

УДК 575.164

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ГЕНА *FASCIATA5* В РЕГУЛЯЦИИ РАЗВИТИЯ ЦВЕТКА *ARABIDOPSIS THALIANA*

© 2015 г. А. В. Альберт*, У. Н. Кавай-оол**, Т. А. Ежова*

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
119992, Москва, ул. Ленинские Горы, ГСП1

**Тувинский государственный университет
667000, Кызыл, ул. Ленина, 36

E-mail: ezhova2001@mail.ru

Поступила в редакцию 18.07.2014 г.
Окончательный вариант получен 28.08.2014 г.

Выявление новых генов, принимающих участие в контроле инициации цветения и развития цветка, представляет собой важную задачу генетики развития растений. Центральным подходом для ее решения является изучение мутантов с изменениями данных признаков. В работе исследовано влияние плейотропной мутации *fasciata5 Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. на время перехода на репродуктивную стадию и развитие цветка. Путем анализа двойных мутантов выявлены взаимодействия гена *FASCIATA5* с генами *LEAFY*, *APETALA1* и *APETALA2*, инициирующими образование флоральной меристемы. Полученные результаты свидетельствуют о важной роли гена *FASCIATA5* в позитивной регуляции этих генов.

Ключевые слова: генетический контроль развития цветка, *Arabidopsis thaliana*, мутанты, гены *LFY*, *AP1*, *AP2*, гомеозисные гены, геновые взаимодействия.

DOI: 10.7868/S0475145015010048

ВВЕДЕНИЕ

Переход к цветению растений *A. thaliana* находится под контролем нескольких групп генов. Первая группа инициирует переход к репродуктивному развитию и выметывание цветonoса. Вторая контролирует детерминацию флоральной меристемы (“метаморфоз” побеговой меристемы во флоральную), а третья – определение типа органов в мутовках цветка. Ключевыми генами второй группы являются гены *LEAFY* (*LFY*) и *APETALA1* (*AP1*), которые кодируют транскрипционные факторы и взаимно активируют экспрессию друг друга (Pajogo et al., 2014).

Мутанты *lfy* характеризуются полной трансформацией базальных цветков в разветвленные побегоподобные структуры (Schultz and Haughn, 1991; Huala and Sussex, 1992; Weigel et al., 1992). В то же время, апикальные цветки демонстрируют разную степень побегоподобности в зависимости от аллеля. Растения *lfy-1* (сильный аллель) образует стерильные апикальные цветки с нормальным гинееем, листоподобными структурами вместо чашелистиков и полным отсутствием лепестков и тычинок (Schultz and Haughn, 1991). Апикальные цветки слабых аллелей способны образовывать тычинки и лепестки, хотя их число

снижено (Huala and Sussex, 1992). Ген *LFY* вносит определенный вклад и в контроль первой стадии инициации цветения, на что указывает некоторая задержка образования цветonoса у мутантов *lfy* (Blázquez et al., 1997; Mizukami and Ma, 1997) и присутствие среди прямых мишеней белка *LFY* генов, контролирующих инициацию цветения (Winter et al., 2011).

Цветки мутантов *ap1* также проявляют отдельные признаки побега – внешние органы могут располагаться по спирали, а не в виде мутовки, и в их пазухах активируются меристемы, из которых развиваются цветки второго порядка с теми же характеристиками (Irish and Sussex, 1990; Bowman et al., 1993). У двойных мутантов *lfy ap1* цветки трансформированы в побеги в еще большей степени, чем у одиночных мутантов (Weigel et al., 1992; Bowman et al., 1993). Вместо цветков у них развиваются побегоподобные структуры с вытянутыми междоузлиями и активными пазушными почками, в узлах развиваются листоподобные структуры, часть которых демонстрирует отдельные черты плодолистиков (Huala and Sussex, 1992).

