

Bi1077 Úvod do studia CELLBI



Rostlinný výzkum

Mgr. Markéta Pernisová, PhD.
6.11.2024

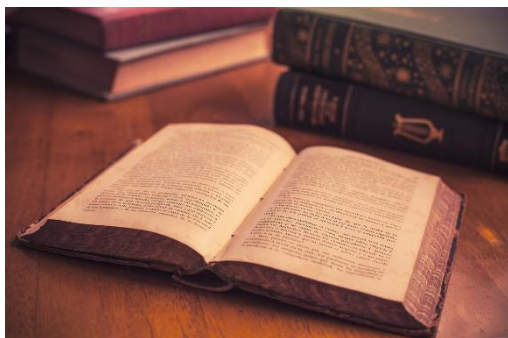
Národní centrum pro výzkum biomolekul, Přírodovědecká fakulta
Laboratoř rostlinného výzkumu, CEITEC
Masarykova Univerzita
pernisova@sci.muni.cz



Proč zkoumáme rostliny

Proč jsou rostliny důležité?

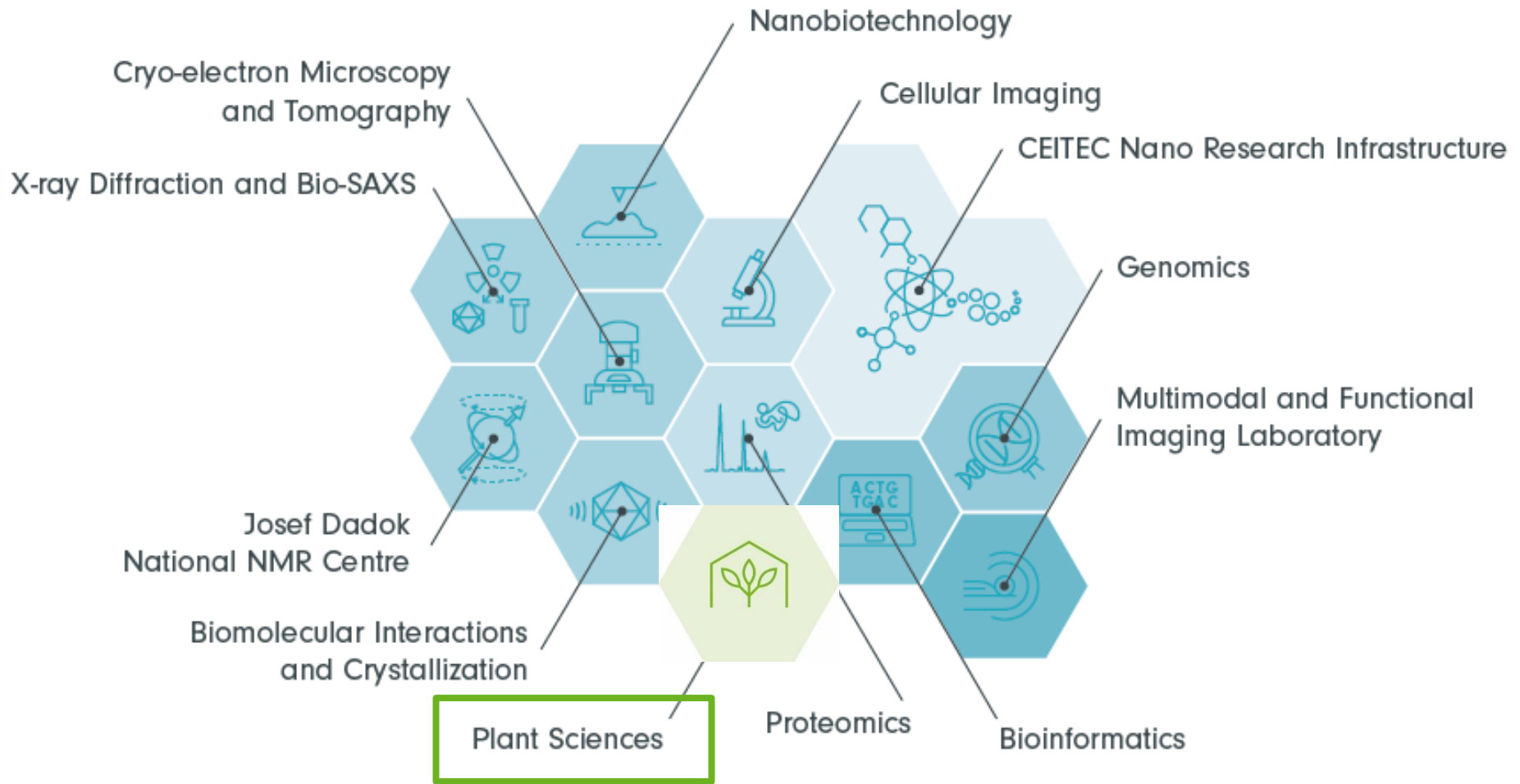
- kyslík
- potrava
- materiály
- léčiva
- ...





Kde rostliny pěstujeme

Sdílené laboratoře (Core Facilities)



Laboratoř rostlinného vřzkumu na MU

- umístěni: budovy C02 a E26



Laboratoř rostlinného výzkumu

- přístup ke špičkovému vybavení na pěstování rostlin pro akademickou i firemní sféru
- klíčové vybavení:
 - 10 skleníků
 - 15 fytotronů
 - malé kultivační komory
 - chladové místnosti
- expertíza:
 - přesně definované kultivační podmínky
 - simulace podmínek prostředí
 - fenotypová analýza
 - pokročilá biostatistika



