



Moderní metody fenotypování

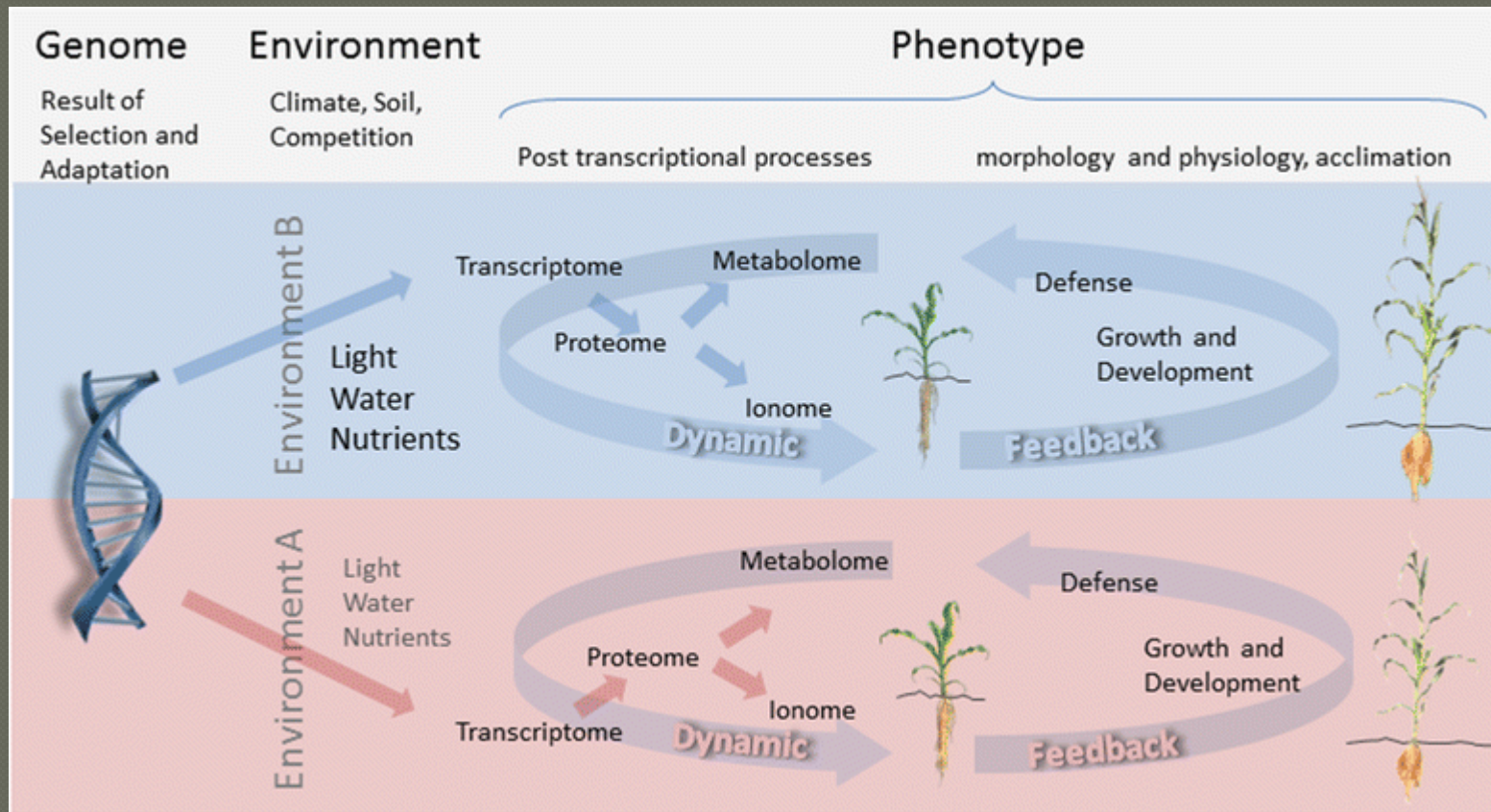
- Automatizované a vysokokapacitní přístupy



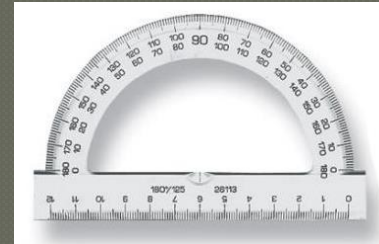
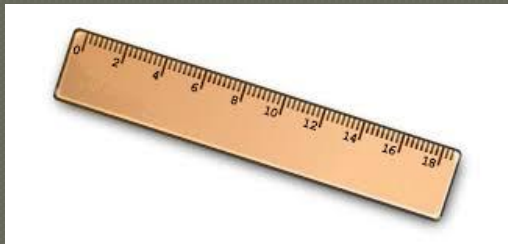
Jan F. Humplík
Laboratoř růstových regulátorů & Oddělení
chemické biologie a genetiky, CRH, ÚEB AV ČR

Fenotyp a Fenotypizace

- Fenotyp = vnější projevy genotypu + vliv prostředí



Klasická fenotypizace rostlin



Automatizovaná fenotypizace rostlin



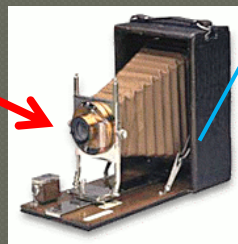
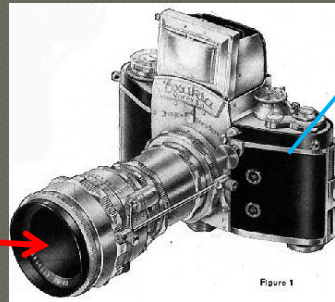
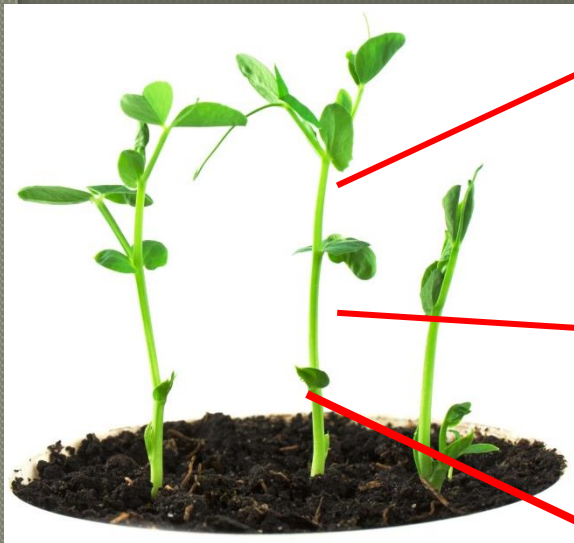
Automatizovaná fenotypizace rostlin

sensors

computer analysis

rostlin

plants



database storage



Fenotypizace v kontrolovaných podmínkách

- Fytokomory



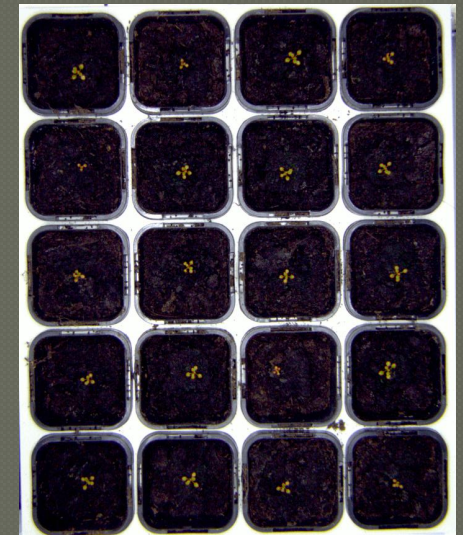
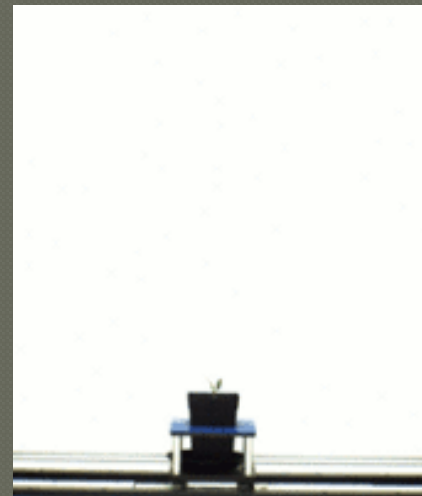
- Skleníky



- Využití robotických systému a pásových dopravníků

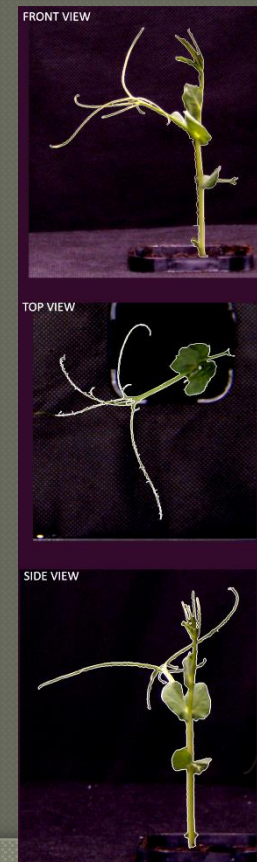
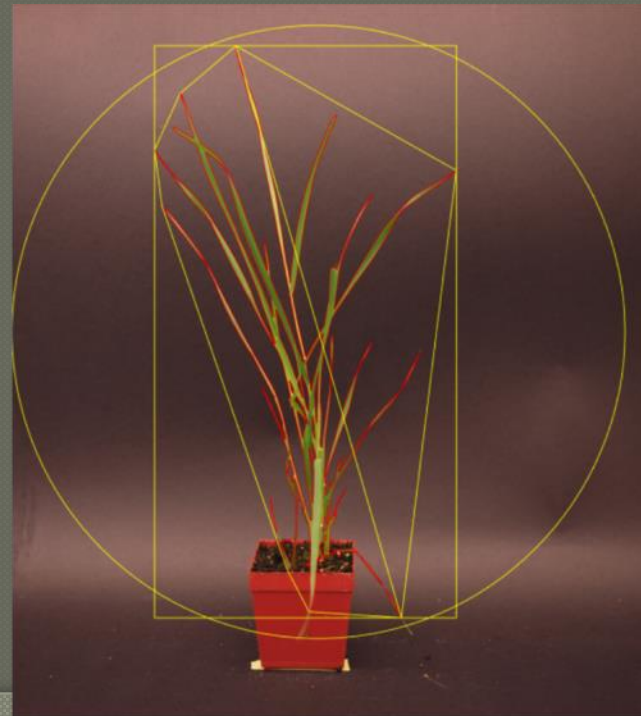
Fenotypizace prýtu

