

Границы цветков скользят внутри соцветий *Arabidopsis thaliana* с мутацией гена *APETALA1-1*

Харченко В.

ФГБОУ ВО «Луганский государственный аграрный университет им. К.Е. Ворошилова»,

Луганск, ЛНР, Россия

viktoriaharchenko@rambler.ru

Ключевые слова: *Arabidopsis*; *APETALA 1*; соцветие; цветок; гетерохрония

Мотивация и цель: Гомеотический ген *APETALA1* (*AP1*) кодирует предполагаемый фактор транскрипции, который действует локально, определяя идентичность цветочной меристемы и определяя развитие чашелистиков и лепестков. Он входит в состав хорошо известной АВС-модели генетического контроля цветочных органов. Эта модель основывается на анализе фенотипической изменчивости мутантов *Arabidopsis thaliana*, в числе которых мутант *apetala 1-1* (*ap1-1*) [1]. Несмотря на детальную изученность состава гена *APETALA1* и особенностей его экспрессии, все еще остаются вопросы, связанные с его функцией. Для полного представления о механизме генетического влияния целесообразно выяснить, какие морфогенетические изменения обуславливают наблюдаемый спектр изменчивости. У мутантов по гену *AP1* трансформируется не только околоцветник, а вся структура цветка и соцветия, которые действием локального гена объяснить невозможно. Эта работа фокусируется на анализе фенотипических эффектов у мутантов *ap1-1* *A. thaliana* с целью уточнения функции гена *AP1*.

Методы и алгоритмы: Для исследований были использованы растения *A. thaliana* экотипа Landsberg. Семена растений были получены из Ноттингемского генетического центра хранения *Arabidopsis*. Мутация *ap1-1* является рецессивной, в каталоге NASC она имеет № 28. Линия *ap1-1* была получена в Университете Вагенингена, группой Maarten Koornneef (при воздействии этилметансульфонатом (EMS) на семена линии Landsberg *erecta* (Ler). Согласно описанию фенотипа линии *ap1-1* в каталоге NASC, это сильный аллель, обуславливает гомеотическое превращение чашелистиков (первого оборота) в прицветники, в пазухах трансформированных чашелистиков образуется множество вторичных и третичных цветков; лепестки (второй оборот) обычно отсутствуют, но иногда заменяются тычинками или мозаикой, напоминающей лепестки-тычинки-прицветники. Фенотип изменяется в основании соцветия, и при низкой температуре цветки имеют более сильные преобразования, которые ослабевают в акропетальном направлении. Линия Landsberg *erecta* (Ler) использовалась в качестве варианта контроля, в каталоге NASC она имеет № NW20. Фенотипическую изменчивость *A. thaliana* изучали в лаборатории светокультуры на кафедре биологии растений Луганского государственного аграрного университета и в лаборатории природной флоры Ботанического сада-института ДВО РАН (Владивосток). Стратификацию семян проводили при температуре +4 °C на протяжении 3 сут. Растения культивировали при температуре +20...+23 °C при круглосуточном освещении около 6000 люкс.

Фенотипы обеих линий были проанализированы по следующим критериям: число листьев прикорневой розетки (nrlMS), число листьев главного побега (nlMS), высота главного побега (hMS), общее число цветков на растении (nfP), число дней от посадки до начала цветения (PF), число дней от посадки до начала плодоношения (PFr), период вегетации (PV), число цветков в соцветии (единицы цветения) на главном побеге (nfUFMS), длина соцветия главного побега (LUFMS), плотность соцветия главного побега (pUFMS), длина бокового побега первого порядка, развивающегося из пазухи верхнего стеблевого листа (1.1Lls), длина соцветия на его верхушке (Luf1.ls) и число цветков на нем (nf1.1ls). Для анализа расположения цветочных зачатков на верхушке соцветия использовали микроскопы МБС-1, МБС-10 (с объективами $\times 8$, $\times 20$ и окулярами $\times 7$, $\times 10$, $\times 15$), Биолам М-1 в ГОУ ВО ЛНР ЛГАУ, а также микроскоп Axioplan b Stemii в Ботаническом саду-институте ДВО РАН. Структура побегов была проанализирована на основании фрактального подхода. Для этого побег условно подразделяли на гомологичные трансформационные серии. Статистический анализ выполнен в программе STATISTICA при помощи тестов ANOVA. Для сравнения вариантов был использован дисперсионный анализ, результаты которого оценивали по F-критерию Фишера и силе влияния факторов, рассчитанных по методу Плохинского.

