv kořenů na výnos v jiných fázích růstu rostliny atd.).

Reprezentativnost vzorku je dána několika kritérii, která jsou závislá na lokalitě, druhu rostliny a účelu výzkumu. Jsou to průměr vzorku, strategie vzorkování na daném místě, hloubka profilu, ze které budou sondy odebírány a počet opakování. Průměr vzorku a počet jich odebraných spolu úzce souvisí. Protože válec půdy obsahuje pouze malou část celkového objemu půdy, ve kterém se kořeny rostliny nachází, je nutné odebírat z více míst. Se snižujícím

se průměrem je nutné zvýšit počet odběrů. V praxi se používají především vzorkovače o průměru 5–8 cm (Obr. 28).

U plodin pěstovaných v řádcích by se měly odebírat vzorky v řádku i mezi nimi (Obr. 29). U obilnin a dalších plodin setých u nás v řádcích vzdálených pouze 12–15 cm, se hustota kořenů v řádku a v meziřadí liší pouze v horních vrstvách ornice, v hlubších vrstvách je prokořenění z hlediska pozice řádku rovnoměrné. Rozdíly v hustotě kořenů v ornici mohou hrát roli v počátečním vývoji rostlin, například při lokální aplikaci hnojiv „pod patu“¹⁴ nebo naopak dále od osiva. Například u kukuřice byl růst kořenů v horních vrstvách půdního profilu ovlivněn lokální aplikací hnojiva v určité vzdálenosti od rostliny, stejně tak byly nalezeny rozdílné parametry kořenů ječmene v ornici při plošné a lokální aplikaci různých hnojiv (Svoboda et al., 2009). U širokořádkových plodin rozdíly v hustotě kořenů hrají roli z hlediska využití vody a živin, zvláště u fosforu a dalších prvků, jejichž příjem vyžaduje vyšší hustotu kořenů.



Obr. 28 Odběr vzorků kořenového systému půdním vrtákem (vlevo); vpravo – vzorek odebraný z hloubky 100 cm (foto J. Haberle)

¹⁴ Technologie pásového hnojení „pod patu“ je založena na principu přesného dávkování živin pod povrch půdy do kořenové zóny a to nikoliv plošným, ale pásovým způsobem.



Obr. 29 Odběr vzorků kořenové biomasy půdním vrtákem u širokořádkové hluboce kořenící plní plodiny – slunečnice (foto P. Svoboda)

U trav a v systémech, kde se nepěstuje v řádcích, je nutný znáhodněný výběr odběrových míst. To platí i u složitých společenstev jako jsou agrolesnické systémy nebo přirozená vegetace. V pokusech s porovnáním odrůd stačí jedna vzorkovací pozice na jednu variantu pokusu, které se v rámci experimentu opakují. Pro analýzu rozložení kořenové biomasy je nezbytné získat i informace z hlubších vrstev půdního profilu. Počet vzorků se většinou pohybuje od 3 do 10 na jednu pokusnou jednotku, podobně jako u měření nadzemní fytomasy. Gregory (2006) uvádí, že při odebrání 15–20 vzorků o průměru 10 cm z jedné varianty je dosaženo 90 % šance zaznamenat průkazné rozdíly.

Termín určení znaků kořenů a odběrů vzorků závisí na cíli sledování. V případě, že jde o určení vlivu agrotechnických opatření, například odlišných systémů zpracování půdy (Svoboda, 2008), vlivu forem a umístění hnojiv před nebo při výsevu či výsadbě je nutné sledovat rozvoj kořenů na počátku růstu. Vzhledem k tomu, že tyto operace ovlivňují především povrchové vrstvy půdy, je modifikován počáteční růst kořenů, zatímco v pozdějších fázích se vlivem dalších faktorů vliv těchto agrotechnických opatření často stírá. Současně je nutné zohlednit vliv ročníku, průběhu počasí, zvláště srážek a výsledné vlhkosti půdy na kořeny (Svoboda, 2013) a výsledky z jednotlivých let se mohou významně lišit.

Pro většinu cílů je potřeba určit velikost kořenů v době největšího rozvoje. U jednoletých druhů se zvětšuje celková délka kořenů a jejich hloubka ve vegetativní fázi růstu, v době tvorby semen růst ustává nebo je odumírání kořenů rychlejší než jejich přírůstek. Nejvhodnější je proto konec vegetativního růstu, kvetení a na počátku tvorby semen (BBCH 50 – 76). V této

fázi růstu jsou také nejmladší kořeny turgescentní, většinou světlé, prostým okem dobře odlišitelné od půdy, organických zbytků a případných kořenů předplodin, které jsou někdy konzervovány v hlubokých vrstvách podorničí. To je důležité pro spolehlivé určení hloubky kořenů, významného ukazatele schopnosti čerpat rezervu vody v podorničí a živin vyplavených z ornice.

U dvouletých druhů (řepa cukrová, čekanka) růst kořenů probíhá po celou dobu růstu, ale i zde probíhá postupné odumírání bočních kořenů vyšších řádů, proto je vhodné zvolit fázi před počátkem redukce listové plochy, u řepy cukrové v srpnu. Určení velikosti kořenů u travních porostů (vytrvalých trav) je problematické vzhledem k velkému množství organických zbytků a odumřelých kořenů, většinou jde o směs druhů, včetně dvouděložných, které mají odlišnou hloubku a velikost kořenů (při pěstování v čisté kultuře).

Při výběru místa odběru vzorků půdy (zvláště v porostech na provozních pozemcích) je nutné volit reprezentativní porost, dále od okrajů pozemků (souvratí) nebo místních depresí, kde se hromadí voda. Kořeny citlivě reagují na utužení půdy (stopy mechanizace) a změny fyzikálních a chemických podmínek vrstev půdy způsobené například lokálním přehnojením nebo nerovnoměrnou aplikací statkových hnojiv, zaorávkou slámy nebo biomasy meziplodin. Zemědělské pozemky mají větší či menší přirozenou plošnou variabilitu obsahu živin, zrnitostního složení nebo vodní kapacity, na kterou reaguje precizní zemědělství, a která ovlivňuje i růst kořenů (Haberle et al., 2001). Rostliny samy indikují růstem a zbarvením lokální nepříznivé podmínky a vzhledem k vzájemnému propojení nadzemních a podzemních orgánů lze očekávat, že i napadení škůdci a chorobami ovlivní růst kořenů.

Mezi nevýhody soil-core metody ve fázi odběru vzorků patří vysoká pracovní náročnost při získávání většího počtu vzorků pro zajištění dostatečné vypovídací schopnosti, částečné poškození pokusné plochy a možné lehké zhutnění půdy ve vzorkovači. Většina pracovních úkonů je prováděna ručně. Standardní postup se tedy může lišit především díky lidskému faktoru.

Také chyby při plavení a čištění vzorků mohou znehodnotit výsledky. Při nedostatečném vyčištění vzorku od organických zbytků a částic půdy (především v jílovitých půdách), tyto částice mohou negativně ovlivnit výpočet délky kořenů a sušiny kořenů. Böhm (1979) zjistil, že zbytky zeminy na kořenech mohou nadhodnotit sušinu kořenů až o 50 %. Při plavení a skladování jsou ztráty 20–40 % z původní sušiny kořene (van Noordwijk a Floris, 1979), které jsou způsobeny především respirací. Použitím vhodného disperzního činidla lze ztráty snížit až o 15 % (Oliveira et al., 2000).