Некоторый вклад в формирование флоральной меристемы вносит ген *AP2*. Об этом свидетельствует проявление побегоподобности цвет-

ков (формирование почек в пазухах органов первой мутовки) в условиях короткого дня (Okamoto et al., 1997), а также усиление побегоподобности цветков при объединении мутации *ap2* с мутациями *ap1* или *lfy* (Irish and Sussex, 1990; Huala and Sussex, 1992).

Ген *AP2*, как и ген *AP1*, относят также и к генам третьей группы, которые детерминируют тип органов цветка и подразделяются на классы А, В и С в зависимости от выполняемой функции. *AP1* и *AP2* выполняют функцию генов класса А, определяющих тип органов околоцветника (Bowman et al., 1989; Irish and Sussex, 1990). Об участии генов в развитии околоцветника свидетельствует изменение структуры цветка. Мутанты *ap1* образуют брактеи вместо чашелистиков, характеризуются отсутствием или недоразвитием лепестков и уменьшением числа органов второй и третьей мутовки (Irish and Sussex, 1990; Bowman et al., 1993). У мутантов *ap2* чашелистики превращаются в плодolistикоподобные структуры (у аллелей с высокой экспрессивностью) или брактеи или карпеллоидные брактеи (у аллелей с низкой экспрессивностью), вместо лепестков развиваются тычинки и уменьшается число органов цветка (Kunst et al., 1989). Снижение числа органов и карпеллоидность органов околоцветника у мутантов *ap2* обусловлены расширением зоны экспрессии гена *AGAMOUS* (*AG*), контролирующего формирование генеративных органов цветка (ген класса С) и терминацию флоральной меристемы, поскольку ген *AP2* ограничивает область экспрессии *AG* (Drews et al., 1991).

В данной статье исследовано влияние рецессивной мутации *fas5* *A.thaliana* из коллекции кафедры генетики МГУ на развитие цветка. Мутация *fas5* характеризуется развитием фасциации, нарушением филлотаксиса и рядом других морфологических нарушений стебля и розетки, описанных ранее (Альберт и др., 2015). Задачей данной работы был анализ влияния мутации *fas5* на переход к цветению и развитие цветка и изучение взаимодействий гена *FAS5* с ключевыми генами, влияющими на этот процесс *LFY*, *AP1*, *AP2*. Для этого нами был проведен анализ двойных мутантов, полученных от скрещивания мутанта *fas5* с мутантом *lfy-10*, с аллельными мутантами с разной экспрессивностью *ap1-1* и *ap1-20* (аллели *AP1*), а также *ap2-14* и *ap2-1* (аллели *AP2*).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Рецессивная мутация *fas5* (линия М-21-1) получена на основе расы Dijon (линия К-1) на кафедре генетики МГУ с помощью химического мутагенеза этилметансульфоната. Для анализа взаимодействия генов использованы мутанты *ap1-20* (линия К-200) и *ap2-14* (линия К-217) из коллекции *A. thaliana* кафедры генетики МГУ, а также

линии *lfy-10* (CS46), *ap1-1* (CS8066) и *ap2-1* (CS8) из Arabidopsis biological Resource Center (ABRC). Мутантные линии *ap1-20* и *ap2-14* получены на основе расы Dijon, как и линия *fas5*. Аллельные мутации *ap1-1* и *ap1-20* различаются по степени экспрессивности мутантного признака: *ap1-1* представляет собой жесткий, хотя и не нулевой аллель (Irish and Sussex, 1990; Bowman et al., 1993), а делеционный аллель *ap1-20* имеет низкую экспрессивность (Ондар и др., 2008). Аллели *ap2-1* и *ap2-14* также различаются по степени экспрессивности. Аллель *ap2-1* имеет низкую экспрессивность (Bowman et al., 1989), а *ap2-14* является нуль-аллелем (Penin, Logacheva, 2011). Мутация *lfy-10* имеет низкую экспрессивность (Weigel et al., 1992).