Skleníky

- velkokapacitní



Fytotrony

- kultivační komory
- „otevřené“, „uzavřené“
- specifické kultivační podmínky





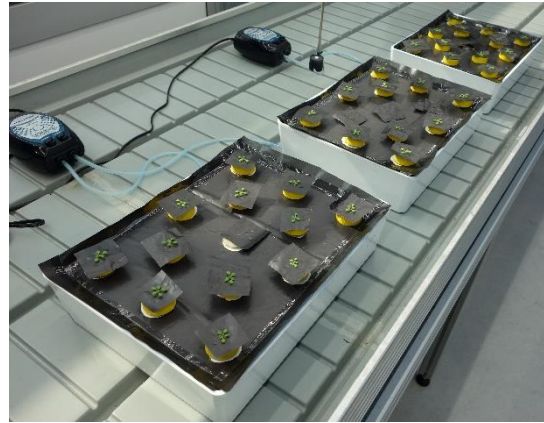
Jak rostliny pěstujeme

Způsoby kultivace rostlin

- přirozeně v substrátu



- hydroponicky



- „*in vitro*“ – na živných médiích

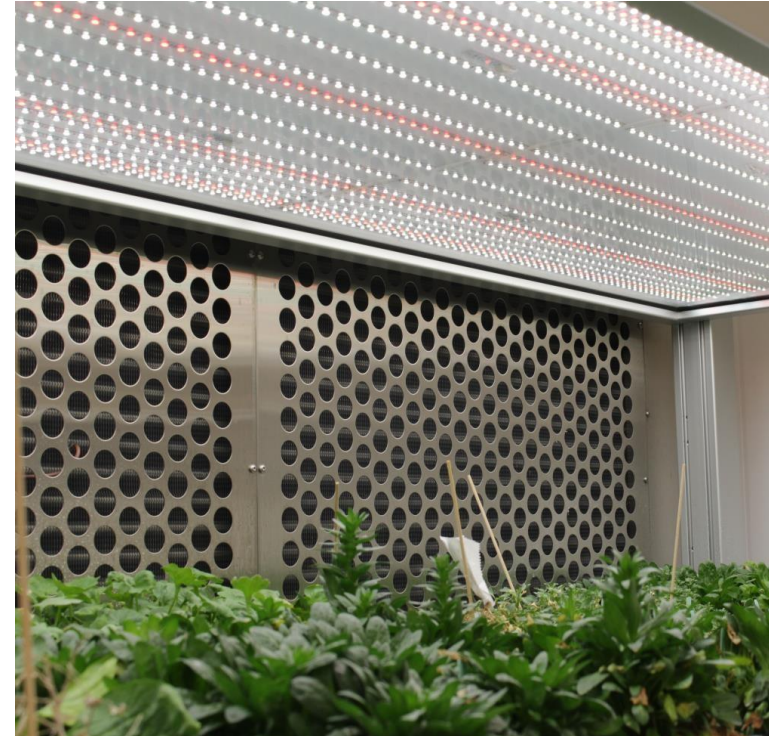
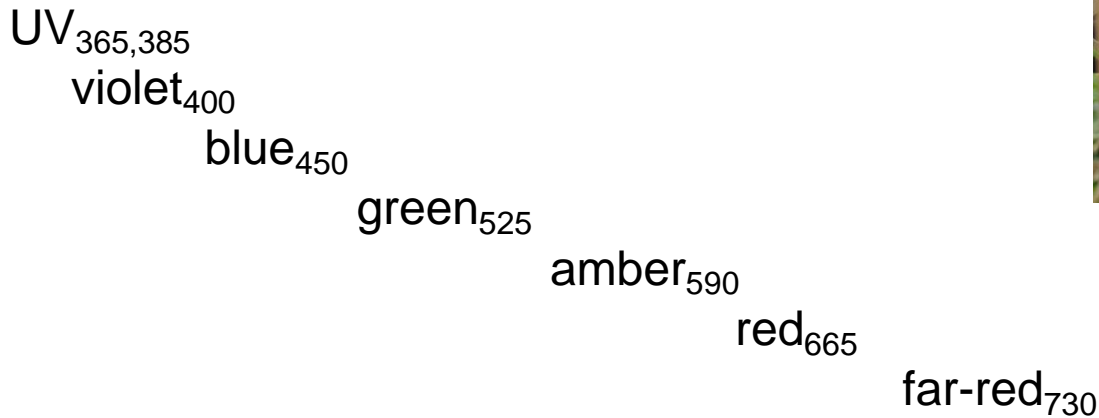
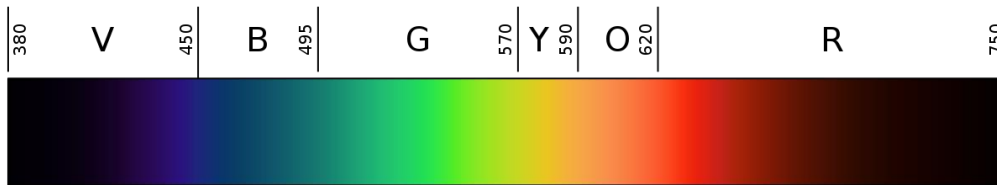


- suspenzní kultury



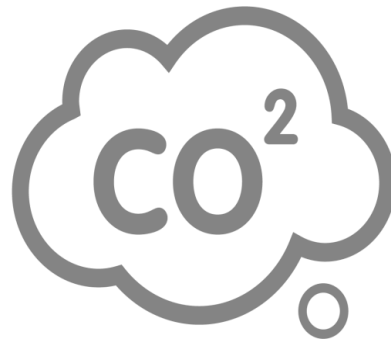
Světelné podmínky

- fluorescenční zářivky
- LED osvětlení:
 - standardní (cool white/red/far-red)
 - high-light LED
 - vícekanálové LED



Co umíme kontrolovat

- teplota
 - vzdušná vlhkost
 - intenzita a kvalita osvětlení
 - délka dne a noci
 - svítání, stmívání
-
- speciální komory s kontrolovaným obsahem plynů:
 - etylén, CO₂



Simulace stresu prostředí

- chlad ($\geq +4^{\circ}\text{C}$)
- teplo ($\leq +34^{\circ}\text{C}$)
- vysoký osvit
- vliv UV
- sucho
- zasolení
- zaplavení
-

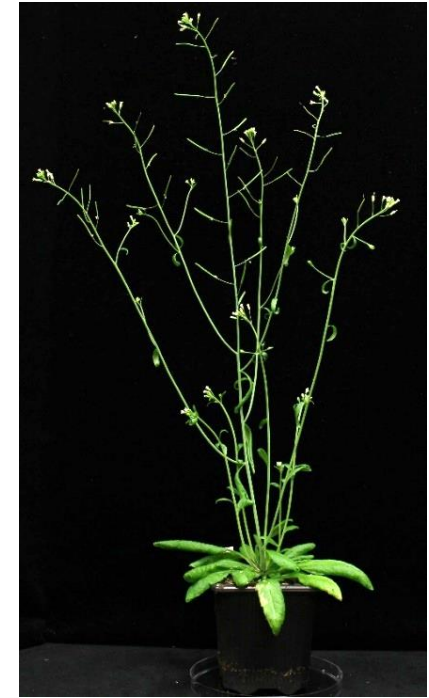




Které rostliny zkoumáme

Rostlinné druhy

- *Arabidopsis thaliana* – „rostlinná myš“
- tabák
- řepka, ječmen, kukuřice, rajče
- řasy
- mechy
- ...





Jaké přístupy a metody používáme

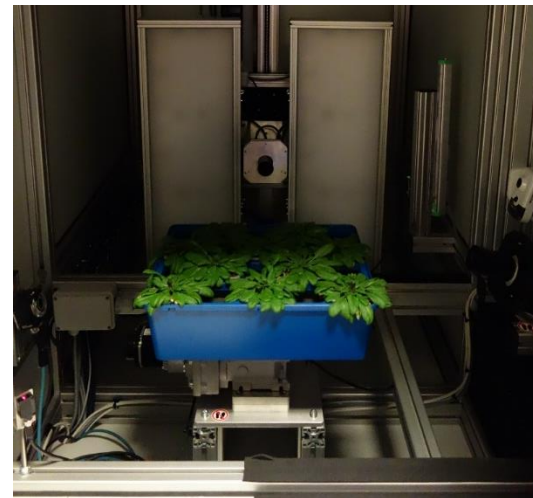
Fenotyp rostlin

- genotyp (genetická výbava) + prostředí = fenotyp (vzhled)
- odráží funkci genů
- kontrolní rostlina vs. mutantní, transgenní, stresovaná, rozdílné kultivační podmínky, živiny, atd.