- Morfologie
- Fyziologie
- Vývojové procesy
- Dynamické změny



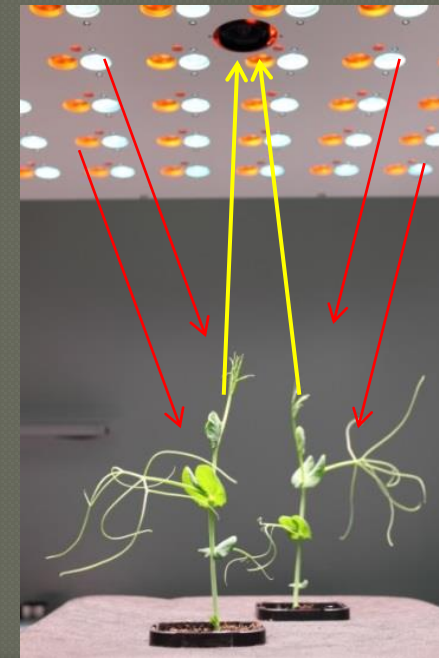
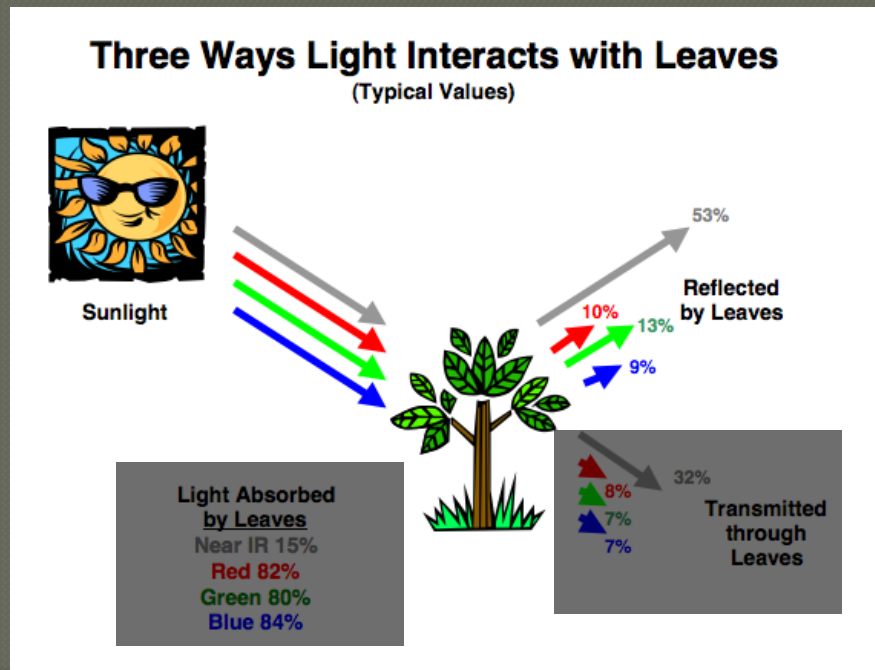
Fenotypizace prýtu

- Morfologické znaky – RGB imaging
 - digitální biomasa
 - výška rostlin
 - počet, úhel a plocha listů / odnoží
 - metání, kvetení



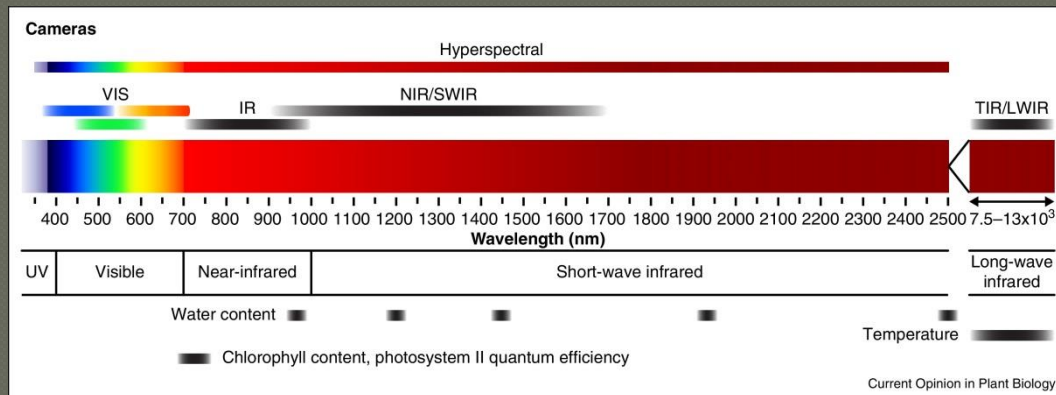
Fenotypizace prýtu

- Fyziologické parametry (kamery snímající v jiné části spektra)
 - založené zejména na:
 - odrazivosti (reflektanci) povrchových struktur listu v různých částech spektra – VEGETATIVNÍ INDEXY
 - na fluorescenci chlorofylu – ÚČINNOST FOTOSYNTÉZY
 - povrchové teplotě – VODNÍ REŽIM



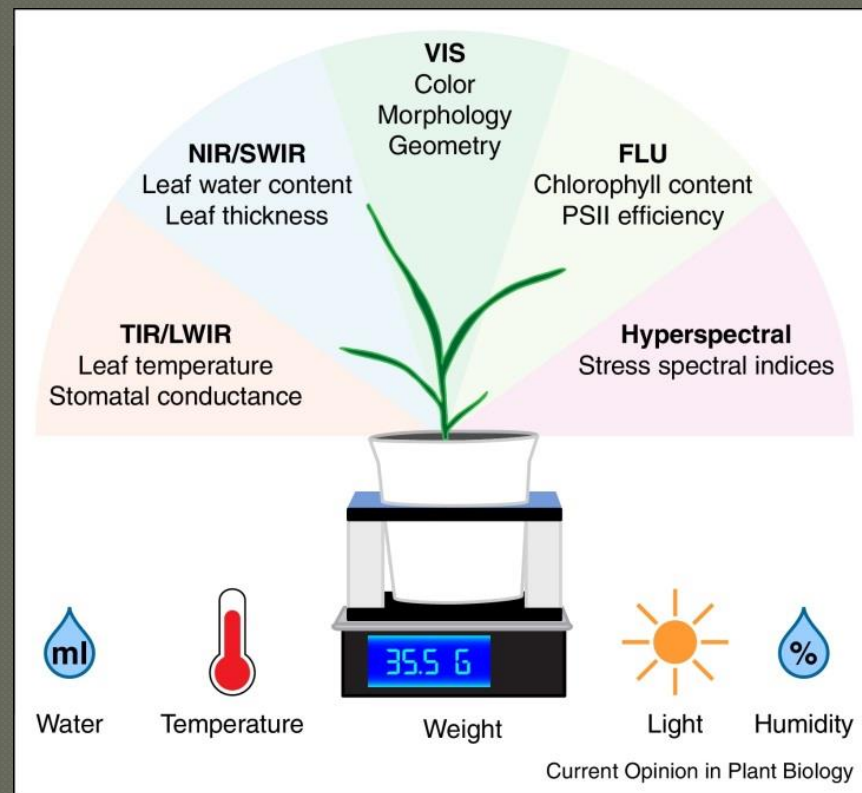
Fenotypizace prýtu

- Fyziologické parametry



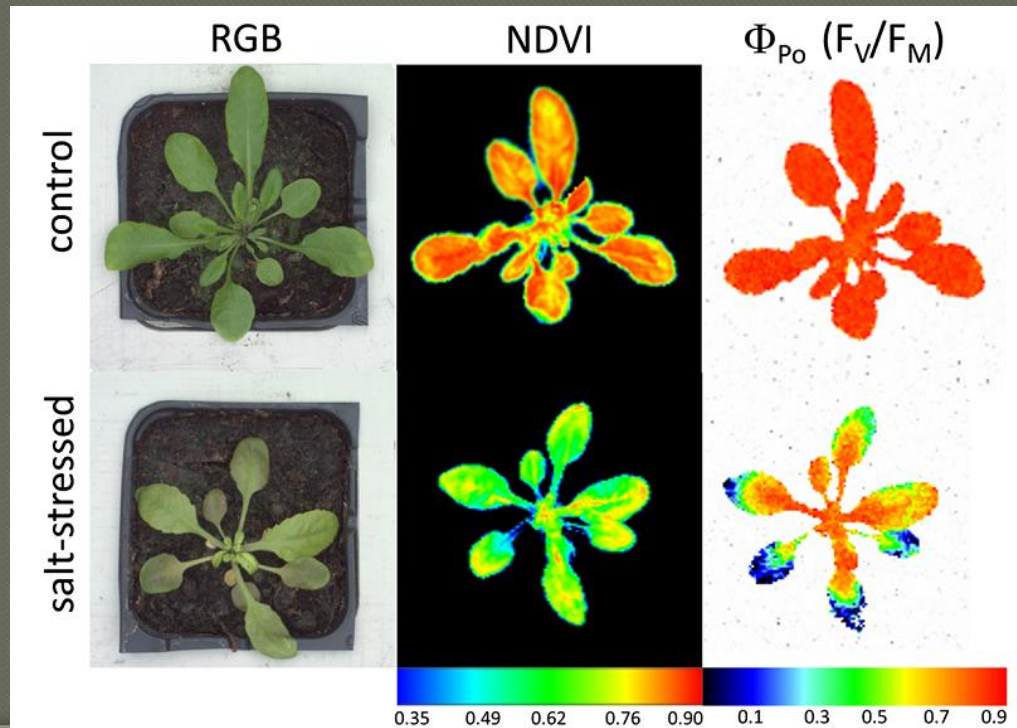
Fenotypizace prýtu

- Fyziologické parametry - SENZORY



Fenotypizace prýtu

- Integrativní analýza – kombinace morfologických a fyziologických parametrů, doplněná statistickým přístupem