Поскольку мутантные линии из ABRC получены на ином, чем *fas5*, генетическом фоне, проводили их скрещивания с расой Dijon, после чего их скрещивали с мутантом *fas5* для получения двойных мутантов. Растения выращивали в смеси почвы и песка (2 : 1) в условиях теплицы на длинном дне. Для анализа динамики перехода на репродуктивную стадию развития измеряли длину цветоноса 25 растений мутанта и дикого типа (расы Dijon) и число листьев розетки. Анализ числа и типа органов проводили на цветках, расположенных в базальной (с 1-го по 5-ый цветок), средней (6–10 цветки) и апикальной (11–15 цветки) части цветоноса 15 растений дикого типа и мутанта *fas5*. Документирование цветков проводили с использованием световой микроскопии и сканирующей электронной микроскопии как описано ранее (Альберт и др., 2015).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Переход к цветению и морфология цветка мутанта fas5

Выброс цветоноса у растений мутанта *fas5* происходит на 34–35-й день после прорастания семян, т.е. на 5–6 дней раньше, чем у растений дикого типа, которые начинают выбрасывать цветонос только на 39–40-й день после прорастания (рис. 1а). Число листьев розетки, которое позитивно коррелирует с временем инициации цветения, у мутанта *fas5* также снижено (4.7 ± 0.6) относительно дикого типа (8.2 ± 0.7). Число вегетативных узлов цветоноса у *fas5* несколько увеличено относительно дикого типа (в среднем 5.7 ± 1.0 у *fas5* и 3.6 ± 0.7 у дикого типа). Однако это различие не достоверно и, по-видимому, является следствием фасциации у мутантов *fas5*, т.е. слияния нескольких стеблевых осей. Об этом свидетельствует зависимость числа вегетативных узлов от степени выраженности фасциации: у мутантных растений с ярко выраженной фасциацией число вегетативных узлов составляет 13.0 ± 4.3 . Таким образом, сниженное число розеточных листьев и

