
MINIRIZOTRON – NIEDESTRUKCYJNA METODA BADANIA KORZENI ROŚLIN

Minirhizotron – a non-destructive method for studying roots *in situ*

Lidia Sas-Paszt¹, Sławomir Głuszek¹, Bartosz Bułaj²

¹ Instytut Sadownictwa i Kwiaciarstwa w Skierniewicach
ul. Pomologiczna 18, 96-100 Skierniewice

² Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu
ul. Wojska Polskiego 28, 60-637 Poznań
e-mail: Lidia.Sas-Paszt@insad.pl

ABSTRACT

Minirhizotrons are non-destructive devices (cameras) for studying the formation, longevity, biomass production and functions of fine roots in natural plant growth conditions, i.e. forest areas, farmland and other plant ecosystems, as well as in controlled conditions (greenhouses, phytotrons). In the case of fruit-bearing plants, this method has not been widely used and there are very few centres in the world that have taken up the challenge (USA, Israel, Denmark). At the Research Institute of Pomology and Floriculture in Skierniewice, the minirhizotron method was introduced in the autumn of 2006 in order to study the growth and development of roots in fruit plants in orchard conditions.

Minirhizotron studies make it possible to learn about the morphology and development of roots in fruit-producing plants and trees in an orchard with respect to agro-technical factors such as fertilization, irrigation and tree training. The use of a minirhizotron enables not only monitoring of the growth and development of fine roots and the rate of their decomposition, but also observations of their symbionts and natural components of the soil biosphere (fungi, including mycorrhizal fungi, and invertebrates, i.e. insects, arachnids, chilopods, crustaceans, annelids). Despite some inherent problems, the minirhizotron technique has so far been one of the best, and non-invasive at that, methods of studying roots *in situ* and obtaining important information on the growth and development of fine roots in natural plant growth conditions.

Keywords: minirhizotron, fruit-bearing plants, growth and development of fine roots

WSTĘP

Minirizotron jest niedestrukcyjnym urządzeniem do badania formowania się, długości życia, produkcji biomasy oraz funkcji drobnych

korzeni w naturalnych warunkach wzrostu roślin, tj. na terenach leśnych, rolniczych oraz w innych ekosystemach roślinnych, a także w warunkach kontrolowanych (szklarnie, fitotrony). W przypadku roślin sadowniczych metoda ta nie jest powszechnie stosowana i niewiele jest ośrodków na świecie podejmujących tę tematykę (USA, Izrael, Dania). W Instytucie Sadownictwa i Kwiaciarstwa w Skierniewicach metoda ta została zastosowana jesienią 2006 roku do badania wzrostu i rozwoju korzeni roślin sadowniczych w warunkach polowych. Dotychczas stosowano niedestrukcyjne metody badania korzeni i ryzosfery roślin sadowniczych z zastosowaniem techniki rizoboksów w warunkach kontrolowanych (Sas i in. 1996, 1999, 2002, 2003; Sas-Paszt i Żurawicz 2004, 2005; Sitarek i Sas-Paszt 2005).

Badania te umożliwią poznanie morfologii i rozwoju korzeni roślin sadowniczych w warunkach polowych, w zależności od takich czynników agrotechnicznych, jak nawożenie, nawadnianie, formowanie drzew. Zastosowanie minirizotronu umożliwia nie tylko badanie wzrostu i rozwoju korzeni drobnych oraz tempa rozkładu korzeni, ale także obserwację ich symbiontów i naturalnych komponentów biosfery gleby (grzyby, w tym grzyby mikoryzowe, bezkręgowce, tj. owady, pajęczaki, pareczniki, skorupiaki, pierścienice).

Prekursorem techniki minirizotronowej była metoda rizotronów. Polegała ona na tym, że w glebie wykopywano doły przypominające swym wyglądem dość duże profile glebowe, w których umieszczano przezroczyste okna, tj. ścianki ze szkła lub tworzywa sztucznego. Podobnie jak w przypadku minirizotronów, w rizotronach wykonywano okresowe obserwacje korzeni (Taylor i in. 1990, Joslin i Wolfe 1999; Johnson i in. 2001; Withington i in. 2003).

Minirizotron po raz pierwszy został opisany przez Batesa w 1937 roku (Bates 1937; Hendrick i Pregitzer 1996a). Największą zaletą tej metody jest możliwość bezpośredniej i niedestrukcyjnej obserwacji tych samych korzeni lub fragmentów systemu korzeniowego rośliny w określonych odstępach czasowych (od uformowania się aż do ich zaniku). Technika ta pozwala na zmniejszenie do niezbędnego minimum ingerencji w procesy przebiegające w korzeniach (Johnson i in. 2001), dostarczając jednocześnie cennych informacji dotyczących ich wzrostu i rozwoju, długości życia i fenologii oraz występowania w szerokim spektrum ekosystemów (Hendrick i Pregitzer 1996b). Wcześniej stosowane techniki były o wiele bardziej destrukcyjne zarówno dla środowiska glebowego, jak i dla samych korzeni. Wymagały one także dość dużego wysiłku fizycznego i czasu. Korzenie

wykopywano z gleby ręcznie bądź specjalnie skonstruowanymi do tego celu narzędziami. Po pobraniu z gleby korzenie przesiewano przez specjalne sita, a następnie opłukiwano z cząsteczek gleby w wodzie. Największą wadą tych technik było to, iż badano korzenie oddzielone od reszty systemu korzeniowego rośliny, poza ich naturalnym środowiskiem glebowym. Techniki te są oczywiście wciąż stosowane, ponieważ pewne pomiary mogą być wykonane tylko w laboratorium.