Do určité míry může být problémové rozlišení mrtvých a živých kořenů. Živé kořeny jsou však většinou světlé a elastické (Obr. 30), kdežto mrtvé kořeny jsou tmavě hnědé a při mechanickém namáhání se dříve přetrhnou. Pro rozlišení živých kořenů od mrtvých se používají různá barviva. Živé kořeny je také možné odlišit pomocí NIRS metody (Near Infrared Reflectance Spectroscopy).



Obr. 30 Vitální kořenový systém rostliny z hydroponie (vlevo); vpravo – z nádobového pokusu (foto J. Haberle)

Dosažení korektních výsledků a jejich interpretace pro využití v zemědělském výzkumu a praxi či ve šlechtitelské práci, je možné pouze při dodržení níže specifikovaných obecných zásad:

1. Výběr vhodné metody, termínu sledování kořenů a umístění vzhledem k uspořádání rostlin podle cíle výzkumu.
2. Odběr vzorků půdy nebo pozorování kořenů *in situ* na místech s co nejmenším vlivem dalších biotických a abiotických faktorů.
3. Minimalizace metodické chyby při separaci kořenů z půdy, uchování vzorků půdy a kořenů a měření parametrů kořenů. Upravit počet opakování dle variability hustoty kořenů ve vzor

6 Příklady praktického použití metody

6.1 Výsledky vybraných experimentů s aplikací metody na MENDELU

Prezentované výsledky s vybranými odrůdami jarního ječmene byly dosaženy v rámci polního pokusu na dvou lokalitách (Hrubčice a Želešice) v letech 2010 a 2011. U pěti odrůd byla hodnocena velikost kořenového systému, jeho rozložení ve vrstvách půdního profilu do hloubky 60 cm a výnos zrna. Vzorky půdy a kořenů byly odebírány „soil-core“ metodou ve fázi plnění zrn (BBCH 70). Vzorek byl následně plaven na sítech, naskenován a vyhodnocen programem WinRHIZO. V jednotlivých vrstvách půdního profilu byla analyzována délka kořenů a zjištěna intenzita prokoření (root length density, RLD v $\text{cm}\cdot\text{cm}^{-3}$) na jednotku půdy a ta následně srovnána s výnosem uvedených odrůd na nejbližších stanicích Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského Hrubčice a Chrlice. Analýzou variance

s následným testováním Tukeyovým HSD testem a korelační analýzou byl kvantifikován vliv lokality, ročníku a odrůdy na uvedené znaky kořenového systému. Množství biomasy kořenů bylo vždy průkazně ovlivněno ročníkem (až 48,7 %), lokalitou (až 19,4 %) a jejich vzájemnou interakcí (lokality × ročník 24,7 %; odrůda × ročník 9,7 %). Vliv těchto faktorů se lišil v závislosti na hloubce půdního profilu. V hlubších vrstvách se projevil i efekt odrůdy. Statisticky průkazně vyšší hodnoty prokořenění RLD byly zjištěny na všech lokalitách vždy v roce 2011. Na obou lokalitách byla u většiny odrůd pozorována tendence zvyšovat RLD v hloubce 40–60 cm. Průkazná závislost výnosu zrna a intenzity prokořenění byla determinována pouze ve středních vrstvách půdního profilu.

Ve srážkově bohatém roce 2010 byla tvorba většího množství kořenové biomasy spíše vlastností negativní, která záporně ovlivnila výši výnosu. RLD v roce 2011 se projevila spíše odlišně v rámci odrůdových rozdílů než v rámci vlivu lokality. Průkazný vztah výnosu a intenzity prokořenění byl zjištěn především v humidním roce 2010 napříč lokalitami v hlubší vrstvě 20–60 cm. Negativní vztah sledovaných parametrů byl potvrzen v hloubce 30–40 cm ($r = -0,87$; $p \leq 0,05$) a 40–50 cm ($r = -0,91$; $p \leq 0,05$). V poměrně suchém roce 2011 byla napříč lokalitami potvrzena pozitivní vazba mezi výnosem a RLD v hloubce 20–30 cm ($r = 0,88$; $p \leq 0,05$), 30–40 cm ($r = 0,87$; $p \leq 0,05$) a 40–50 cm ($r = 0,98$; $p \leq 0,01$). Ovlivnění výnosu množstvím vytvořené biomasy kořenů tak lze pokládat za velmi variabilní vlastnost rostlin, která souvisí se strategií reakce na rozdílné vláhové podmínky prostředí. RLD odrůd na lokalitě Želešice v roce 2011 se signifikantně lišilo od ostatních prostředí. Průkazné rozdíly v hodnotách RLD na stanici Hrubčice se v jednotlivých letech neprojevily. Příklad ročníkových diferencí utváření biomasy kořenového systému v závislosti na vláhových podmínkách (rok 2010 vlhký, rok 2011 suchý) uvádí Tab. 1. Ve vlhkém roce byla plocha a délka kořenů přibližně poloviční.

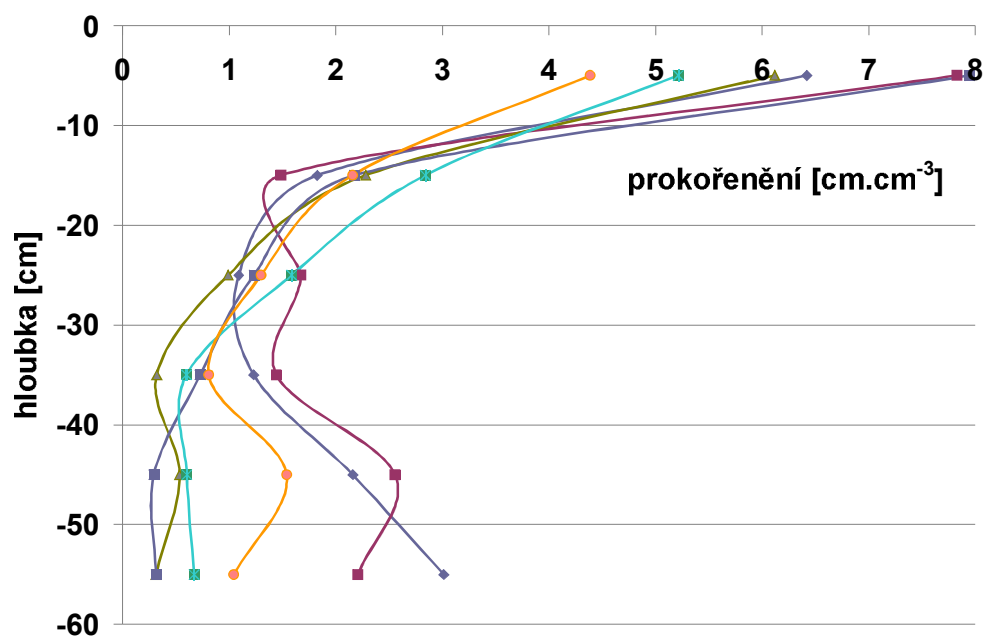
Tab. 1 Délka a plocha kořenů. Hrubčice, odrůda Radegast

Hloubka (cm)	2010		2011	
	Délka (cm)	Plocha (cm ²)	Délka (cm)	Plocha (cm ²)
0 – 10	1366,6	39,7	2516,2	62,9
10 – 20	671,7	13,8	1414,7	40,5
20 – 30	404,0	8,7	762,5	24,4
30 – 40	251,4	7,3	424,4	13,9
40 – 50	479,3	10,8	700,1	22,5
50 – 60	324,7	7,9	581,6	18,7
Průměr	582,9	14,7	1066,6	30,5

Ve všech jednotlivých vrstvách půdy vytvořily rostliny statisticky průkazně více kořenů v roce 2011. Ve srážkově nadnormálním roce 2010 rostliny pravděpodobně nebyly nuceny tvořit velké množství kořenové biomasy pro získání optimálního množství živin a vody.