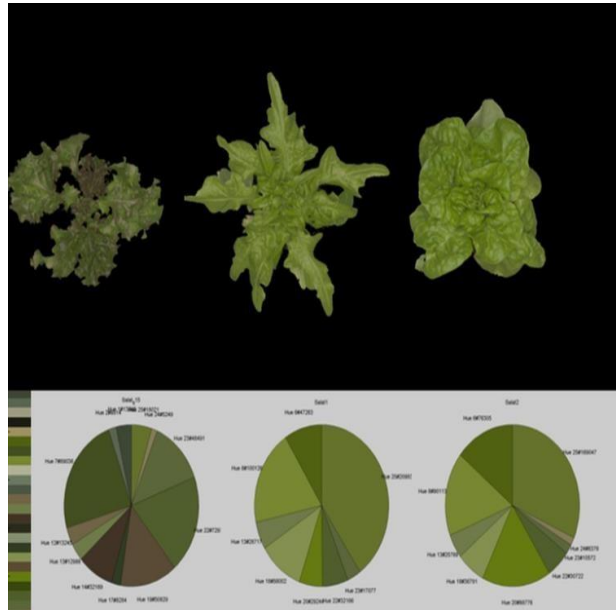
Fenotypování rostlin

- PlantScreen™ System (PSI)
- malé a střední rostliny (např. Arabidopsis, řepka)
- moduly: prýt, kořen
- vrchní a boční kamery
- senzory: RGB, fluorescence
- morfometrické a fluorescenční parametry, skladba barevného spektra



Fenotypování prýtu - morfologie

- RGB a morfometrické snímání: morfologická analýza, architektura a barevné spektrum, i v čase



Morphological parameters

Area

Perimeter

Compactness

Roundness

Eccentricity

RMS (Rotational mass symmetry)

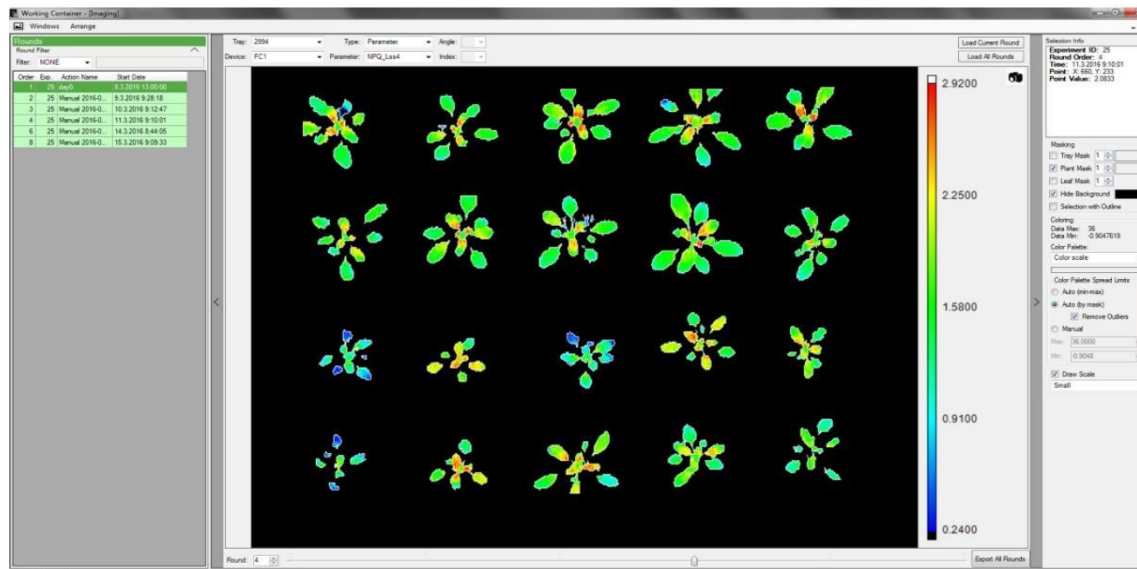
SOL (Slenderness of leaves)

Isotropy

Greenness

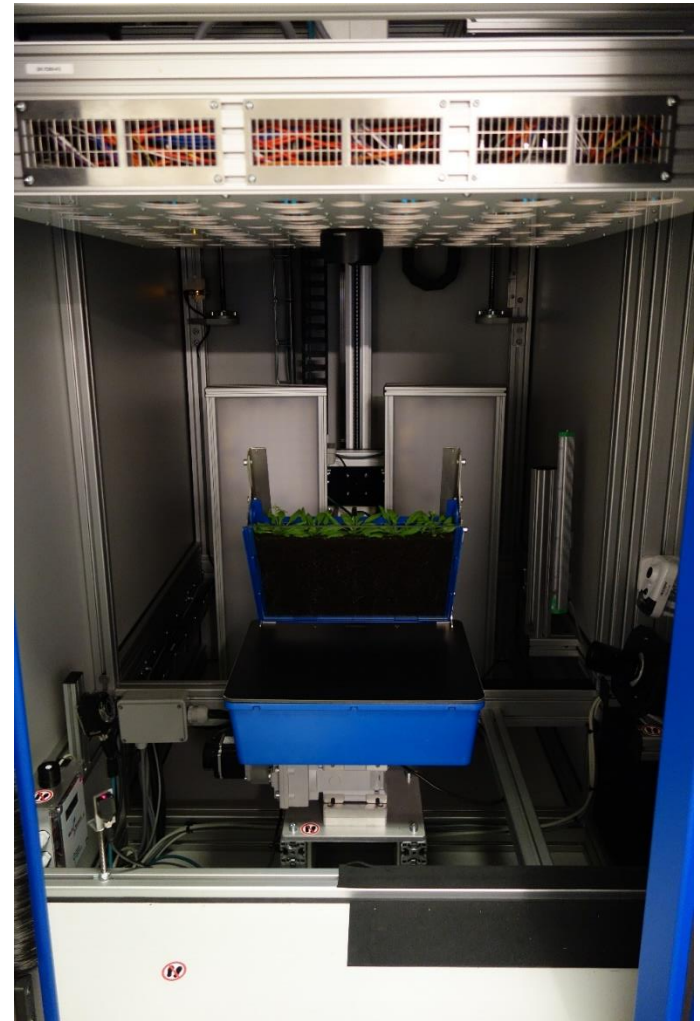
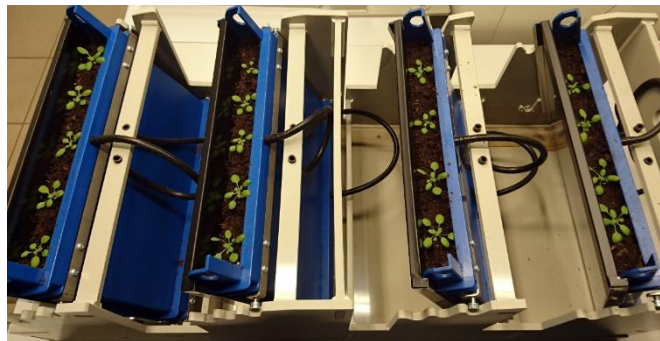
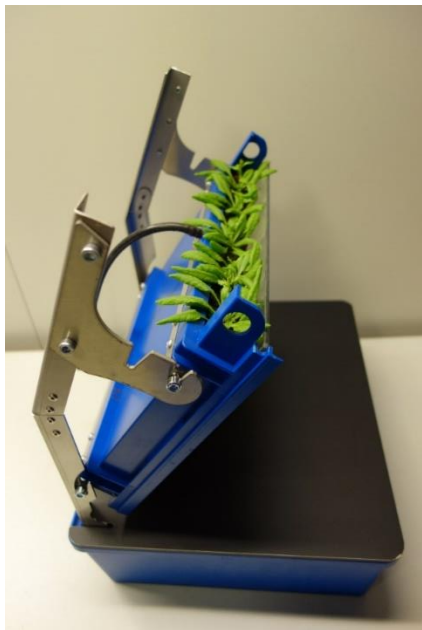
Fenotypování prýtu - fluorescence

