

УДК 575.164

ВЛИЯНИЕ ГЕНА *ABRUPTUS/PINOID* НА ПРОЯВЛЕНИЕ ГОМЕОЗИСНЫХ МУТАЦИЙ *APETALA 3-1* И *PISTILLATA-1* У *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) HEYNH.

У.Н. Кавай-оол*, Т.А. Ежова

(кафедра генетики, e-mail: dr.urana@mail.ru)

Приведены результаты анализа структуры цветка одиночных мутантов *abr*, *ap3-1* и *pi-1* и двойных мутантов *abr ap3-1* и *abr pi-1* *Arabidopsis thaliana*. Выявлено повышение экспрессивности мутаций *ap3-1* и *pi-1* на фоне мутации *abr*, нарушающей транспорт ауксина. В отличие от цветков родительских мутантных растений, которые имели тычинки в нашем эксперименте, в базальных цветках двойных мутантов тычинки отсутствовали. Предполагается, что аномалии в распределении ауксина в клетках могут нарушать программу развития тычинок, которая запускается аллелями *ap3-1* и *pi-1*, сохраняющими остаточную функцию при выращивании растений в условиях 21–24°.

Ключевые слова: развитие цветка, гомеозисные мутанты, транспорт ауксина, *Arabidopsis thaliana*.

Развитие органов цветка начинается с этапа определения типа органов и следующего за ним этапа разметки их положения [1] — процесса, связанного с транспортом ауксина, создающим локальные участки концентрации этого гормона [2]. У модельного растения *A. thaliana* важную роль в контроле транспорта ауксина играет ген *ABRUPTUS/PINOID* (*ABR/PID*), кодирующий серин-треаниновую протеинкиназу [3], которая фосфорилирует выносящий ауксин из клетки белок PIN1, играющий основную роль в создании градиента ауксина [4, 5]. Мутации в гене *ABR/PID* не изменяют тип органов, но приводят к аномалиям органотаксиса [6, 7] и распределения ауксина в тканях растения [8]. Тип органов цветка *A. thaliana* определяется экспрессирующимися в перекрывающихся участках флоральной меристемы гомеозисными генами ABC-классов [9]. Продукты генов А-класса *APETALA1* (*API*) и *AP2* детерминируют развитие чашелистиков и, взаимодействуя с продуктами генов В-класса (*AP3* и *PISTILLATA* (*PI*)), лепестков. Ген С-класса *AGAMOUS* (*AG*) детерминирует репродуктивные органы внутренних мутулов, причем при развитии тычинок белок AG взаимодействует с белками AP3 и PI. Нарушение функции генов В-класса приводит к замене круга лепестков на дополнительный круг чашелистиков, а также к замене тычинок на плодолистики. У температурочувствительного мутанта *ap3-1* эти замены наблюдаются только при повышенной температуре 25°, а при более низкой в III мутовке образуются фертильные тычинки, которые могут иметь лишь некоторые признаки плодолистиков [10]. Задачей данной работы было

изучение взаимодействия гена *ABR* с генами *AP3* и *PI* на основе анализа фенотипа двойных мутантов.

