

VU Research Portal

Genetic control of diverse inflorescence architectures

Barulho Rebocho, A.

2007

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Barulho Rebocho, A. (2007). *Genetic control of diverse inflorescence architectures*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

**Samenvatting van het proefschrift getiteld:
“Genetische controle van verschillende bloeiwijzestructuren”**

Tijdens de evolutie is bij planten en dieren een enorme variatie in lichaamsbouw ontstaan. Hoewel het algemeen geaccepteerd is dat evolutie gedreven wordt door mutatie en selectie, is het grotendeels onbekend hoe dit geleid heeft tot de wijde variatie die we tegenwoordig zien. Het klassieke evolutiemodel stelt dat grote veranderingen het gevolg zijn van de accumulatie van vele mutaties met elk een klein effect, maar genetische experimenten wijzen erop dat dit niet waar hoeft te zijn. In veel soorten zijn mutanten gevonden waarin een verandering in één enkel gen een groot effect op lichaamsbouw heeft. Er is echter nog geen samenhangend beeld hoe dit soort mutaties hebben bijgedragen aan het ontstaan van morfologische diversiteit. Planten zijn een interessant en veelbelovend modelsysteem om de evolutie van lichaamsbouw te bestuderen. Hoger ontwikkelde planten zijn evolutionair gezien relatief kort geleden ontstaan, en vertonen een grote variatie in lichaamsbouw, met name in de bloeiwijzes. Bovendien lenen een verscheidenheid aan hogere plantensoorten zich hierdoor voor genetische experimenten.

Hoewel de architectuur van bloeiwijzes sterk kan variëren tussen en binnen een familie van soorten, lijkt de specificatie van meristeem- en bloemorgaanidentiteit te worden gereguleerd door geconserveerde genen. Desalniettemin verschillen soorten van elkaar in ontwikkeling, en dus ook in morfologie. Om te begrijpen hoe vergelijkbare moleculen toch tot diversiteit kunnen leiden is het nodig om de functie en expressie van genen te karakteriseren en deze te vergelijken tussen verschillende soorten. Bij onze experimenten gebruiken we *Arabidopsis* en petunia, twee soorten met een zeer verschillende structuur van de bloeiwijze.

De post-embryonale ontwikkeling van planten komt voort uit meristemen, assemblages van stamcellen in de top van de scheut en de wortel. Direct na de kieming produceert het apicale scheutmeristeem orgaanprimordialen die zich ontwikkelen tot een blad en stengel weefsel. Onder invloed van omgevingsfactoren

(o.a. daglengte en temperatuur) en ontwikkelingsfactoren (leeftijd, hormonen) schakelt het scheutmeriusteam over naar de productie van bloemen. Vanaf dit moment wordt het meristeem 'bloemvormend' genoemd, of 'inflorescence meristem (IM).

In verschillende soorten volgt bloemvormend meristeem (IM) een verschillend ontwikkelingsprogramma wat uiteindelijk leidt tot een verschil in bloeiwijzenarchitectuur. *Arabidopsis* bijvoorbeeld genereert aan het apicale meristeem (IM) laterale meristemen die zich tot bloem ontwikkelen, maar het apicale meristeem zelf differentieert niet en behoudt zijn meristematische activiteit. Dit leidt tot de vorming van een aar, d.w.z. een rechte stengel met vele laterale bloemen en een actief meristeem aan de top. In soorten behorend tot de nachtschades (*Solanaceae*), zoals petunia, tomaat, tabak, differentieert het apicale meristeem en vormt een bloem. De groei van de bloeiwijze wordt voortgezet via een lateraal of sympodial meristeem dat ontstaat naats de bloem. Dit resulteert in de vorming van een tros, een zigzag structuur met vele terminale bloemen en zijtakken die dit patroon herhalen..

Hoofdstuk 2 beschrijft een analyse van zogenaamde bloemmeristeemidentiteit (BMI) genen welke bepalen of een jong meristeem zich zal ontwikkelen tot bloem of niet. Ik lever bewijs dat de BMI genen *ALF* en *LFY* (*ABBERANT LEAF AND FLOWER* en *LEAFY*) alsmede *DOT* en *UFO* (*DOUBLE TOP* en *UNUSUAL FLOWER ORGANS*) van respectievelijk petunia en *Arabidopsis* coderen voor eiwitten met een eenzelfde structuur. De eiwitten *ALF* en *LFY* alsmede *DOT* en *UFO* bleken volledig uitwisselbaar te zijn tussen beide plantensoorten en dezelfde genen te kunnen aanschakelen. Ik heb bovendien sterke aanwijzingen dat de F-box eiwitten *DOT* en *UFO* binden aan de transcriptiefactoren *ALF* en *LFY* en dat dit leidt tot activatie (waarschijnlijk via ubiquitinatie) van *ALF* en *LFY*. Deze modificatie is essentieel voor de narinductie van bloei, de specificatie van bloemmeristeemidentiteit (BMI) en de voor activatie van target genen.