- fluorescence chlorofylu - indikátor fotosyntetické aktivity
- rychlé neinvazivní měření aktivity fotosystému II
- fluorescenční parametry slouží ke zkoumání fyziologického stavu rostlin (vliv mutace, stres suchem, infekce, senescence atd.)



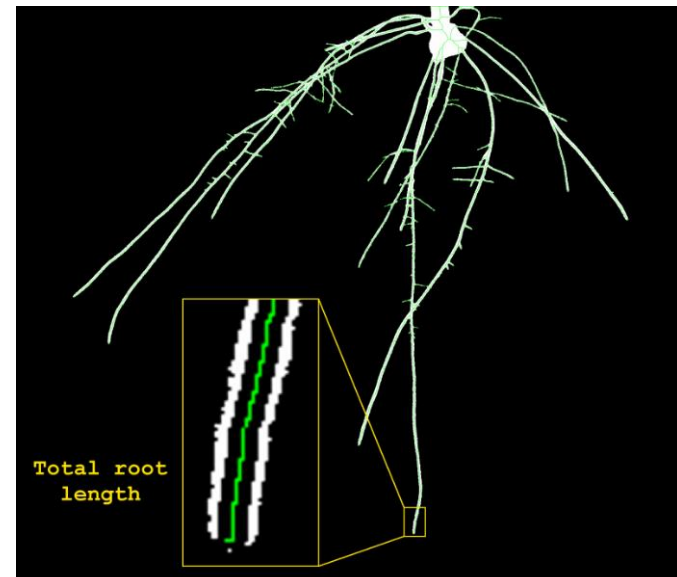
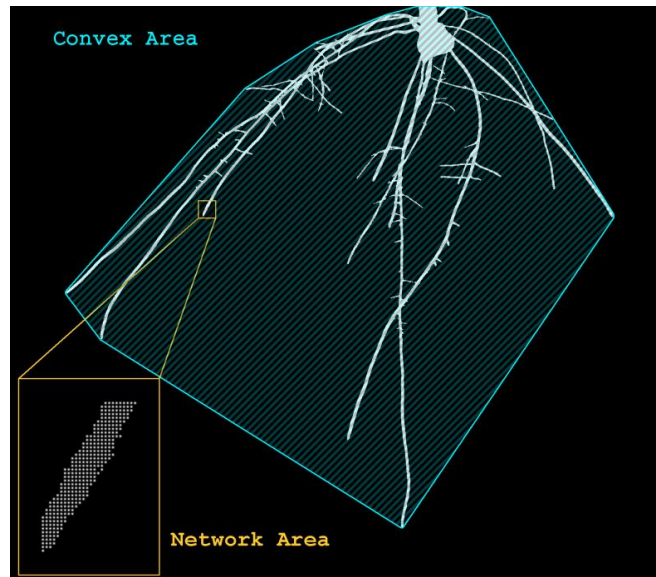
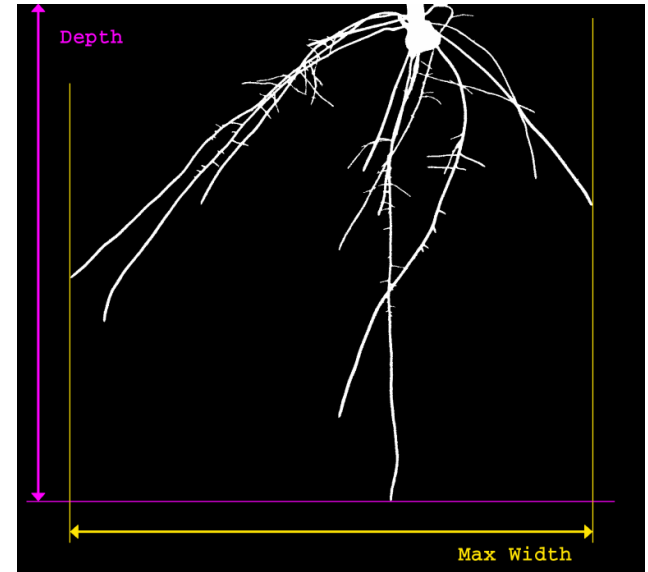
Fenotypování kořene

- RhizoTron modul



Měřitelné parametry kořene

- hloubka kořenového systému
- šířka kořenového systému
- plocha povrchu kořene (network area)
- plocha kořenového systému (convex area)
- celková délka kořenového systému