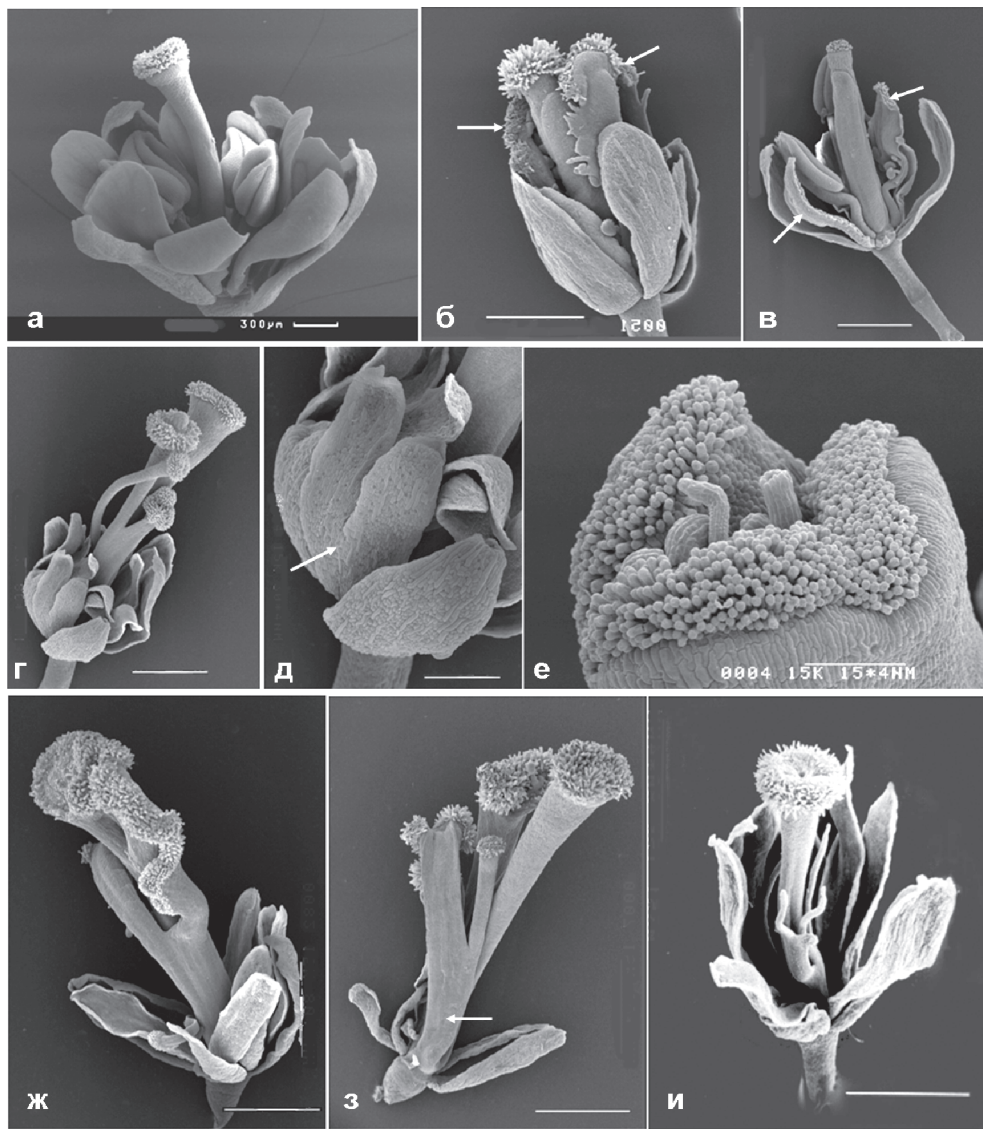
Объект и методы исследования

В работе использовали растения, гомозиготные по температурочувствительной мутации *abr* (линия К-150 из коллекции кафедры генетики МГУ, полученная на основе расы Dijon-M), а также линии, содержащие мутации *ap3-1* из Института генетики растений (Гатерслебен, Германия) и *pi-1* (линия CS77 из коллекции ABRC), которые скрещивали с растениями расы Dijon-M и мутантом *abr*. Двойные мутанты выделяли в поколениях F₂ и F₃. Описывали структуру базальных цветков (с 1-го по 5-й). Растения выращивали в условиях теплицы при температуре 21–24°.

Результаты и обсуждение

Околоцветник у двойных мутантов *abr ap3-1* и *abr pi-1* имеет признаки обоих родителей. Как и у мутанта *abr* (рисунок, а), органы I мутовки (чашелистики) могут отличаться по размеру — встречаются редуцированные и, наоборот, слитые у основания крупные чашелистики (рисунок, г, д), число которых в среднем выше (4,0), чем у родителя *abr* (1,8) (таблица). II мутовка также состоит из чашелистиков, как и у мутантов *ap3-1* и *pi-1* (рисунок, б, в, г, д, и), но их размер и количество органов II мутовки выше, чем у *abr* (7,2 и 8,5 в среднем у двойных мутантов *abr ap3* и *abr pi-1* соответственно; у мутанта *abr* — 5,7 лепестков, таблица). Часто

* Тувинский государственный университет, 667000, г. Кызыл, ул. Ленина, д. 36; Учреждение Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской Академии наук, 119991, Москва, ул. Губкина, д. 3.