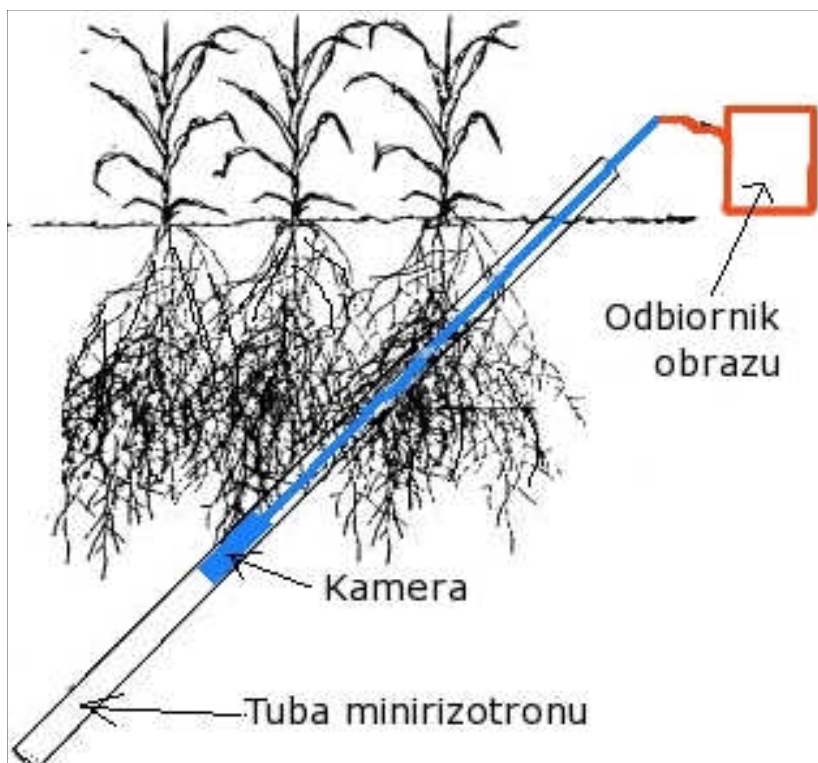
Najnowsze badania korzeni prowadzone w wielu ośrodkach na świecie dotyczą oddziaływań komponentów ryzosfery na parametry wzrostu korzeni, np. wpływu warunków glebowych na aktywność mikrobiologiczną ryzosfery i długość życia korzeni drobnych, wpływu substancji wydzielanych przez korzenie na aktywność mikrobiologiczną ryzosfery i pobieranie substancji odżywczych z gleby, wpływu stopnia asocjacji mikoryzowej korzeni na wzrost korzeni, oddziaływanie w glebie mikroorganizmów ryzosferowych na stan zdrowotny i wzrost korzeni. Badania prowadzone są zarówno w warunkach polowych, jak i kontrolowanych (szklarnie, fitotrony, laboratoria) i obejmują swym zasięgiem bardzo szerokie spektrum metod pobierania i przygotowywania prób korzeni i gleby, obserwacji i analiz, badań różnorodności biologicznej gleby oraz dynamiki wzrostu i rozwoju korzeni roślin. Stosowane są metody inwazyjne, związane z usuwaniem korzeni z gleby, izolowaniem i badaniami gleby ryzosferowej w laboratoriach, jak i nieinwazyjne, związane z obserwacją korzeni w glebie (Eissenstat i in. 2000; Pierret i in. 2003; Sitarek i Sas-Paszt 2005). Duże znaczenie mają także metody analizy molekularnej (Smalla i in. 2001).

Wiele cennych informacji na temat wzrostu i fizjologii korzeni dotyczy badań młodych roślin rosnących w ściśle kontrolowanych warunkach. Jednakże badania prowadzone w warunkach kontrolowanych mają ograniczone zastosowanie do opisanie zjawisk występujących w korzeniach roślin rosnących w naturalnych warunkach. W porównaniu z drobnymi korzeniami roślin jednorocznych (Liedgens i in. 2000) drobne korzenie drzew i krzewów różnią się rozwojem i fizjologią, mogą żyć i funkcjonować przez wiele miesięcy, a nawet lat (Eissenstat i in. 2000; Wells i Eissenstat 2001; 2003; Wells i in. 2002a). Korzenie wszystkich roślin aktywnie oddziałują na otaczającą je ryzosferę przez wydzielanie do niej jonów i różnych związków organicznych, które bezpośrednio i pośrednio wpływają na aktywność i przebieg procesów biofizykochemicznych (Sas i in. 1996) oraz na dostępność związków mineralnych dla roślin (Marschner 1991). Pobieranie tych związków jest ułatwione dzięki korzystnym oddziaływaniom symbiotycznych mikroorganizmów glebowych, takich jak grzyby