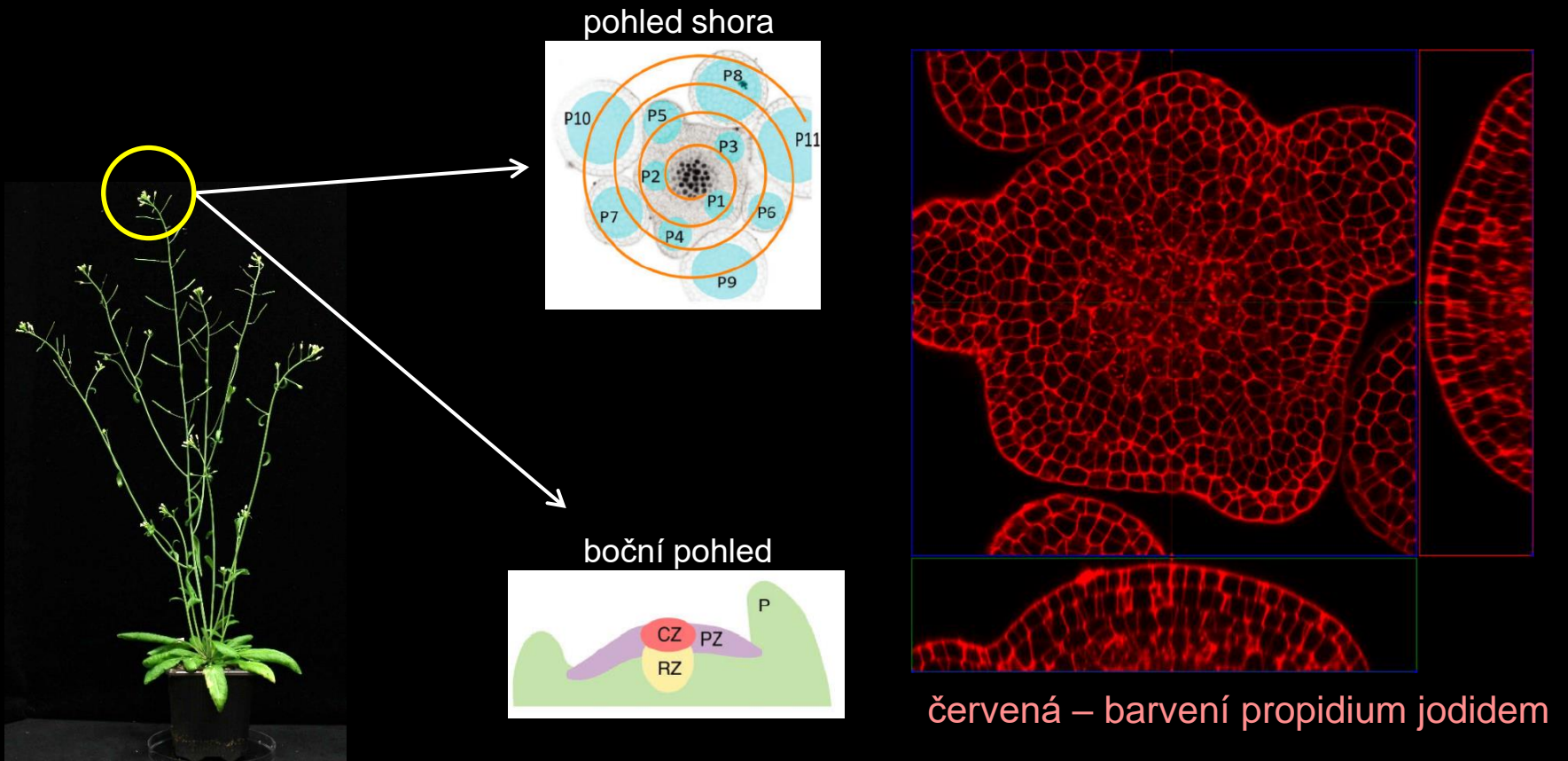
Mikroskopie

- makroskopický pohled vs. mikroskopický
- detaily, exprese genů, buněčná úroveň, sub-buněčná úroveň
- různé druhy mikroskopů s různým stupněm rozlišení



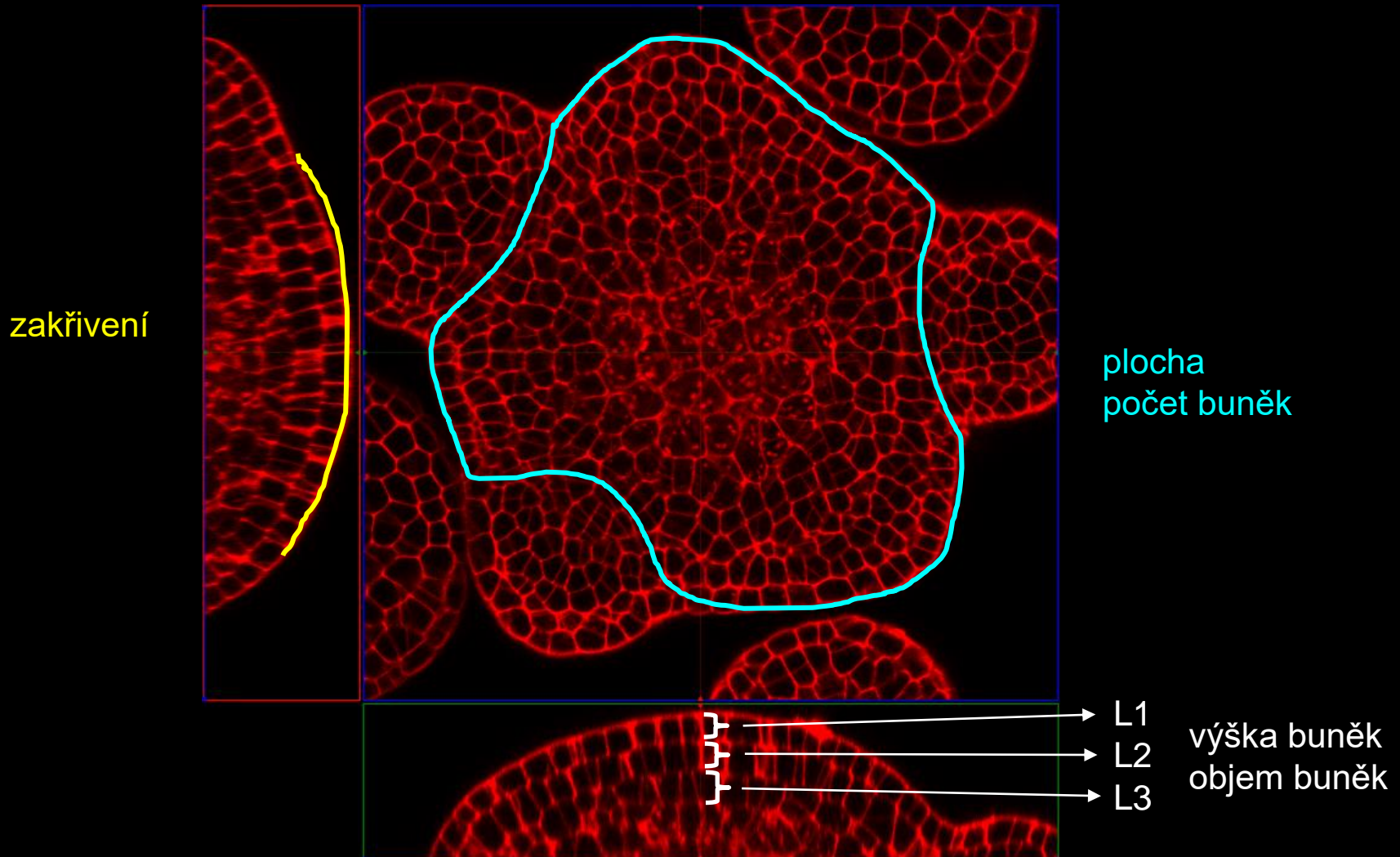
Mikroskopie prýtového vrcholu

- příprava preparátu – optimalizace protokolů



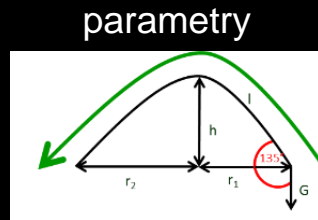
Architektura a parametry prýtu

- plocha, zakřivení, výška buněčné vrstvy, objem buněk, počet buněk, atd.



