

Příběhy z evoluce rostlinné signalisace

Stanislav Vosolsobě

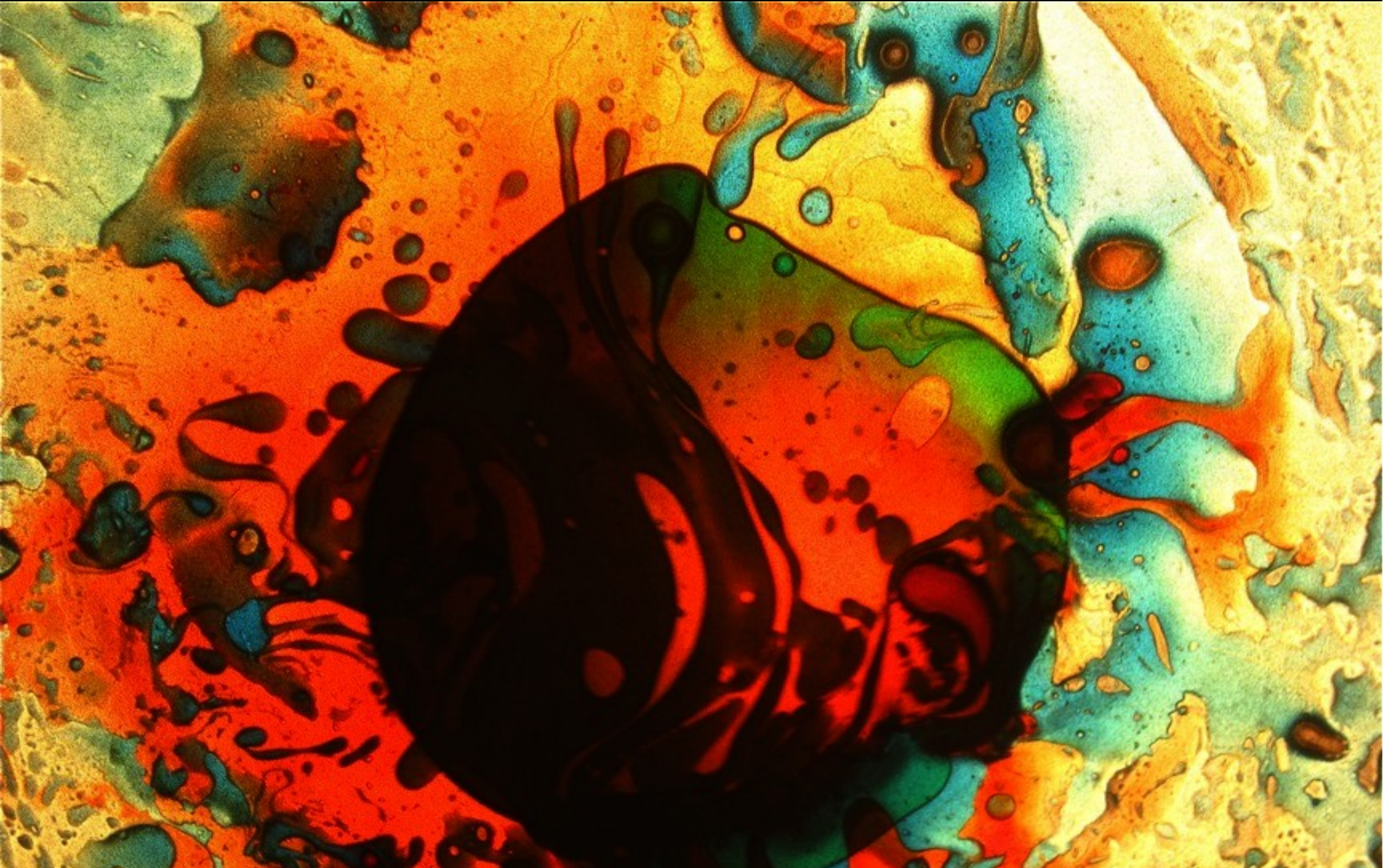


Administrativní vsuvka



Volitelné formy zkoušky:

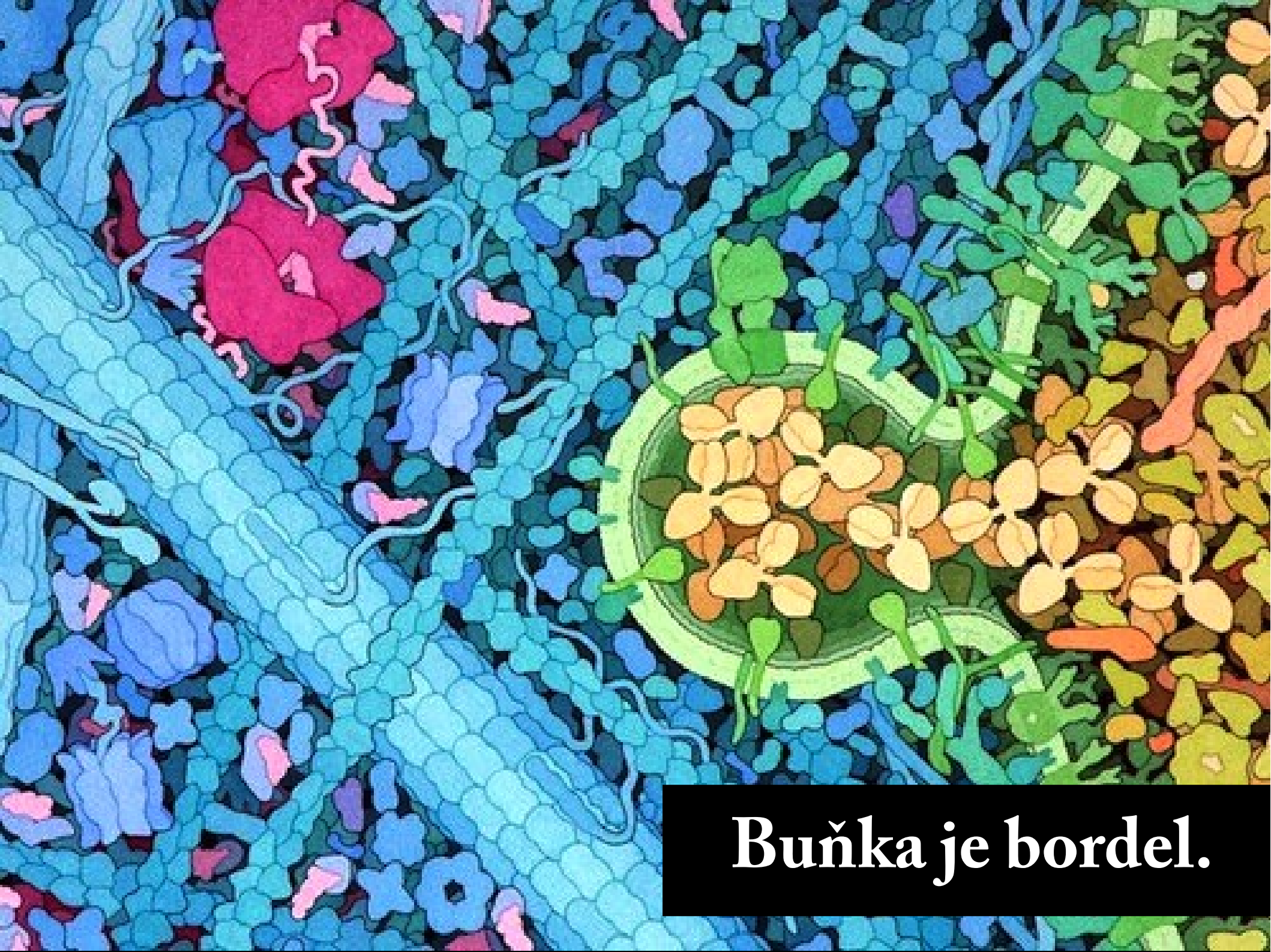
- ♦ Zpracování stručné rešerše nebo ústní presentace na evoluční téma.
- ♦ Práce by měla mít inovativní charakter a vycházet z alespoň 3-5 odborných publikací, případně z primárních dat v sekvenčních databázích.
- ♦ V případě zájmu, prezentace proběhnou v domluveném termínu během semestru
- ♦ Zájemci o klasickou formu ústní zkoušky mohou být po předchozí domluvě kdykoliv vyzkoušeni.



Co čekat od přednášky?

Kytky jsou plevel.



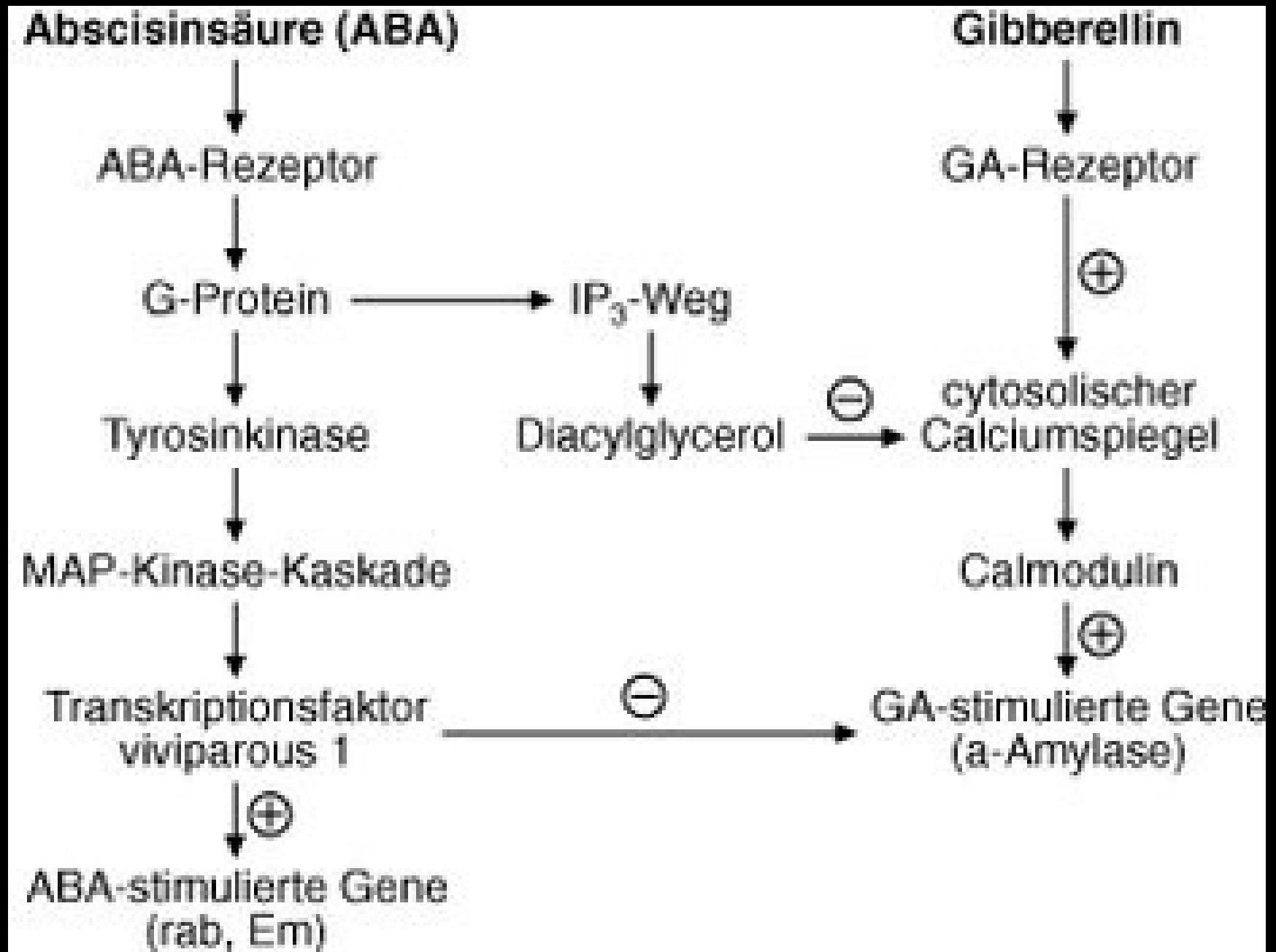


Buňka je bordel.