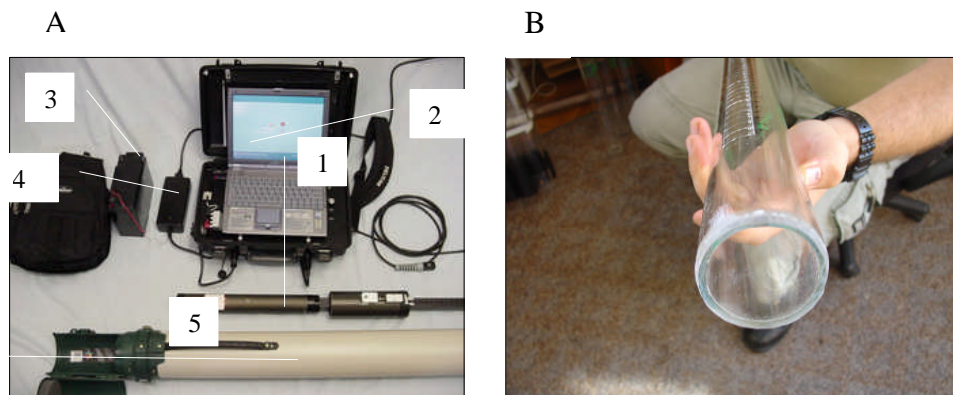
mikoryzowe i bakterie ryzosferowe (Rodriguez i Fraga 1999). Mikroorganizmy te mogą także zwiększać odporność korzeni roślin na infekcje powodowane przez patogeny glebowe i szkodniki (Azcon-Aguilar i in. 2002), których wpływ na wzrost i rozwój korzeni jest również szeroko badany (Kosola i in. 1995; Wells i in. 2002b).

OPIS MINIRIZOTRONU

Minirizotron jest urządzeniem składającym się z tuby, specjalnej kamery i urządzenia do rejestracji obrazu, jak kamera wideo lub komputer z kartą do zapisu obrazów (rys. 1, fot. 1 A i B). Minirizotron umożliwia obserwację i analizowanie wzrostu korzeni w glebie.



Rysunek 1. Schemat minirizotronu – Diagram of a minirizotron



Fot. 1. Elementy minirizotronu – Components of a minirhizotron

A – Zestaw do wykonywania fotografii korzeni: – Complete kit for taking photographs of roots

- 1 – kamera do minirizotronu – minirhizotron camera
- 2 – komputer do katalogowania zdjęć korzeni wraz z jednostką sterującą kamerą, umieszczone w specjalnej walizce – computer for cataloguing photos of roots and a camera control unit both housed in a special case
- 3 – akumulator zasilający zestaw roboczy (kamera i jednostka sterująca) w czasie pracy w polu – battery to power the working unit (camera and control unit) during field work
- 4 – zasilacz sieciowy – mains power pack
- 5 – tuba ochronna do przechowywania i transportu kamery – protective tube for camera storage and transport

B – Wygląd tuby minirizotronowej używanej w ISK – Minirhizotron tube used at the Institute

Tuby minirizotronowe (fot. 1B) służące do obserwacji wzrostu i rozwoju korzeni to okrągłe, przezroczyste rury (o średnicy 3-10 cm i różnej długości) wykonane z różnego rodzaju materiału, np. szkła, akrylu lub pochodnych octanu celulozy (Withington i in. 2003). Zakończenia rur są zabezpieczone przed wnikaniem do ich wnętrza gleby, wody, owadów, gryzoni i innych zanieczyszczeń. Dolny, zainstalowany w glebie, koniec rury powinien być szczelnie zamknięty. Do tego celu wykorzystuje się specjalne plastikowe lub gumowe korki, uszczelnione na przykład silikonem, lub stosuje się przyklejane denka. Górny, wystający nad powierzchnię gleby, koniec tuby zabezpiecza się przed wnikaniem światła nieprzepuszczającą taśmą, a wlot zakryty jest gumowym korkiem albo plastikowym, lub metalowym kapslem. Niejednokrotnie konieczne jest dodatkowe zabezpieczenie wystających fragmentów tub przed takimi czynnikami zewnętrznymi, jak na przykład uszkodzenia mechaniczne spowodowane przez dzikie zwierzęta. Na powierzchni tuby należy wykonać ponumerowane „okienka”, które ułatwiają indeksację i późniejszą analizę

uzyskanych informacji, tj. obrazów korzeni. Okienka można wypalić lutownicą. Tuby instaluje się w glebie, w naturalnych warunkach wzrostu roślin, w miejscu największego zasiedlenia przez drobne korzenie. Umieszcza się je na głębokości od kilkunastu (Campbell i in. 1994) do kilkudziesięciu centymetrów i głębiej, pionowo lub pod kątem 30, 35, 45, 60° do powierzchni ziemi, a także poziomo. Tuby wertykalne i instalowane ukośnie umożliwiają obserwacje tych samych korzeni w różnych warstwach profilu glebowego, a umieszczone horyzontalnie służą do wielokrotnych obserwacji i monitorowania wzrostu korzeni na jednej głębokości gleby. Przed instalacją tub w glebie wykonuje się proste, gładkie otwory odpowiednimi urządzeniami: świdrami ziemnymi lub korkoborami (o średnicy zbliżonej do parametrów tub). Wykonuje się je tak, aby zminimalizować przemieszczanie się gleby i zapewnić ściśle jej przyleganie do powierzchni rur (Phillips i in. 2000). Prawidłowa instalacja zabezpiecza przed przemieszczaniem się tub w profilu glebowym i zapewnia ściśle przyleganie gleby. Brak pustych przestrzeni pomiędzy ścianami tub a otaczającą glebą umożliwia naturalny wzrost korzeni. Z reguły stabilizację warunków w miejscu instalacji tuby w glebie uzyskuje się w przeciągu roku. Wówczas korzenie rosną w sposób naturalny i kolonizują przestrzeń na zewnątrz ścian tub tak, jakby napotykały kamienie czy inne duże obiekty w glebie. Uważa się, że dla roślin drzewiastych okres 6-12 miesięcy jest wystarczający do dobrej kolonizacji powierzchni tub przez korzenie roślin (Aerts i in. 1989; Hendrick i Pregitzer 1993; Hansson i in. 1994). Po tym czasie warstwa otaczającej gleby ściśle przylega do zewnętrznych ścianek tub, co umożliwia dostęp składników mineralnych dla nowo formujących się korzeni.