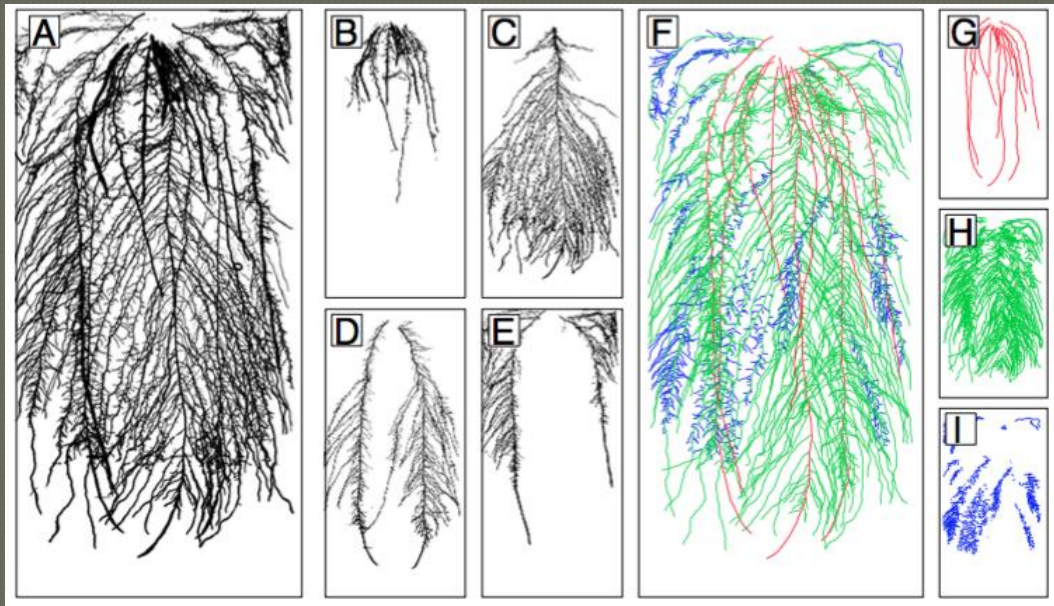
Fenotypizace kořene

- Především morfologická analýza
- Využívá rhizotrony, nebo průhledné květináče



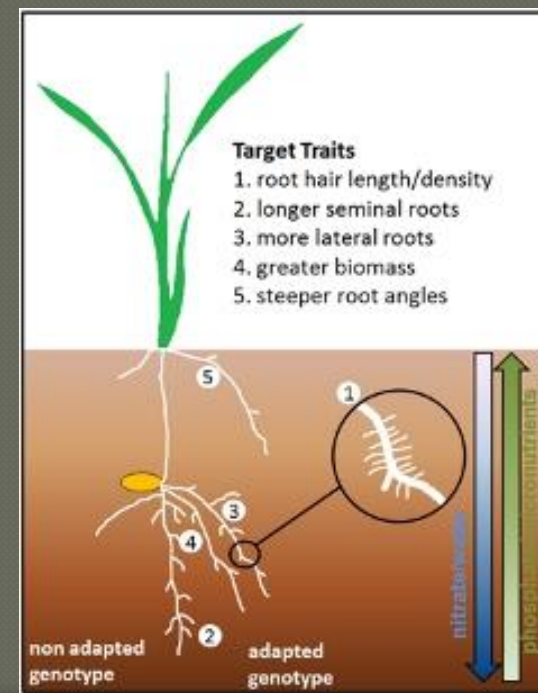
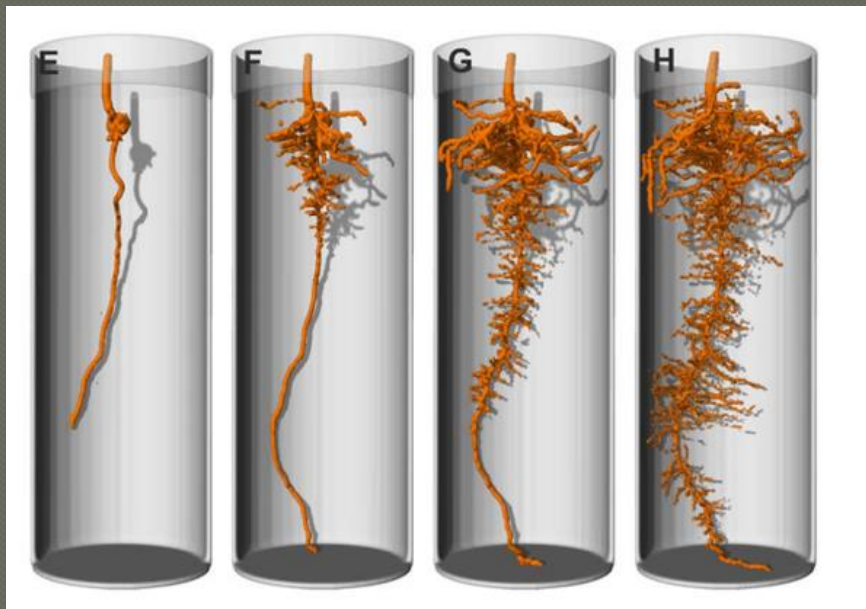
Fenotypizace kořene

- Především morfologická analýza
- Využívá rhizotrony, nebo průhledné květináče



Fenotypizace kořene

- Především morfologická analýza
- Existují i vysoce sofistikované postupy hodnocení pomocí rentgenových paprsků a CT



Polní fenotypizace

- Fenotypizace v polních podmínkách
 - Podobné senzory, větší variabilita dat, menší kontrola na celým procesem
 - Reálné podmínky
- Polní platformy
- Nezávislé systémy
 - Fenotypizační vozíky a vozidla
 - Bezpilotní letadla a vzducholodi
 - Pilotovaná letadla
 - Družicové systémy



Polní fenotypizace

- Fenotypizace v polních podmínkách
 - Podobné senzory, větší variabilita dat, menší kontrola na celým procesem
 - Reálné podmínky
- Polní platformy
- Nezávislé systémy
 - Fenotypizační vozíky a vozidla
 - Bezpilotní letadla a vzducholodi
 - Pilotovaná letadla
 - Družicové systémy



Polní fenotypizace

- Fenotypizace v polních podmínkách
 - Podobné senzory, větší variabilita dat, menší kontrola na celém procesem
 - Reálné podmínky
- Polní platformy
- Nezávislé systémy
 - Fenotypizační vozíky a vozidla
 - Bezpilotní letadla a vzducholodi
 - Pilotovaná letadla
 - Družicové systémy



Polní fenotypizace

- Fenotypizace v polních podmínkách
 - Podobné senzory, větší variabilita dat, menší kontrola na celém procesem
 - Reálné podmínky

- Polní platformy

- Nezávislé systémy

- Fenotypizační vozíky a vozidla
- Bezpilotní letadla a vzducholodi
- Pilotovaná letadla
- Družicové systémy



Polní fenotypizace

- Fenotypizace v polních podmínkách

- Podobné senzory, větší variabilita dat, menší kontrola na celém procesem
- Reálné podmínky

- Polní platformy

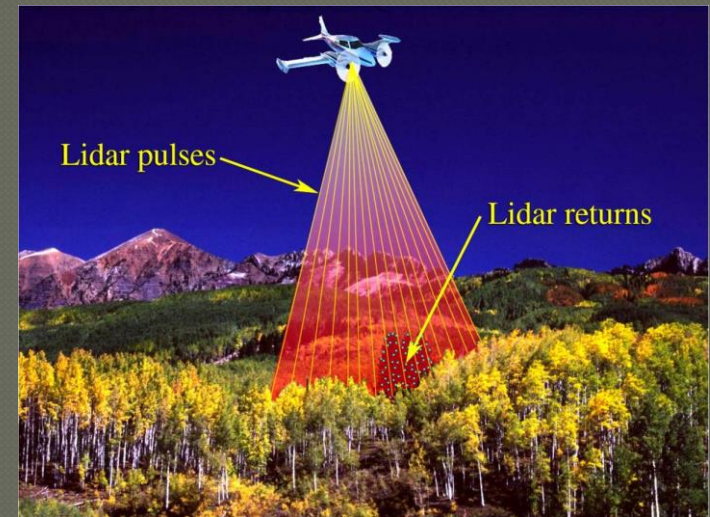
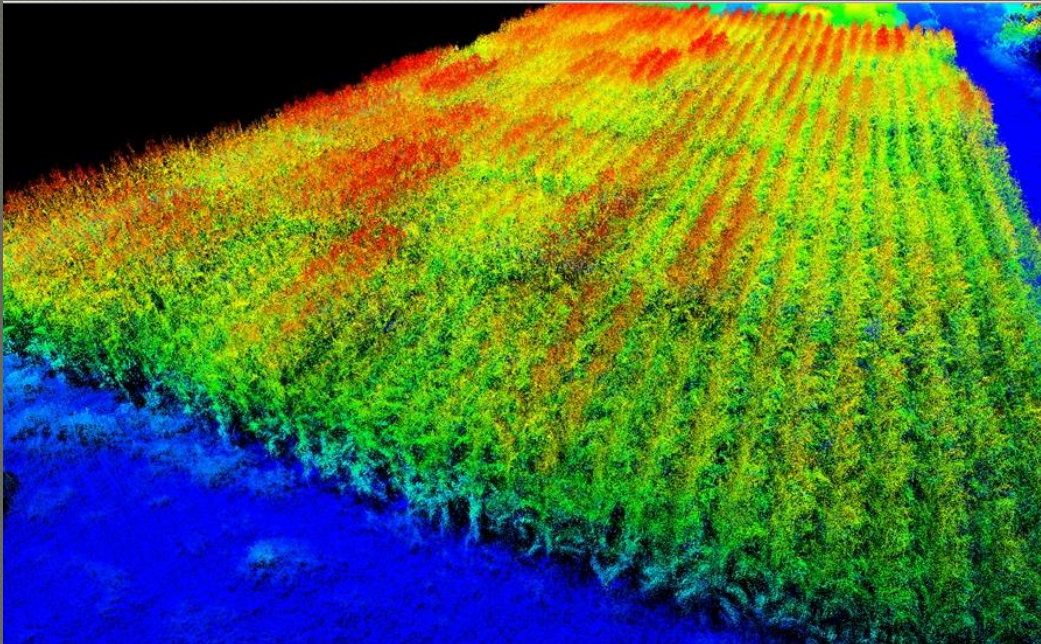
- Nezávislé systémy

- Fenotypizační vozíky a vozidla
- Bezpilotní letadla a vzducholodi
- Pilotovaná letadla
- Družicové systémy



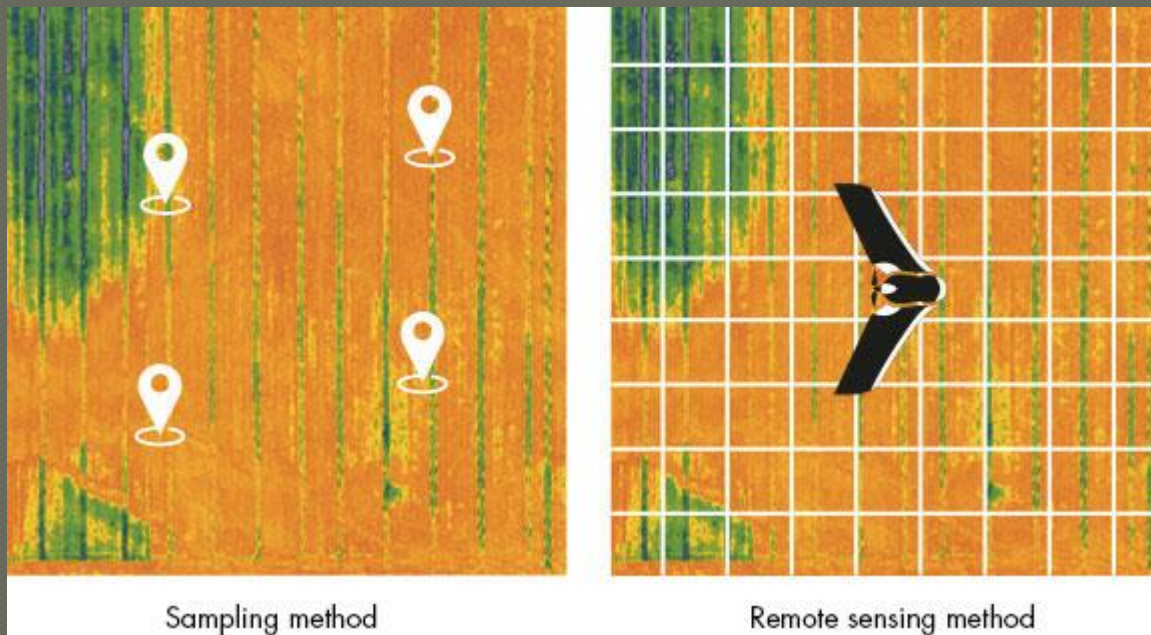
Polní fenotypizace

- Informace o růstu rostlin
 - Pokryvnost (LAI); vzcházení - RGB imaging
 - (výška/biomasa) – LiDAR