Zjištěná intenzita prokořenění (RLD) 3,4–12 cm.cm⁻³ v Želešicích a 4,3–8 cm.cm⁻³ v Hrubčicích v hloubce 0–10 cm odpovídá obecným hodnotám pro obilniny 5–10 cm.cm⁻³ (Gregory 2006). Průměrná hustota prokořenění v hloubce 0–20 cm činila 66 % z celkové RLD na lokalitě Hrubčice a 76 % v Želešicích. V hlubších vrstvách (40–50 cm a 50–60 cm) byly na obou lokalitách překvapivě u většiny odrůd zaznamenány vyšší hodnoty RLD. Zmenšení intenzity prokořenění ve středních vrstvách může být způsobeno například vlivem přechodu půdních horizontů, který se v Hrubčicích nachází v hloubce 40 cm a v Želešicích v hloubce 28 cm, nebo hloubkou kypření půdy na pokusných parcelách, kde by tato situace popisovala rozhraní mezi orniční a podorniční vrstvou půdy. Informace o diferencích intenzity prokořenění kořenového systému u šesti vybraných odrůd v hloubce 0–60 cm na lokalitě Hrubčice uvádí Obr. 31.

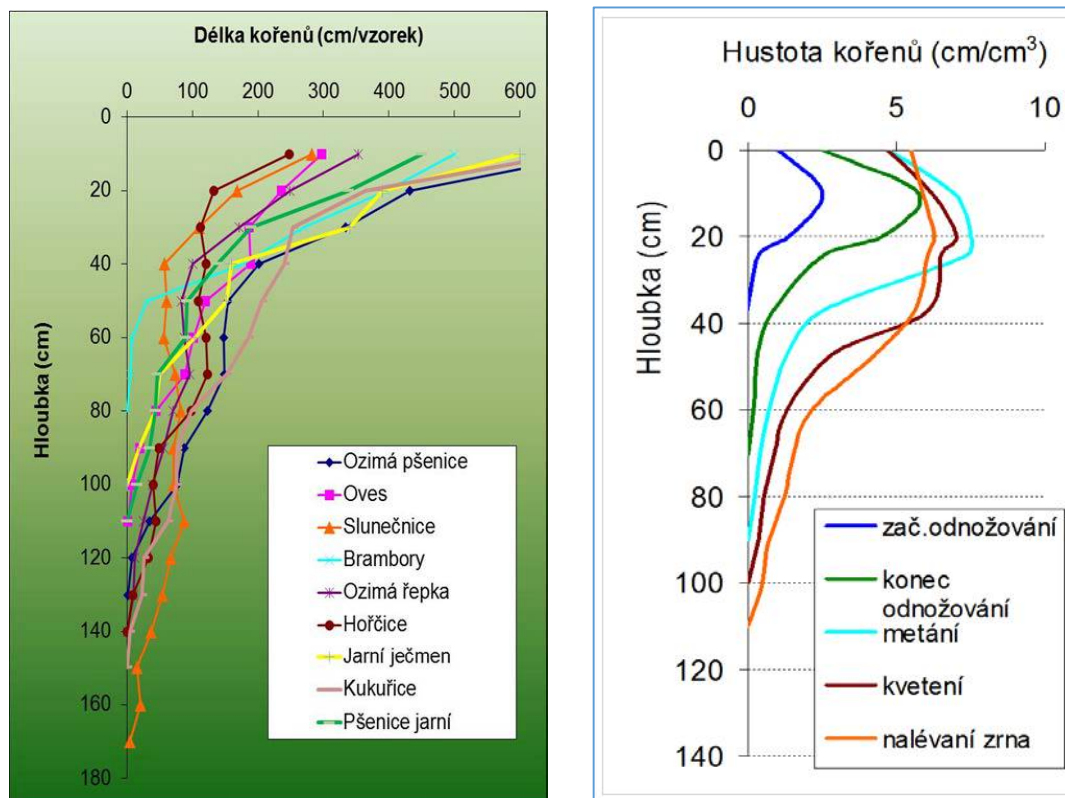
Na základě provedené analýzy variance lze usuzovat na odrůdové rozdíly v strategii tvorby kořenového systému, kdy se některé odrůdy jeví jako plastické v jednotlivých letech (průkazně rozdílné hodnoty RLD). To je na jednu stranu pozitivní zjištění (je možná odrůdová selekce na „jiný“ kořenový systém). Na straně druhé je nezbytné kalkulovat s odrůdovými diferencemi při zakládání pokusů, které mohou mít souvislost s kořenovým systémem jako osvojovacím aparátem a zohledňovat parametry kořenového systému při vyhodnocování těchto experimentů.



Obr. 31 Intenzita prokořenění (RLD) v cm.cm⁻³ vybraných odrůd na lokalitě Hrubčice v roce 2010 v hloubce 0 – 60 cm během voskové zralosti

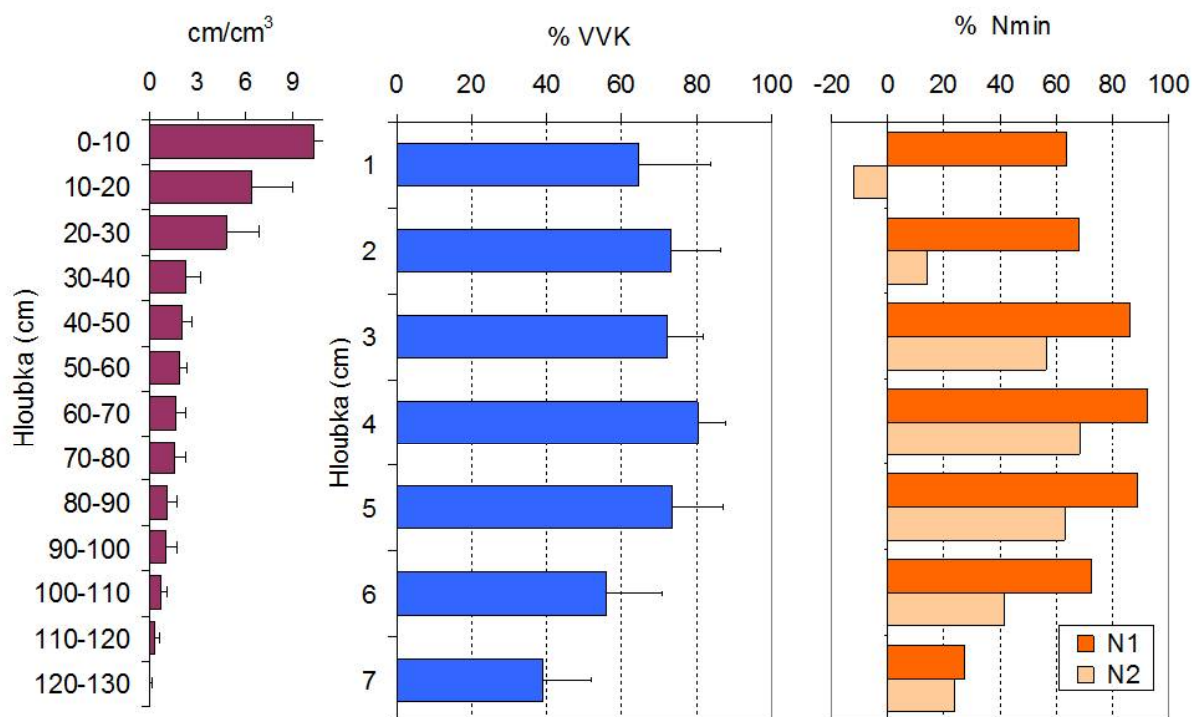
6.2 Výsledky vybraných experimentů s aplikací metody ve VÚRV

Ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby, v.v.i. byla systematická pozornost věnována hloubce a distribuci (RLD) kořenů polních plodin a zelenin s cílem určit zásobu vody a minerálního dusíku v půdním profilu, která je dostupná rostlinám (např. Svoboda et al., 2014; Haberle a Svoboda, 2011; Haberle a Svoboda, 2015; Haberle et al., 2015c; Haberle et al., 2016; <https://www.nitrat.cz/aplikace>). Hloubka a distribuce hustoty kořenů v ornici a podorničí ukazuje potenciální schopnost plodin využít vodu a dusík z půdy (Klimešová a Středa, 2016). Porovnání průměrné hloubky kořenů a jejich distribuce u našich hlavních plodin je na Obr. 32. Většina plodin má za běžných podmínek nejvyšší hustotu kořenů v ornici, s hloubkou hustota (přibližně exponenciálně nebo lineárně) klesá. Tuto distribuci lze popsat jednoduchou funkcí, z které lze vypočítat hustotu v dané hloubce (Haberle a Svoboda, 2014a). Při nízké hustotě pod $1,0 - 0,5 \text{ cm.cm}^{-3}$ (hranice tzv. efektivní hloubky prokořenění) je využití půdy pro rostliny obtížné, ale v případě nedostatku vody a dusíku (a dalších živin) se zvyšuje intenzita příjmu (rychlost příjmu na jednotku délky kořene) a i příspěvek kořenů v hlubokých vrstvách může být významný (Haberle a Svoboda, 2011, 2014b, 2012b) (Obr. 32).



Obr. 32 Průměrná distribuce kořenů plodin v půdním profilu (RLD) v cm.cm^{-3} (vlevo) a znázornění zvětšování hloubky prokořenění pšenice v průběhu vývoje (vpravo)

Údaje o distribuci kořenů byly využity pro výpočet rizika ztrát dusíku vyplavením nitrátů. Dosah kořenů (nebo efektivní hloubka) dané plodiny indikuje, kdy jsou nitráty posunuté s prosakující vodou jsou pro porost již nedostupné (Haberle et al. 2017; Haberle a Svoboda 2012a; Haberle a Svoboda 2013; <https://www.nitrat.cz/aplikace>; Obr. 33). S využitím jednoduchého modelu a základních údajů o srážkách a vlastnostech půdy lze odhadnout riziko vyplavení v provozních podmínkách (Svoboda et al., 2017). Tento výpočet je spolehlivý v mezivegetačním období, kdy je malý nebo nulový odběr dusíku a vody rostlinami (ozimy), malý výpar a mineralizace dusíku v půdě; vyplavení pak (zjednodušeně) závisí jen na efektivních srážkách (které zasáknou do půdy), vlhkosti půdy na podzim a vodní kapacitě vrstev půdy. Ve vegetační době je simulace složitá, protože je nutné modelovat růst a aktivitu porostu, příjem dusíku a vody. Údaje o hloubce kořenů získané pomocí soil-core metody byly využity i pro zvýšení úspěšnosti simulace vyplavení (např. Haberle a Káš, 2012) a modelování dopadů sucha, včetně klimatické změny (např. Haberle, 2013, 2011).



Obr. 33 Průměrná distribuce kořenů ozimé pšenice a využití vody a dusíku z vrstev ornice a podorničí (v % z dostupné zásoby na počátku jara, Praha – Ruzyně).

Na základě údajů o hloubce kořenů byl vytvořen expertní systém pro výpočet bilance vody a odhad nástupu stresu sucha u hlavních plodin v provozních podmínkách (Haberle et al., 2015b, Haberle a Svoboda, 2015). Vstupní údaje jsou dostupné v praxi nebo je lze získat bez velkých nákladů. Jde o zjednodušený bilanční model, který od uživatele vyžaduje údaje o teplotě a srážkách, odhad hloubky kořenů dané plodiny, zrnitost nebo půdní druh ornice

a podorničí, počáteční vlhkost půdy na počátku růstu a odhad dvou termínů změny plodinového koeficientu (na základě zkušenosti nebo přímého pozorování porostu). Expertní systém umožňuje jednoduše modelovat různé scénáře počasí vložím vlastní dat nebo typických suchých a vlhkých, ročníků, které jsou součástí programu. Program vede uživatele k lepšímu pochopení vlivu vlastností půdy a významu dobrého rozvoje kořenového systému pro efektivní využití zásoby vody v půdě a zvýšení tolerance k suchu.

Výsledky sledování využití vody a dusíku kořeny plodin z půdního profilu potvrzují význam hlubokého a aktivního kořenového systému, zvláště v podmínkách vyčerpání zdrojů v povrchových vrstvách. Simulace dopadu hlubšího kořenového systému potvrdily význam růstu kořenů do hloubky pro omezené dopadů nedostatku vody, zlepšení výživy nebo odčerpání proplaveného dusíku a snížení rizika ztrát do spodních vod (Haberle, 2007, 2008).

Porovnání distribuce kořenů odrůd nebo vybraných genotypů s předpokladem většího kořenového systému v polních podmínkách je náročné, ale porovnání s výsledky sledování kořenů v kontejnerových pokusech ukazuje, že je nezbytné (Haberle et al., 2017). Výzkum kořenů v kontrolovaném prostředí, tj. v hydroponii – Obr. 34, nebo v nádobových pokusech – Obr. 35, má své využití pro řadu výzkumných účelů a screening velké počtu genotypů, ale podmínky pro růst kořenů jsou odlišné a interakce kořenů s prostředím silně modifikují projev odrůd, zvláště při výzkumu adaptace na suchu (Klimešová et al, 2015) a další nepříznivé podmínky. Výzkum kořenů v polních podmínkách (Obr. 36), včetně metody soil-core je, i přes svoji náročnost, pro šlechtění a výběr genotypů nezastupitelný.