Do obserwacji korzeni stosuje się specjalne kamery do minirizotronów (fot. 1A), ale można zastosować także specjalnie zaadaptowany aparat fotograficzny z teleobiektywem (Poelman i in. 1996). Kamerę minirizotronową wprowadza się na okres pomiaru do wnętrza tub w różnych odstępach czasu (cotygodniowo w przypadku roślin jednorocznych i comiesięcznie u roślin wieloletnich). Odstępy czasowe powinny być dostosowane do gatunku rośliny, warunków jej wzrostu i rodzaju obserwacji. Na przykład obserwacje wykonywane co 8 tygodni są zbyt rzadkie dla badań dynamiki wzrostu drobnych korzeni, gdyż w tym okresie wiele korzeni się formuje i obumiera. Należy je wykonywać co 2-4 tygodnie, aby dokładniej określić długość, liczbę i żywotność korzeni. Dotychczasowe badania wykazały, iż długość korzeni jest bardziej precyzyjnym parametrem określenia dynamiki ich wzrostu niż ich liczba (Johnson i in. 2001).

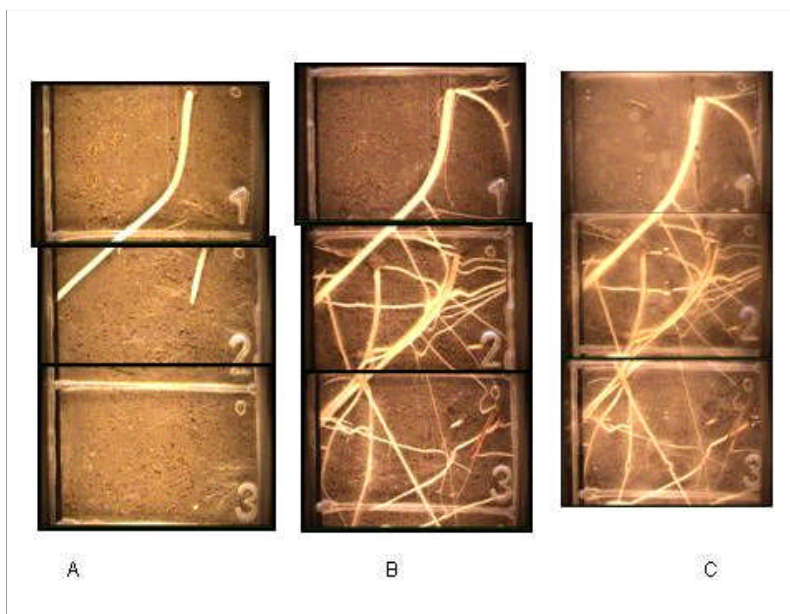
Kamera minirizotronowa umożliwia obserwacje liczby, długości, morfologii i biomasy nowo uformowanych korzeni oraz długości ich życia i tempa rozkładu. Obraz z wnętrza tuby zapisywany jest w formie plików wideo lub pojedynczych fotografii, w zależności od zastosowanej techniki. Najczęściej wykonywane są pojedyncze zdjęcia przez wspomniane już „okienka”. W każdej z tub kamera wykonuje kilkadziesiąt zdjęć, pojedynczo dla każdego „okienka”, które są następnie analizowane z użyciem odpowiedniego oprogramowania. W doświadczeniach prowadzonych w ISK używana jest kamera z oprzyrządowaniem, w którego skład wchodzi także program do zapisu i katalogowania zdjęć w doświadczeniach, wyprodukowanej przez BartzTechnology Corporation ([http:// artztechnology.com/bartzmain/products.html](http://artztechnology.com/bartzmain/products.html)).

Wykonane fotografie są zapisywane tak, że specjalistyczne programy do wykonywania pomiarów korzeni (komercyjne Win RhizoTron lub RooTracker, czy RootFly, rozpowszechniany na zasadach otwartej licencji GLP – open source) odczytują z pliku takie parametry, jak nazwa doświadczenia, numer sesji, numer tuby, numer okienka czy data wykonania fotografii. Ułatwia to znacznie i przyspiesza obróbkę uzyskanych informacji w porównaniu z metodami opierającymi się na wykorzystaniu tradycyjnych programów graficznych (np. Adobe Photoshop) (Bułaj 2006). Wykonywanie zdjęć kamerą jest łatwiejsze i mniej czasochłonne niż analizy i interpretacje uzyskanych obrazów korzeni. Obecnie rozwijane są metody komputerowe, które pozwolą na automatyczne określanie liczby, długości i średnicy korzeni na sfotografowanych obrazach (Zeng i in. 2006). Dzięki nim można precyzyjnie, wielokrotnie, w odstępach czasowych wykonywać obserwacje poszczególnych korzeni lub ich fragmentów w tych samych miejscach profilu glebowego (Johnson i Meyer 1998). Optymalizacja metody minirizotronowej koncentruje się na poprawie jakości zdjęć korzeni i otaczającej gleby oraz na ulepszaniu metod gromadzenia, przetwarzania i analizy danych.