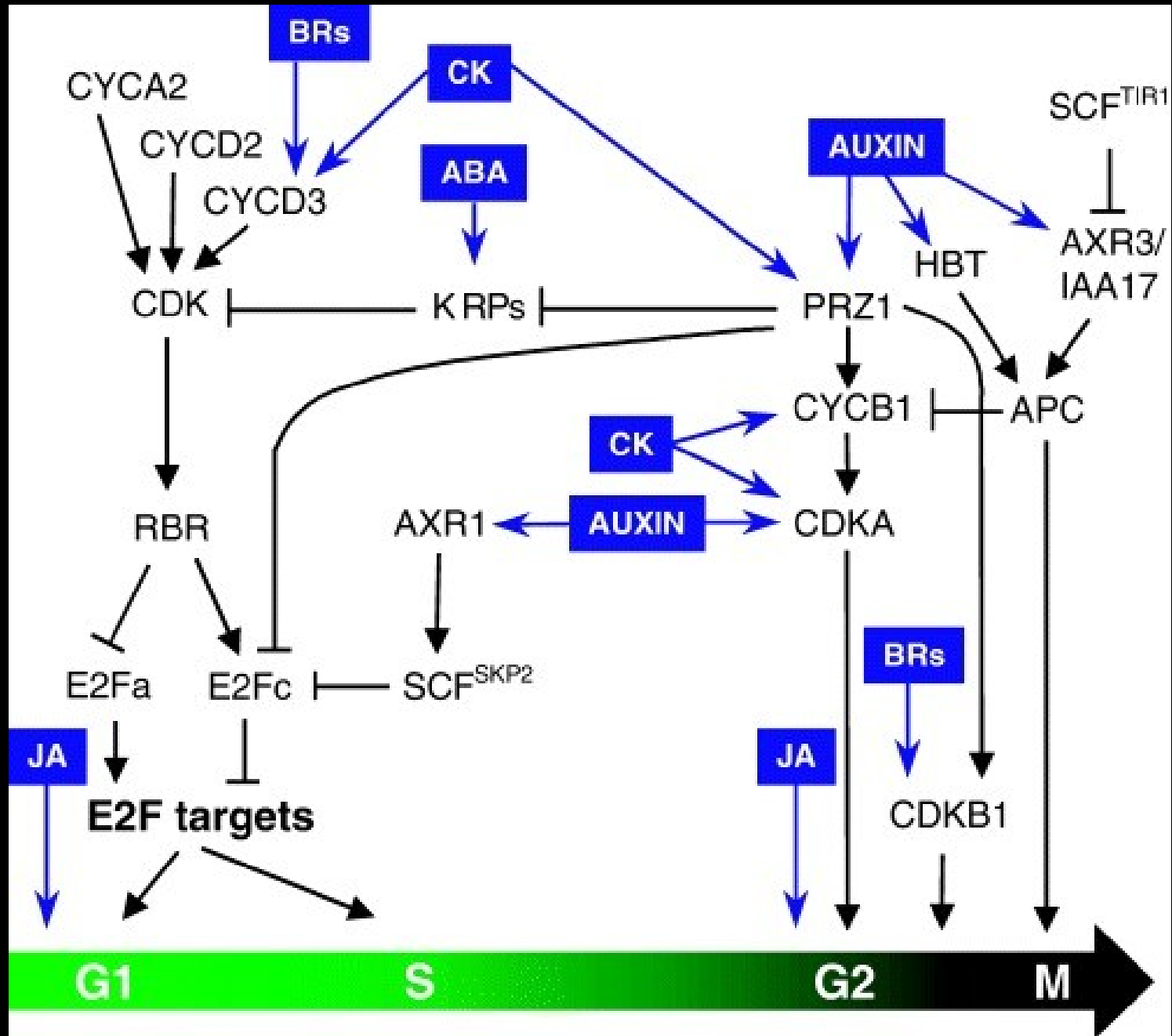


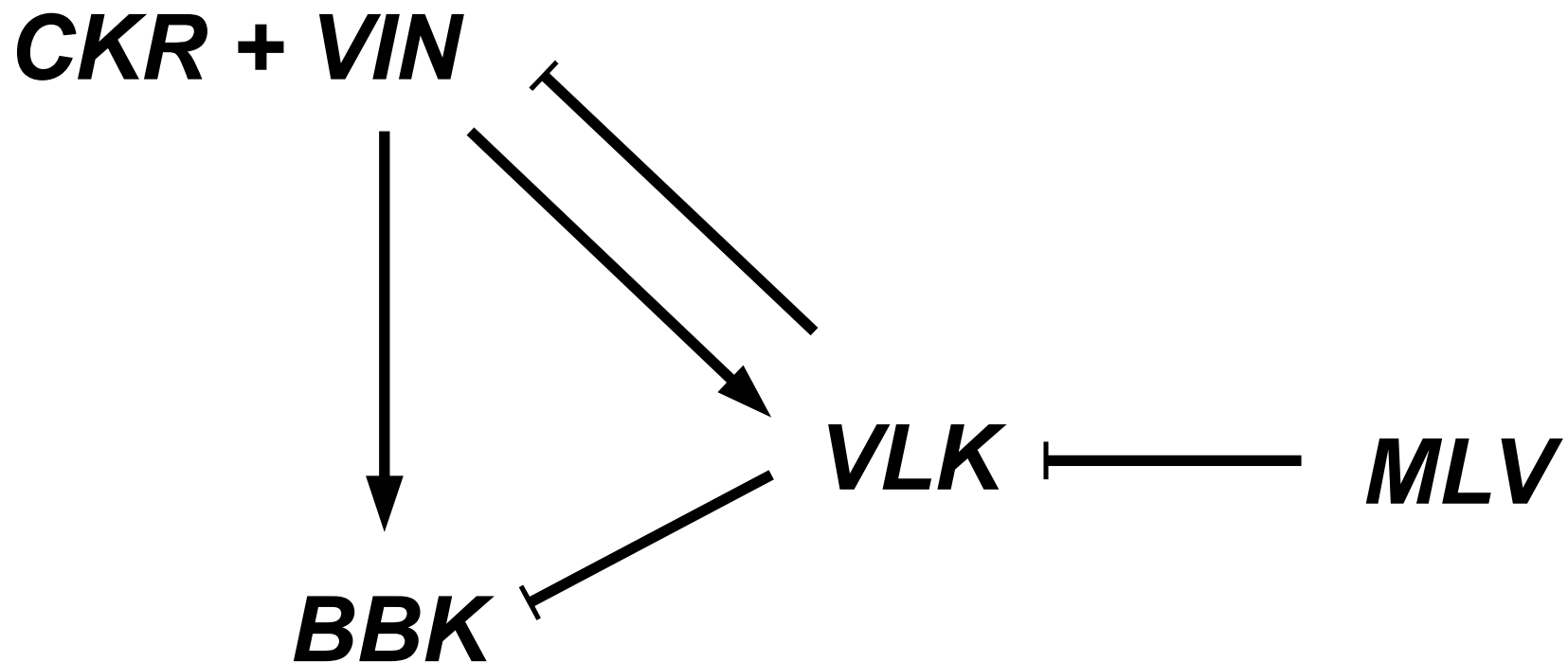
Historie je (...).

Ordnung!

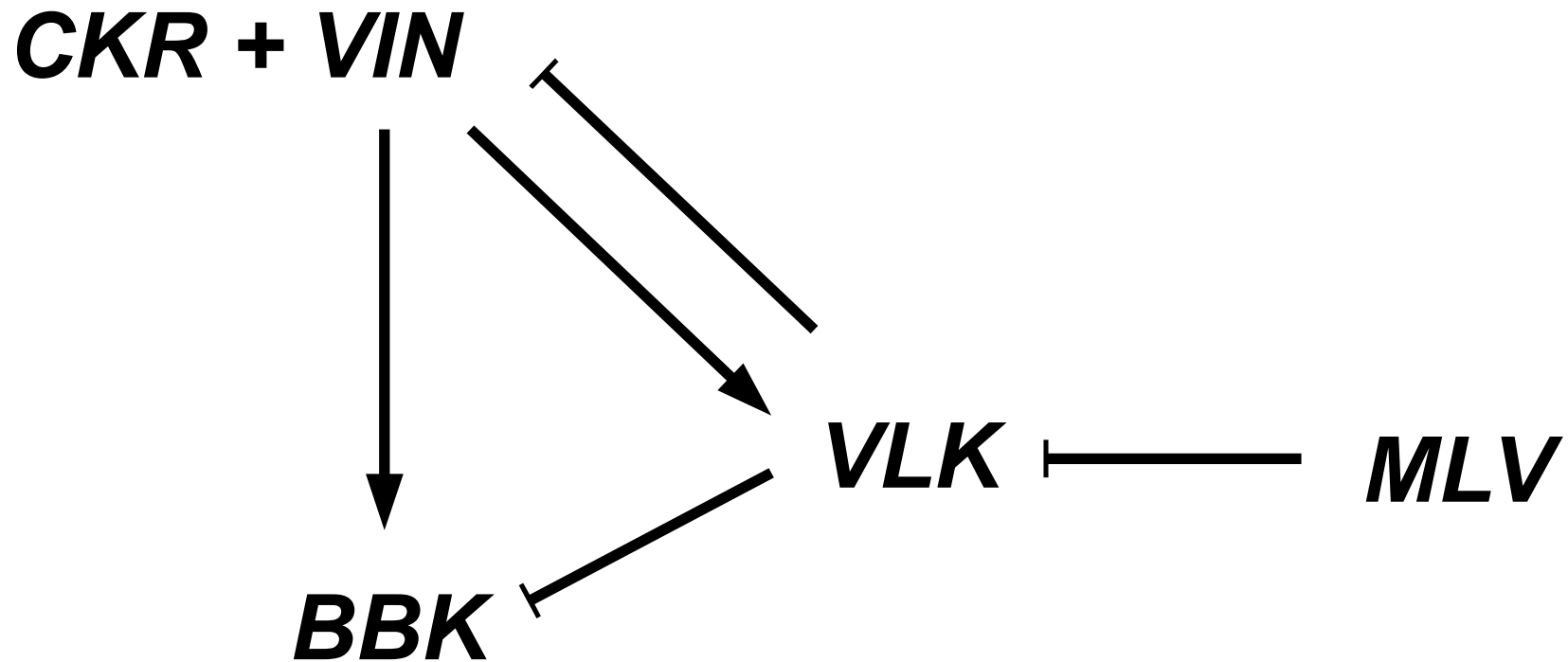


Ordnung...?





...stačí jen tři písmena...



Podstatou je příběh...



CKR + VIN



BBK

VLK

MLV











**Příběh nultý:
Sekvenování.**

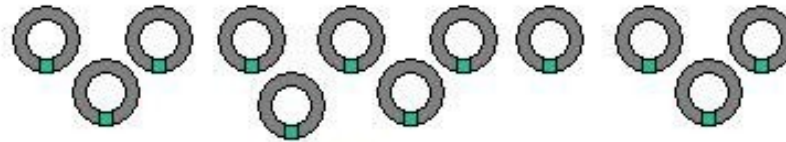
DNA extraction



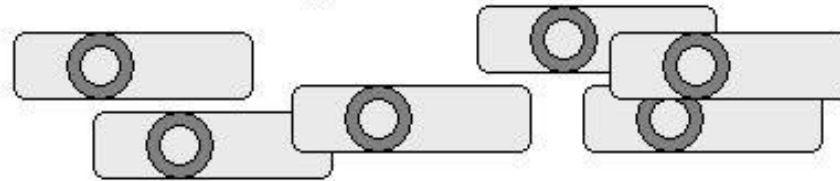
DNA fragmentation



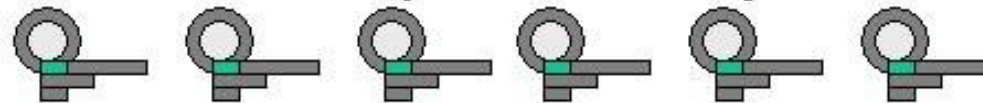
Clone into Vectors



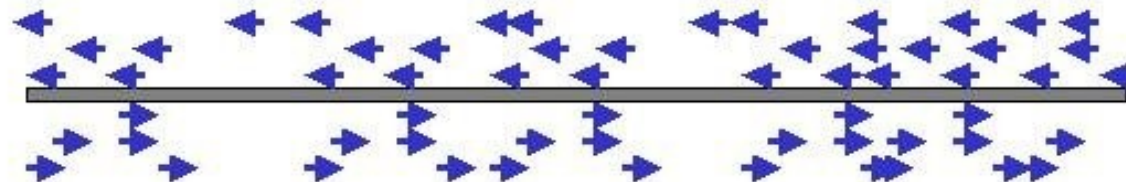
Transform bacteria, grow, isolate vector DNA



Sequence the library



Assemble contiguous fragments



Masivní sekvenování organismů



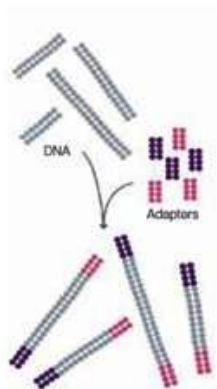


Figure 1
Randomly fragment genomic DNA and ligate adapters to both ends of the fragments.

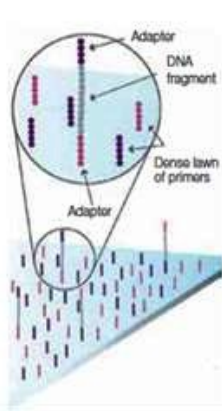


Figure 2
Bind single-stranded fragments randomly to the inside surface of the flow cell channels.

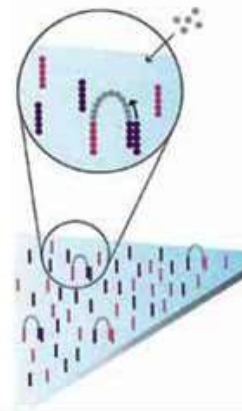


Figure 3
Add unlabeled nucleotides and enzyme to initiate solid-phase bridge amplification.

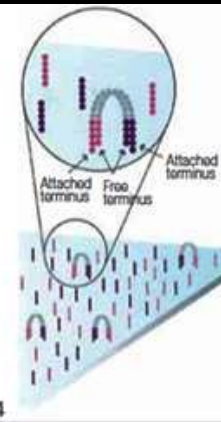


Figure 4
The enzyme incorporates nucleotides to build double-stranded bridges on the solid-phase substrate.

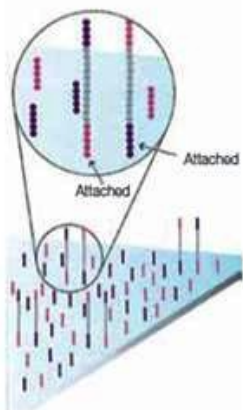


Figure 5
Denaturation leaves single-stranded templates anchored to the substrate.

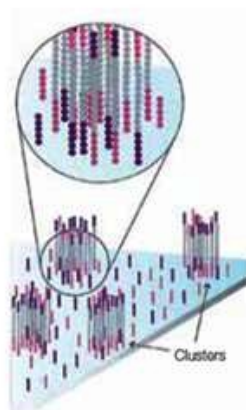


Figure 6
Several million dense clusters of double-stranded DNA are generated in each channel of the flow cell.

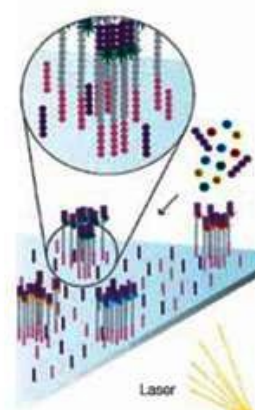


Figure 7
The first sequencing cycle begins by adding four labeled reversible terminators, primers, and DNA polymerase.



Nukleotidy mají fluorescenční značku a terminátor

Figure 8
After laser excitation, the emitted fluorescence from each cluster is captured and the first base is identified.

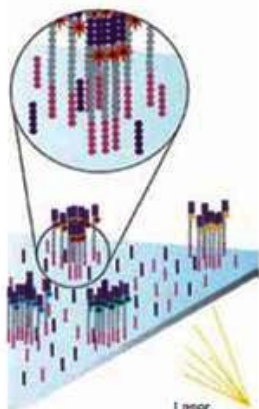


Figure 9
The next cycle repeats the incorporation of four labeled reversible terminators, primers, and DNA polymerase.



Figure 10
After laser excitation, the image is captured as before, and the identity of the second base is recorded.



Figure 11
The sequencing cycles are repeated to determine the sequence of bases in a fragment, one base at a time.