Mikroskopie kořene

- sledování růstu kořene *in vivo*



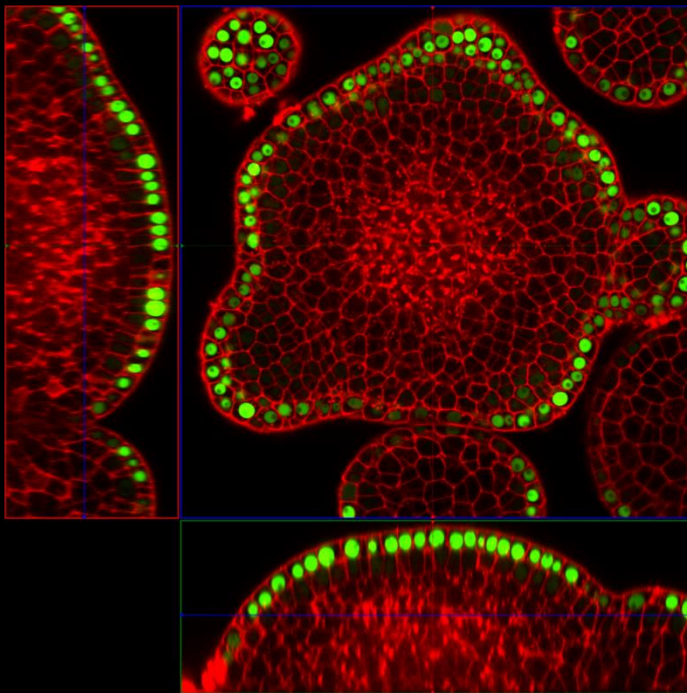
speciální horizontální mikroskop



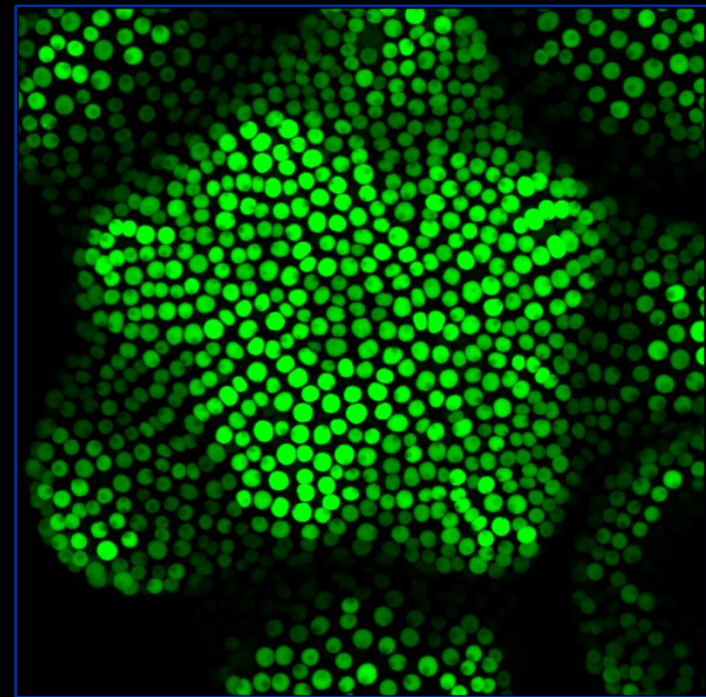
Exprese genů

- reportéry: fluorescenční, luminiscenční, chemické ...
- kde a kdy geny fungují: prostor a čas
- na úrovni rostliny, orgánů, buňky

zelená - fluorescenční reportér (gen *LOG4*)