ZASTOSOWANIE MINIRIZOTRONU

Minirizotron jest urządzeniem do nieinwazyjnej obserwacji dynamiki wzrostu i rozwoju drobnych korzeni w warunkach naturalnych. Zaletą tej metody jest możliwość monitorowania, począwszy od formowania się aż do obumierania, poszczególnych korzeni lub ich fragmentów w określonych odstępach czasowych bez ujemnego wpływu na procesy zachodzące

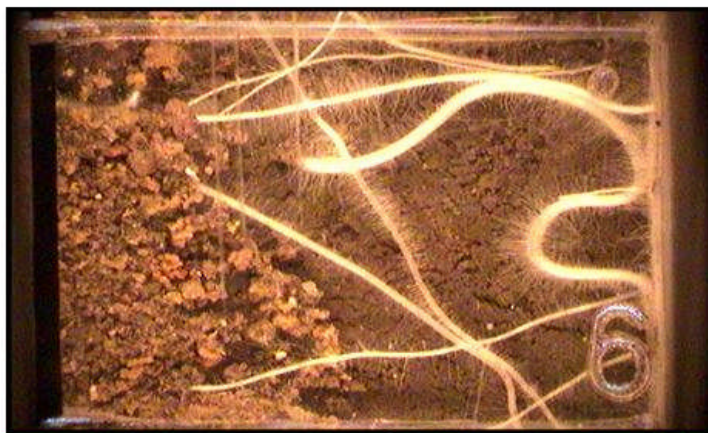
w korzeniach. Zastosowanie tej techniki umożliwia badanie formowania się korzeni drobnych (Wells i in. 2002a), ich fenologii, wzrostu, długości życia, a także obiegu węgla i innych pierwiastków w glebie (Hendrick i Pregitzer 1996a; Majdi 1996; Eissenstat i in. 2001; Wells i Eissenstat 2003; Guo i in. 2004; Hendricks i in. 2006).



Fot. 2. Zdjęcia korzeni jabłoni (o średnicy 0,2-0,5 mm) wykonane w tych samych okienkach tej samej tuby, na głębokości 20-25 cm od powierzchni gleby (10-krotne powiększenie uzyskane za pomocą kamery, Sad Pomologiczny ISK, jesień 2006); A – 2 tygodnie po instalacji tub – 14.09.2006 – nowo formujące się korzenie widoczne na tle otaczającej tubę gleby; B – Miesiąc po instalacji tub – 28.09.2006 – widoczne licznie uformowane korzenie drobne w okresie 2-tygodniowej wegetacji roślin, C – Dwa miesiące po instalacji tub – 3.11.2006 – brak nowych przyrostów korzeniowych spowodowany zahamowaniem wzrostu roślin, widoczna nieznaczna pigmentacja korzeni następująca wraz z ich starzeniem się – Roots of an apple tree (dia. 0.2-0.5 mm) recorded in the same windows of the same tube, at a depth of 20-25 cm below soil surface (10 times magnification made possible by the camera, ISK Pomological Orchard, autumn 2006); A – 2 weeks after tube installation – 14.09.2006 – newly forming roots visible against a background of the soil surrounding the tube; B – One month after tube installation – 28.09.2006 – numerous fine roots formed during 2 weeks of vegetative growth; C – Two months after tube installation – 3.11.2006 – no further root growth because plants have stopped growing; slight pigmentation appearing on roots as they become older

Technika ta jest już powszechnie stosowana w wielu krajach świata, głównie w badaniach systemu korzeniowego i mikoryz drzew leśnych

(Polska, Szwecja, Norwegia, Stany Zjednoczone), a także roślin rolniczych, warzywnych i w mniejszym stopniu sadowniczych (Stany Zjednoczone, Izrael, Dania, Polska). Umożliwia ona badanie *in situ* dynamiki korzeni drobnych w celu określenia ich tempa wzrostu (przyrostu długości korzeni w czasie), obumierania i rozkładu oraz obiegu składników mineralnych w glebie. W ekosystemach leśnych badania te umożliwiają identyfikację korzeni poszczególnych gatunków drzew oraz roślin runa leśnego, a także ocenę stopnia asocjacji grzybów ektomikoryzowych na korzeniach roślin.



Fot. 3. Młode korzenie – wyraźnie widoczne włośniki korzeniowe (Sad Pomologiczny ISK, jesień 2006) – Young roots – hair roots are clearly visible (ISK Pomological Orchard, autumn 2006)

Minirizotrony są już powszechnie instalowane w lasach (Hendrick i Pregitzer 1993; Joslin i Wolfe 1999), na terenach rolniczych (Volkmar 1993; Samson i Sinclair 1994; Williams i Weil 2004), na łąkach (van Noordwijk i in. 1985), pustyniach (Reynolds i in. 1999; Phillips i in. 2000), nielicznie w sadach (Kosola i in. 1995; Wells i Eissenstat 2001; Wells i in. 2002b), na plantacjach krzewów owocowych (Pedersen 2002), a także w kontrolowanych kamerach wzrostowych (Johnson i in. 1995; Tingey i in. 1996) oraz w warunkach szklarniowych (Heeraman i in. 1993; Fitter i in. 1999).