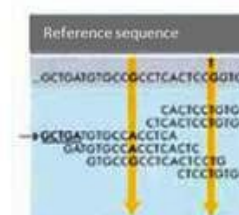
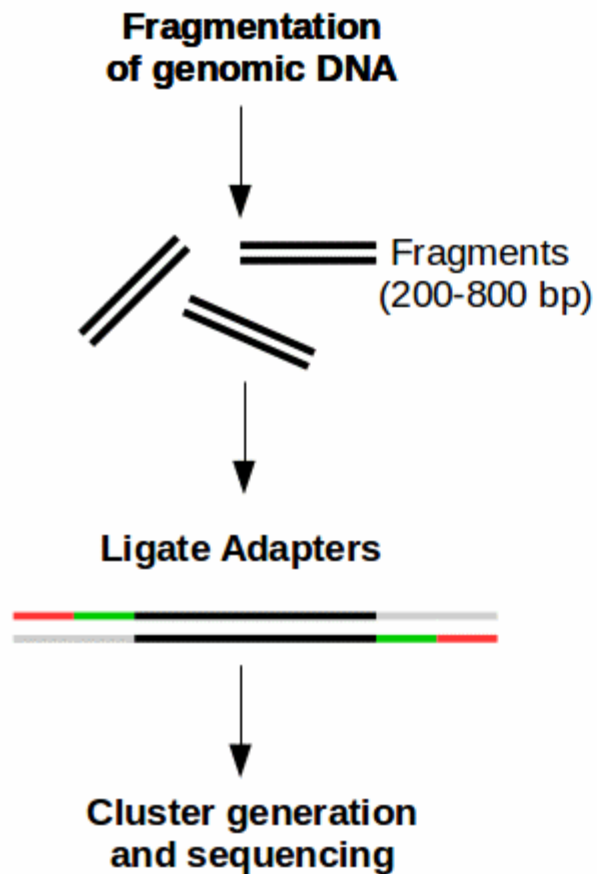


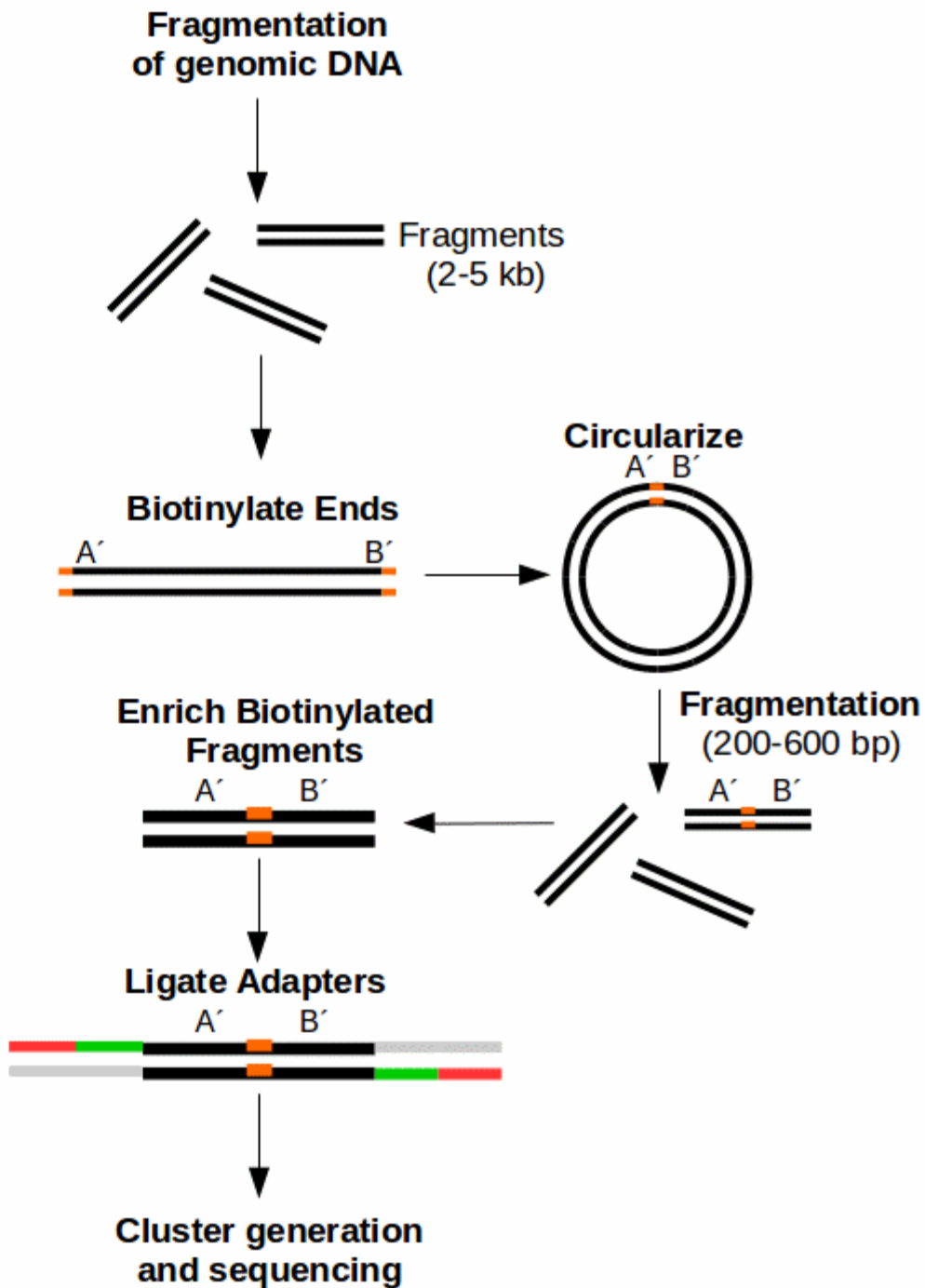
Figure 12
The data are aligned and compared to reference, and sequencing differences are identified.

Paired-End Sequencing

(Short-insert paired-end reads)

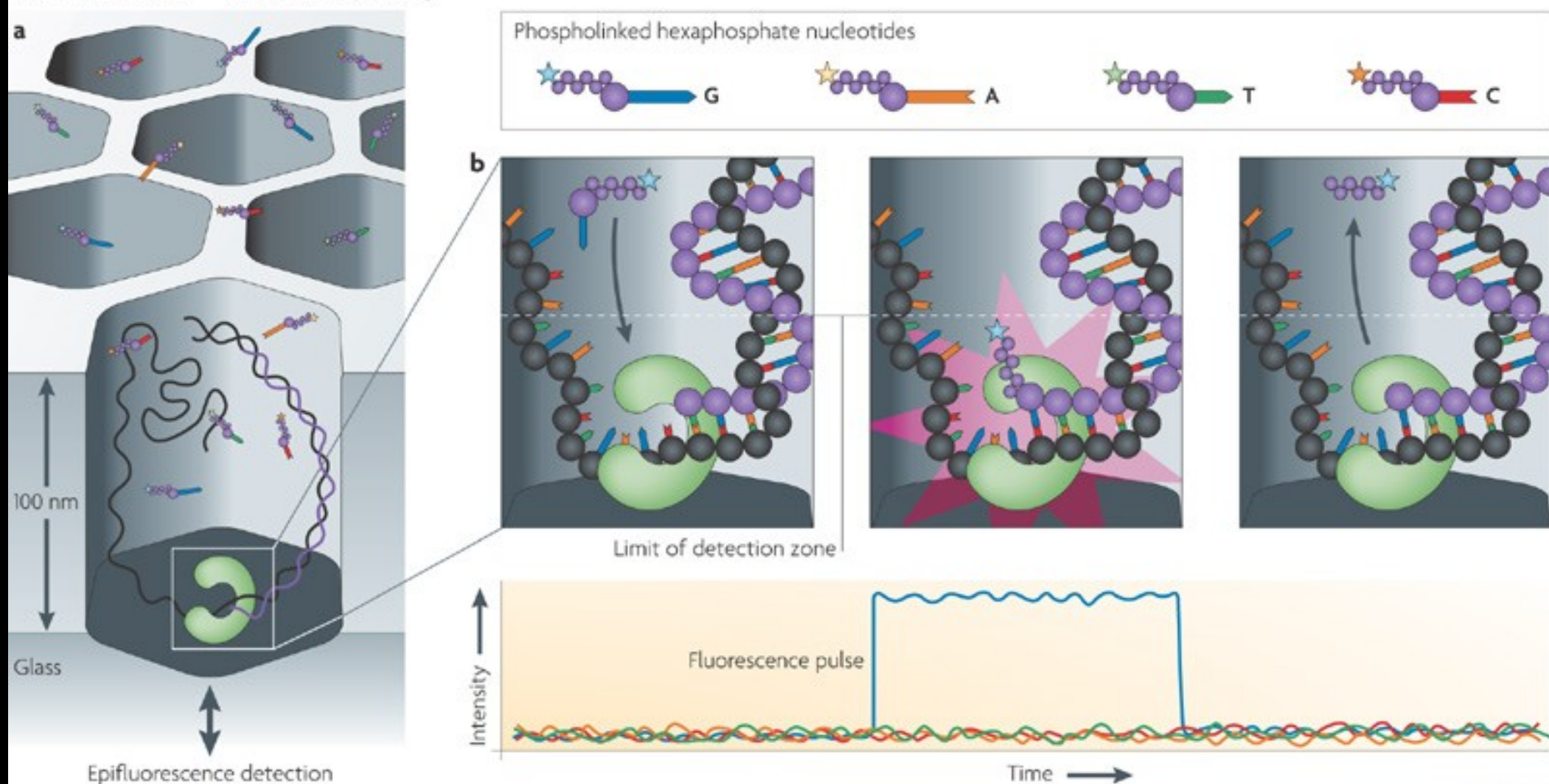


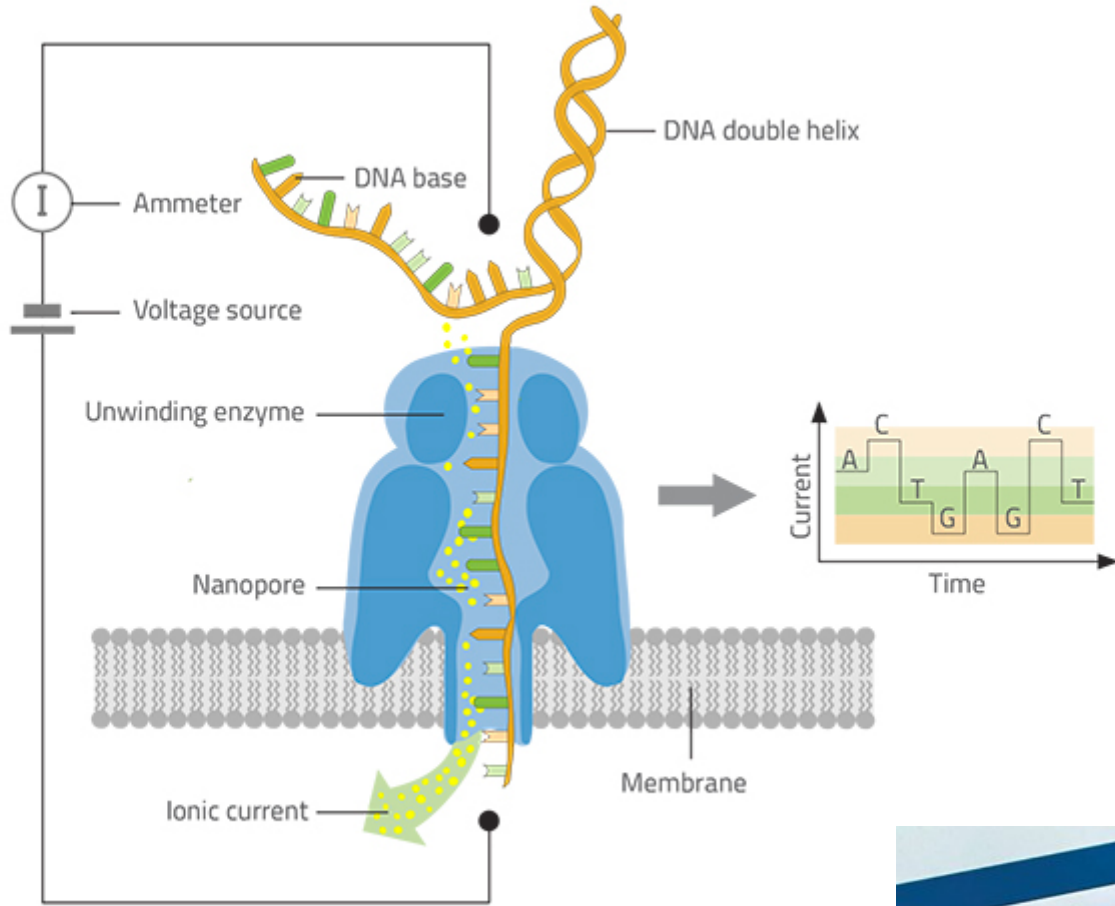
Mate Pair Sequencing



PacBio systém

Pacific Biosciences — Real-time sequencing





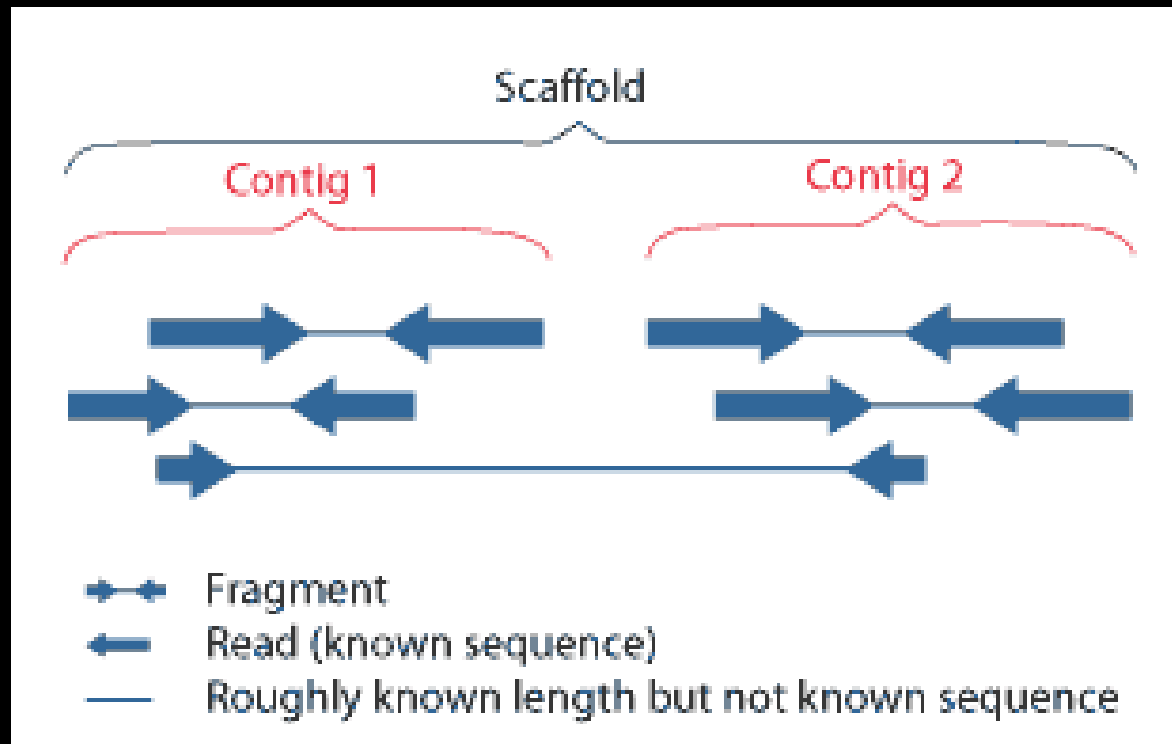
Oxford Nanopore system




```
@HWI-M01141:63:A4NDL:1:1101:13802:1421 1:N:0:TATAGCGAGACACCGT
NACGGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGGTTTGTTA
+
#>>AAABBBABBGGGGGGG?FGHGGGGGGHHHHHHHHHGGGGHHHGGGGGGGEGGGGGGEGG?FD
```

FASTQ soubor z Illumina sekvenování ~200 bp
PacBio systém – 5 000 bp !!

contigy → scaffold → chromosom



Kompletně sekvenované rostliny

<i>Arabidopsis thaliana</i>	2000	120 Mbp
<i>Oryza sativa</i>	2002	420 Mbp
<i>Cyanidioschyzon merolae</i>	2004	17 Mbp
<i>Ostreococcus tauri</i>	2006	13 Mbp

Medicago, Populus, Chlamydomonas, Solanum,...