osy x, y, z

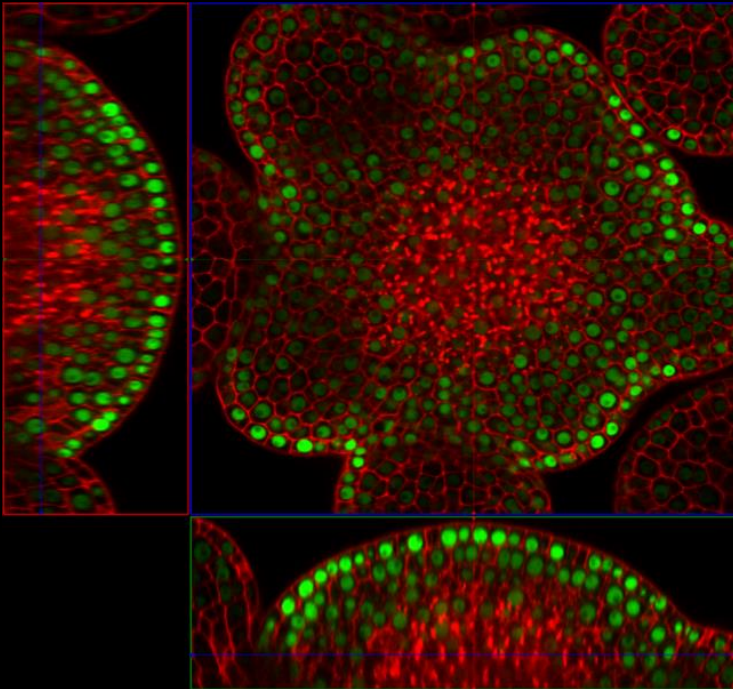


maximum intensity projection

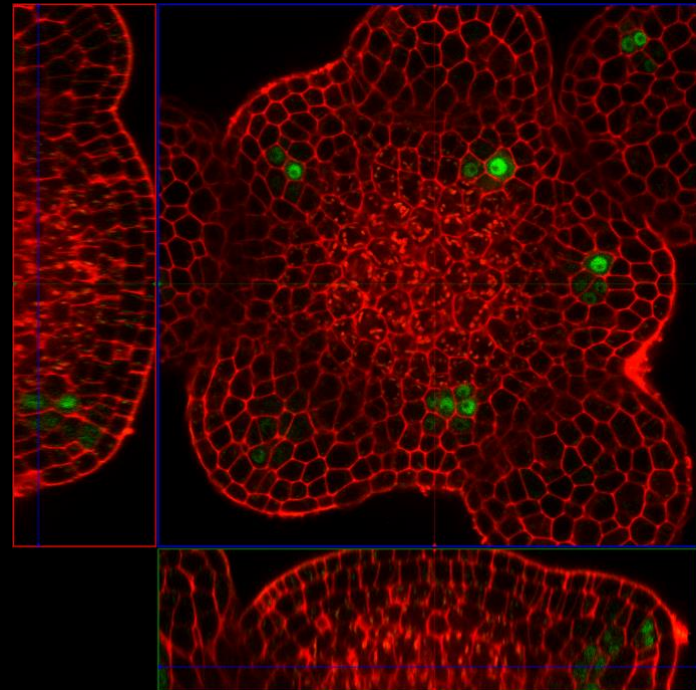
Expresse genů

- různé exprese genů – funkční význam

gen *LHW*

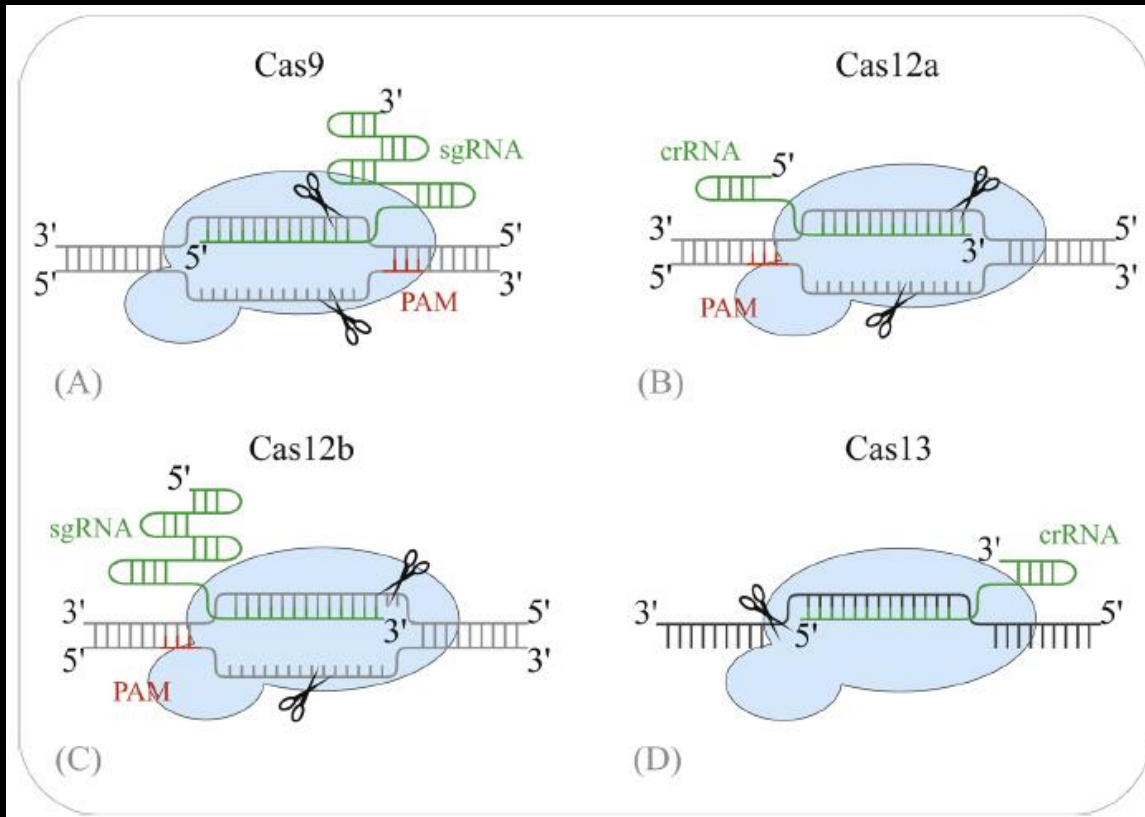


gen *TMO5*



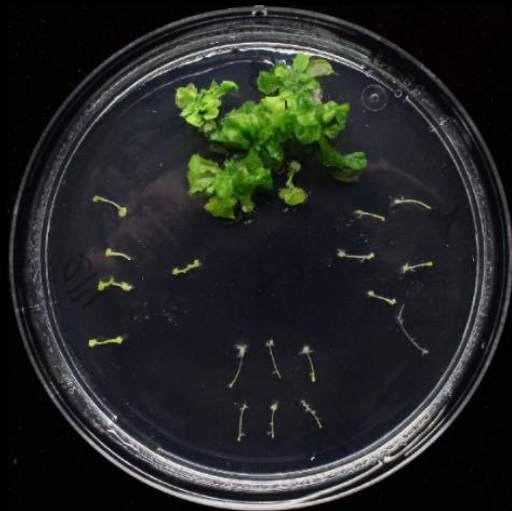
Editace genomu

- technologie založená na principu CRISPR/Cas9



Transformace a regenerace rostlin

- agrobakteriální transformace
- regenerace rostlin *in vitro*
- metodika
- výzkum regenerace rostlin





Co zkoumáme

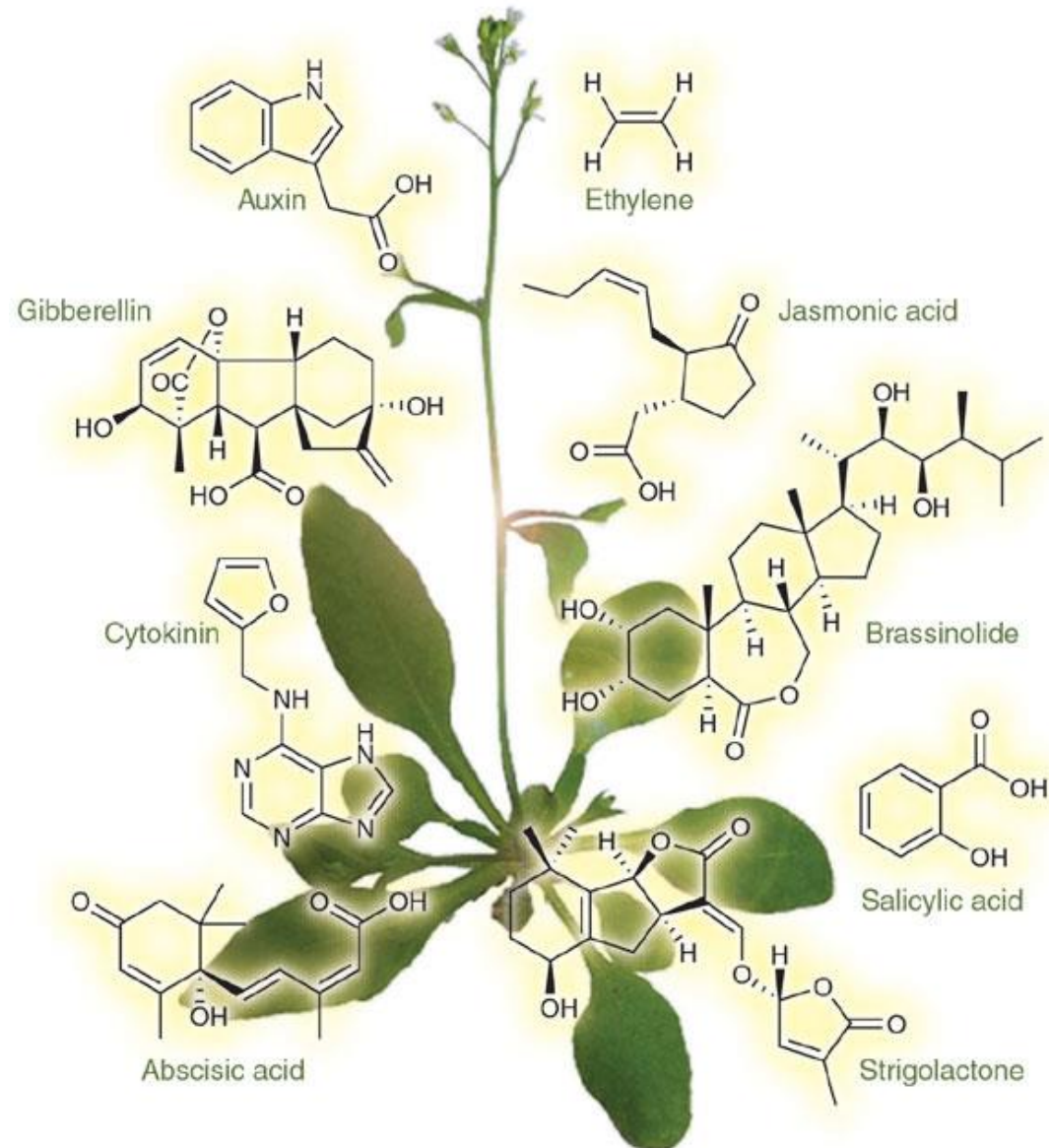
Vývojová plasticita rostlin

- **totipotence** rostlinných buněk
- **postembryonální organogeneze *de novo*** (např. zakládání květů, tvorba nových listů nebo větví ...)
- klíčová úloha rostlinných hormonů neboli **fytohormonů**