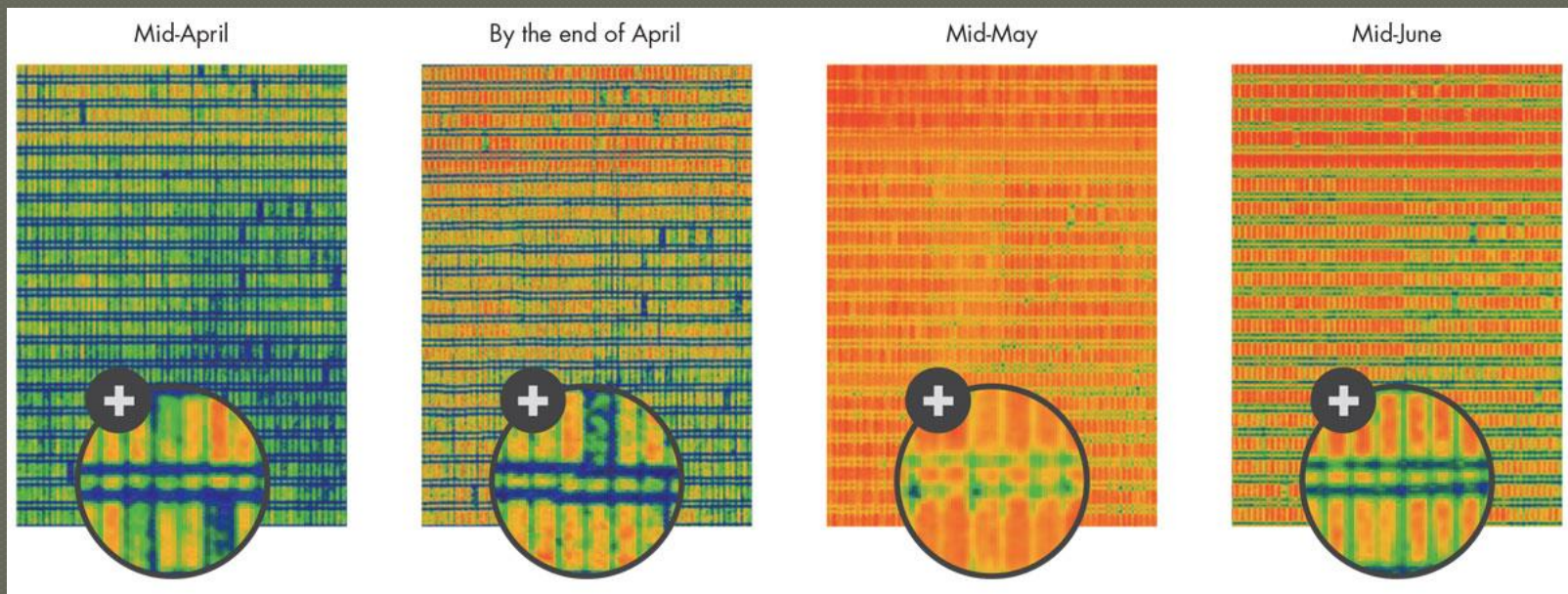
Polní fenotypizace

- Informace o fyziologii (obsah dusíku, chlorofylu, transpirace – WUE)
 - Obsah chlorofylu/dusíku – multispektrální kamery, nebo RGB kamera



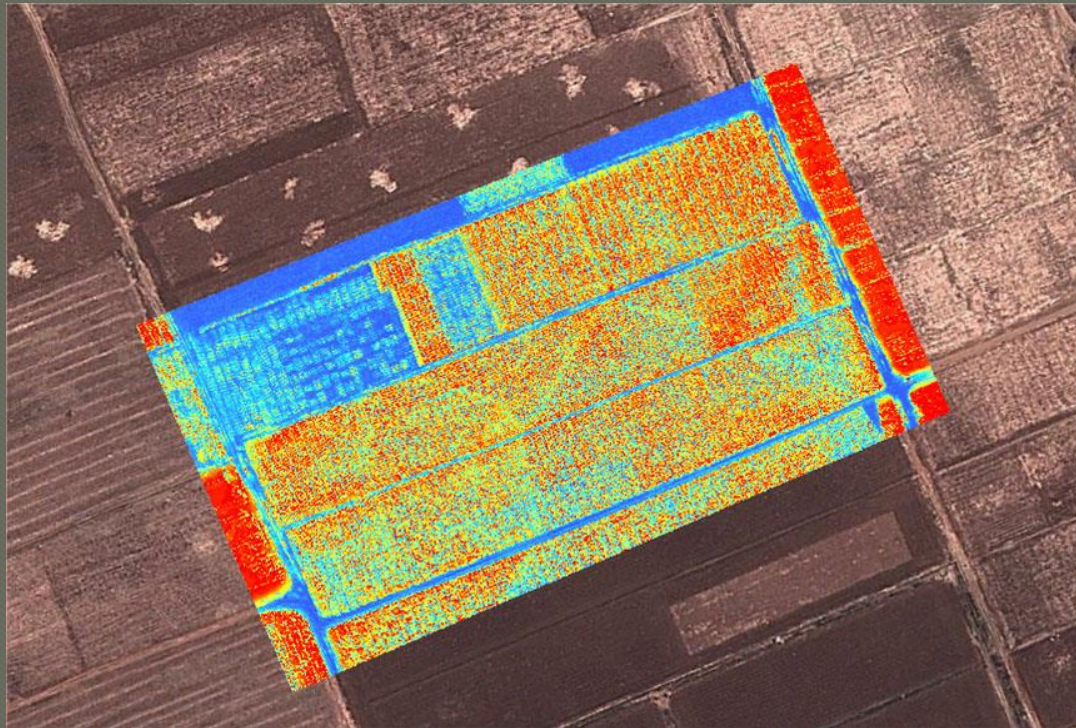
Polní fenotypizace

- Informace o fyziologii (obsah dusíku, chlorofylu, transpirace – WUE)
 - Obsah chlorofylu/dusíku – multispektrální kamery, nebo RGB kamera



Polní fenotypizace

- Informace o fyziologii (obsah dusíku, chlorofylu, transpirace – WUE)
 - Transpirace/WUE – termální kamery v IR



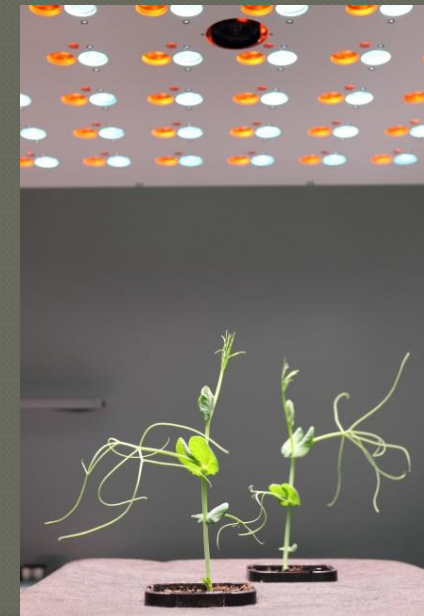
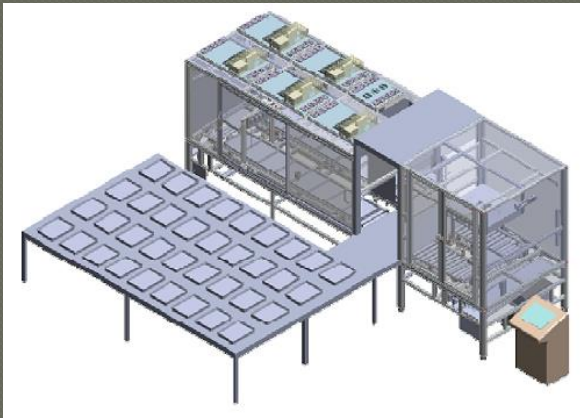
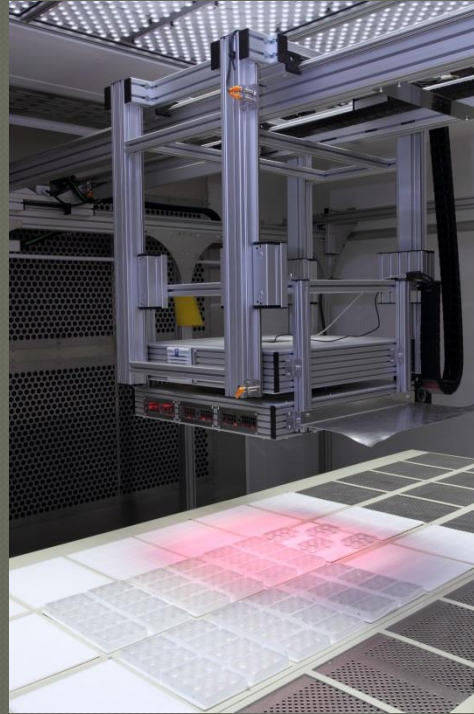
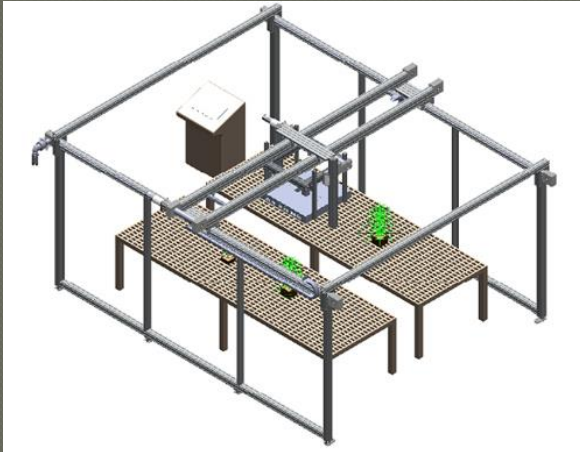
Klíčové problémy

- Obrazová analýza a post-processing dat
- Vysoká cena, některých klíčových senzorů – LiDAR
- Absence mezinárodních standardů pro fenotypizaci
- Obtížná provázanost mezi digitálními parametry a klasickými šlechtitelskými znaky (např. rozlišení mezi produktivními a neproduktivními odnožemi)

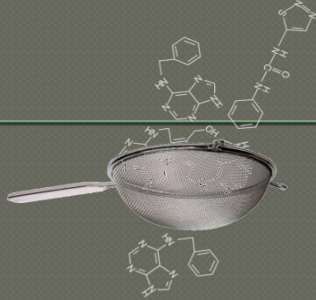
Klíčové přínosy

- Vysokokapacitní a celoplošné hodnocení
- Minimalizace chybovosti „lidského faktoru“
- Snadná porovnatelnost výsledků
- Možnost hledání „raných znaků“
- Významné urychlení selekce

Plant Phenotyping Facility in Palacky University



Aplikace automatizované fenotypizace



- Screening for bioactive compounds
- „COOKING & SIEVING“
- Development and preparation of compounds – „cooking“
- High-throughput screening for growth-promoting compounds

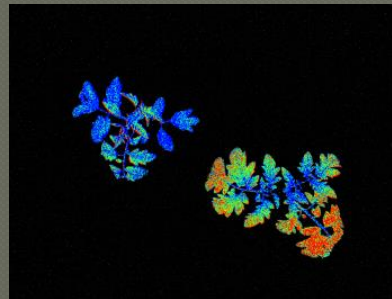
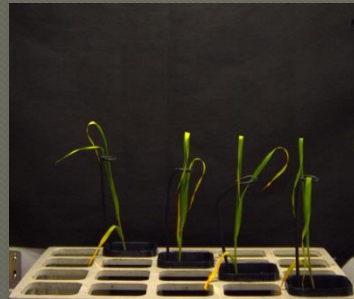
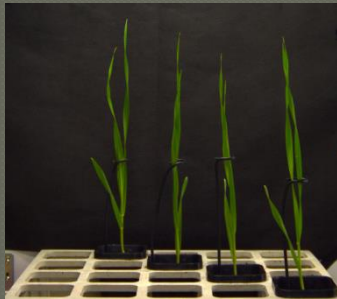


- Selection of genotypes
- „GROWING & SIEVING“
- provide selection of best growing genotypes in defined conditions



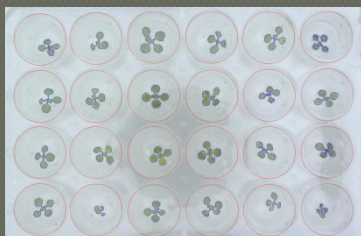
Plant Phenotyping Facility in Palacky University