Er bleken echter grote verschillen te zijn in de expressiepatronen van de homologen *ALF/LFY* en *DOT/UFO*. Het bleek dat het moment (inductie van bloei) en de plaats waar bloemen worden gevormd (bloeiwijze structuur) in *Arabidopsis*

in hoge mate wordt bepaald door het expressie patroon van *LFY*, terwijl het expressie patroon van de partner *UFO* hier nauwelijks een rol in speelt. In petunia bleken deze rollen omgedraaid, het moment en de plaats waar bloemen ontstaan vooral bepaald door het expressie patroon van *DOT*.

Het verschil in expressiepatronen, en daarmee hun rol als regulator van bloemvorming, is mogelijk ontstaan door veranderingen in *cis*-elementen in promotoren wat er toe leidt dat genen gereguleerd kunnen worden door andere transcriptie factoren. Maar we kunnen niet uitsluiten dat *trans*-regulatorische factoren zijn veranderd terwijl de *cis*-elementen gelijk zijn gebleven. Om onderscheid te maken tussen deze twee mogelijkheden zijn experimenten noodzakelijk waarin gebruik maken we niet-coderende sequenties van ALF/LFY en DOT/UFO en hun activiteit testen in petunia en *Arabidopsis*.

In **Hoofdstuk 3 en 4** beschrijf ik de isolatie en karakterisatie van *EVG* (*EVERGREEN*) van petunia. In petunia ontwikkelt het apicale meristeem zich tot bloem en verliest daarbij zijn activiteit. De groei van de bloeiwijze wordt voortgezet door een lateraal bloeiwijzemeristeem dat zich ontwikkelt aan de rand van het apicale bloemmeristeem. De ontwikkeling van dit laterale bloeiwijzemeristeem is karakteristiek voor de vorming van een tros als bloeiwijze, en ontbreekt in soorten die solitaire bloemen ontwikkelen (bijvoorbeeld tulp en papaver). *EVG* blijkt een essentiële rol te spelen in de vroege ontwikkeling van dit laterale bloeiwijzemeristeem. *EVG* codeert voor een transcriptie factor van de homeodomain familie en komt alleen tot expressie in laterale bloeiwijzemeristematen. *EVG* stimuleert de cel proliferatie en daarmee de activiteit van het laterale meristeem, naar alle waarschijnlijkheid door het activeren van de productie van het hormoon auxine.

Arabidopsis vormt geen laterale bloeiwijzemeristematen, maar heeft desalniettemin twee genen (*WOX8* en *WOX9*) die coderen voor eiwitten die sterk op *EVG* lijken en bovendien een zelfde activiteit hebben. *WOX8* en *WOX9* komen, in tegenstelling tot *EVG*, in vrijwel alle meristem van *Arabidopsis* tot expressie (opmerkelijk: niet in het apicale bloeiwijzemeristeem) en zijn noodzakelijk voor het behoud van meristeem activiteit. Petunia heeft een tweede gen (paraloog) dat codeert voor een eiwit dat sterk lijkt op *EVG*, genaamd *SISTER OF EVERGREEN*

(SOE). Het expressiepatroon van *SOE* lijkt sterk op dat van *WOX8* en *WOX9* en niet op *EVG*.

De resultaten suggereren dat *EVG* recent door een genduplicatie is ontstaan en vervolgens zijn functie in de bloeiwijzenontwikkeling heeft verkregen door verandering in het expressiepatroon en dat dit een essentiële stap is geweest voor de evolutie van het typische vertakkingspatroon van een tros-vormige bloeiwijze. De afgelopen jaren is duidelijk geworden dat de aanleg en positionering van nieuwe meristemen en orgaan primordia in hoge mate wordt bepaald door transport van het hormoon auxine. Aangezien grotendeels onbekend is hoe planten auxine synthetiseren zijn de bronnen (de cellen waar de auxine wordt gemaakt) onbekend. De resultaten met *EVG* suggereren dat de aanleg van organen en meristemen niet alleen wordt bepaald door het transport van auxine (zoals algemeen wordt aangenomen), maar ook door de bron waar de auxin wordt gesynthetiseerd. Hiervoor heb ik de mutant *floozy* (*fzy*) geanalyseerd. In *fzy* mutanten is de aanleg van bloemorganen (kelkbladen, kroonbladen, meeldraden) in een zeer vroeg stadium geblokkeerd. **Hoofdstuk 5** laat zien dat de ontwikkeling van bloemorganen in *fzy* mutanten kan worden hersteld door plaatselijke expressie van een bacterieel gen (*IAAM*) gen wat codeert voor een enzym dat auxine kan produceren.

Kort samengevat laten mijn resultaten zien dat veranderingen in het expressiepatroon van verder volledig geconserveerde "master genen" een belangrijke rol hebben gespeeld bij het ontstaan van verschillen in architectuur tijdens evolutie. Deze conclusies komen overeen met de gedachte dat natuurlijke variatie niet alleen komt door veranderingen in het gen, maar ook door veranderingen in patroon, hoeveelheden en timing van gen expressie.