Особенности строения цветка у одиночных мутантов *abr*, *ap3-1*, *pi-1* и двойных мутантов *abr ap3-1* и *abr pi-1* *A. thaliana*:

а — цветок мутанта *abr*, имеющий 4 чашелистика, 8 лепестков, 6 тычинок и один палочковидный пестик; **б** — цветок мутанта *pi-1*, состоящий из двух мутовок чашелистиков и двух мутовок плодолистиков (плодолистики III мутовки отмечены стрелками; плодолистики IV мутовки образуют нормальный пестик); **в** — цветок мутанта *ap3-1*, имеющий околоцветник из чашелистиков (чашелистик II мутовки отмечен стрелкой слева), в III мутовке 3 тычинки (одна удалена) и 1 тычинко-плодолистик (стрелка справа), в центре — пестик из 2 плодолистиков; **г, д** — цветок двойного мутанта *abr pi-1*, состоящий из двух мутовок чашелистиков (на рисунке **д**, при более крупном увеличении стрелкой отмечены чашелистики, слитые у основания), в III и IV мутовках — палочковидные пестики, слитые у основания в III мутовке (**г**); **е** — верхушка пестика (IV мутовка, с недоразвитыми семязпочками) двойного мутанта *abr pi-1*; **ж, з** — цветки двойного мутанта *abr pi-1*, состоящие из двух мутовок чашелистиков и двух мутовок палочковидных пестиков; эти органы могут сливаться у основания (**з**, стрелка), а также сливаться с органами IV мутовки (**ж**); **и** — цветок двойного мутанта *abr ap3-1*, состоящий из двух мутовок чашелистиков, филламентов в III мутовке и палочковидным пестиком в центре.

На рисунках **б, в, г, ж, и** бары соответствуют 800 мкм; на рисунках **а, д** — 300; **е, з** — 150, 1000 мкм соответственно

органы II мутовки двойных мутантов сгруппированы попарно и располагаются строго напротив каждого чашелистика I мутовки, что собственно очень часто мы наблюдали у мутанта *abr* (в цветках с 8 лепестками, рисунок, **а**).

В III мутовке у двойных мутантов в базально расположенных цветках тычинки не развивались (таблица), хотя у всех родительских форм при 21–24° эти органы встречались. У мутанта *abr* все органы III мутовки были представлены тычинками, хотя их среднее число было ниже (3,0), чем у растений дикого типа (5,3). У мутантов *ap3-1* и *pi-1* при данных условиях 64 и 14% органов III мутовки соответственно также были тычинками (таблица). У двойного мутанта *abr ap3-1* 82% органов III мутовки были представлены филламентами (рисунок, **и**), а 18% — палочковидными пестикоподобными структурами, причем общее число органов в III мутовке было примерно таким же, как у *abr* (таблица). Только в апикально расположенных цветках III мутовки у двойного мутанта *abr ap3-1* появлялись тычинки, которые составляли 18% от всех органов. У двойного мутанта *abr pi-1* в III мутовке 27% органов представлены филламентами, а 73% — палочковидными пестикоподобными структурами (рисунок, **ж**).

В I мутовке, как и у дикого типа, у мутанта *ap3-1* формируется пестик из двух плодолистиков (рисунок, **в**). У мутанта *pi-1* в IV мутовке также 2 плодолистика (рисунок, **б**), однако часто (особенно в апикально расположенных цветках) наблюдается срастание плодолистиков III и IV мутовок.