Za poslední 3 roky cca ~~40 300~~ 586 druhů

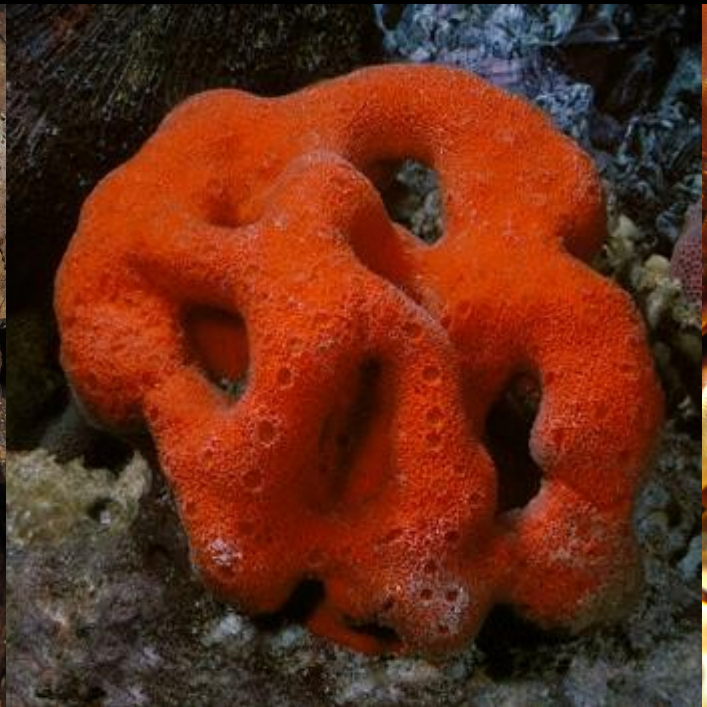
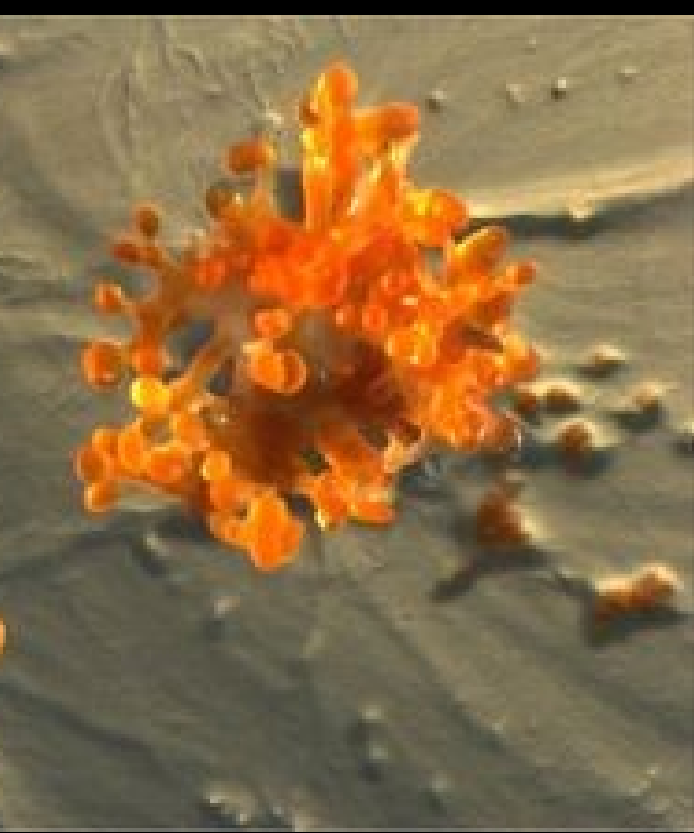
Celkem okolo ~~150 550~~ 833 druhů

NCBI: Assembly “Viridiplantae”

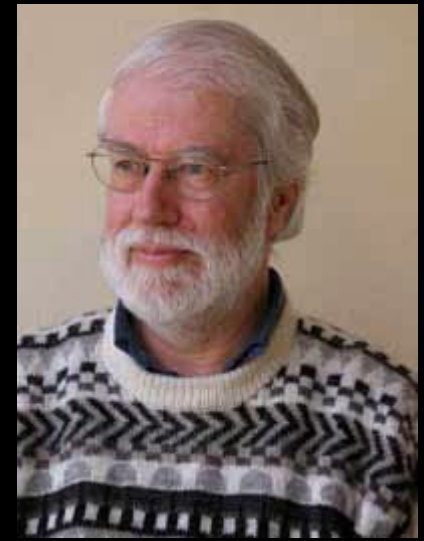
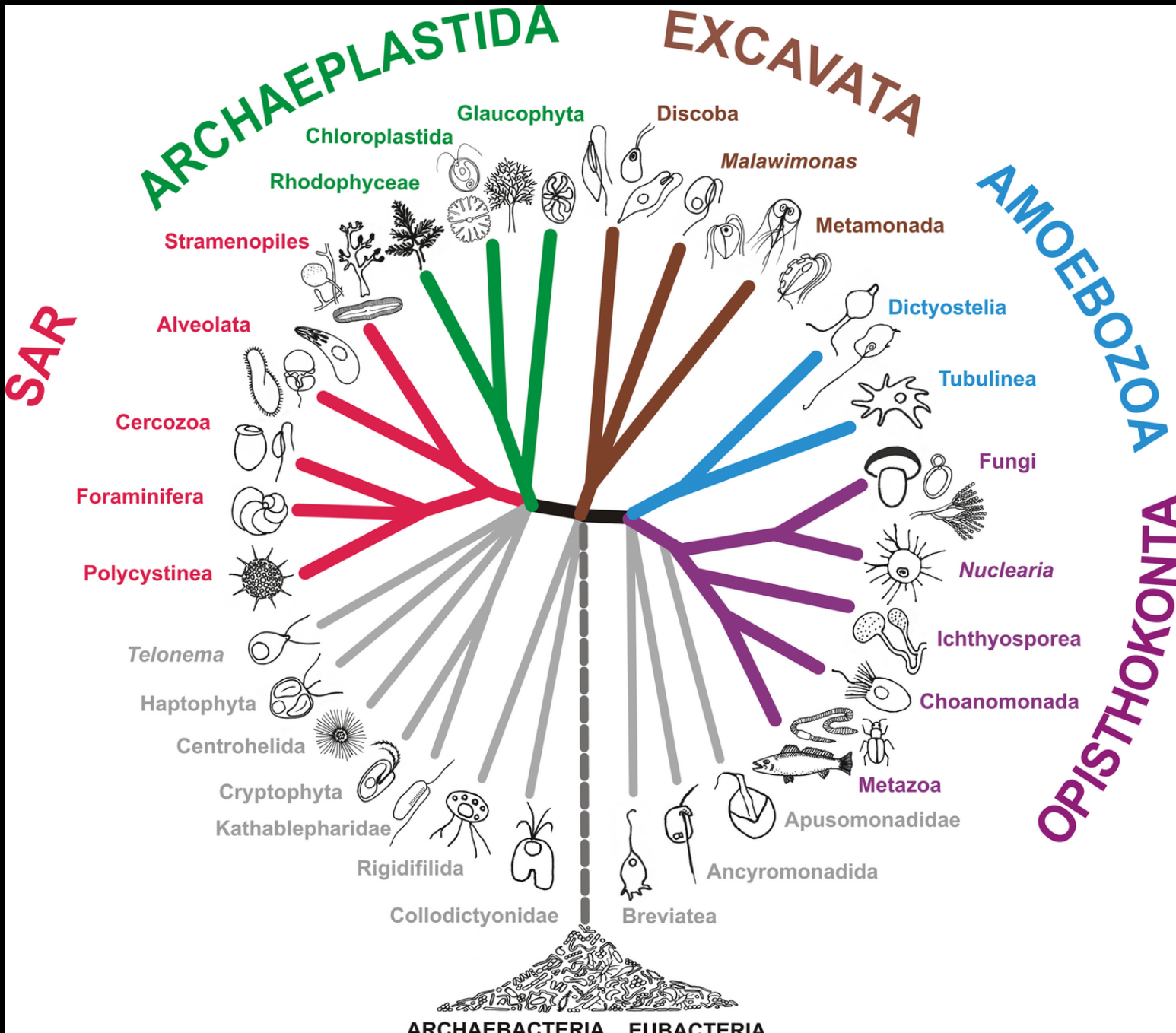
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly>