Ważnym kierunkiem jest także możliwość zastosowania minirizotronów w powiązaniu z innymi metodami badania korzeni do:

- określenia długości życia drobnych korzeni (*fine roots*) i krótkich

korzeni mikoryzowych (*mycorrhizal short roots*) (Wells i Eissenstat 2001; Andersson i Majdi 2005);

- określenia pobierania składników odżywczych z gleby przez korzenie drobne i grzyby mikoryzowe (Majdi 1996; Kristensen i Thorup-Kristensen 2004);
- formowania się i tempa wzrostu korzeni w różnych warstwach profilu glebowego i w różnych warunkach glebowo-klimatycznych (Ephrath i in. 1999; Pateña i Ingram 2000);
- oceny biomasy i stanu żywotności korzeni drobnych, tj. formowania się, obumierania, zanikania, obiegu i demineralizacji korzeni (Aerst i in. 1989; Kosola i in. 1995; Liu i Huang 2002; Coleman i in. 2004);
- monitorowania wzrostu korzeni w celu określenia wskaźników stresów środowiskowych w różnych ekosystemach i regionach świata (Wells i in. 2002a,b);
- opracowania stosunków zawartości składników mineralnych w glebie i w korzeniach jako istotnych wskaźników stresów środowiskowych i korzeniowych (Sas 1998);
- identyfikowania korzeni drobnych na poziomie gatunków i pojedynczych drzew w ekosystemach wielogatunkowych, takich jak lasy, łąki, sady (Fitter i in. 1999);
- badania roli naturalnych komponentów biosfery gleby i rizo sfery (bakterie, grzyby mikoryzowe, wydzieliny korzeniowe) w odżywianiu roślin, ich wroście i plonowaniu oraz odporności roślin na patogeny glebowe (Waipara i in. 1997; Treseder i in. 2005);
- porównania i oceny istniejących metod badania wzrostu korzeni drobnych (Majdi 1996);
- modelowania dynamiki wzrostu i rozkładu korzeni drobnych w różnych warunkach środowiskowych, np. zdefiniowania kryteriów danych wyjściowych do opracowywania modeli korzeni, powiązania modeli korzeni szkieletowych z modelami korzeni drobnych (Bułaj 2006; Zeng i in. 2006);
- oszacowania roli i funkcji korzeni drobnych w akumulacji węgla, azotu i innych pierwiastków w glebie (Guo i in. 2004).

Zastosowanie rizotronów i minirizotronów pozwala na bezpośrednią obserwację korzeni *in situ*, bez konieczności izolowania ich od rośliny macierzystej oraz środowiska życia (Johnson i Meyer 1998; Tierney i Fahey 2001). Jednakże zastosowanie minirizotronów w większym stopniu niż rizotrony zmniejsza ingerencję człowieka w naturalne środowisko życia

korzeni, jakim jest gleba i ryzosfera. Technika ta nie jest oczywiście pozbawiona wad i wciąż się ją usprawnia (Hendrick i Pregitzer 1992; Hendrick i Pregitzer 1996b; Joslin i Wolfe 1999; Johnson i in. 2001; Tierney i Fahey 2001; Withington i in. 2003).

Ryzyko metody minirizotronowej wiąże się z następującymi problemami:

- formowaniem się i zanikaniem korzeni w okresie pomiędzy poszczególnymi pomiarami;
- trudnością w interpretowaniu zdjęć korzeni;
- trudnością rozróżnienia korzeni różnych gatunków roślin, np. korzeni drzew leśnych od korzeni roślin runa leśnego, chwastów od roślin uprawnych;
- zjadaniem lub uszkodzaniem korzeni przez owady i inne organizmy glebowe;
- zasłanianiem starych korzeni przez nowo formujące się lub przez strzępki grzybów;
- zakłóceniami zdjęć korzeni spowodowanymi obumieraniem korzeni, a także zawilgoceniem, rysami czy uszkodzeniami ścian tub minirizotronowych;
- niemożnością wykonania obserwacji korzeni zimą lub w trudnych warunkach pogodowych.

PODSUMOWANIE

Pomimo występujących trudności technika minirizotronowa należy do jednej z najlepszych nieinwazyjnych metod badania korzeni *in situ* i pozyskiwania istotnych informacji na temat wzrostu i rozwoju korzeni drobnych w naturalnych warunkach wzrostu roślin.

LITERATURA

- Aerst R., Berendse F., Klerk N.M., Bakker C. 1989. Root production and root turnover in two dominant species of wet heatlands. *Oecologia* 81: 374-378.
- Andersson P., Majdi H. 2005. Estimating root longevity at sites with long periods of low root mortality. *Plant Soil* 276: 9-14.
- Azcon-Aguilar C., Jaizme-Vega M.C., Calvet C. 2002. The Contribution of Arbuscular Mycorrhizal Fungi to the Control of Soil-borne Plant Pathogens. In: Gianinazzi S., Schuepp H. (Eds.), *Mycorrhizal*