- Non-invasive measurement of plant shoots from emergence to different stages of development (max. 50 cm high plants)
- Experiments *in vitro* and *in vivo* – application of various stresses
- Measuring of shoot growth - combination of RGB imaging (1 to 3 views)
- Measuring of photosynthetic efficiency by Chl fluorescence analysis
- Measuring of leaf surface temperature
- Measuring of vegetative indices – hyperspectral cam
- Throughput depends on plant morphology and developmental stage (from thousands of seedlings *in vitro* to dozens of plants in *in vivo* complex analysis)
- Growing and measuring in fully controlled environment (light, temperature, humidity)

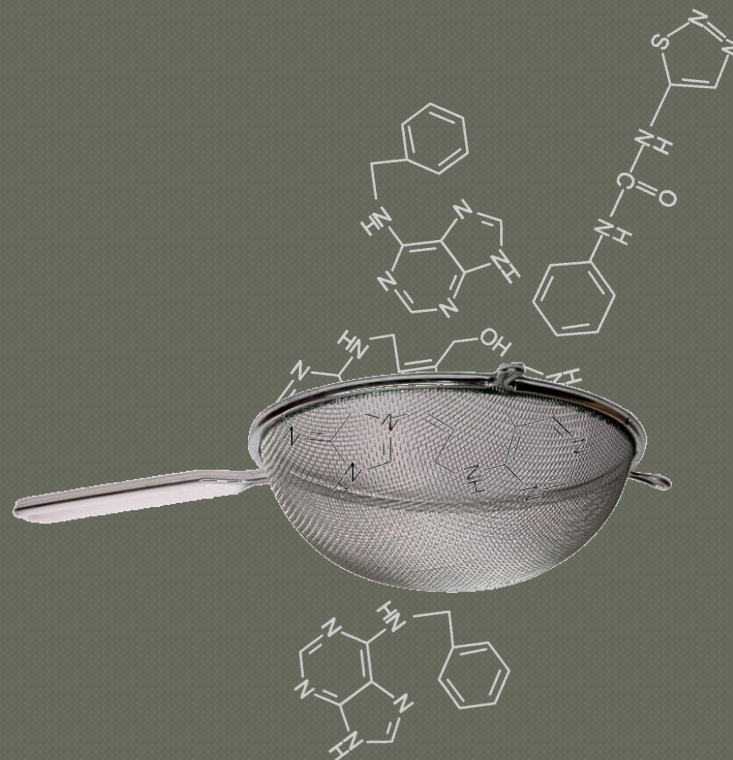


Screening for bioactive compounds

- Two step high-throughput screening for growth-promoting compounds
- 1st step *in vitro*

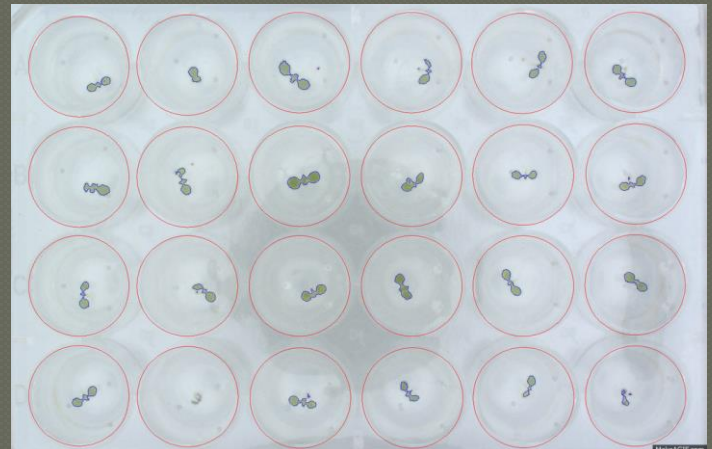


- 2nd step *in vivo*

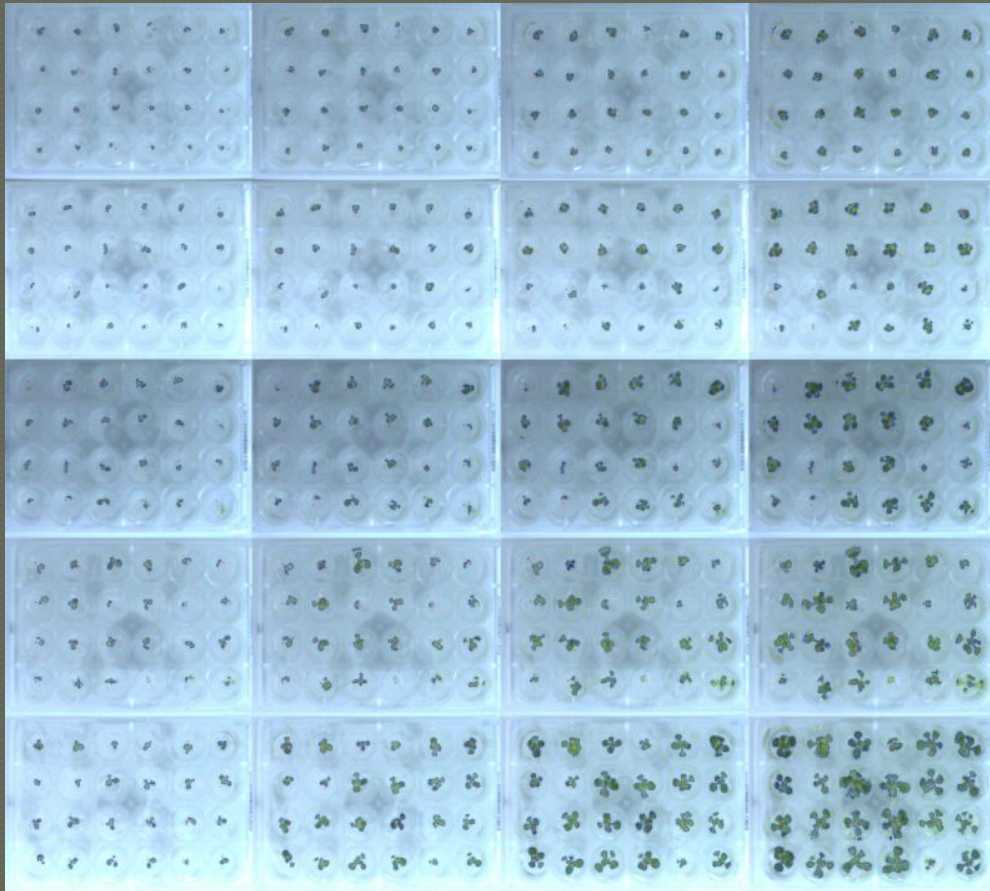


1st step - *in vitro* large scale bioassays in Arabidopsis

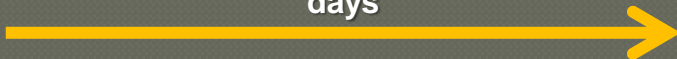
- Robust test of growing capacity of Arabidopsis seedlings treated with various growth-affecting compounds
- Allows to screen everyday more than 11000 seedlings in one experiment, 480 variants (repeats, compounds, concentrations or genotypes)
- Provides data of total biomass accumulation, normalized increase in BM and relative growth rate for each seedling
- Screening of chemical libraries, also for contracted research



1st step - *in vitro* large scale bioassays in Arabidopsis



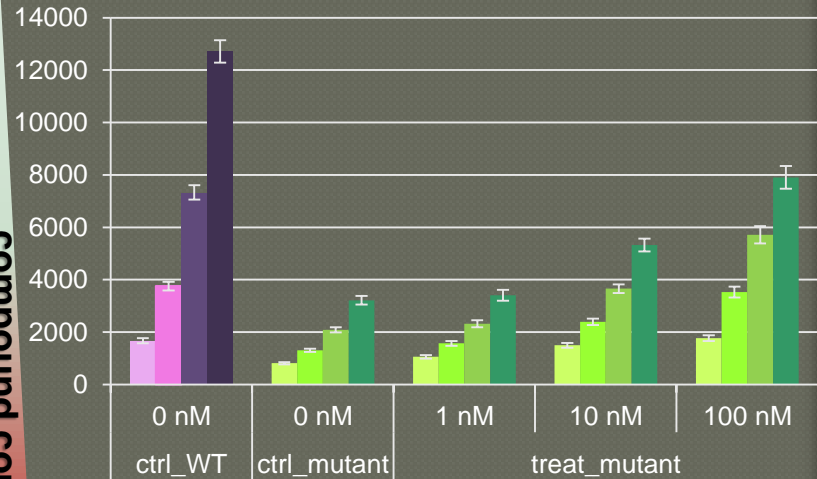
days



compound concentration

rosette area

■ day 6 ■ day 8 ■ day 10 ■ day 12



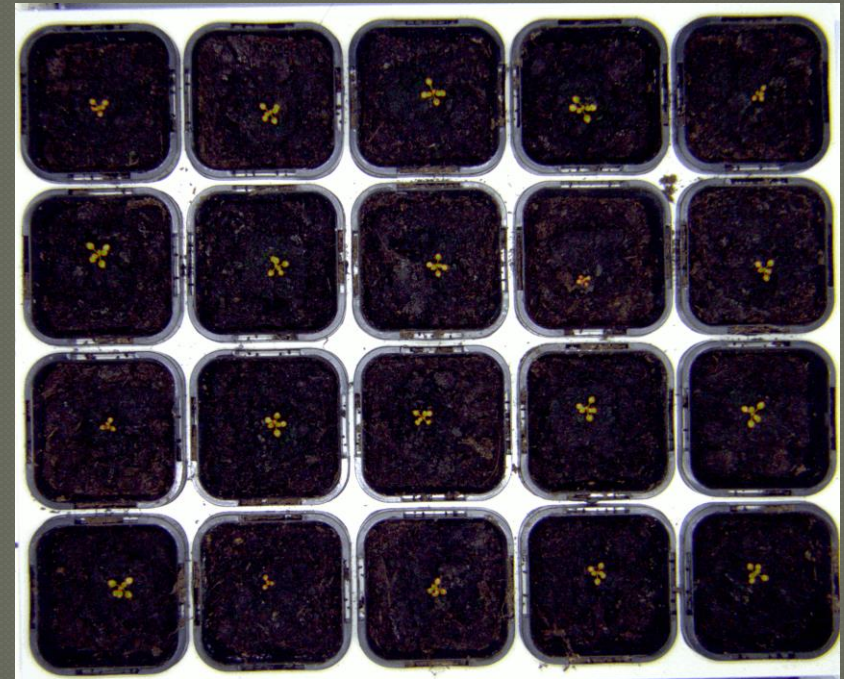
2nd step - growth of Arabidopsis in soil - spraying

- Everyday RGB screening of green area
- Up to 60 variants (1200 plants)
- Parameters: GA, NGA, RGR
- Possible combination with FC or HC VNIR