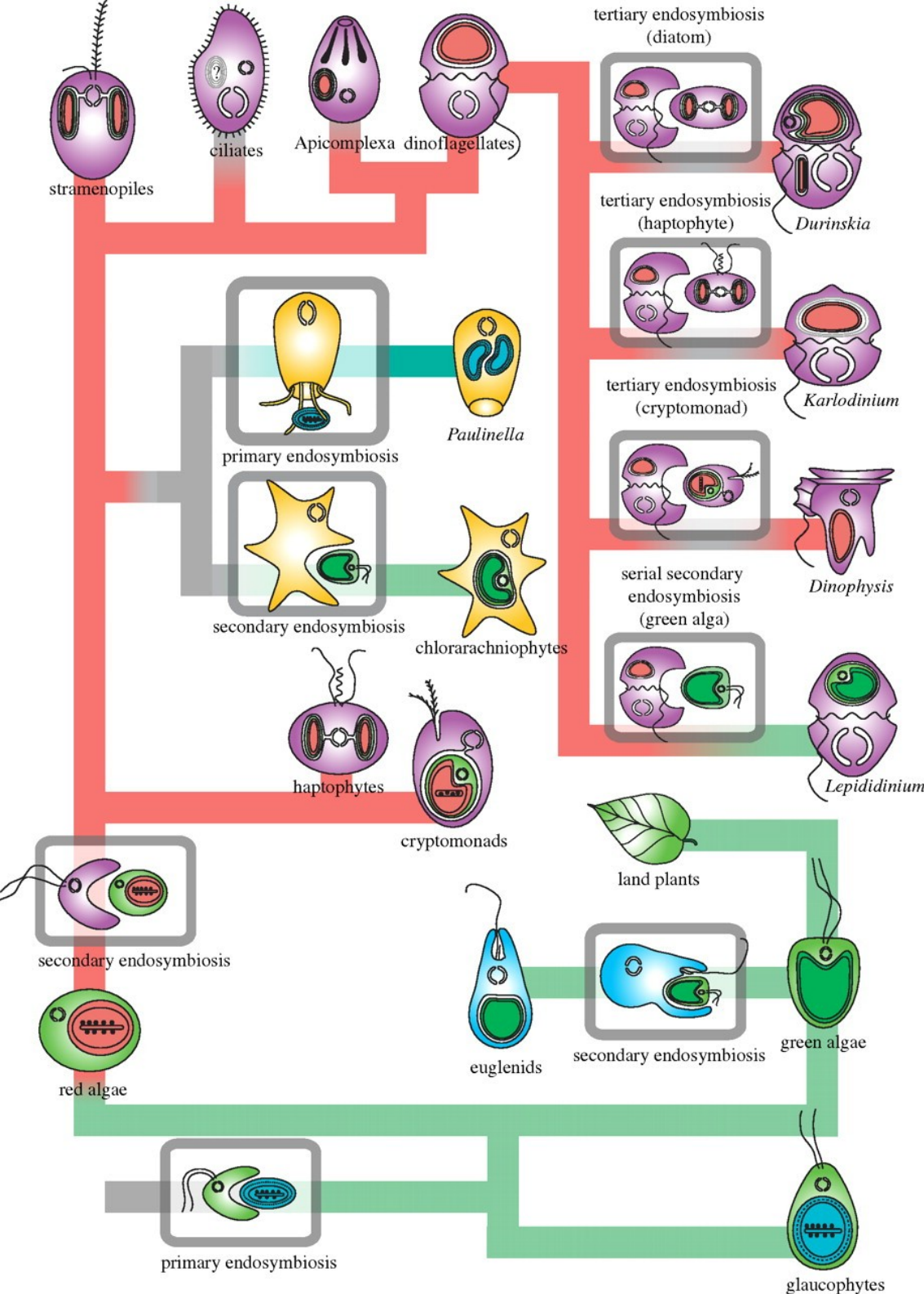
**Příběh první:
Co jsou rostliny?**



Rostliny = Archaeplastida = Plantae



Adl et al. 2012

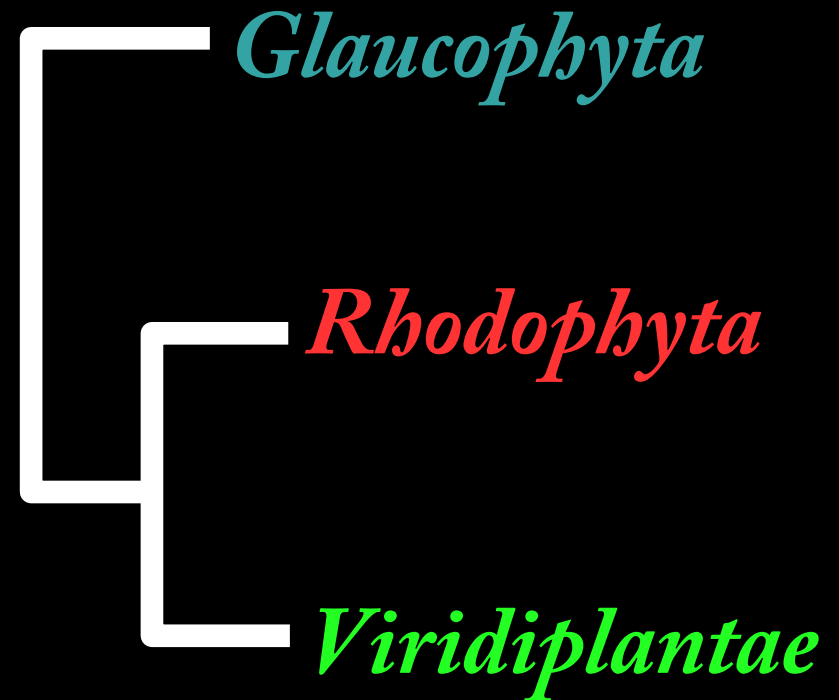


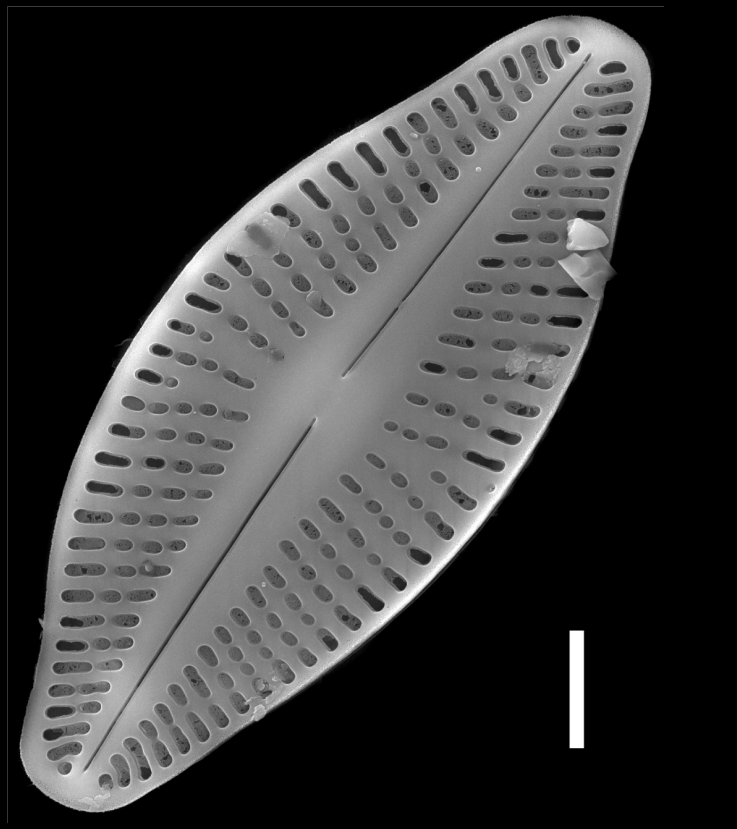
Archaeplastida

= potomci primární endosymbiosy se sinicí

vznik před 2,5-1,6 mld let

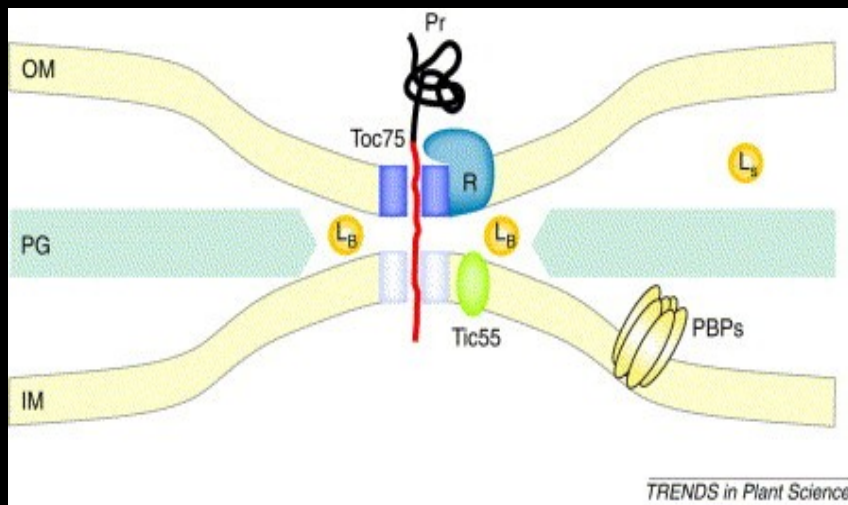
vnitřní fylogeneze a důkazy monofylie nejednoznačné





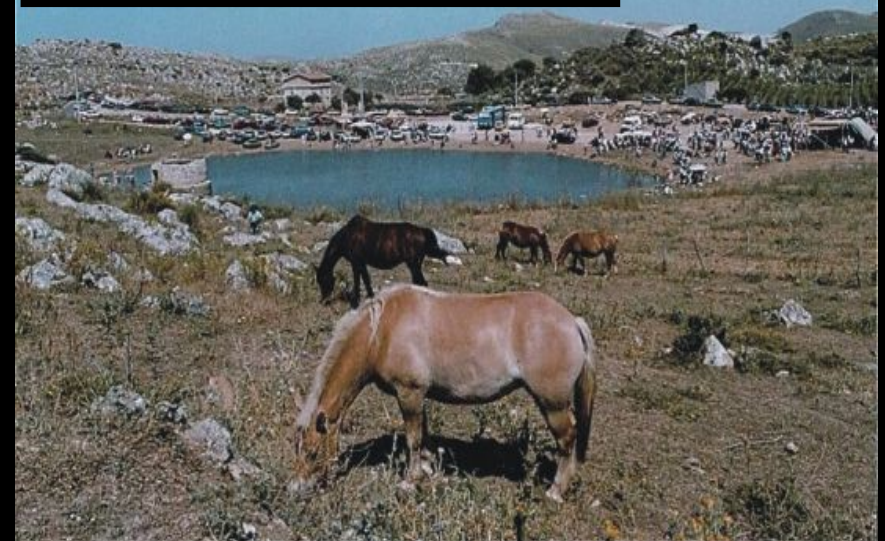
Glaucophyta - modrozelené řasy

- ♦ reliktní skupina
- ♦ jen 4 rody, sladkovodní!
- ♦ plastidy = cyanely
- ♦ peptidoglykan
- ♦ phykobilisomy



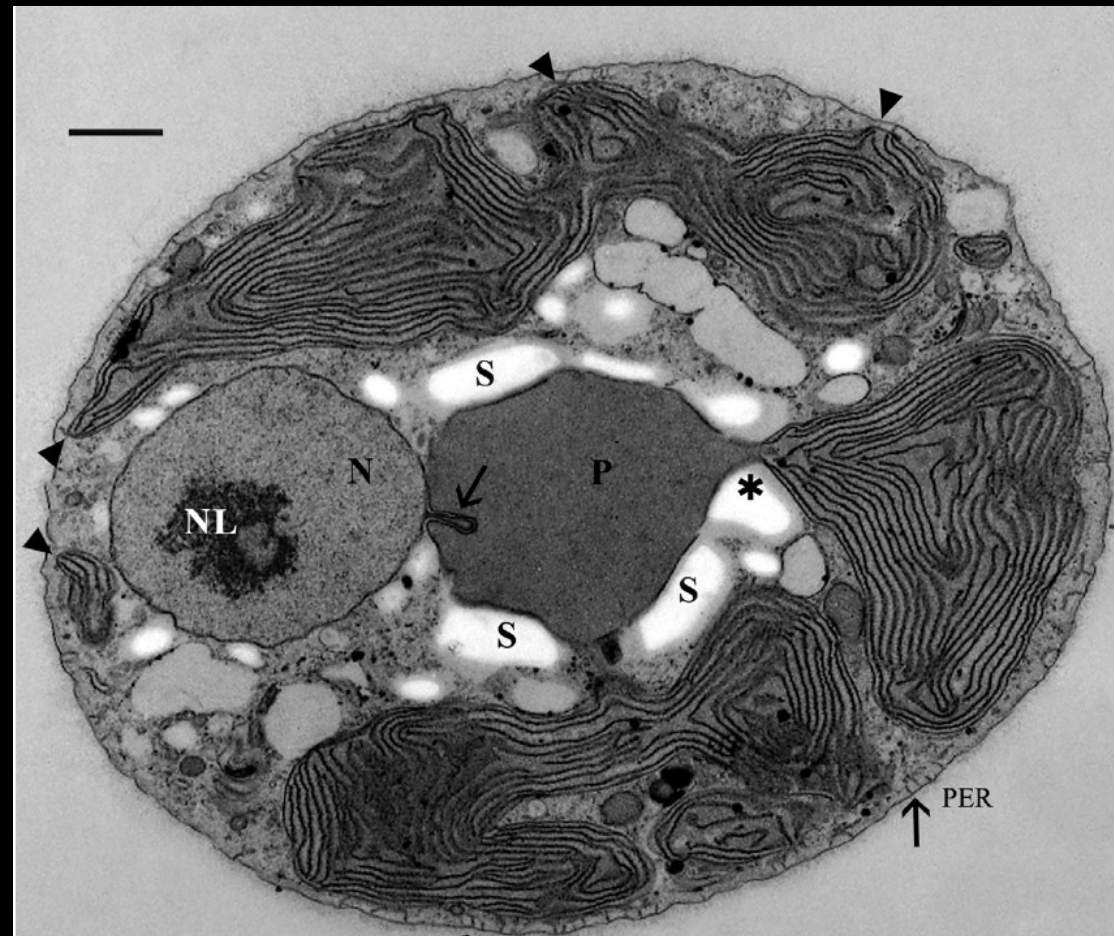
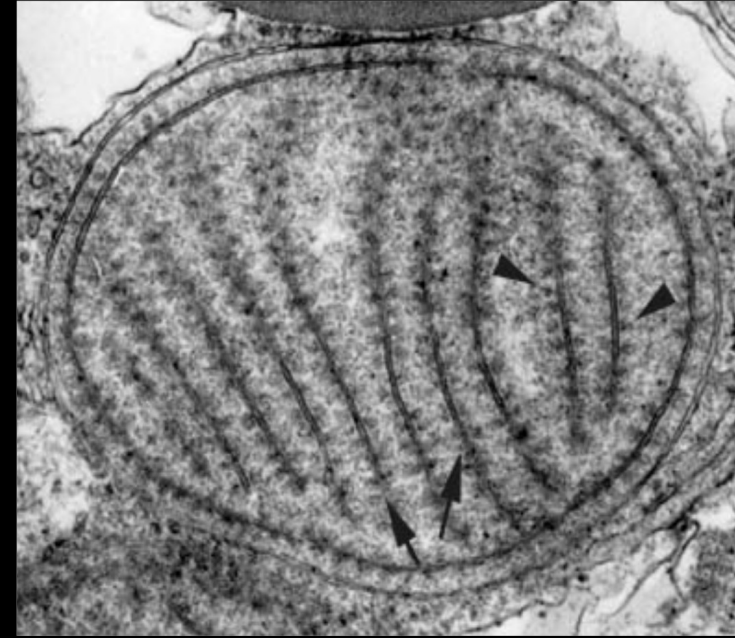
Cyanophora paradoxa

Gorgo di Rebuttone, Sicílie

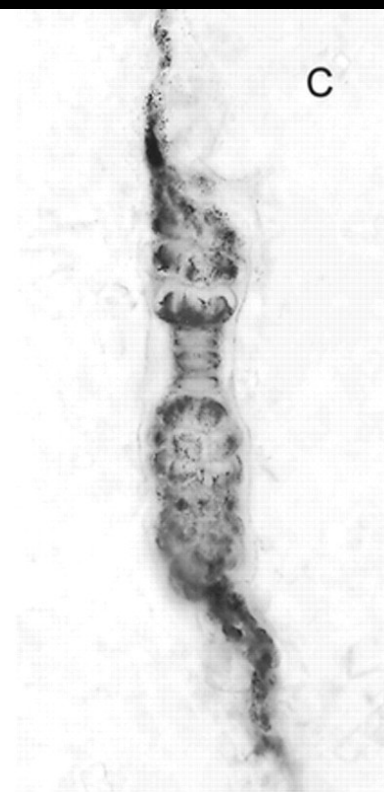
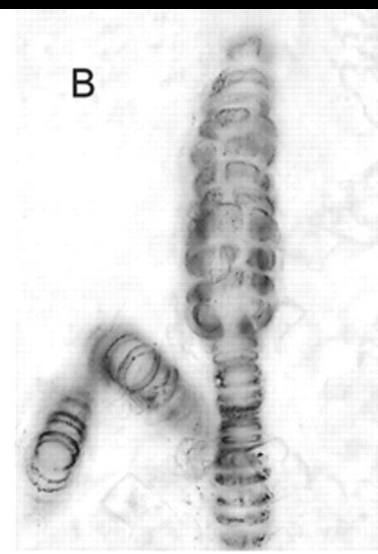
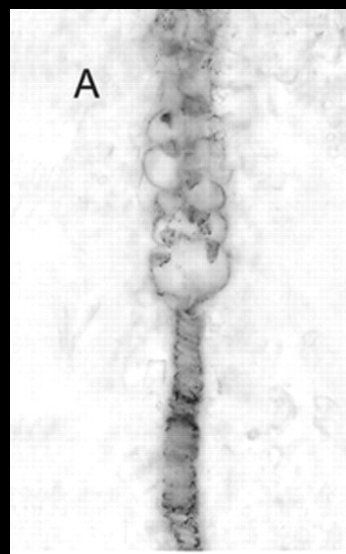


Rhodophyta - ruduchy

- ♦ zejména mořské řasy
- ♦ cca 5000 druhů
- ♦ stále primitivní znaky v plastidech (phycobilisomy, nemají grana)

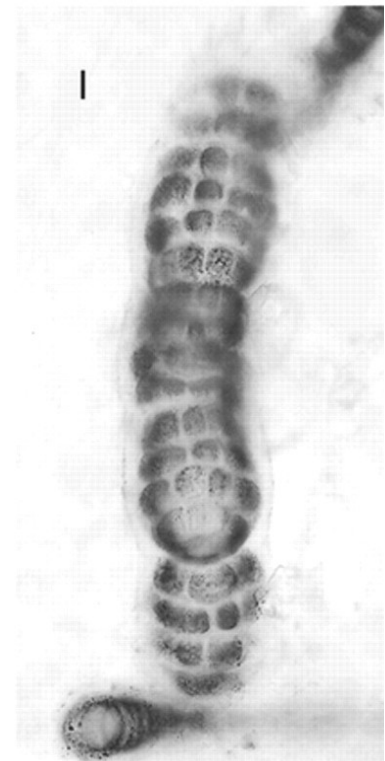


Bangiomorpha pubescens
nejstarší určená
eukaryotická fosilie,
-1,2 mld let
Somerset Island, Canada
žila v přílivové zóně