- Technology: from Genes to Bioproducts-Achievements and Hurdles in Arbuscular Mycorrhiza Research. Birkhauser, Basel, 187-198.
- Bates G.H. 1937. A device for the observation of root growth in the soil. *Nature* 139: 966-967.
- Bułaj B. 2006. Fizjologia i długość życia drobnych korzeni w populacjach sosny zwyczajnej (*Pinus sylvestris* L.) z różnych szerokości geograficznych w Europie. Praca doktorska wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Jerzego Modrzyńskiego w Katedrze Hodowli Lasu. Akademia Rolnicza im. Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu, Wydział Leśny.
- Campbell C.D., Mackie-Dawson L.A., Reid E.J., Pratt S.M., Duff E.I., Buckland S.T. 1994. Manual recording of minirhizotrons data and its application to study the effect of herbicide and nitrogen fertiliser on tree and pasture root growth in a silvopastoral system. *Agroforestry Systems* 26: 75-87.
- Coleman M.D., Coyle D.R., Blake J., Britton K., Buford M., Campbell R.G., Cox J., Cregg B., Daniels D., Jacobson M., Johnsen K., McDonald T., McLeod K., Nelson E., Robison D., Rummer R., Sanchez F., Stanturf J., Stokes B., Trettin C., Tuskan J., Wright L., Wullschlegel S. 2004. Production of Short-Rotation Woody Crops Grown with a Range of Nutrient and Water Availability: Establishment Report and First-Year Responses. United States Department of Agriculture. Forest Service. South. Res. Sta. General Technical Report SRS 72: 21 http://entomology.wisc.edu/~dcoyle/pubs/Coleman_et_al_2004_GTR.pdf.
- Eissenstat D.M., Wells C.E., Yanai R.D., Whitbeck J.L. 2000. Building roots in a changing environment: implications for root longevity. *New Phytologist* 147: 33-42.
- Eissenstat D.M., Wells C.E., Wang L. 2001. Root efficiency and mineral nutrition in apple. *Acta Hort.* 564: 165-184.
- Ephrath J. E., Silberbush M., Berliner P. R. 1999. Calibration of minirhizotron readings against root length density data obtained from soil cores. *Plant Soil* 209: 201-208.
- Fitter A.H., Self G.K., Brown T.K., Bogie D.S., Graves J.D., Benham D., Ineson P. 1999. Root production and turnover in a upland grassland subjected to artificial soil warming respond to radiation flux and nutrients, not temperature. *Oecologia* 120: 575-581.
- Guo D.L. Mitchell R.J., Hendricks J.J. 2004. Fine root branch orders respond differentially to carbon source-sink manipulations in a longleaf pine forest. *Oecologia* 140: 450-457.
- Hansson A.C., Zhao A.F., Andrén O. 1994. Fine-root growth dynamics of two shrubs in semiarid rangeland in inner Mongolia, China. *Ambio* 32: 225-228.
- Heeraman D.A., Crown P.H., Juma N.G. 1993. A color composite technique for detecting root dynamics of barley (*Hordeum vulgare* L.) from minirhizotron images. *Plant Soil* 157: 275-287.

- Hendrick R.L., Pregitzer K.S. 1992. Spatial variation in tree root distribution and growth associated with minirhizotrons. *Plant Soil* 143: 283-288.
- Hendrick R.L., Pregitzer K.S. 1993. Patterns of fine root mortality in two sugar maple forests. *Nature* 361: 59-61.
- Hendrick R.L., Pregitzer K.S. 1996a. Applications of minirhizotrons to understand root function in forests and other natural ecosystems. *Plant Soil* 185: 293-304.
- Hendrick R.L., Pregitzer K.S. 1996b. Temporal and depth-related patterns of fine root dynamics in northern hardwood forests. *J. Ecol.* 84: 167-176.
- Hendricks J.J., Hendrick R.L., Wilson C.A., Mitchell R.J., Pecot S.D., Guo D. 2006. Assessing the patterns and controls of fine root dynamics: an empirical test and methodological review. *J. Ecol.* 94: 40-57.
- Johnson M.G., Meyer P. 1998. Mechanical advancing handle that simplifies minirhizotron camera registration and image collection. *J. Environment. Qual.* 27: 710-714.
- Johnson M.G., Tigney D.T., Storm M.J., Phillips D.L. 1995. Patterns of ponderosa pine fine root growth as affected or elevated by elevated CO₂: initial results. *Plant Physiol. (Life Sci. Adv.)* 14: 81-88.
- Johnson M.G., Tingey D.T., Phillips D.L., Storm M.J. 2001. Advancing fine root research with minirhizotrons. *Environmental Exp. Botany* 45: 263-289.
- Joslin J.D., Wolfe M.H. 1999. Disturbances during minirhizotrons installation can affect root observation data. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63: 218-221.
- Kosola K.R., Eissenstat D.M., Graham J.H. 1995. Root demography of mature citrus trees: the influence of *Phytophthora nicotianae*. *Plant Soil* 171: 283-288.
- Kristensen H.L., Thorup-Kristensen K. 2004. Root growth and nitrogen uptake of three different catch crops in deep soil layers. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 68:529-537.
- Liedgens M., Soldati A., Stamp P., Richner W. 2000. Root development of maize (*Zea mays* L.) as observed with minirhizotrons in lysimeters. *Crop Sci* 40: 1665-1672.
- Liu X., Huang B. 2002. Mowing effects on root production, growth, and mortality of creeping bentgrass. *Crop Sci.* 42: 1241-1250.
- Majdi H. 1996. Root sampling methods – applications and limitations of the minirhizotron technique. *Plant Soil* 185: 255-258.
- Marschner H. 1991. Root-induced changes in the availability of micronutrients in the rhizosphere. pp. 503-528. In: Y. Waisel, A. Eshel and u. Kafkafi (eds). *The plant roots, the hidden half*. Marcel Dekker, New York, USA.
- Pateña G., Ingram K.T. 2000. Digital Acquisition and Measurement of Peanut Root Minirhizotron Images. *Agronomy Journal*, 92: 541-544.
- Pedersen H.L. 2002. Covercrops in blackcurrant (*Ribes nigrum*). Proc. 8th IS on Rubus and Ribes. Eds. R.M. Brennan in. *Acta Hort.* 585: 633-638.