Obr. 34 Kořenový systém obilnin pěstovaných v hydroponii (foto J. Haberle)



Obr. 35 Rostliny linií pšenice v kontejnerech s odlišnou dostupností vody a prokořenění půdy (foto J. Haberle)



Obr. 36 Polní experimentální plocha s možností testování vlivu sucha na růst a vývoj polních plodin na pozemcích Výzkumného ústavu rostlinné výroby, v.v.i. (foto J. Haberle)

7 Novost metody

I když se většina agrotechnických opatření (např. hnojení) realizuje prostřednictvím kořenového systému, jeho hodnocení odborná praxe zpravidla ignorovala, protože dosud nebyla k dispozici vhodná metoda a certifikovaná metodika pro jeho korektní měření.

Pro odběr vzorků kořenového systému k následnému hodnocení kvantitativních i kvalitativních parametrů je standardně používána „soil-core“ metoda (metoda půdních výkrojů), často považovaná za metodu referenční. Princip metody spočívá v získání půdního vzorku, jeho rozplavení a separaci přítomných kořenů. Na Ústavu pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství Mendelovy univerzity v Brně a Výzkumném ústavu rostlinné výroby, v.v.i. je používán vzorkovač pro odběr kořenevé biomasy a následné hodnocení pomocí digitální analýzy obrazu. Metodika odběru a hodnocení kořenového systému pro široké spektrum využití, včetně šlechtění rostlin, nebyla doposud standardizována a certifikována relevantní autoritou. Cílem metodiky je standardizovat postup odběru a hodnocení kořenového systému rostlin z polních podmínek.

V metodice je tak podrobně popsán postup odběru vzorků, určování hloubky kořenů a distribuce prokořenění v půdním profilu pomocí separace kořenů vodou, čištění a konzervace kořenů a měření délky a dalších parametrů kořenů. Zjednodušený postup lze použít pro určení hloubky kořenů v provozních podmínkách bez speciálního vybavení. Na základě dlouholetých praktických zkušeností je upozorněno na možné zdroje chyb při

8 Popis uplatnění certifikované metodiky

Metodika je určena především pracovníkům výzkumu, šlechtitelům, pracovníkům v zemědělském poradenství a agronomům, kteří mají zájem o problematiku výběru tolerantních odrůd k suchu a zájem o snížení rizika ztrát živin vyplavením na svých polích. Praktické využití poznatků v praxi je ve spojení se znalostmi agronoma o vlivu agrotechnických postupů na hospodaření s vodou a živinami, specifických podmínkách konkrétního pozemku nebo jeho části, vlastnostech ornice i podorničních vrstev a průběhu počasí. Jsou popsány zjednodušené postupy pro použití v provozních podmínkách zemědělských podniků. Metodika také poskytuje základní informace o významu velikosti kořenového systému pro stabilitu výnosů a redukci dopadů sucha.

Metodika bude v tištěné formě dána zdarma k dispozici a šířena na odborných seminářích a prezentacích, bude k dispozici pracovníkům v zemědělském poradenství. V elektronické podobě bude zveřejněna na webových stránkách Mendelovy univerzity v Brně a Výzkumného ústavu rostlinné výroby, v.v.i., spolu s publikacemi autorů. Získané poznatky budou šířeny i další vhodnou formou (prezentace, letáky, příručky pro zemědělské poradce).

Šlechtitelská praxe využívala a využívá nejen publikované údaje o velikosti kořenového systému odrůd pro plánování šlechtitelských programů. Pro pěstitele, šlechtitele nebo pracovníky v poradenství se zájmem o využití popsaných metod lze doporučit přímou spolupráci s autory metodiky.

Metoda je jako doplňkový nástroj selekce používána v projektu NAZV QJ1510098 „Nové linie pšenice pro efektivnější využití vstupů a s vyšší odolností ke stresům“ (2015–2018)

9 Ekonomické aspekty

Efektivnější (větší) kořenový systém může přispět k redukci aplikace minerálních hnojiv a k redukci negativních dopadů intenzivní rostlinné produkce na životní prostředí (např. prosakování a splavování nitrátů ze zemědělské půdy do zdrojů pitné vody). Údaje o hloubce kořenů a jejich distribuci v půdním profilu umožňují racionalizovat závlahové dávky a snížit neproduktivní ztráty vody průsakem mimo kořenovou zónu. Případným používáním nových, suchu tolerantnějších odrůd, dojde k posílení potravinové bezpečnosti České republiky.

Uplatnění popsaných zjednodušených postupů soil-core metody v zemědělské praxi nevyžaduje nové investiční náklady. Udržování kvality půdního prostředí, které umožňuje optimální rozvoj kořenů, by mělo být běžnou součástí agrotechniky plodin na orné půdě. Určení hloubky kořenů a stavu vrstev půdy lze provádět bez významných nákladů podle potřeby, především u zranitelných plodin z hlediska sucha a vyplavení nitrátů, pro zjištění příčin opakovaného výskytu špatného stavu porostů nebo důvodů silné variability porostů na části pozemků.

Ekonomický benefit spočívá v úspoře hnojiv při zohlednění odběru dusíku z celé kořenové zóny, včetně podorniční vrstvy. Jeden kilogram dusíku v hnojivech, včetně aplikace, představuje náklad 20–30 Kč, reálná úspora je v řádu desítek kilogramů na jeden hektar. Vyplavení pouhých 12 kg N-NO₃⁻.ha⁻¹ množstvím vody odpovídajícím 100 mm srážek znamená překročení limitní koncentrace nitrátů, a znečištění vod s rizikem patřičných sankcí. Nepřímo se přínos výběru a šlechtění odrůd plodin se zvýšenou tolerancí k suchu, na základě spolehlivého určení znaků kořenů, projeví zvýšenými výnosy a jejich stabilitou v podmínkách zvýšené variability srážek a růstu teplot. Přínos adaptabilních odrůd nelze věrohodně vypočítat, ale pouhá redukce ztrát na výnosech v důsledku sucha v posledních letech o 1 % představuje v ČR benefit ve výši desítek miliónů korun.

10 Seznam použité související literatury

AMATO, M., PARDO, A. Root length and biomass losses during sample preparation with different screen mesh sizes. *Plant and Soil*, 1994, 161, 299–303.

BENJAMIN, J. G., NIELSEN, D. C. A method to separate plant roots from soil and analyze root surface area. *Plant and Soil*, 2004, 267, 225–234.

BLÁHA, L., VYVADILOVÁ, M. Současné možnosti využití hodnocení kořenového systému při pěstování a šlechtění rostlin. In: *Současné možnosti fyziologie a zemědělského výzkumu přispět k produkci rostlin (vybrané kapitoly)*. VÚRV, v.v.i., Praha, 2010, 276–296.

BLÁHA, L., ZÁMEČNÍK, J. Změna růstu kořenů pšenice po nástupu sucha na počátku sloupkování a její význam pro výnos rostlin. In: *Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin*. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha, 2005, 55–59.

BÖHM, W. *Methods of Studying Root Systems*. Springer, Berlin, 1979, 188 s.

COSTA, C., DWYER, L. M., HAMEL, C., MUAMBA, D. F., WANG, X. L., NANTAIS, L., SMITH, D. L. Root contrast enhancement for measurement with optical scanner-based image analysis. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne de Botanique*, 2001, 79, 23–29.