50 μm

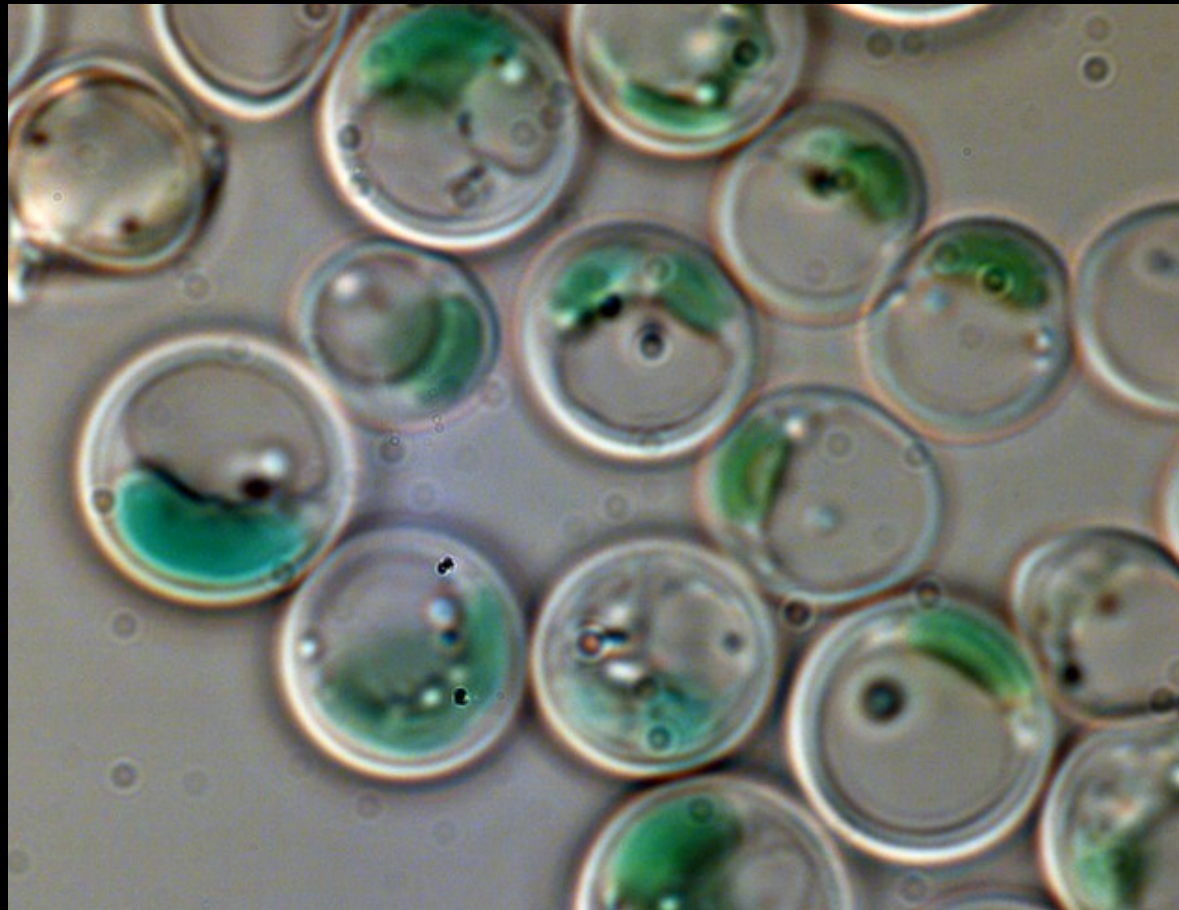
H

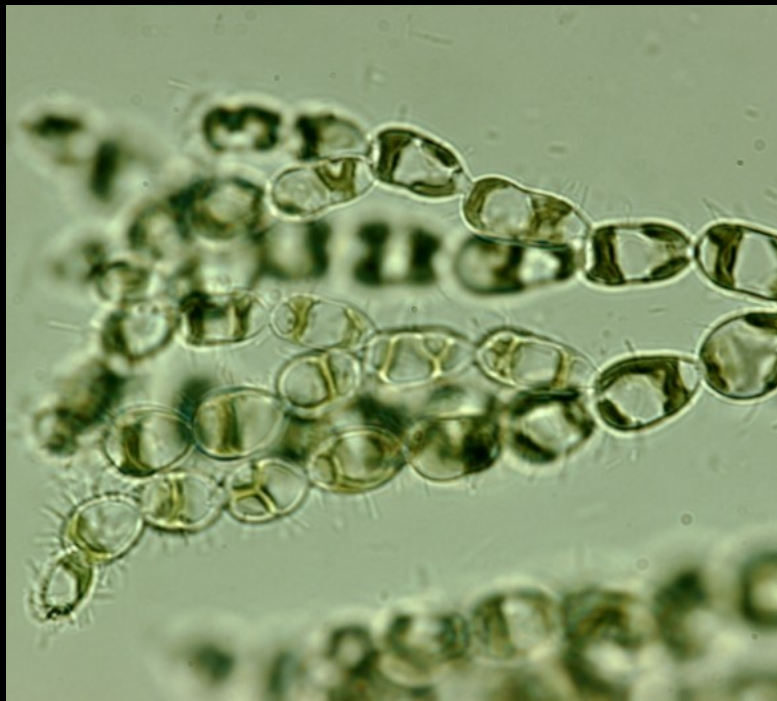


Rhodophyta: Cyanidiophyceae

- ♦ zřejmě basální skupina ruduch
- ♦ podivné extremofilní druhy (horká a kyselá sopečná jezírka)
- ♦ 3 rody
- ♦ mimo moře

Cyanidioschyzon merolae

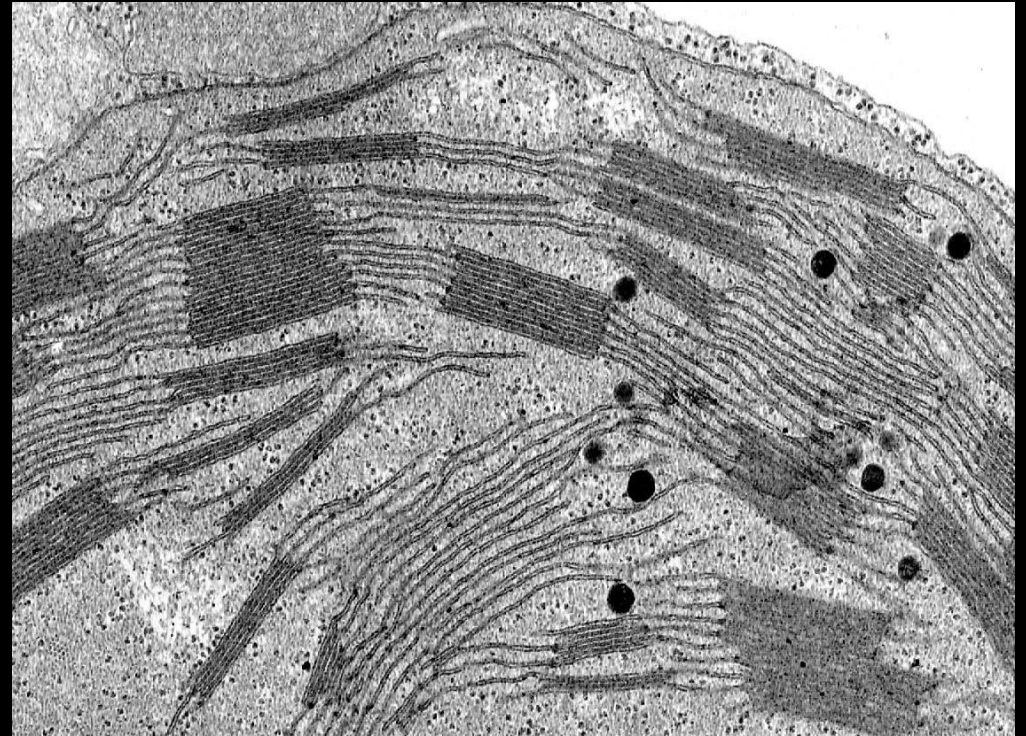




Viridiplantae (Chloroplastida)

- zelené rostliny

- ♦ moderní plastid s grany
- ♦ světlosběrné antény



Dvě hlavní skupiny:

Chlorophyta

Ulva, Chlamydomonas, Cladophora, Volvox, Pediastrum, Desmodesmus, Trentepohlia, Apatococcus..., cca 1000 rodů

Streptophyta

Spirogyra, Chara..., okolo 100 rodů;

Obě skupiny se liší zejména uspořádáním cytoskeletu a průběhem cytokineze

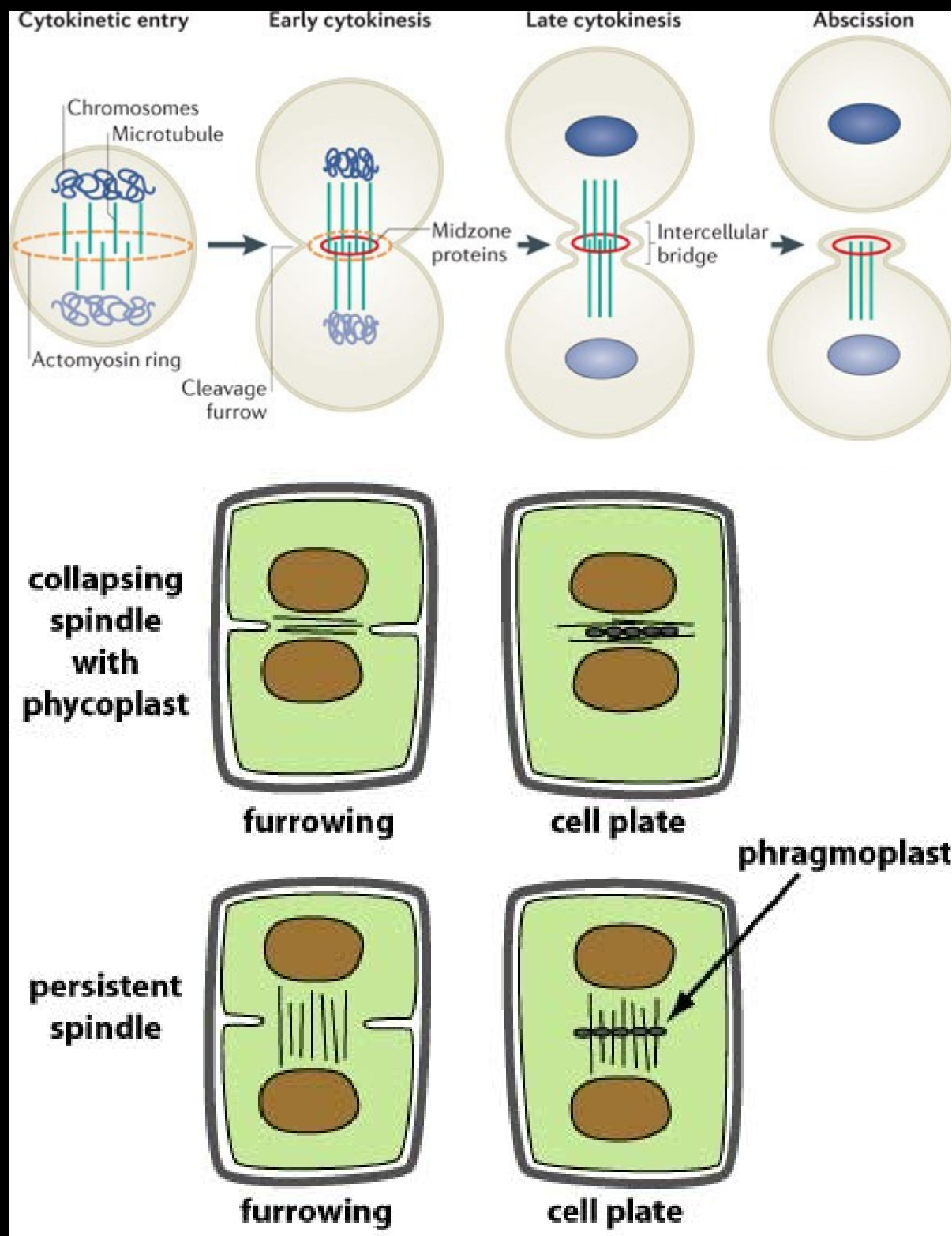
Cytokineze řas

Živočichové – aktinový prstenec

Chlorophyta – phycoplast
Streptophyta – phragmoplast
→ mikrotubulární struktury

Evoluční význam

- Zřejmě lepší regulace dělení v rámci rigidní buněčné stěny
- Předpoklad pro mnohobuněčnost
- Phycoplast umožnil také mnohobuněčnost





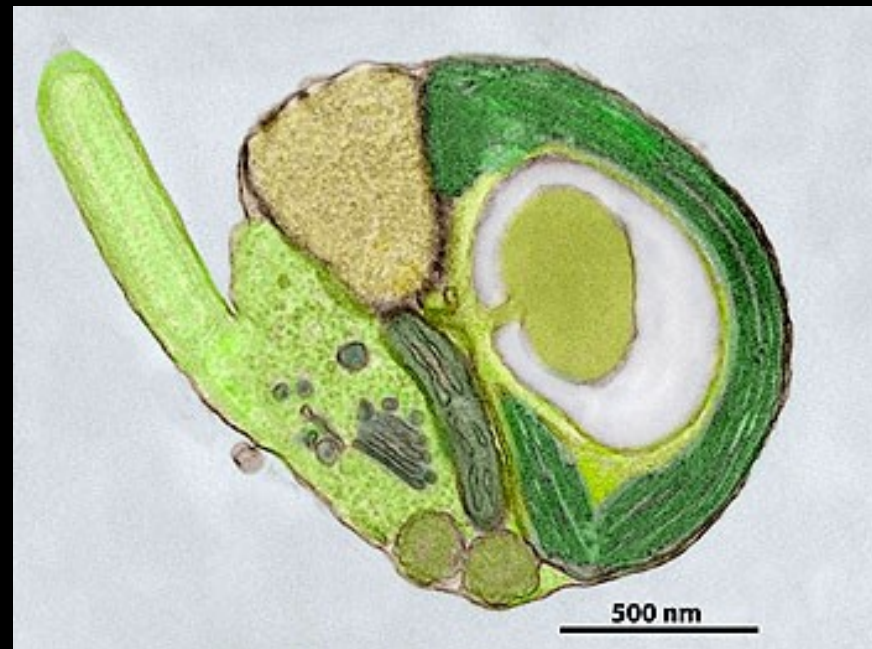
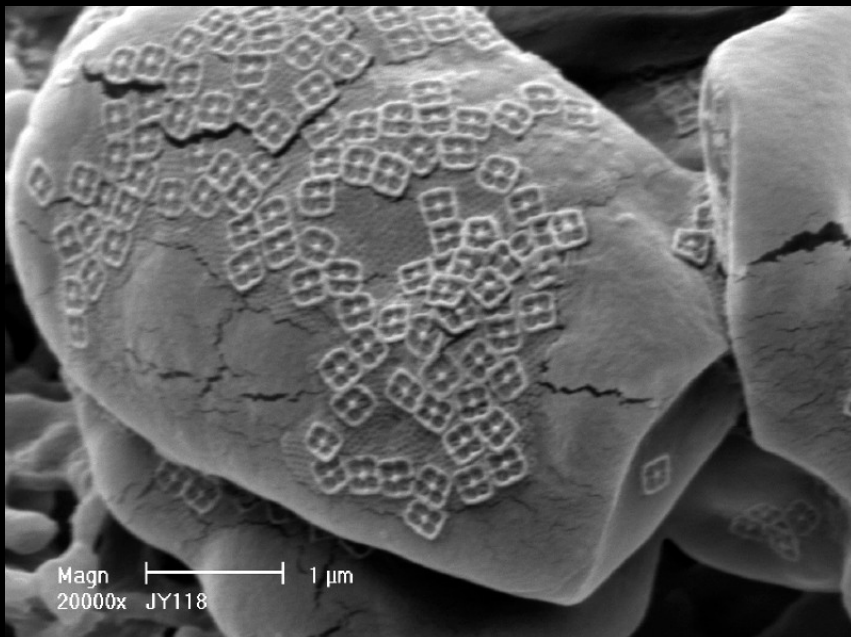
Chlorophyta