Результаты: В ходе проведенных исследований у растений мутантной линии *ap1-1 A. thaliana* был выявлен ряд фенотипических отличий от исходной линии *Ler*. В частности, растения *ap1-1* имеют меньшую высоту и длину соцветий, но с большим числом голых цветков, у них развивается частично брактеозное соцветие тирс или плейотирс (множественный тирс), в отличие от эбрактеозной кисти, свойственной растениям исходной линии *Ler*. Цветки *Ler* дисимметричные, с двойным околоцветником, а у *ap1-1* цветки голые (или с фрагментами околоцветника), элементы в них могут располагаться по спирали, супротивно или мутовчато. При этом морфология андроя варьирует по числу, расположению и длине тычинок. Новые цветки или оси соцветий могут формироваться на одном уровне с тычинками. Растения мутантной линии *ap1-1* зацветают раньше, но плодоношение и вегетация у них продолжается дольше. Кроме того, развитие прицветников у них смещено на более поздние стадии морфогенеза, чем у исходной линии. Следовательно, эта мутация является гетерохронной. У Brassicaceae развитие прицветников останавливается в зачаточном состоянии [2]. Структура цветка обычно очень консервативна, но у *A. thaliana* линии *ap1-1* она сильно варьирует, а спектр изменений включает структуру соцветия. Цветки имеют мутовчатый филлотаксис, который приводит к образованию устойчивой системы с повышенной синорганизацией. Поэтому усиление давления прицветников на «меристему цветка» может потревожить филлотаксический рисунок цветка и стать причиной хаотического заложения его элементов [3]. В ходе морфогенеза из-за гетерохронии действие механических сил на «меристему цветков» может усиливаться или ослабевать и таким образом обуславливать поливариантность структуры цветков и соцветий [4].

Выводы: Формирование прицветников в соцветиях мутантов *ap1-1 A. thaliana* свидетельствует о том, что их развитие смещается с эмбриональной стадии на более поздние стадии морфогенеза. У *ap1-1* развитие прицветников смещается на более поздние стадии морфогенеза. Это инициирует смещение во времени развития органов цветка. Следовательно, мутация *ap1-1 A. thaliana* является

гетерохронной, а цветки и прицветники в соцветии представляют единую трансформационную серию. По-видимому, одной из функций гена *APETALA 1* является регуляция морфогенеза элементов внутри соцветия. Учитывая спектр изменений, обусловленных мутацией *ap1-1* можно предположить, что ген *APETALA 1* обуславливает сепарацию элементов внутри цветка и внутри соцветия.

Floral boundaries are sliding inside of inflorescences *Arabidopsis thaliana* with mutation of the gene *APETALA1-1*

Kharchenko V.*

FSBEI HE «Lugansk state agrarian university named after K.E. Voroshilov», Lugansk, LNR, Russia

* viktoriakharchenko@rambler.ru

Key words: *Arabidopsis*; *APETALA 1*; inflorescence; flower, heterochrony

Motivation and Aim: The gene *APETALA1* (*AP1*) encodes a putative transcription factor that acts locally to determine the identity of the floral meristem and determines sepal and petal development. It is part of the well-known ABC model of genetic control of floral organs, which is based on an analysis of the phenotypic variability of *Arabidopsis thaliana* mutants, including *apetala 1-1* (*ap1-1*) [1]. Despite the detailed study of *AP1* gene composition and its expression patterns, there are still questions related to its function. For a complete understanding of the mechanism of genetic influence, it is useful to find out what morphogenetic changes are responsible for the observed spectrum of variability? In *AP1* mutants, not only the perianth is transformed, but the whole structure of the flower and inflorescence, which cannot be explained by the action of a local gene. This work focuses on analysing phenotypic effects in *ap1-1* mutants of *A. thaliana* in order to clarify the function of the *AP1* gene.

Methods and Algorithms: Plants of *A. thaliana* ecotype Landsberg were used for the studies. Plant seeds were obtained from the Nottingham Arabidopsis Genetic Storage Center. The *ap1-1* mutation is recessive and has No.28 in the NASC catalog. The *ap1-1* line was obtained at Wageningen University, Maarten Koornneef's group (by exposing seeds of the line Landsberg *erecta* (*Ler*) to ethyl methanesulfonate (EMS). According to the description of the phenotype of line *ap1-1* in the NASC catalog, this strong allele causes homeotic transformation of sepals (first turn) into bracts, many secondary and tertiary flowers are formed in the axils of transformed sepals; petals (second turn) are usually absent, but are sometimes replaced by stamens or by a mosaic resembling petals-stamens-bracts. The phenotype changes at the base of the inflorescence and at low temperatures, flowers have stronger transformations that weaken in the acropetal direction. Phenotypic variability of *A. thaliana* was studied in the laboratory of light culture at the Department of Plant Biology of Lugansk State Agrarian University and in the laboratory of natural flora of the Botanical Garden of the Institute of the Far East Branch of the Russian Academy of Sciences (Vladivostok). Seed stratification was carried out at +4 °C for 3 days. Plants were cultivated at +20...+23 °C, under 24-hour illumination of about 6000 lux. The phenotypes of both lines were analysed according to the following criteria: number of root rosette leaves (nrlMS), number of main shoot leaves (nlMS), main shoot height (hMS), the total number of flowers per plant (nfP), number of days from planting to flowering initiation (PF), number of days from planting to fruiting initiation (PFR), growing season (PV), number of flowers per inflorescence