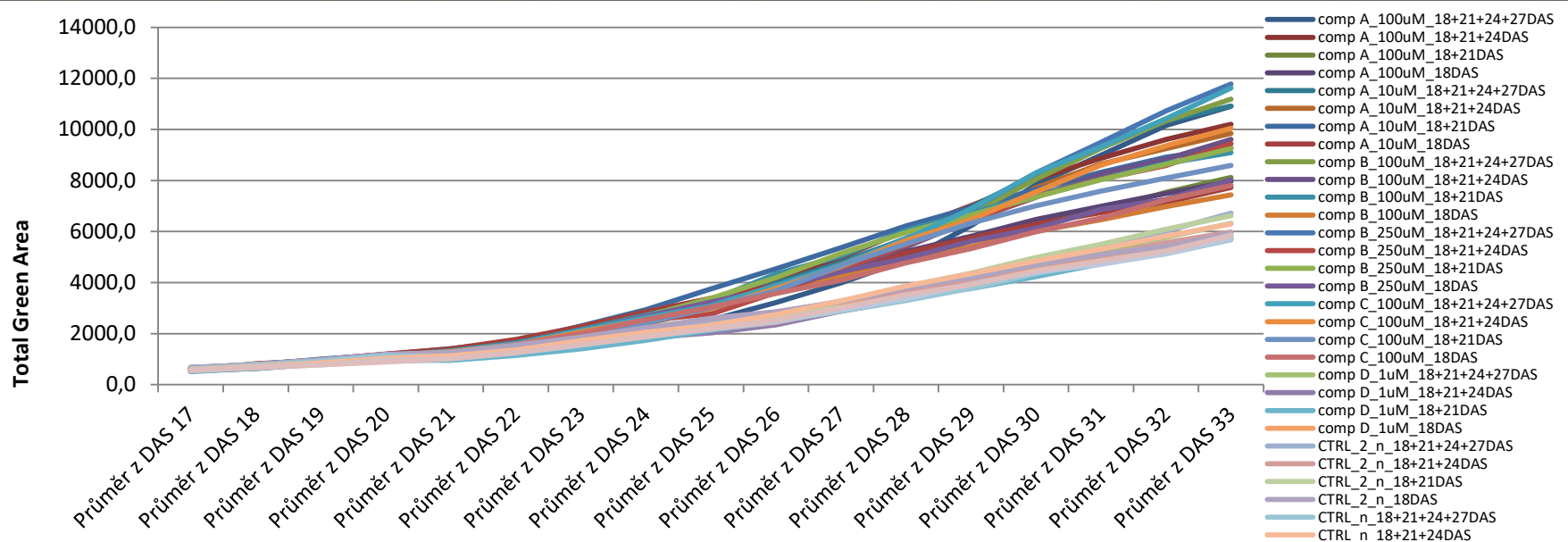
2nd step - growth of Arabidopsis in soil - spraying

- Everyday RGB screening of green area
- Up to 60 variants (1200 plants): compounds, concentration, application time...
- Parameters: GA, NGA, RGR
- Combination with FC or HC VNIR



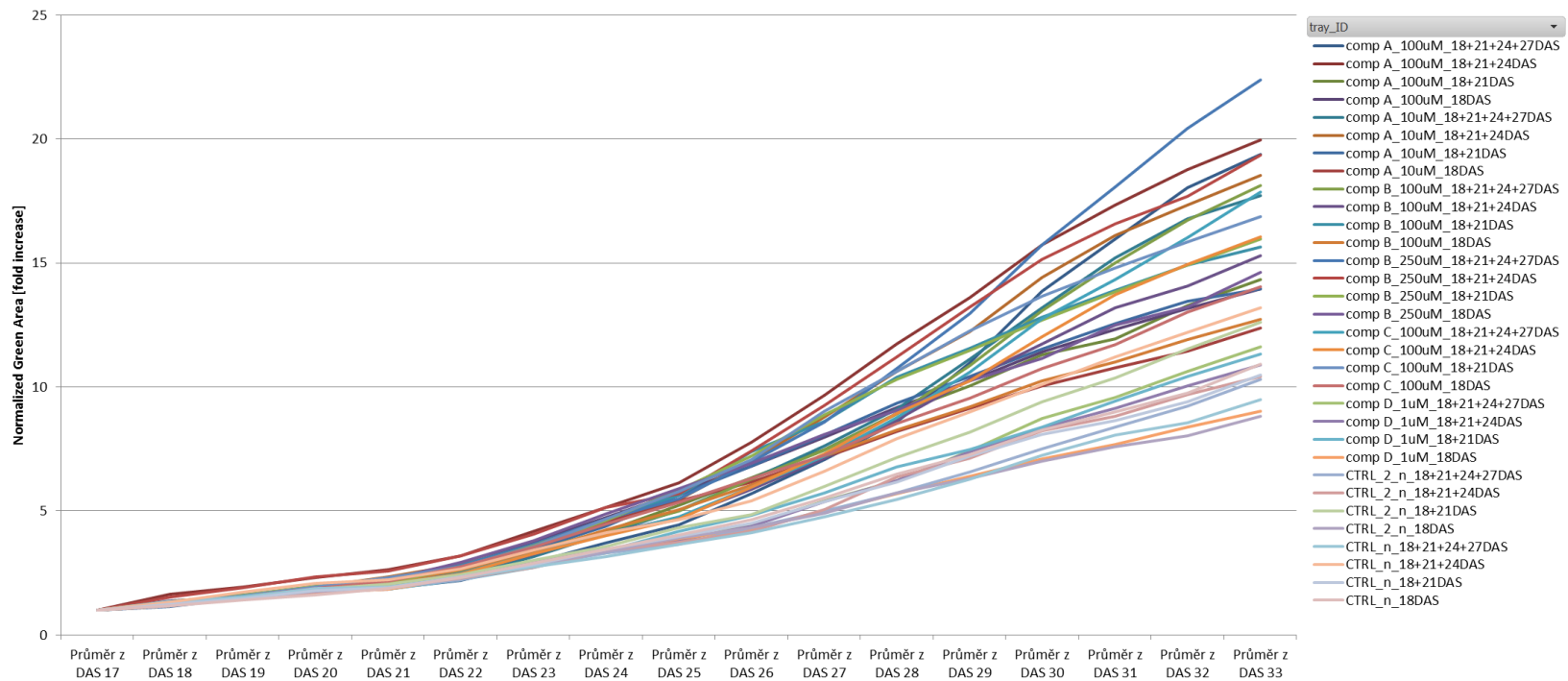
2nd step - growth of Arabidopsis in soil - spraying

● Parameters: GA, NGA, RGR



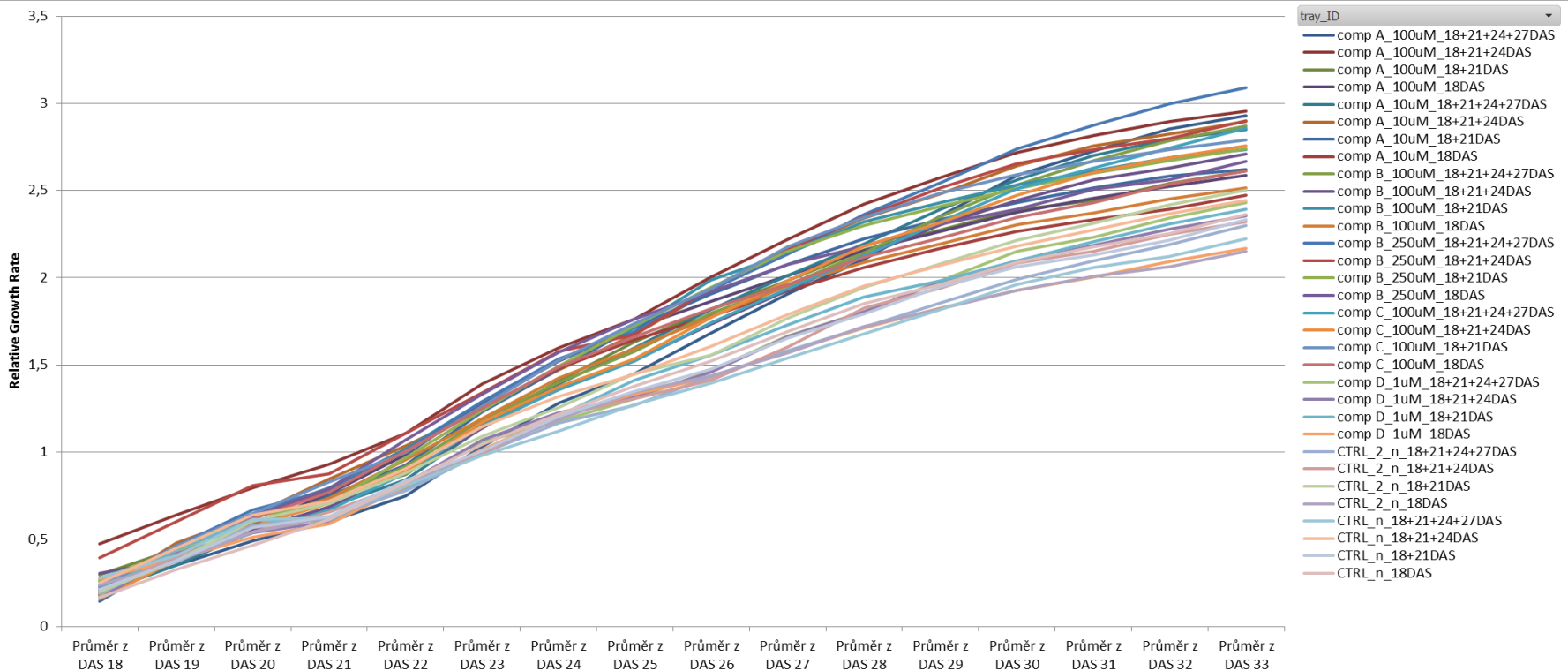
2nd step - growth of Arabidopsis in soil - spraying

● Parametrs: GA, NGA, RGR



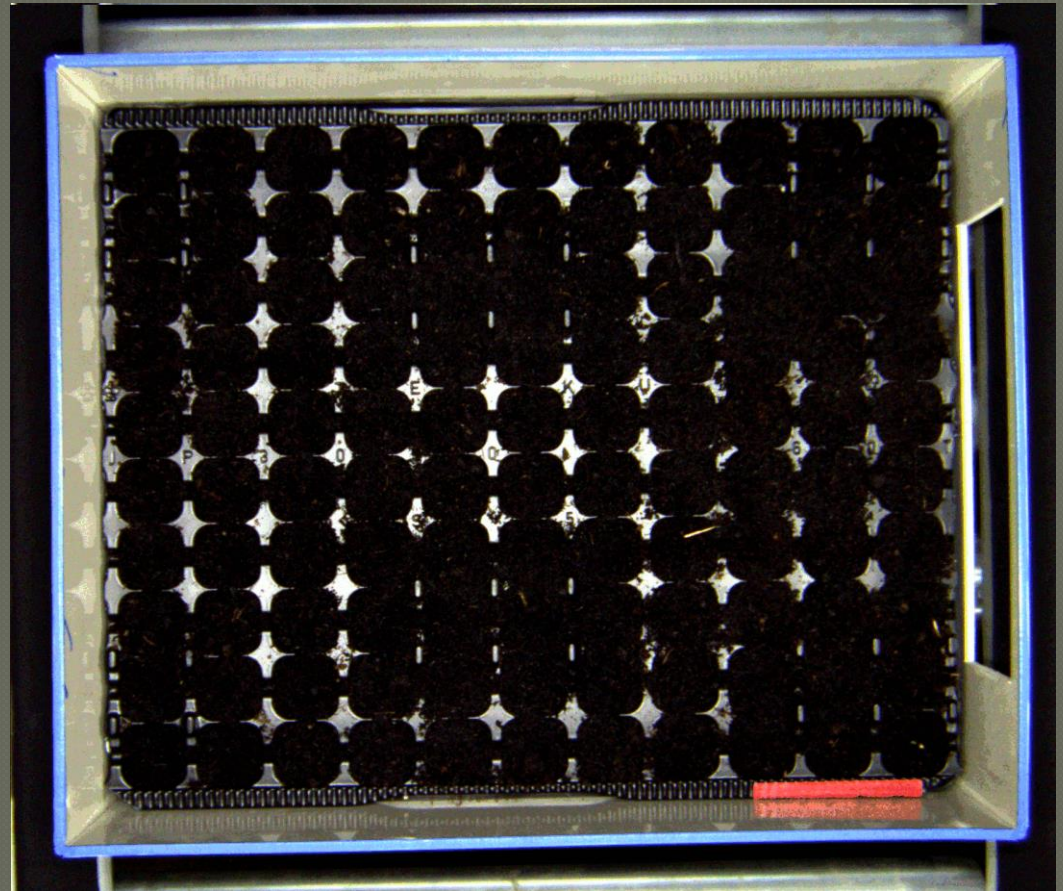
2nd step - growth of Arabidopsis in soil - spraying