- Phillips D.L., Johnson M.G., Tingey D.T., Biggart C., Nowak R.S., Newsom J.C. 2000. Minirhizotron installation in sandy, rocky soils with minimal soil disturbance. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64: 761-764.
- Pierret A., Doussan C., Garrigues E., McKirby J. 2003. Observing plant roots in their environment: current imaging options and specific contribution of two-dimensional approaches. *Agronomie* 23: 471-479.
- Poelman G., van de Koppel J., Brouwer G. 1996. A telescopic method for photographing within 8×8 cm minirhizotrons. *Plant Soil* 185: 163-167.
- Reynolds J.F., Virginia R.A., Kemp P.R., De Soyza A.G., Tremmel D.C. 1999. Impact of drought on desert shrubs: effects on seasonality and degree of resource island development. *Ecol. Monogr.* 69: 69-106.
- Rodríguez H., Fraga R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotech. Advances*, 17(4-5): 319-339.
- Samson B.K., Sinclair T.R. 1994. Soil core and minirhizotron comparison for the determination of root length density. *Plant Soil* 161: 225-232.
- Sas L., Mercik S., Smolarz K. 1996. Procesy chemiczne zachodzące w rizosferze i metody ich badania. *Post. Nauk. Rol.* 5: 79-89.
- Sas L. 1998. Wpływ pH gleby oraz glinu, gipsu i form azotu na siłę wzrostu i poziom odżywienia trzech typów podkładek – P22, M9 i M26 i dwóch odmian jabłoni – Jonagold i Gala. Praca doktorska, ISK, Skierniewice.
- Sas L., Mercik S. i Matysiak B. 1999. Rola rizosfery w mineralnym odżywianiu się roślin. *Post. Nauk Rol.* 6: 27-36.
- Sas L., Marschner H., Römheld V., Mercik S. 2002. The influence of aluminium on rhizosphere and bulk soil pH and growth of strawberry plants. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.* 482: 467-474.
- Sas L., Marschner H., Römheld V., Mercik S. 2003. Effect of nitrogen forms on growth and chemical changes in the rhizosphere of strawberry plants. *Acta Physiologiae Plantarum* 25(3): 241-247.
- Sas-Paszt L., Żurawicz E. 2004. The Influence of Nitrogen Forms on Root Growth and pH Changes in the Rhizosphere of Strawberry Plants. *Acta Hort.* 649: 217-221.
- Sas-Paszt L., Żurawicz E. 2005. Studies of the Rhizosphere of Strawberry Plants at the Research Institute of Pomology and Floriculture in Skierniewice, Poland. *Intern. J. Fruit Sci.* 5(1): 115-126.
- Sitarek M., Sas-Paszt L. 2005. Studies of the root system in sweet cherry trees grafted on rootstocks – preliminary results. *J. Fruit Orn. Plant Res.* 13: 25-37.
- Smalla K., Wieland G., Buchner A., Zock A., Parzy J., Kaiser S., Roskot N., Heuer H., Berg G. 2001. Bulk and rhizosphere soil bacterial communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis: plant – dependent enrichment and seasonal shift revealed. *Appl. Environ. Microbiol.* 67(10): 4742-4751.

- Taylor H.M., Upchurch D.R., McMichael B.L. 1990. Applications and limitations of rhizotrons and minirhizotrons for root studies. *Plant Soil* 129: 29-35.
- Tierney G.L., Fahey T.J. 2001. Evaluating minirhizotron estimates of fine root longevity and production in the forest floor of a temperate broadleaf forest. *Plant Soil* 229: 167-176.
- Tingey D.T., McVeety B.D., Waschman R., Johnson M.G., Phillips D.L., Rygiewicz P.T., Olszyk D.M. 1996. A versatile sunlit controlled-environment facility for studying plant and soil processes. *J. Environ. Qual.* 25: 614-625.
- Treseder K.K., Allen M.F., Ruess R.W., Pregitzer K.S., Hendrick R.L. 2005. Lifespans of fungal rhizomorphs under nitrogen fertilization in a pinyon-juniper woodland. *Plant Soil* 270: 249-255.
- van Noordwijk M., de Jager A., Floris J. 1985. A new dimension to observations in minirhizotrons: a stereoscopic view on root photographs. *Plant Soil* 86: 447-453.
- Volkmar K.M., 1993. A comparison of minirhizotron techniques for estimating root length density in soils of different bulk densities. *Plant Soil* 157: 239-245.
- Waipara N.W., Di Menna M.E., Skipp R.A., Cole A.L.J. 1997. In situ examination of whole clover and perennial ryegrass roots inoculated with fungal pathogens. *Proc. 50th N.Z. Plant Protection Conf.* 1997: 78-83.
- Wells C.E., Eissenstat D.M. 2001. Marked differences in survivorship among apple roots of different diameters. *Ecology* 82 (3): 882-892.
- Wells C.E., Eissenstat D.M. 2003. Beyond the roots of young seedlings: the influence of age and order on fine root physiology. *J. Plant. Growth Regul.* 21: 324-334.
- Wells C.E., Glenn D.M., Eissenstat D.M. 2002a. Changes in the risk of fine-root mortality with age: a case study in peach, *Prunus persica* (Rosaceae). *Am. J. Bot.* 89(1): 79-87.
- Wells C.E., Glenn D. M., Eissenstat D.M. 2002b. Soil insects alter fine root demography in peach (*Prunus persica*). *Plant, Cell Environ.* 25: 431-439.
- Williams S.M., Weil R.R. 2004. Crop cover root channels may alleviate soil compaction effect on soybean crop. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 68: 1403-1409.
- Withington J.M., Elkin A.D., Bułaj B., Olesiński J., Tracy K.N., Bouma T.J., Oleksyn J., Anderson L.J., Modrzyński J., Reich P.B., Eisenstst D.M. 2003. The impact of material used for minirhizotron tubes for root research. *New Phytologist* 160: 533-544.
- Zeng G., Birchfield S.T., Wells C.E. 2006. Detecting and measuring fine roots in minirhizotron images using matched filtering and local entropy thresholding. *Machine Vision Applications* 17: 265-278.