CSERESNYÉS, I., TELETE, G., VÉGH, K. R., SZÉKÁCS, A., MERTL, M., RAJKAI, K. Monitoring of herbicide effect in maize based on electrical measurements. *International Agrophysics*, 2012, 26, 243–247.

ČERMÁK, J., HRUŠKA, J., MARTINKOVÁ, M., PRAX, A. Urban tree root system and their survival near houses analysed ground penetrating radar and sap flow techniques. *Plant and Soil*, 2000, 219, 103–116.

DOSTÁL, V., STŘEDA, T., CHLOUPEK, O. Electric Capacity as a Measure of the Intact Root System Size in the Soil. In *7th ISRR Symposium "Root Research and Applications"*. Wien: BOKU Wien, 2009, 1–2.

DOSTÁL, V., STŘEDA, T., CHLOUPEK, O., BODNER, G. Metody pro hodnocení velikosti kořenového systému u ječmene jarního (*Hordeum vulgare* L.). In: *XVI. posterový deň s medzinárodnou účasťou "Transport vody, chemikálií a energie v systéme pôda-rastlina-atmosféra"*. Bratislava: ÚH a GFÚ SAV, 2008, 106–110.

FITTER, A. Characteristics and functions of root systems. In: *Plant roots: The hidden half*. Marcel Dekker Inc., New York, 2002, 15–32.

GEWIN, V. Food: An underground revolution. *Nature*, 2010, 466, 7306, 552–553.

GREGORY, P. *Plant roots, growth, activity and interaction with soils*. Blackwell Publishing, Oxford, 2006, 318 s.

HABERLE, J. Simulace vlivu predikovaného klimatu na ozimou pšenici modelem CERES-Wheat. In: Rostliny v podmínkách měnícího se klimatu, mezinárodní konference. Úroda, 2011, 59, 10, 7 s. (CD).

HABERLE, J. The effect of simulated distribution of soil mineral nitrogen and root traits on wheat yield and grain nitrogen concentration. In: Proceedings of Second International Symposium on Plant Growth Modeling, PMA06. Peking, Čína, 2007, 149–152.

HABERLE, J. The importance of mineral nitrogen capture from deep subsoil layers by crops. In: Resource Capture by Crops: Integrated Approaches, Univ. Nottingham, AAB Velká Británie, 2008, 2 s.

HABERLE, J. Využití plodinových modelů pro simulaci dopadu klimatické změny a výběr vhodných znaků kořenů a nadzemních částí pro šlechtění na tyto podmínky. In: Význam celistvosti rostliny ve výzkumu, šlechtění a produkci, CRI Praha, Global Change Res. Centr. AS CR, Institute of Nanobiology and Structural Biology, Nové Hradky, 2013, 11 s.

HABERLE, J., KÁŠ, M. Simulation of nitrogen leaching and nitrate concentration in a long-term field experiment. Journal of Central European Agriculture, 2012c, 13, 3, 416–425.

HABERLE, J., SVOBODA, P. Calculation of available water supply in crop root zone and water balance of crops. Contributions to Geophysics and Geodesy, 2015, 45, 4, 285–298.

HABERLE, J., SVOBODA, P. Distribuce kořenů pšenice v půdním profilu a využitelná zásoba dusíku a vody. In: Aktuální poznatky v pěstování, šlechtění, ochraně rostlin a zpracování produktů. Brno, 14-15.11.2012. Úroda, 2012a, 60, 12, 79–84.

HABERLE, J., SVOBODA, P. Impacts of use of observed and exponential functions of root distribution in soil on water utilization and yield of wheat, simulated with a crop model. Archives of Agronomy and Soil Science, 2014a, 60, 11, 1533–1542.

HABERLE, J., SVOBODA, P. Observed and simulated depletion of mineral nitrogen by winter wheat from soil profile. In: Soil, Plant and Food Interactions. Mendelova univerzita v Brně, Brno, 2011, 131–135.

HABERLE, J., SVOBODA, P. Rooting depth of crops indicates available supply of water and nitrogen – an important soil value, International Conference „Protection of soil functions – challenges for the future”. IUNG, Pulawy, 15.-18.10.2013, 2013, 4 s.

HABERLE, J., SVOBODA, P. The simulated impact of different fertilization system on yield and the utilization of nitrogen from wheat root zone layers under shortage of water. In: Proc, 18th Nitrogen Workshop. Lisabon, Portugalsko, 2014b, 4 s.

HABERLE, J., SVOBODA, P. Vliv zařazení strniskových meziplodin na obsah minerálního dusíku v půdě a koncentraci nitrátů v půdním roztoku. Úroda, 2009, 57, 12, 333–336.

HABERLE, J., SVOBODA, P. Význam znaků kořenového systému pro efektivní využití zásoby vody a živin z půdního profilu. In: Aktuální kapitoly z fyziologie rostlin a zemědělského výzkumu. Praha, 2012b, 138–145.

HABERLE, J., SVOBODA, P., KUREŠOVÁ, G. Citlivost empirického modelu obsahu dostupné vody v kořenové zóně pšenice na změnu vybraných vstupní údajů. In: Půdní a zemědělské sucho. Kutná Hora, 2016, 6 s. (CD).

HABERLE, J., SVOBODA, P., KUREŠOVÁ, G., NEUMANNOVÁ, A. Vliv utužení půdy a nedostatku vody na velikost kořenů plodin. Úroda, 2015a, 63, 12, 251–254.

HABERLE, J., SVOBODA, P., NEUMANNOVÁ, A., KUREŠOVÁ, G., RAIMANOVÁ, I. The comparison of impact of water shortage on wheat cultivars in container and field experiments. Abstract. In: 4th Conference of Cereals Biotechnology and Breeding, Budapest, 6-9.11.2017 (in print).

HABERLE, J., SVOBODA, P., VLČEK, V., KOHUT, M. Bilance a určení dostupné zásoby vody v kořenové zóně plodin. VÚRV, v.v.i., 2015c. Software. Dostupné z: <http://svt.pi.gin.cz/vuzt/koreny.php>.

HABERLE, J., VAN NOORDWIJK, M., BROUWER, G. Comparison of root position effectivity ratio of field-grown and modelled maize root systems. Poster abstract. In: Proc. 3rd Congr. Eur. Soc. for Agronomy, 1994, Abano-Padova, Itálie, 2 s.

HABERLE, J., VLČEK, V., KOHUT, M., STŘEDA, T., DOSTÁL, J., SVOBODA, P. Bilance a určení dostupné zásoby vody v kořenové zóně plodin. Certifikovaná metodika. VÚRV, v.v.i., 2015b, 36 s.

HAJZLER, M., STŘEDA, T., KLIMEŠOVÁ, J. Hodnocení kořenového systému metodou měření elektrické kapacity a analýzy obrazu. In: MendelNet 2010 – Proceedings of International Ph.D. Students Conference. Brno, Mendelova univerzita v Brně, 2010, 48–55.

HAMBLIN, A., TENNANT, D., PERRY, M. W. The cost of stress: dry matter partitioning changes with seasonal supply of water and nitrogen to dryland wheat, *Plant and Soil*, 1990, 122, 47–58.