У двойных мутантов, как и у *abr*, в IV мутовке плодолистики присутствуют очень редко. Вместо них развиваются палочковидные пестикоподобные или стеблепо-

добные структуры (рисунок, **г, ж, з, и**). Доля плодолистиков в цветках мутанта *abr* составляла величину 0,5, у двойных мутантов это значение намного ниже (таблица). В целом для органов III и IV мутовок двойных мутантов плодолистики — редкость;

Процент встречаемости органов цветка разного типа
и общее число органов I, II, III и IV мутовок мутантов *A. thaliana*

Мутовка	Генотип					
	Dijon-M	<i>abr</i>	<i>ap3-1</i>	<i>abr ap3-1</i>	<i>pi-1</i>	<i>abr pi-1</i>
I Чашелистики	4,0 100%	1,8 100%	4,0 100%	4,4 100%	4,0 100%	3,8 100%
II Лепестки Чашелистики*	4,0 100% 0%	5,7 100% 0%	4,0 0% 100%	7,2 0% 100%	4,0 0% 100%	8,5 0% 100%
III Тычинки Тычинко-плодолистики** Плодолистики Палочковидные пестики Филаменты	5,3 100% 0% 0% 0% 0%	3,0 84% 0% 0% 0% 16%	4,3 64% 33% 0% 0% 3%	2,8 0% 0% 0% 18% 82%	4,4 14% 0% 32% 0% 54%	2,9 0% 0% 0% 73% 27%
IV Плодолистики	2,0 100%	0,5 100%	2,0 100%	0,01 100%	2,0 100%	0,06 100%

Примечание. В левой колонке каждого генотипа — среднее число органов в каждой мутовке; в правой колонке — % органов каждого типа; * — чашелистики II мутовки более крупные по размеру, но более тонкие, чем органы I мутовки; ** — тычинки с тканями плодолистиков (рыльцевая ткань, семяпочки) считали тычинко-плодолистиками.

в большинстве это следы оставшихся органов (семяпочечная ткань или филаменты семяпочек, аномальные семяпочки, рисунок, е) или присутствие рыльцевой ткани на центральном палочковидном пестике, что характерно для родителя *abr* (рисунок, а). Часто центральный пестик двойных мутантов (как и у мутанта *pi-1*) сливается с латеральными палочковидными пестикоподобными органами III мутовки, образуя подобие мантии (рисунок, з).

Таким образом, основной характеристикой цветка двойного мутанта являются не количественные изменения органов, а изменение их типа в III мутовке. Вместо тычинок, которые образовывались у *abr*, а также тычинок и тычинко-плодолистиков, которые образовывались у температурочувствительных мутантов *ap3-1* и *pi-1*, у двойных мутантов

образовывались филаменты или филаменты с рыльцевой тканью. Влияние мутации *abr* на экспрессивность мутаций *ap3-1* и *pi-1* свидетельствует о том, что ген *ABR* участвует в развитии тычинок вместе с генами *AP3* и *PI*. Ранее было показано, что ауксин играет важную роль в развитии тычинок. У мутантов с нарушением синтеза ауксина снижено число тычинок и их развитие нарушено [11]. Снижение числа тычинок характерно и для мутанта *abr* [12]. По-видимому, нормальное распределение ауксина по клеткам флоральной меристемы, которое осуществляется под контролем гена *ABR/PID*, является важным условием реализации генетической программы развития тычинок, которая запускается под действием генов В-класса *AP3* и *PI*. Среди генов, контролирующих развитие тычинок, имеются и регулируемые ауксином (например, ген *DRNL*, имеющий три регулируемых ауксином элемента AREs [13]). Снижение их активности может приводить к нарушению развития тычинок, которое наблюдается у мутантов *ap3-1* и *pi-1* при выращивании растений в условиях пониженной температуры.