(flowering units) on the main shoot (nfUFMS), main shoot inflorescence length (LUFMS), main shoot inflorescence density (pUFMS), length of first-order lateral shoot developing from the axil of the upper stem leaf (1. 1Lls), the length of the inflorescence at its apex (Luf1.1ls) and the number of flowers on it (nf1.1ls). Microscopes MBS-1, MBS-10 (with lenses $\times 8$, $\times 20$ and eyepieces $\times 7$, $\times 10$, $\times 15$), Biolam M-1 at the State Educational Institution of Higher Professional Education LNR LSAU, and Axioplan b Stemii microscope at the Botanical Garden-Institute of the Far East Branch of the Russian Academy of Sciences were used to analyze the location of floral rudiments at the inflorescence apex. The shoot structure was analyzed based on the fractal approach. For this purpose, shoots were conditionally subdivided into homologous transformation series. Statistical analysis was performed in STATISTICA program using ANOVA tests. The analysis of variance was used to compare the variants, the results of which were evaluated by Fisher's F-criterion and the strength of the influence of factors calculated by the Plokhinsky method.

Results: In the course of these studies, plants of the *ap1-1* mutant line of *A. thaliana* showed a number of phenotypic differences from the original line *Ler*. In particular, *ap1-1* plants have smaller inflorescence height and length, but with a greater number of glabrous flowers, and they develop a partially bracteose inflorescence thyrus or pleiotyrus (multiple thyrus), in contrast to the ebracteose tassel characteristic of plants of the original *Ler* lineage. Flowers of *Ler* are disymmetrical, with double perianth, while in *ap1-1* flowers are glabrous (or with fragments of perianth), the elements in them can be arranged spirally, supratrophically, or whorled. New flowers or inflorescence axes may form at the same level as the stamens. Plants of the *ap1-1* mutant line flower earlier, but their fruiting and vegetation last longer; in addition, the development of bracts is shifted to later stages of morphogenesis than in the original line. This initiates a time shift in the development of flower organs. Consequently, this mutation is heterochronic. In *ap1-1*, bract development is shifted to later stages of morphogenesis. In Brassicaceae, the development of bracts stops in infancy. Flower structure is usually very conservative, but in *A. thaliana* line *ap1-1* it is highly variable, and the spectrum of variation includes inflorescence structure [2]. Flower structure is usually very conservative, but in *ap1-1* it is highly variable, and the spectrum of variation includes inflorescence structure. Flowers have whorled phyllotaxis, which results in a stable system with increased syn-organization. Therefore, increased pressure of bracts on the “flower meristem” may disturb the phyllotactic pattern of the flower and cause chaotic lying of its elements [3]. During morphogenesis, due to heterochrony, the action of mechanical forces on the “flower meristem” can strengthen or weaken and thus determine the polyvariance structure of flowers and inflorescences [4].

Conclusion: The formation of bracts in inflorescences of *ap1-1* mutants of *A. thaliana* indicates that their development shifts from the embryonic stage to later stages of morphogenesis. In *ap1-1*, bract development is shifted to later stages of morphogenesis. This initiates a shift in the timing of flower organ development. Consequently, the *ap1-1* mutation of *A. thaliana* is heterochronic, and the flowers and bracts in the inflorescence represent a single transformation series. Apparently, one of the functions of the *APETALA 1* gene is the regulation of morphogenesis of elements within the inflorescence. Given the spectrum of changes caused by the *ap1-1* mutation, it can be assumed that the *APETALA 1* gene is responsible for the separation of elements within the flower and within the inflorescence.

Список литературы/References

1. Bowman J.L., Smyth D.R., Meyerowitz E.M. The ABC model of flower development: then and now. *Development*. 2012;139(22):4095-4098. doi 10.1242/dev.083972
2. Kwiatkowska D. Flowering and apical meristem growth dynamics. *J Exp Bot*. 2008;59:187-201
3. Endress P.K. Development and evolution of extreme synorganization in angiosperm flowers and diversity: a comparison of Apo ynaceae and Orchidaceae. *Ann Bot*. 2016;117:749-767
4. Ronse De Craene L. The interaction between heterochrony and mechanical forces as main driver of floral evolution. *J Plant Res*. 2024. doi 10.1007/s10265-024-01526-3