● Parameters: GA, NGA, RGR



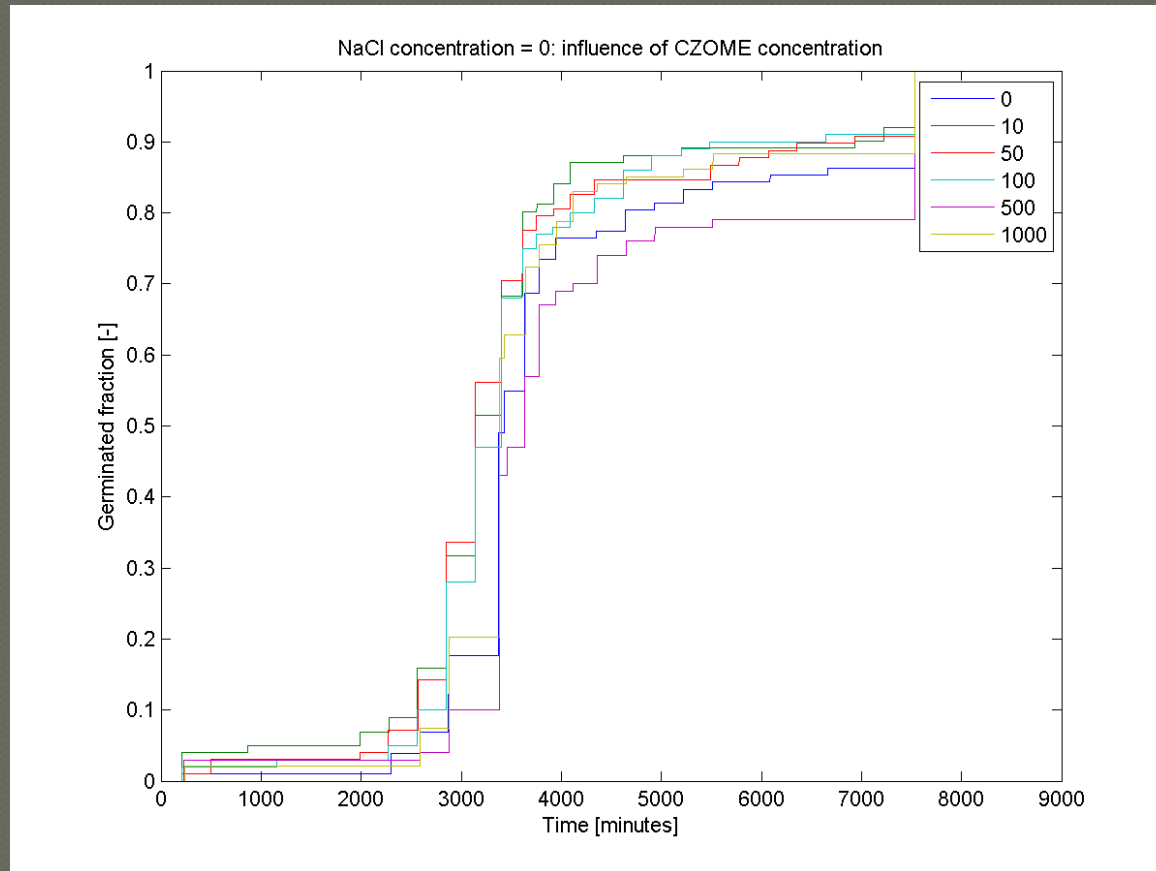
Seedling emergence – CEREAL CROPS

- Testing of the emergence of cereals
 - after application of various compounds
 - in stress conditions (salt, cold etc.)
- **60 variants** X 110 seeds
- Screening each 2 hours for approx. **7 days**
- Provides data about percentage of seedling emergence and emergence rate
- Selection based on „area under curve“ values



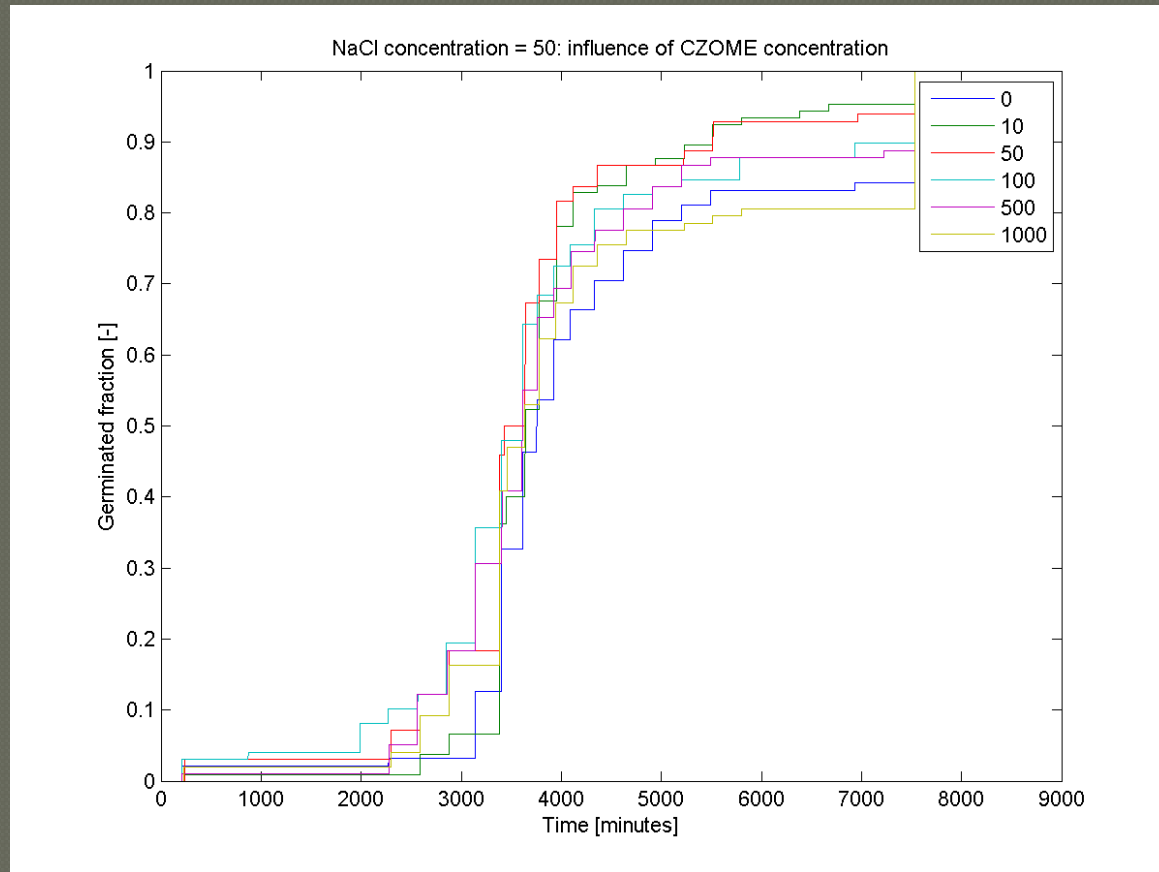
Seedling emergence – CEREAL CROPS

- Provides data about percentage of seedling emergence and emergence rate
- Combination with various types of stresses – e.g. salinity



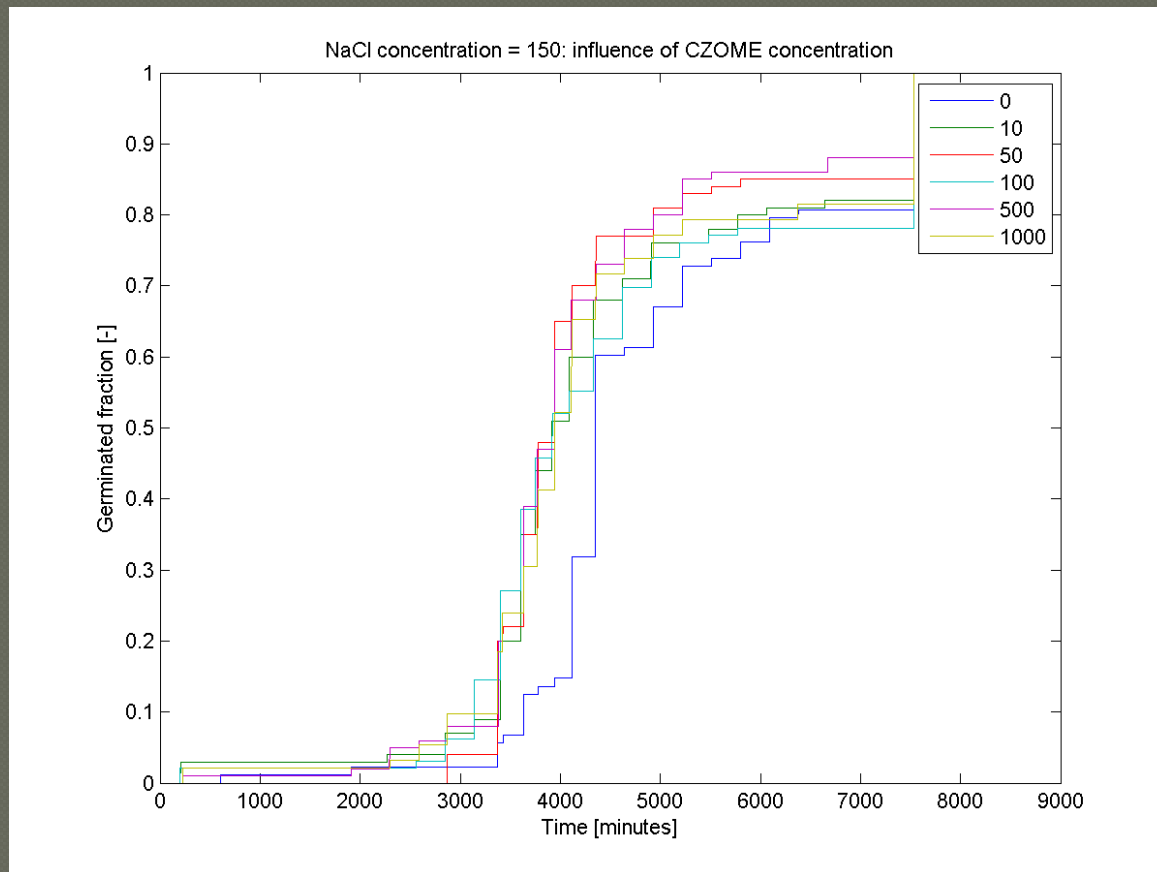
Seedling emergence – CEREAL CROPS

- Provides data about percentage of seedling emergence and emergence rate
- Combination with various types of stresses – e.g. salinity