HEŘMANSKÁ, A. Ohlas na selekci na velikost kořenového systému u pšenice. Doktorská dizertační práce. Brno: Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, 2014, 120 s.

HEŘMANSKÁ, A., STŘEDA, T., CHLOUPEK, O. Improved wheat grain yield by a new method of root selection. *Agronomy for Sustainable Development*, 2015, 35, 1, 195–202.

CHLOUPEK, O. The relationship between electric capacitance and some other parameters of plant roots. *Biologia Plantarum*, 1972, 14, 227–230.

CHLOUPEK, O., DOSTÁL, V., STŘEDA, T., PSOTA, V., DVOŘÁČKOVÁ, O. Drought tolerance of barley varieties in relation to their root system size. *Plant Breeding*, 2010, 129, 6, 630–636.

JACKSON, R. B., CANADELL, J., EHLERINGER, J. R., MOONEY, H. A., SALA, O. E., SCHULZE, E. D. A global analysis of root distributions for terrestrial biomes. *Oecologia*, 1996, 108, 389–411.

KIRKEGAARD, J. A., LILLEY, J. M., HOWE, G. N., GRAHAM, J. M. Impact of subsoil water use on wheat yield. *Australian Journal of Agricultural Research*, 2007, 58, 303–315.

KLIMEŠOVÁ, J. Velikost kořenového systému rostlin ve vazbě na výnos a kvalitu produkce. Diplomová práce. Brno: Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, 2011, 120 s.

KLIMEŠOVÁ, J., STŘEDA, T., HAJZLER, M. Výnos a kvalita ječmene jarního ve vazbě na velikost kořenového systému. In: *MendelNet 2011 – Proceedings of International Ph.D. Students Conference*. Brno, Mendel University in Brno, 2011, 648–655.

KLIMEŠOVÁ, J., STŘEDA, T., STŘEDOVÁ, H. Tvorba kořenového systému a výnos zrna ječmene jarního v odlišných vláhových podmínkách. In: *Závlahy a jejich perspektiva. Sborník příspěvků z vědecké konference*. Praha, ČHMÚ, 2015, 1–8.

KLIMEŠOVÁ, J., VINTRLÍKOVÁ, E., STŘEDA, T. Vitalita semen a velikost kořenového systému jako nástroj pro únik a toleranci suchu. In: *Osivo a sadba. XII. odborný a vědecký seminář*. Praha, Česká zemědělská univerzita v Praze, 2015, 71–76.

LIVESLEY, S. J., STACEY, C. L., GREGORY, P. J., BURESH, R. J. Sieve size effects on root length and biomass measurements of maize (*Zea mays*) and *Grevillea robusta*. *Plant and Soil*, 1999, 207, 183–193.

LOISKANDL, W. Vorstellung – Österreichische Gesellschaft für Wurzelforschung – Austrian Society Root Research (ASRR). 1. Tagung der Österreichischen Gesellschaft für Wurzelforschung, Lehr- und Forschungszentrum für Landwirtschaft Raumberg-Gumpenstein, 2011, 5–8.

MAJDI, H., NYLUND, J. E. Does liquid fertilization affect fine root dynamics and life span of mycorrhizal short roots? *Plant and Soil*, 1996, 185, 305–309.

MANSCHADI, A. M., CHRISTOPHER, J., DEVOIL, P., HAMMER, G. L. The role of root architectural traits in adaptation of wheat to water-limited conditions. *Functional Plant Biology*, 2006, 33, 823–837.

MANSKE, G. B., VLEK, P. L. G. Root Architecture – Wheat as a Model Plant, 2002, 249–260. In: *Plant roots: The hidden half*. Marcel Dekker Inc., New York, 1120 s.

MEIER, U. BBCH-Monograph. Growth stages of plants – Entwicklungsstadien von Pflanzen – Estadios de las plantas – Développement des Plantes. Blackwell Wissenschaftsverlag, Berlin a Wien, 1997, 622 s.

MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ. Souprava na měření velikosti kořenového systému pomocí elektrické kapacity. STŘEDA, T., CHLOUPEK, O. Užité vzor č. 23158, Úřad průmyslového vlastnictví, Česká republika, 2012.

MORADI, A. B., CONESA, H. M., ROBNSON, B., LEHMANN, E., KUEHNE, G., KAESTNER, A., OSWALD, S., SCHULIN, R. Neutron radiography as a tool for revealing root development in soil: capabilities and limitations, *Plant and Soil*, 2009, 318, 243–255.

NAKAJI, T., NOGUCHI, K., OGUMA, H. Classification of rhizosphere components using visible-near infrared spectral images, *Plant and Soil*, 2008, 310, 245–261.

NAKANISHI, T. M. Neutron Imaging, Applied to Plant Physiology, 2009, 305–317. In: *Neutron Imaging and Applications, Neutron Scattering Applications and Techniques*, Springer.

OLIVEIRA, M. DO R. G., VAN NOORDWIJK, M., GAZE, S. R., BROUWER, G., BONA, S., MOSCA, G., HAIRIAH, K. Auger sampling, ingrowth cores and pinboard methods, 2000, 175–210. In: *Root Methods: A Handbook*. Springer, Berlin, 587 p.

PALTA, J. A., CHEN, X., MILROY, S. P., REBETZKE, G. J., DRECCER, M. F., WATT, M. Large root systems: are they useful in adapting wheat to dry environments? *Functional Plant Biology*, 2011, 38, 347–354.

POLOMSKI, J., KUHN, N. Root Research Methods, 2002, 295–322. In: *Plant roots: The hidden half*. Marcel Dekker Inc., New York, 1120 s.

RICHNER, W., LIEGENS, M., BÜRGI, H., SOLDATI, A., STAMP, P. Root Image, Analysis and Interpretation, 2000, 305–342. In: *Root Methods: A Handbook*. Springer, Berlin, 587 s.

RUARK, G. A., BOCKHEIM, J. G. Digital image analysis applied to soil profiles for estimating tree root biomass. *Soil Science*, 1988, 146, 119–123.

SMIT, A. L., BENGOUGH, A. G., ENGELS, C., VAN NOORDWIJK, M., PELLERIN, S., GEIJN, S. C. VAN DE. *Root Methods: A Handbook*. Springer Science & Business Media, 2000, 594 s.

STŘEDA, T., DOSTÁL, V., HORÁKOVÁ, V., CHLOUPEK, O. Effective use of water by wheat varieties with different root system sizes in rain-fed experiments in Central Europe. *Agricultural Water Management*, 2012, 104, 2, 203–209.

STŘEDA, T., DOSTÁL, V., CHLOUPEK, O., Šlechtění a výběr odrůd obilnin s větší tolerancí k suchu, G. Šlechtění a výběr odrůd obilnin s větší tolerancí k suchu. *Úroda*, 2009, 57, 5, 10–12.

STŘEDA, T., HAJZLER, M., CHLOUPEK, O. Kořenový systém – skrytá polovina rostliny. *Úroda*, 2012, 60, 12, 115–119.

STŘEDA, T., HAJZLER, M., CHLOUPEK, O. Kořenový systém jako faktor tvorby výnosu a kvality polních plodin. In: *Význam celistvosti rostliny ve výzkumu, šlechtění a produkci*. Praha, VÚRV, v.v.i., CVGZ AV ČR, v.v.i., 2013, 75–96.