Fytohormony

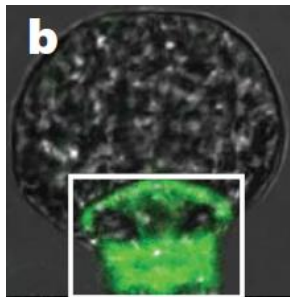
- klíčení
- vývoj rostliny
- růstové procesy
- přenos informace
- tropizmy
- stresové reakce
- ...



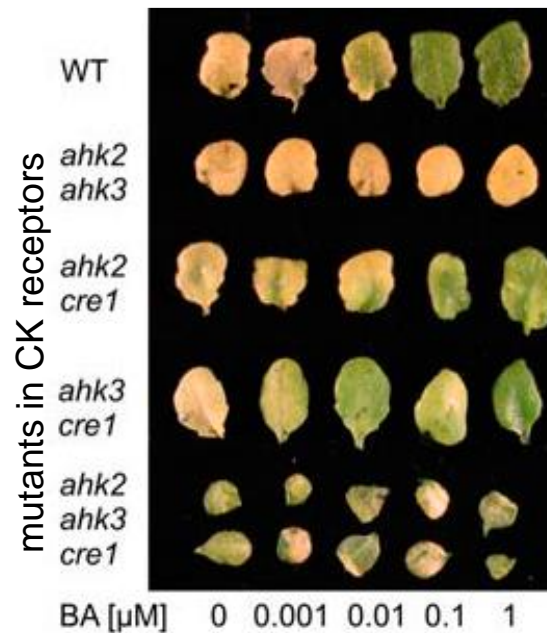
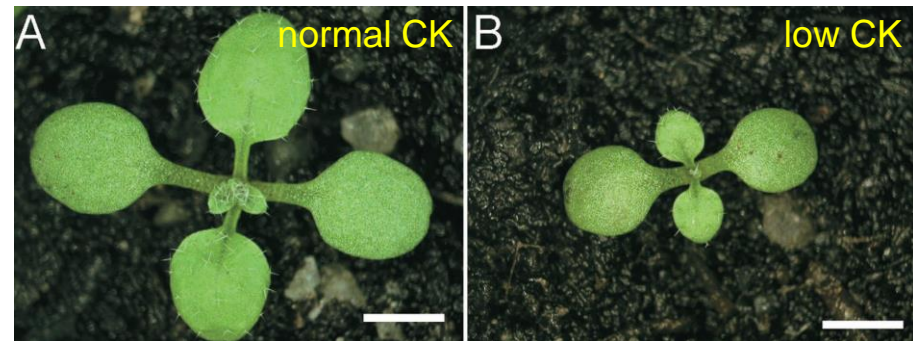
Cytokiny ve vývoji rostlin

- buněčné dělení ~ cytokinesis
- diferenciace a růst buněk
- apikální dominance
- vývoj cévních svazků
- zrání plodů
- tolerance ke stresu
- stárnutí listů
-

embryo Arabidopsis

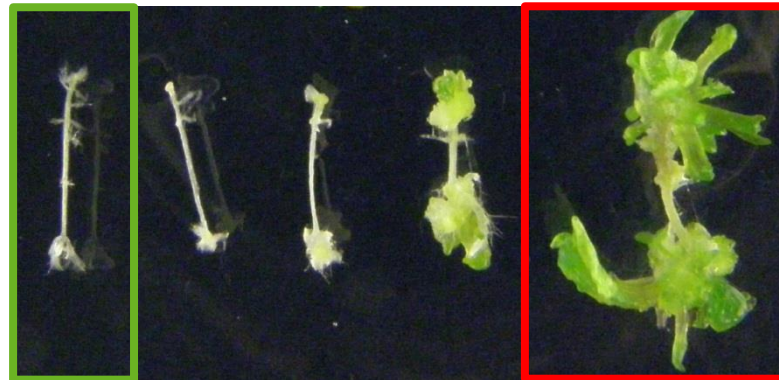
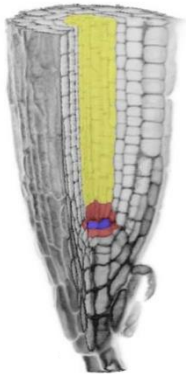
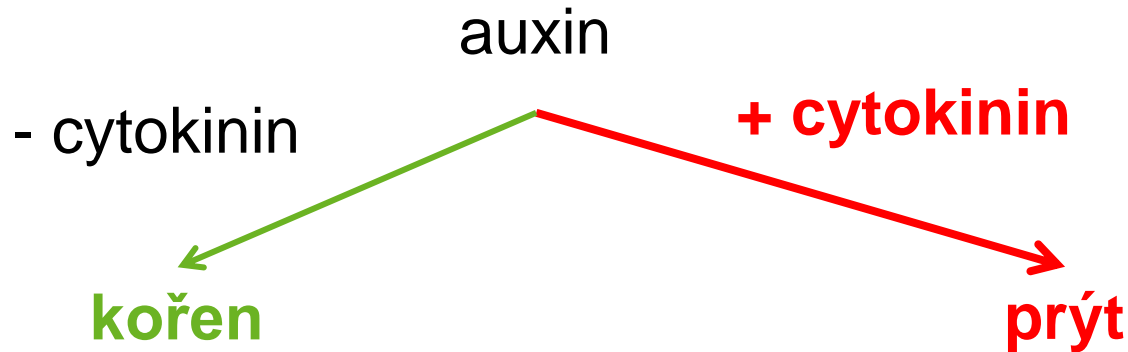


CK signalling

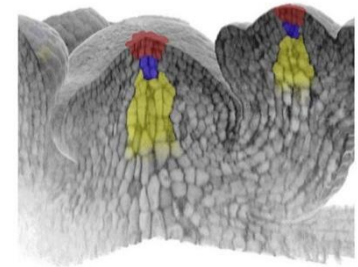


Regenerace rostlin *in vitro*

?



0 30 100 300 1000 ng/ml
cytokinin



Jaká je úloha cytokininů v regeneraci prýtu?

Jaký mají cytokininy vliv na specifikaci buněk/orgánů?

Jaká je úloha cytokininového metabolismu?

Děkuji za pozornost



M U N I