Chlorophyta: “*Prasinophyceae*”

- ♦ basální linie (parafyletická skupina)
- ♦ mořské planktonní druhy
- ♦ miniaturní buňky, 1 plastid

Ostreococcus tauri

Micromonas pusilla



Streptophyta

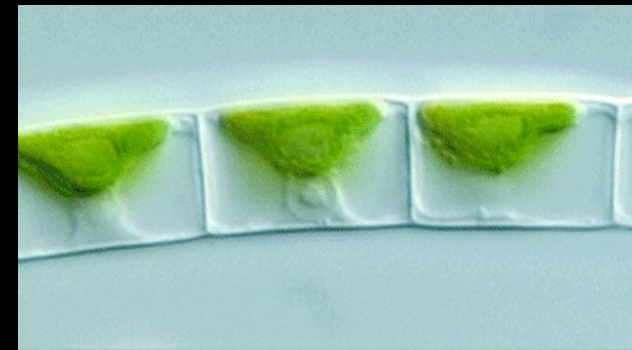
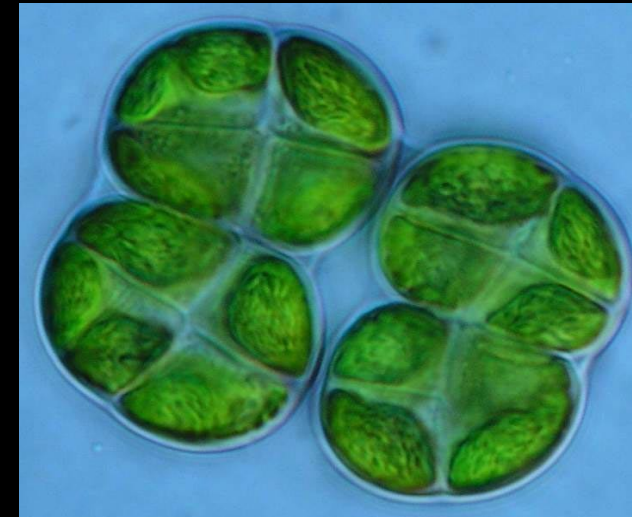
- ♦ primárně sladkovodní skupina
- ♦ Bazální bez fragmoplastu
- ♦ nejdůležitější skupina pro zkoumání evoluce vlastních rostlin

Bazální skupiny:

Mesostigma viride bazální, miniaturní planktonní bičíkovec

Chlorokybus athmophyticus půdní, horská

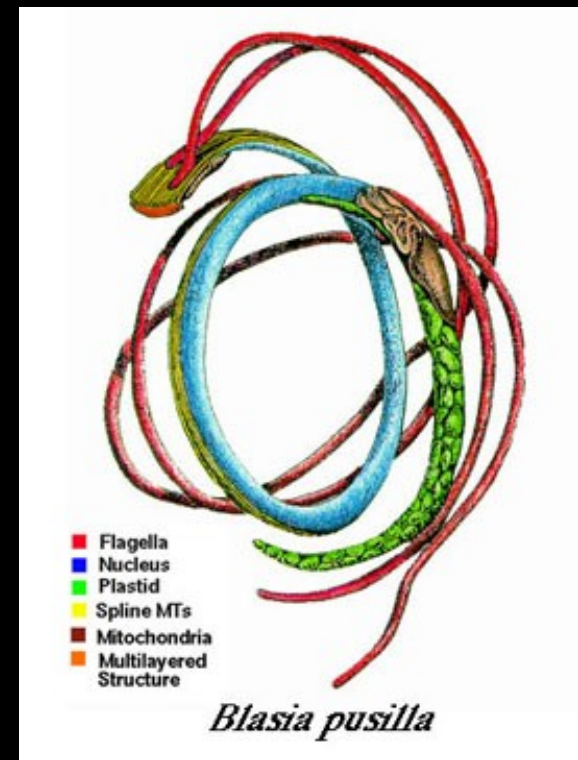
Klebsormidium půdní, vláknitá, 20 druhů



Streptophyta „Charophyta”

Pokročilé skupiny:

- ♦ mají fragmoplast (*Streptophyta s.s.*)
- ♦ zkroucené spermie (“krutorosty”)

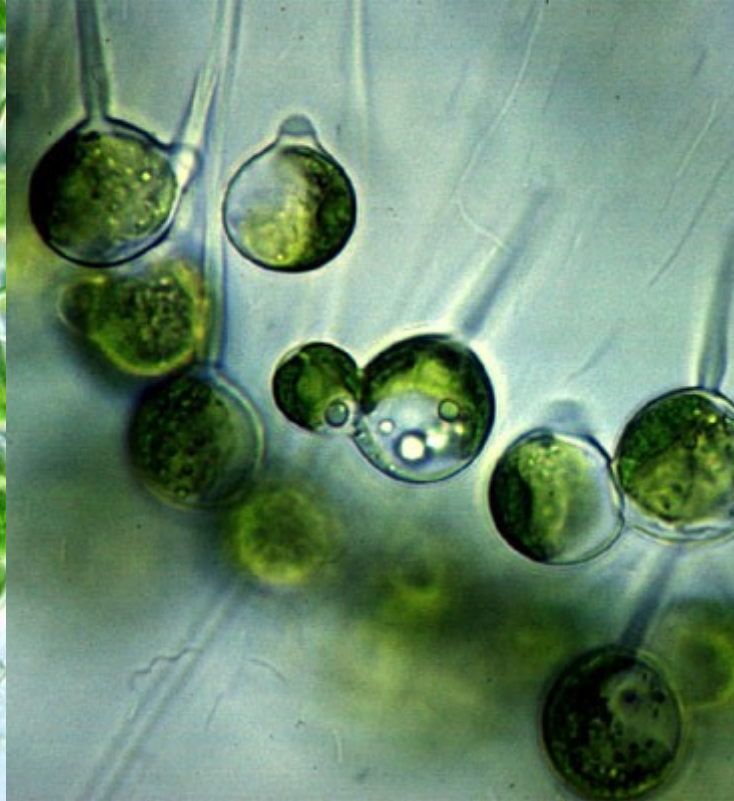


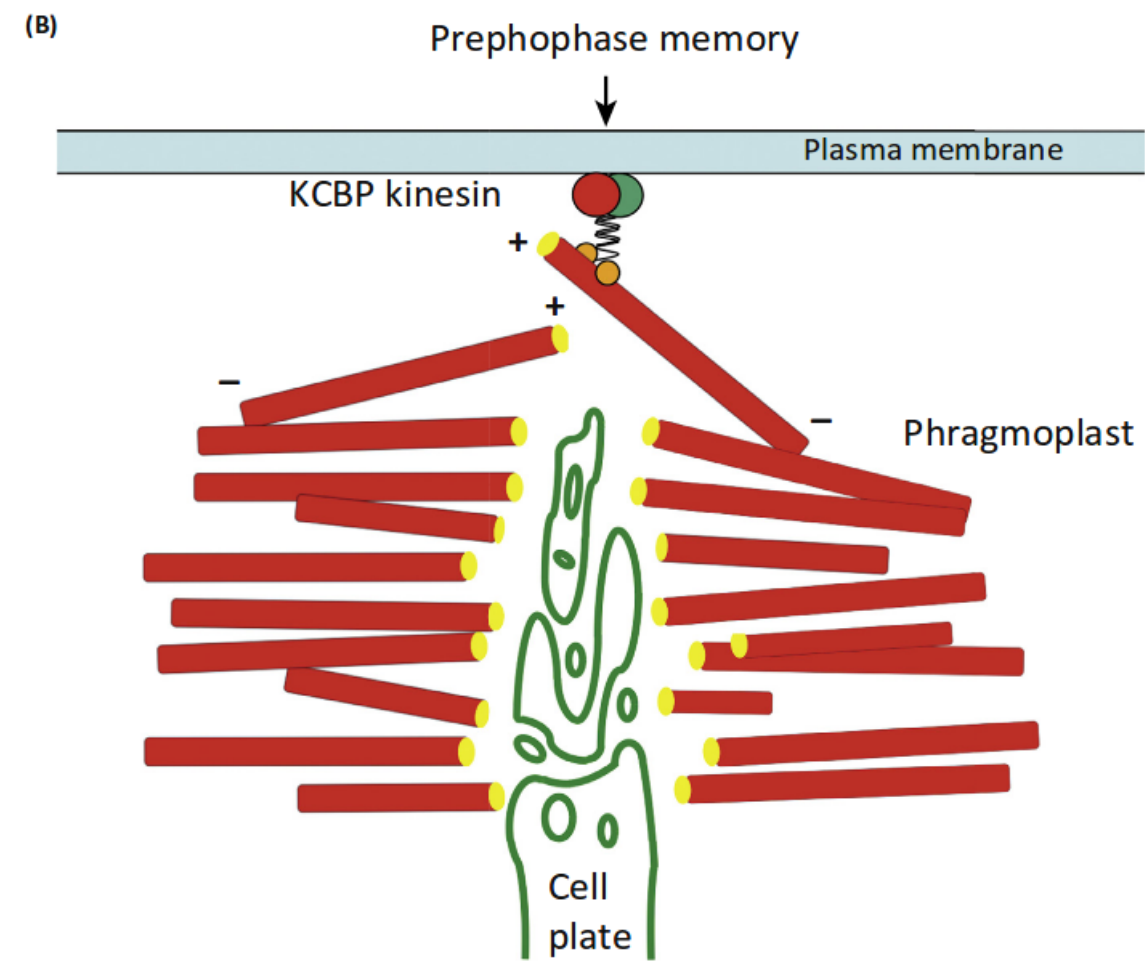
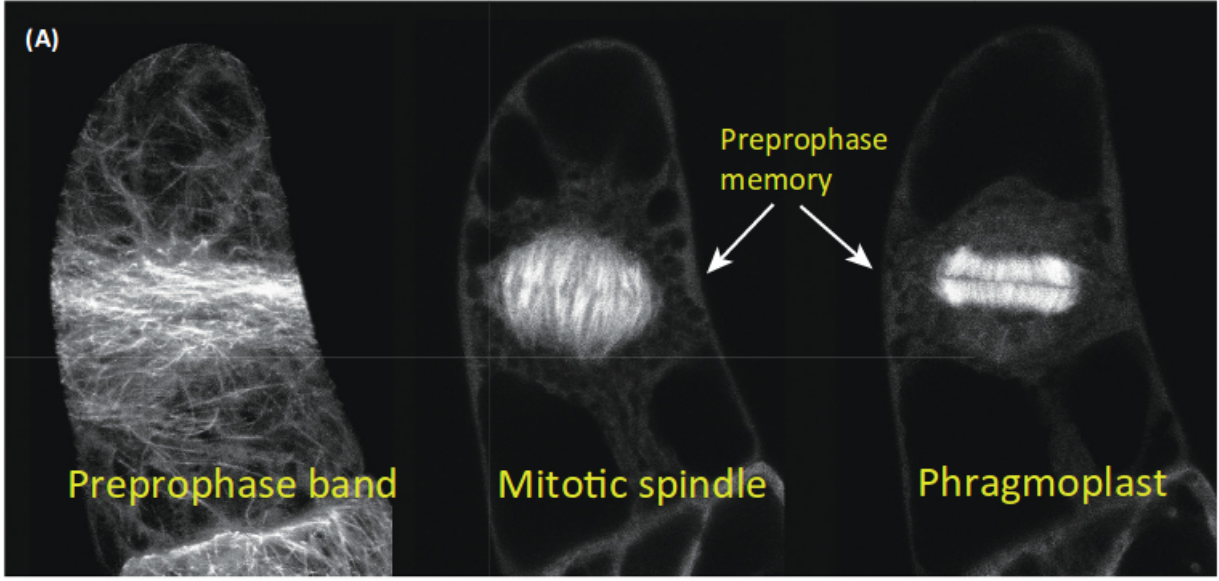
Zygnematophyceae krásivky a spájivky, jednobuněčné či vláknité

Coleochaetophyceae *Coleochaete* plošná přisedlá stélka („2D“)
Chaetospheridium (jednobuněčné)

Charophyceae složitá stélka („3D“); *Chara*, *Nitella*

Embryophyta “land plant”





Fragnoplast

Zřejmě je odvozen od "midbody"
 - mikrotubulární útvar v závěru cytokineze

Předprofázní prstenec určuje pozici fragnoplastu
 - prvně u krásivek, není u parožnatek, není u spájivek

Krásivky druhotně bez fragnoplastu
 Vlákňité spájivky mají redukovaný fragnoplast