SVAČINA, P., STŘEDA, T., CHLOUPEK, O. Uncommon selection by root system size increases barley yield. *Agronomy for Sustainable Development*, 2014, 34, 2, 545–551.

SVOBODA, P. Růst kořenů ozimé pšenice za různých vlhkostních podmínek. *Úroda*, 2013, 61, 12, 340–343.

SVOBODA, P. Změna parametrů kořenů plodin použitím minimalizačních technologií zpracování půdy. *Úroda*, 2008, 56, 12, 211–214.

SVOBODA, P., HABERLE, J. The effect of soil properties on depth and root density in selected crops. In: *Proceedings of international conference, ISTRO: Soil – agriculture, environment, landscape*. Brno, 2005, 251–255.

SVOBODA, P., HABERLE, J., KUREŠOVÁ, G. Root growth and depletion of nitrogen from root zone of winter wheat under drought and ample water supply. 13th Alps-Adria Scientific Workshop. Villach, Rakousko, 2014, 299–302 (CD).

SVOBODA, P., HABERLE, J., WOLLNEROVÁ - PIŠANOVÁ, J. Vliv odlišné aplikace a různých forem dusíkatých minerálních hnojiv na růst kořenů jarního ječmene. *Úroda*, 2009, 57, 12, 481–484.

SVOBODA, P., KUREŠOVÁ, G., NEUMANNOVÁ, A., HABERLE, J. Riziko vyplavení nitrátů u zelenin a polních plodin s různou hloubkou kořenů. *Úroda*, 2017, 65, 12 (v tisku).

TENNANT, D. A test of a modified line intersect method of estimating root length, *Journal of Ecology*, 1975, 63, 995–1001.

VAN NOORDWIJK, M., BROUWER, G., MEIJBOOM, F., OLIVEIRA, M., DO, R., ROSÁRIO, G. Trench profile techniques and Core break methods, 2000, 211–233. In: *Root Methods: A Handbook*. Springer, Berlin, 587 s.

VAN NOORDWIJK, M., FLORIS, J. Loss of dry weight during washing and storage of root samples. *Plant and Soil*, 1979, 53, 239–243.

ZOBEL, R. W. Hardware and software efficacy in assessment of fine root diameter distributions. *Computers and Electronics in Agriculture*, 2008, 60, 178–189.

11 Seznam publikací, které předcházely metodice

BLÁHA, L., STŘEDA, T. Plant Integrity – The Important Factor of Adaptability to Stress Conditions. In: Abiotic and Biotic Stress in Plants - Recent Advances and Future Perspectives. InTech, 2016, 663–687. *Dedikace: This work was supported by the project National Agency for Agricultural Research (NAZV) no. QJ1510098 “New breeding lines of winter wheat for a more efficient use of inputs and with higher stress resistance” and by project of Ministry of Agriculture of the Czech Republic no. MZe RO0414.*

KLIMEŠOVÁ, J., STŘEDA, T., HAJZLER, M. Kořenový systém meziplodin jako faktor eliminace ztrát dusíku vyplavováním. In: Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2015. Praha, ČZU v Praze, Ústav ekologie lesa SAV, 2015, 23–26. *Dedikace: Práce vznikla za finanční podpory výzkumného projektu NAZV QJ1510098.*

KLIMEŠOVÁ, J., STŘEDA, T., PROCHÁZKOVÁ, P. Vitalita semen a velikost kořenového systému pšenice pro větší toleranci k suchu. In: Osivo a sadba. XIII. národní odborný a vědecký seminář. Praha, Česká zemědělská univerzita v Praze, 2017, 73–77. *Dedikace: Práce vznikla za finanční podpory výzkumného projektu NAZV QJ1510098.*

KLIMEŠOVÁ, J., STŘEDA, T. Velikost kořenového systému pšenice ve vztahu k obsahu základních živin v zrně a nadzemní biomase. Úroda, 2016, 64, 12, 157–160. *Dedikace: Publikace vznikla na Mendelově univerzitě v Brně v rámci projektu QJ1510098 NAZV.*

KLIMEŠOVÁ, J., VINTRLÍKOVÁ, E., STŘEDA, T. Adaptation strategies to climate change – the plant roots. In: Towards Climatic Services. Nitra, Slovak University of Agriculture in Nitra, 2015, 3 s. *Dedikace: This article was written at Mendel University in Brno as a part of the project IGA AF MENDELU no. TP 7/2015 with the support of the Specific University Research Grant, provided by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic in the year of 2015 and with the support of project National Agency for Agricultural Research no. QJ1510098.*

STŘEDA, T., HEŘMANSKÁ, A. Šlechtění na větší kořenový systém přináší efektivnější využití vody a živin. Živa, 2015, 63, 3, 48–50. *Dedikace: Práce vznikla za finanční podpory výzkumného projektu Národní agentury pro zemědělský výzkum č. QJ1510098.*

STŘEDA, T., KLIMEŠOVÁ, J. Hodnocení relativní velikosti kořenového systému rostlin v přirozeném prostředí. Certifikovaná metodika. Mendelova univerzita v Brně, 2016. *Dedikace: Metodika vznikla za finanční podpory Ministerstva zemědělství a je výstupem řešení výzkumného projektu Národní agentury pro zemědělský výzkum č. QJ1510098 „Nové linie pšenice pro efektivnější využití vstupů a s vyšší odolností ke stresům“.*

POZNÁMKY

POZNÁMKY

Název: Metodika odběru a hodnocení kořenového systému polních plodin

Autoři: Ing. Tomáš Středa, Ph.D. (podíl na autorství 20 %, Mendelova univerzita v Brně), Ing. Jan Haberle, CSc. (podíl na autorství 20 %, Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.), Ing. Jana Klimešová (podíl na autorství 15 %, Mendelova univerzita v Brně), Ing. Pavel Svoboda (podíl na autorství 15 %, Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.), doc. Ing. Hana Středová, Ph.D. (podíl na autorství 10 %, Mendelova univerzita v Brně; podíl na autorství 5 % Český hydrometeorologický ústav), Ing. Tomáš Khel (podíl na autorství 15 %, Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy, v.v.i.)

Kontakt: streda@mendelu.cz

Vydala: Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1665/1, 613 00 Brno

Tisk: Vydavatelství Mendelovy univerzity v Brně, Zemědělská 1665/1, 613 00 Brno

Vydání: první, 2017

Náklad: 300 ks.

Počet stran: 56 s.

ISBN 978-80-7509-530-5 (Mendelova univerzita v Brně)

ISBN 978-80-7427-261-5 (Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.)

Tato publikace neprošla jazykovou úpravou.

Za věcnou a jazykovou správnost díla odpovídají autoři.

Metodika je poskytována bezplatně.

On-line dostupné na: https://is.mendelu.cz/dok_server/slozka.pl?id=93694

a na: <https://www.vurv.cz/index.php?p=publikace&site=vyzkum>

Autoři fotografií: T. Středa, J. Klimešová, V. Dostál, G. Bodner, W. Loiskandl, M. M. Čudějková, K. Ullmannová, P. Svoboda, J. Haberle, J. Kovárník

© Mendelova univerzita v Brně, Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy, v.v.i., 2017

www.mendelu.cz