* * *

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (грант № 10-04-00859-а) и федеральной целевой программой “Ведущие научные школы” (грант НШ-3293.2010.4)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеев Д.В., Ежова Т.А., Козлов В.Н., Кудрявцев В.Б., Носов М.В., Пенин А.А., Скрябин К.Г., Чуб В.В., Шестаков С.В., Шульга О.А. Определение типа и положения органов цветка: динамическая модель развития // Изв. РАН. Сер. биол. 2006. № 6. С. 645—659.
2. Benková E., Michniewicz M., Sauer M., Teichmann T., Seifertová D., Jürgens G., Friml J. Local, efflux-dependent auxin gradients as a common module for plant organ formation // Cell. 2003. Vol. 115. P. 591—602.
3. Christensen S.K., Dagenais N., Chory J., Weigel D. Regulation of auxin response by the protein kinase PINOID // Cell. 2000. Vol. 100. P. 469—478.
4. Michniewicz M., Zago M.K., Abas L., Weijers D., Schweighofer A., Meskiene I., Heisler M.G., Ohno C., Zhang J., Huang F., Schwab R., Weigel D., Meyerowitz E.M., Luschnig C., Offringa R., Friml J. Antagonistic regulation of PIN phosphorylation by PP2A and PINOID directs auxin flux // Cell. 2007. Vol. 130. P. 1044—1056.
5. Zhanga J., Nodzyńska T., Pěnčík A., Rolčík J., Friml J. PIN phosphorylation is sufficient to mediate PIN polarity and direct auxin transport // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010. Vol. 107. N 2. P. 918—922.
6. Bennett S.R.M., Alvarez J., Bossinger G., Smyth D.R. Morphogenesis in *pinoid* mutants of *Arabidopsis thaliana* // Plant. J. 1995. Vol. 8. P. 505—520.
7. Ежова Т.А., Ондар У.Н., Солдатова О.П., Кузнецова Т.В. Изучение роли гена *ABRUPTUS* в дифференцировке цветоносов у *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. // Докл. АН. 1997. Т. 354. № 6. С. 839—842.
8. Кавай-оол У.Н., Ежова Т.А. Анализ распределения ауксина в растениях дикого типа и мутанта *abruptus Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. с использованием химерного

гена *DR5::GUS* // Вест. Моск. ун-та. Сер. Биология. 2010. № 3. С. 17—19.

9. Coen E.S., Meyerowitz E.M. The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development // Nature. 1991. Vol. 353. N 6339. P. 31—37.

10. Bowman J.L., Smyth D.R., Meyerowitz E.M. Genes directing flower development in *Arabidopsis* // Plant Cell. 1989. Vol. 1. P. 37—52.

11. Cheng Y., Xinhua D., Yunde Zhao. Auxin biosynthesis by the YUCCA flavinmonooxygenases controls the for-

mation of floral organs and vascular tissues in *Arabidopsis* // Genes and Development. 2006. Vol. 20. P. 1790—1799.

12. Кавай-оол У.Н., Карпенко О.Ю., Ежова Т.А. Взаимодействие генов *ABRUPTUS/PINOID* и *APETALA1* в регуляции развития цветоноса *Arabidopsis thaliana* // Генетика. 2010. Т. 46. № 3. С. 373—382.

13. Nag A., Yang Y., Jack T. Dornroschen-like, an *AP2* gene, is necessary for stamen emergence in *Arabidopsis* // Plant Mol. Biol. 2007. Vol. 65. P. 219—232.

Поступила в редакцию
01.06.10

**THE INFLUENCE OF *ABRUPTUS/PINOID* GENE
ON THE EXPRESSIVITY OF *ARABIDOPSIS THALIANA* HOMEOTIC
MUTATIONS *APETALA 3-1* AND *PISTILLATA-1* (L.) HEYNH.**

U.N. Kavai-ool, T.A. Ezhova

We characterized the floral structure of single mutants *abr*, *ap3-1* and *pi-1* and double mutants *abr ap3-1* and *abr pi-1* of *Arabidopsis thaliana*. The increasing of *ap3-1* and *pi-1* expressivity on the background of *abr* mutation, which altered auxin transport, was detected. Unlike parental mutants, which developed stamens in our experiment, the double mutants were not able to form stamens in the basal flowers. It is assumed that the anomalies in the distribution of auxin in the cells can disrupt the program of development of stamens, which turn on by alleles *ap3-1* and *pi-1*, retaining residual function when plants are grown under conditions of 21—24°C.

Key words: *flower development, homeotic mutations, auxin transport, Arabidopsis thaliana.*

Сведения об авторах

Кавай-оол Урана Николаевна — канд. биол. наук, докторант Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН. Тел. 8(495)939-05-67; e-mail: dr.urana@mail.ru

Ежова Татьяна Анатольевна — докт. биол. наук, проф. кафедры генетики биологического факультета МГУ. Тел. (495)939-54-90, 8(915)313-93-64; e-mail: ezhova2001@mail.ru