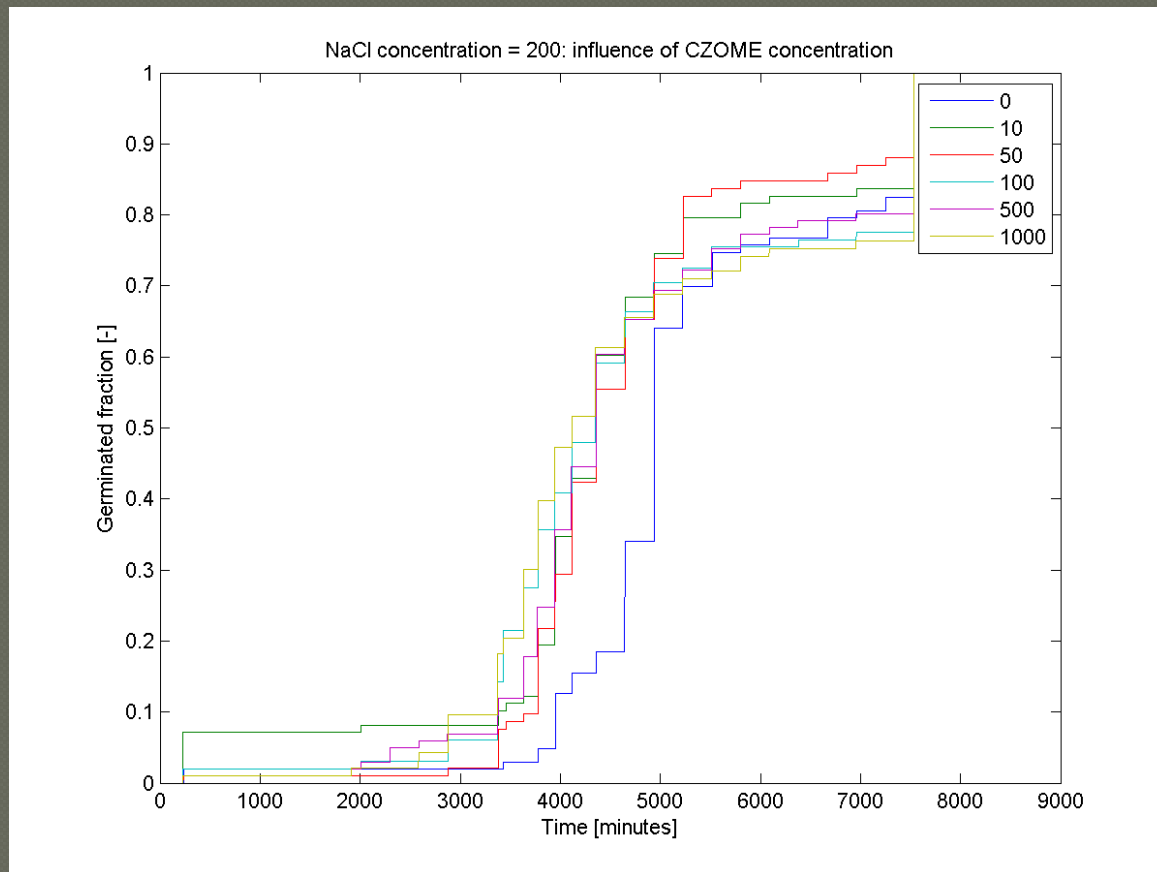
Seedling emergence – CEREAL CROPS

- Provides data about percentage of seedling emergence and emergence rate
- Combination with various types of stresses – e.g. salinity



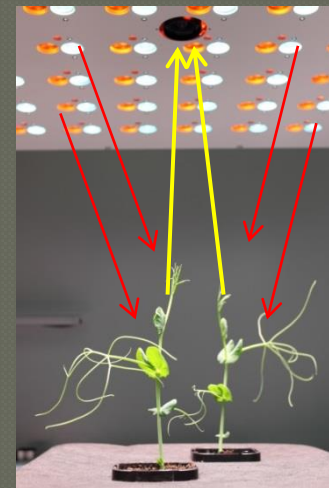
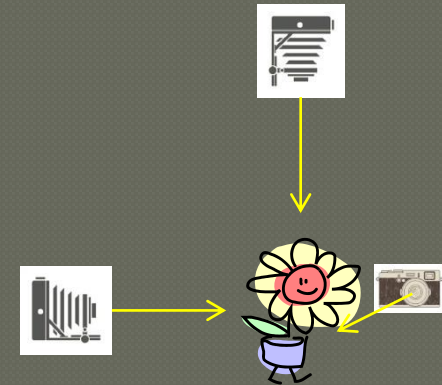
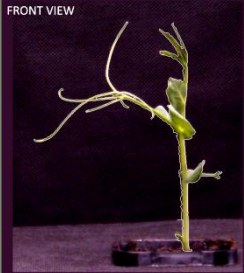
Seedling emergence – CEREAL CROPS

- Provides data about percentage of seedling emergence and emergence rate
- Combination with various types of stresses – e.g. salinity



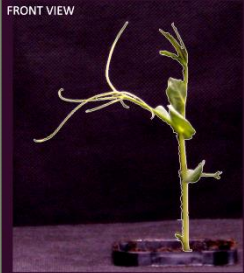
Selection of stress-tolerant varieties: case study in pea cultivars

- Study on cold acclimation (5°C) of cultivars of field pea
- Methodology for future selection of overwintering cv.
- Combination of RGB imaging (3 views) with kinetic measure of Chl fluorescence
- Selection based on two different traits: growth and PSII efficiency



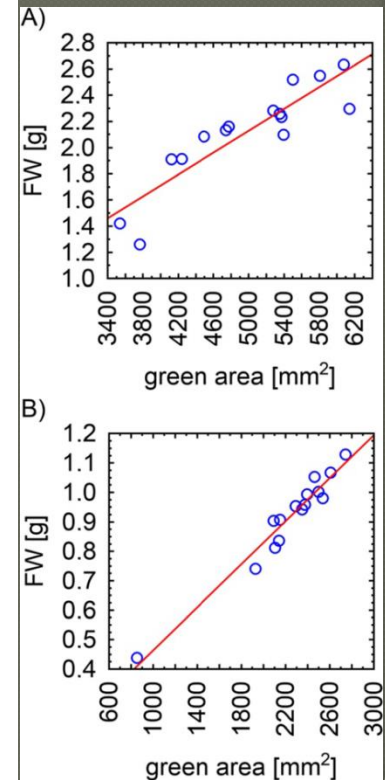
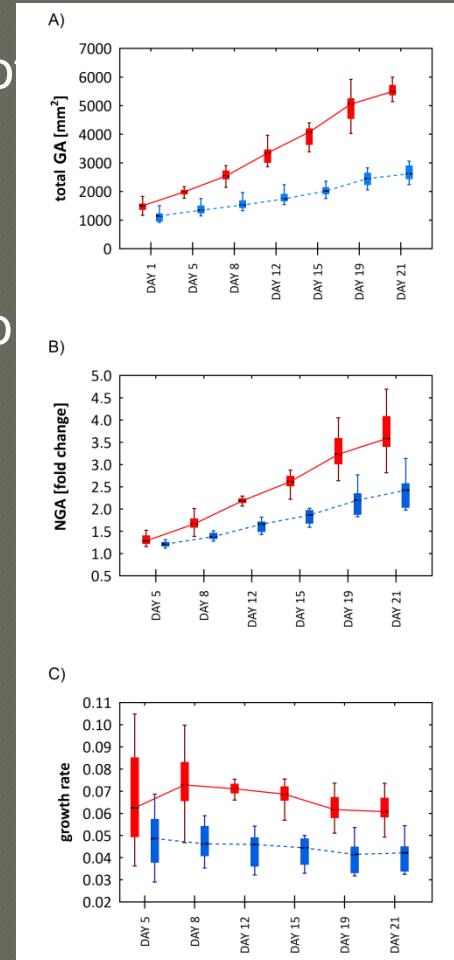
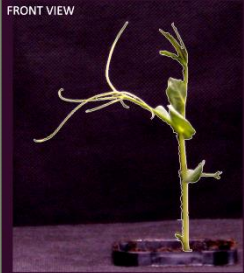
Selection of stress-tolerant varieties: case study in pea cultivars

- Study on cold acclimation (5°C) of cultivars of field pea
- Methodology for future selection of overwintering cv.
- Combination of RGB imaging (3 views) with kinetic measure of Chl fluorescence
- Selection based on two different traits: growth and PSII efficiency



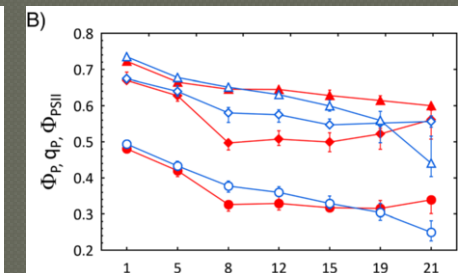
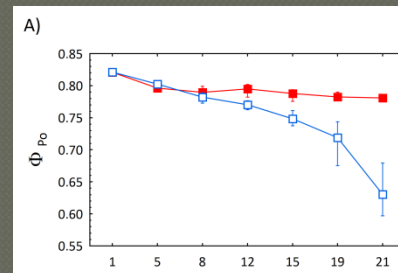
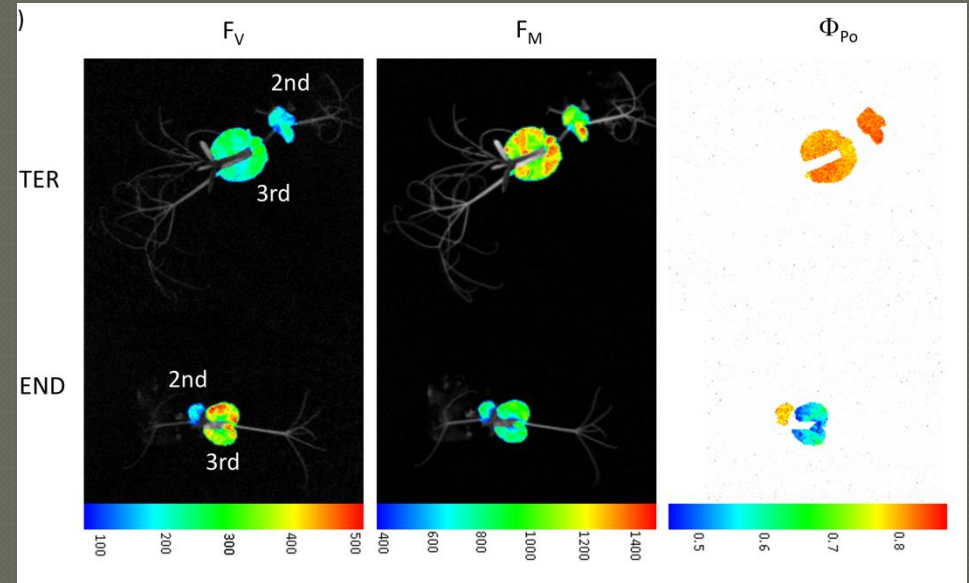
Selection of stress-tolerant varieties: case study in pea cultivars

- Study on cold acclimation of cultivars of field pea
- Development of software for RGB
- Correlation with FW



Selection of stress-tolerant varieties: case study in pea cultivars

- Study on cold acclimation of cultivars of field pea
- Combination of RGB imaging with kinetic measure of Chl fluorescence
- Selection based on two different traits: growth and PSII efficiency
- Provides also insight into physiological strategies of cold acclimation



Thank you for your attention!



- **Department of Chemical Biology and Genetics** (Jan Humplík, Tomáš Füst, Lukáš Spíchal – group leader)
- **Department of Biophysics** (Alexandra Husičková, Dušan Lazár)
- **Department of Genetic Resources for Vegetables, Medicinal and Special Plants** (Miroslav Hýbl)