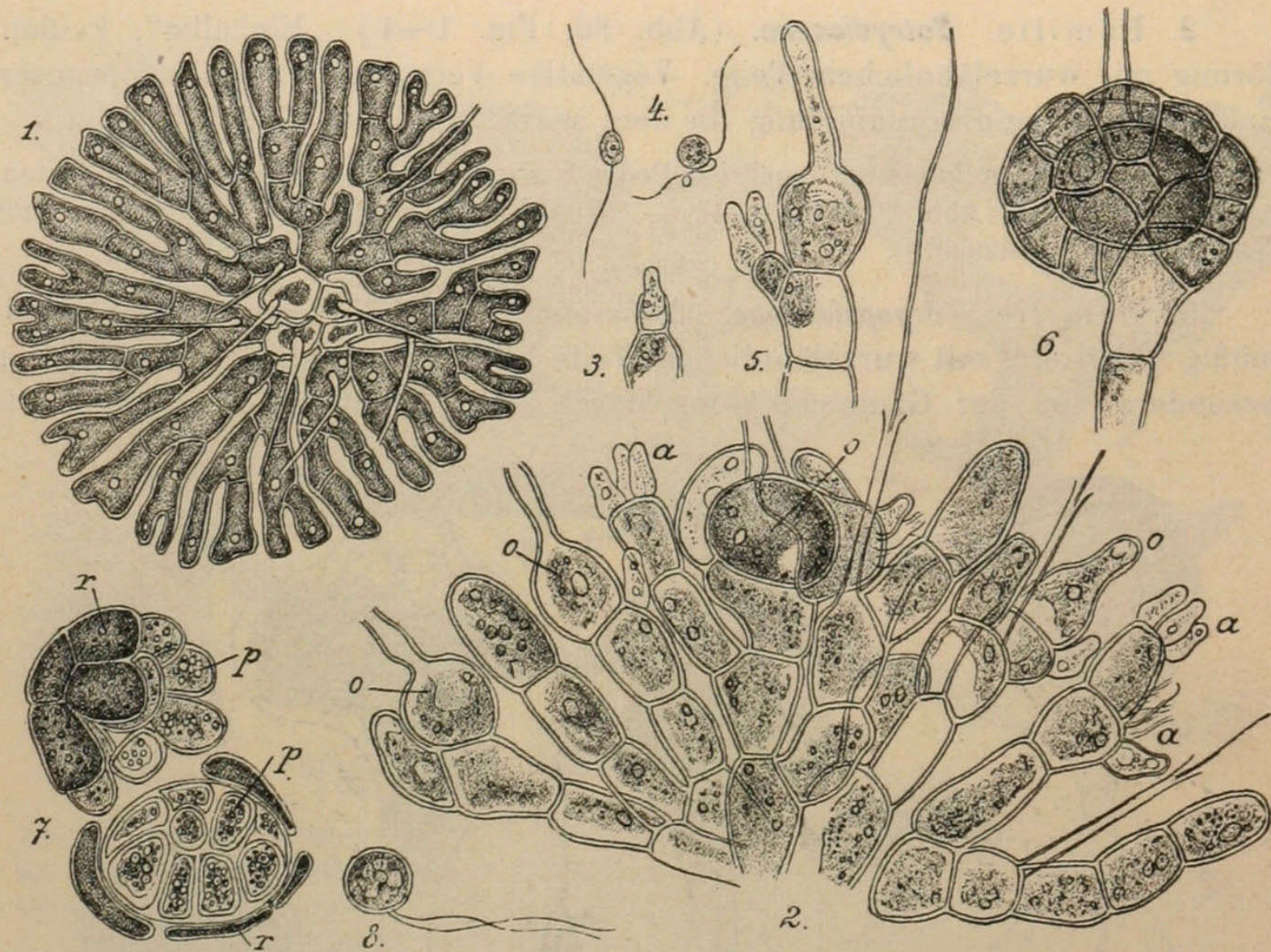


Abb. 95. *Coelochaete*. — Fig. 1. *C. soluta*. — Fig. 2–8. *C. pulvinata*. Fig. 2 Stück eines erwachsenen Exemplares, *o* Oogonien, *a* Antheridien; Fig. 3 Antheridium mit austretendem Spermatozoid; Fig. 4 Spermatozoiden; Fig. 5 junges Oogonium; Fig. 6 reifes Oogonium mit Berindung; Fig. 7 keimende Oosporen, *r* Rindenzellen, *p* Mutterzellen der Zoosporen; Fig. 8 Zoospore. — Fig. 1, 6 und 7 250fach vergr.; Fig. 2–5 und 8 350fach vergr. — Nach N. Pringsheim.



Chara fragilis. A. Braun.

J. F. SCHREIBER ESSLINGEN. Ingep.



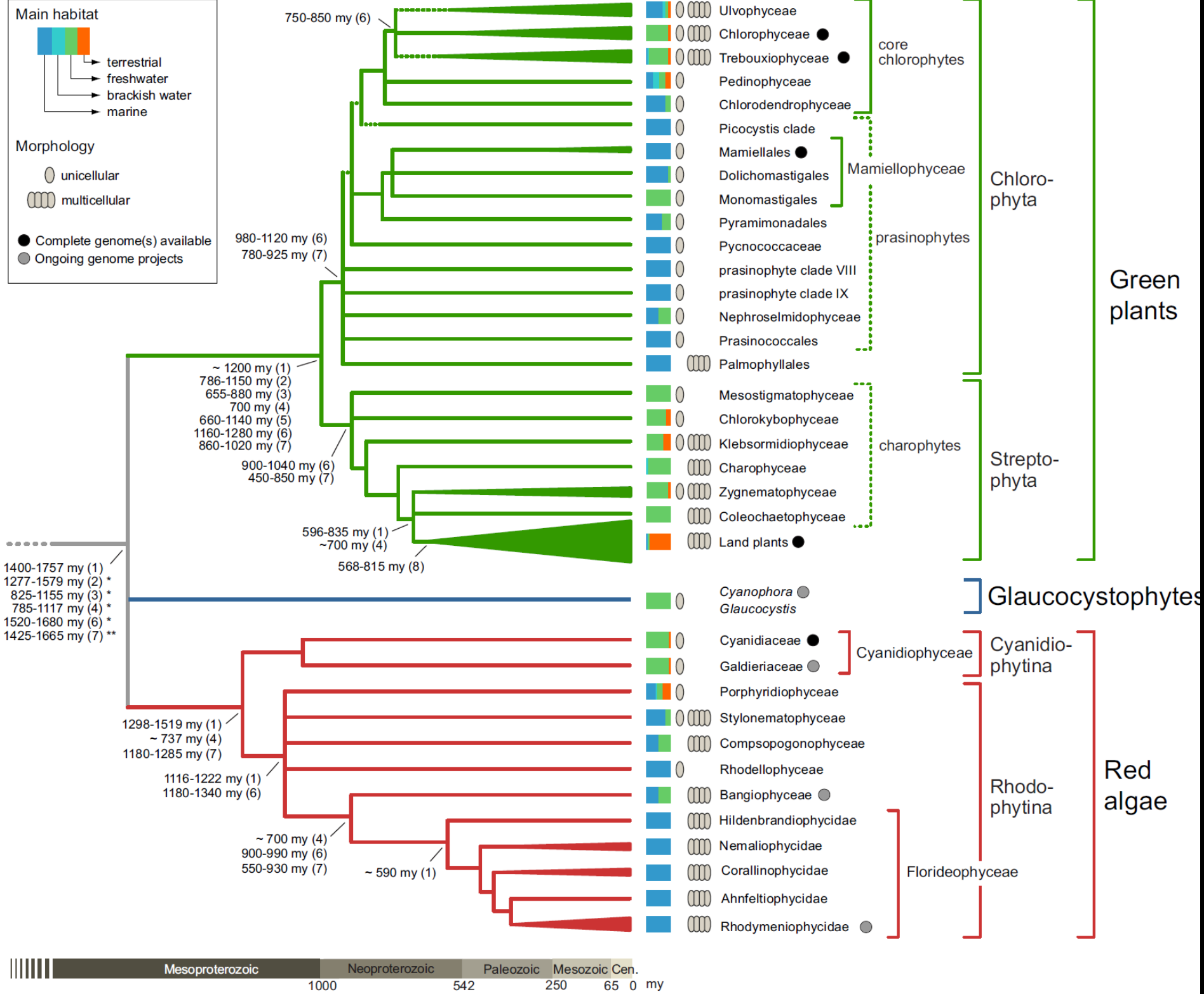
Main habitat

terrestrial
freshwater
brackish water
marine

Morphology

unicellular
multicellular

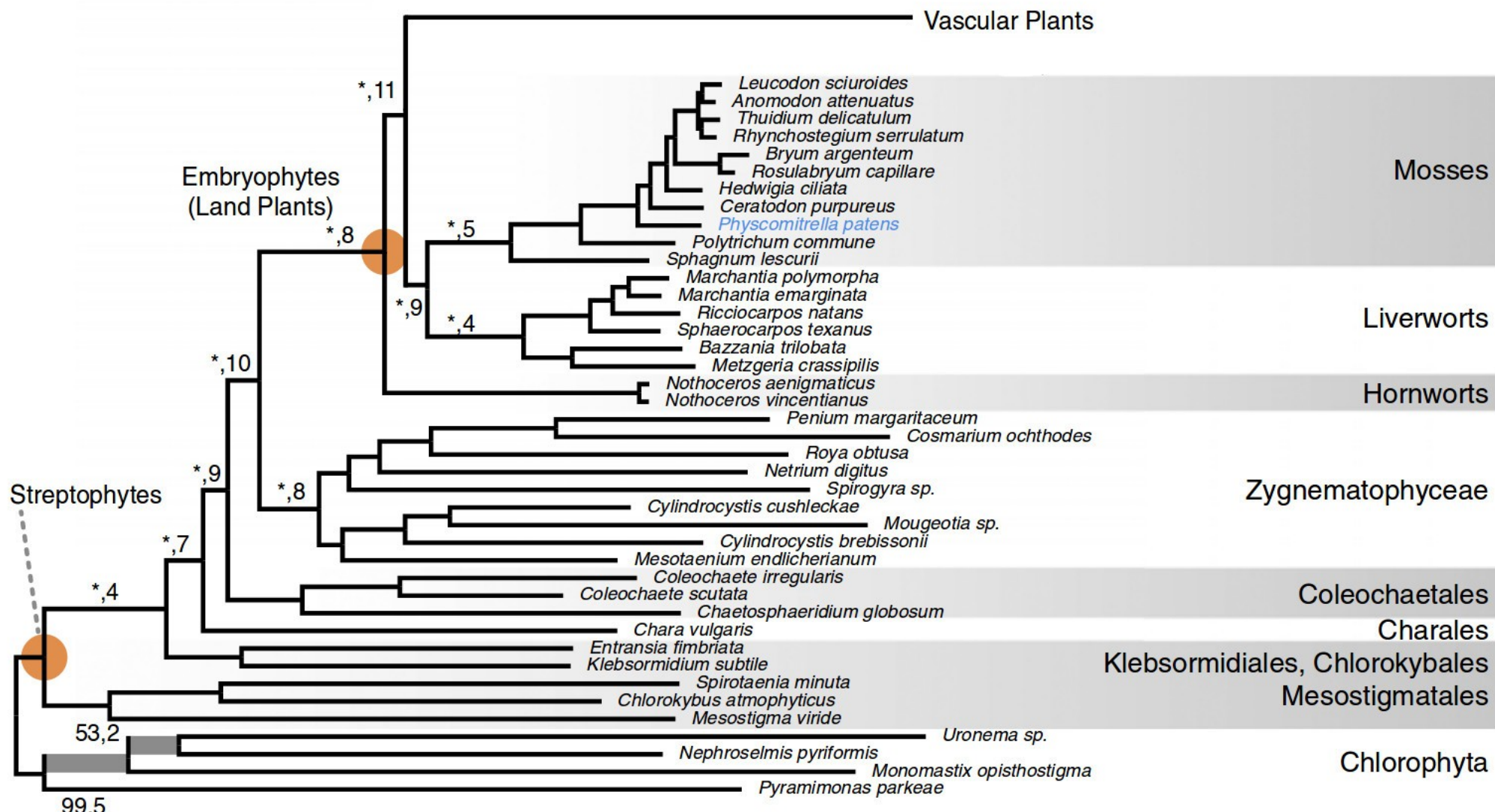
● Complete genome(s) available
● Ongoing genome projects



Fylogeneze bazálních rostlin

Zygnematophyceae jsou sesterské k “land plants” !!
 Parožnatky jsou nezávislou komplexní linií rostlin

Wickett (2014), Timme (2012)



Ekologický kontext

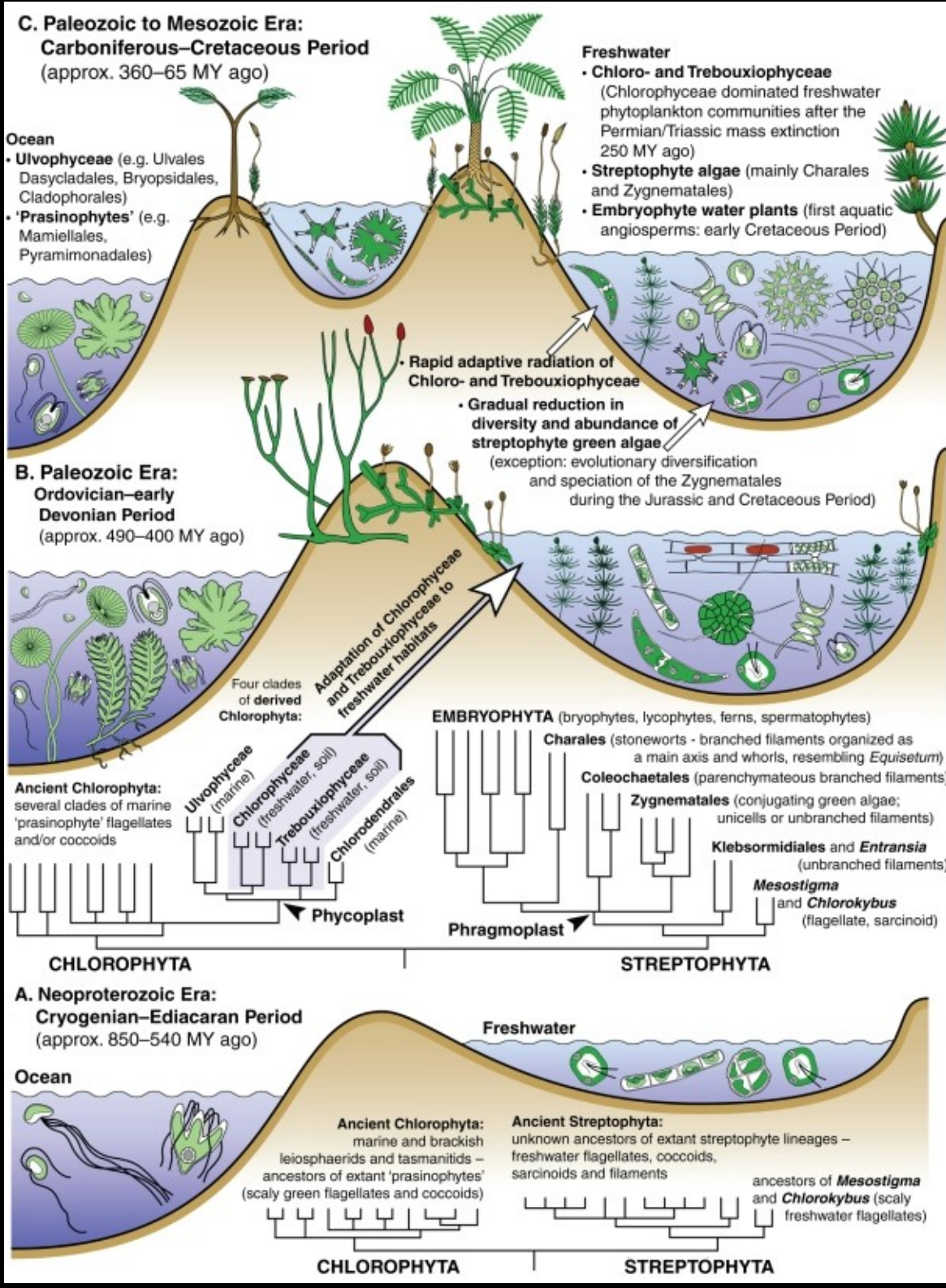
Sladkovodnímu biotopu primárně dominují *Streptophyta*

Extinkce Perm/Trias, K/T → expandují sladkovodní *Chlorophyta* (+ phycoplast)

Křída expandují obrněnky, makrofyta

Terciér expanze obrněnek, zlativek

Becker (2009)





Následuje **Invaze na souš**