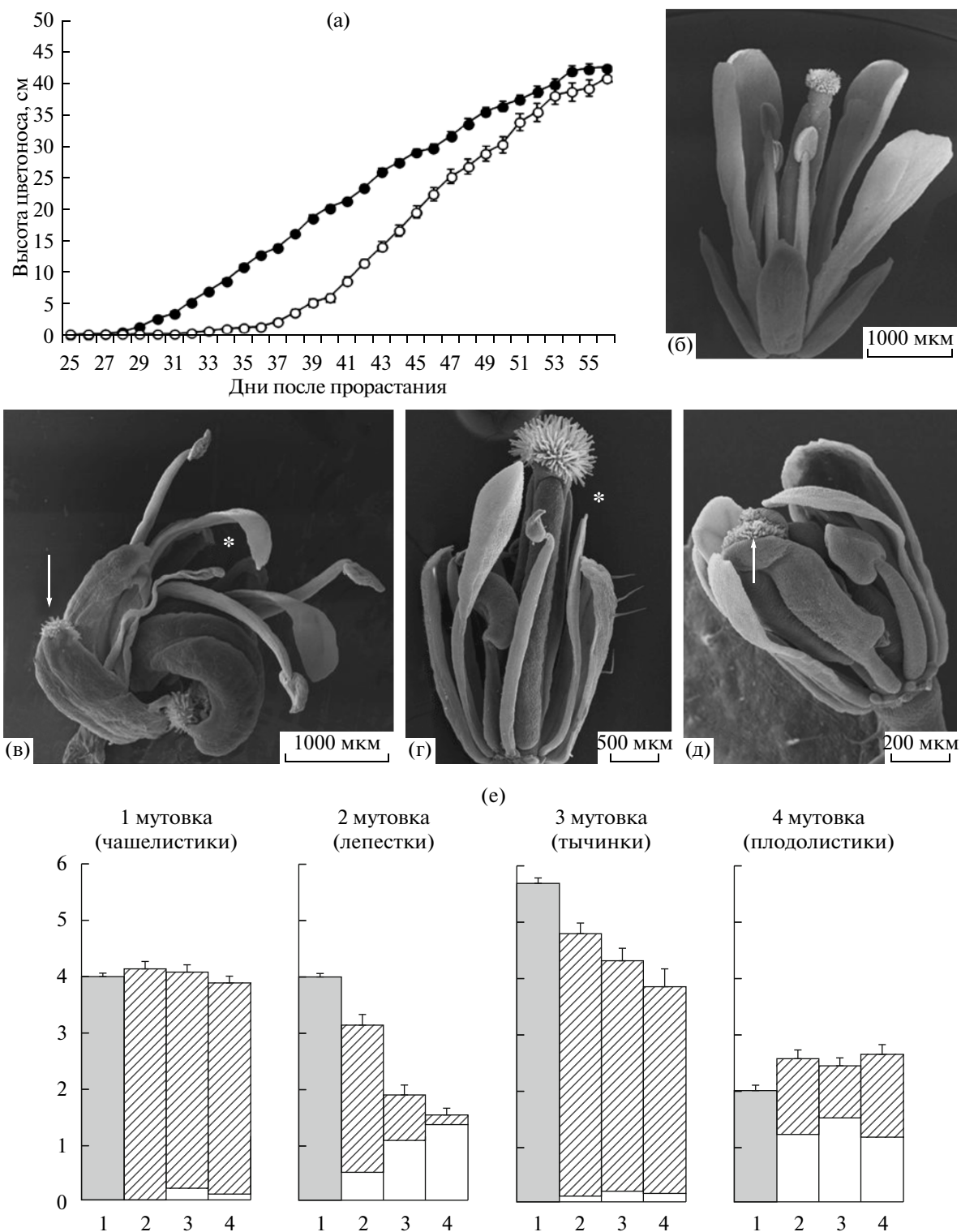


Рис. 1. Динамика перехода на репродуктивную стадию и особенности структуры цветка мутанта *fas4*: (а) — динамика роста цветоноса у растений мутанта *fas4* (черные кружки) и дикого типа (светлые кружки); (б) — цветок дикого типа; (в–д) — цветки мутанта *fas4* (на рис. (в) стрелкой отмечена рыльцевая ткань на верхушке чашелистика, на рис. (в, г) — звездочки указывают на филаментоподобные/узкие лепестки, на рис. (д) стрелка указывает на карпеллоидную тычинку); (е) — характеристика типа и среднего числа органов в 1–4-ой мутовках цветка дикого типа (1) и мутанта *fas4* из базальной (2), средней (3) и апикальной (4) частей цветоноса (представлены средние значения числа всех органов мутовки с ошибками; белым цветом показана доля аномальных органов — в 1-ой мутовке это карпеллоидные чашелистики, во 2-ой — узкие и филаментоподобные лепестки, в 3-ей — карпеллоидные тычинки, в 4-ой — несросшиеся плодолистики); для дикого типа представлены суммарные значения числа органов цветков трех частей цветоноса.

ускоренный выброс цветоноса говорит о более раннем переходе мутанта *fas5* на репродуктивную стадию развития и свидетельствует об участии гена *FAS5* в негативной регуляции генов, контролирующих инициацию цветения.

Цветки линии *fas5* отличаются от цветков растений дикого типа (рис. 1б) изменениями морфологии и числа органов (рис. 1в–1е). Чашелистики мутанта часто имеют морфологию схожую с плодолистиками – закругленная форма, образование по краям выростов, напояющих семяпочки, иногда образование на верхушке рыльцевой ткани (рис. 1в, стрелка). Размер и форма лепестков у *fas5* варьируют, часто формируются суженные или филоментоподобные лепестки (рис. 1в, 1г, звездочки). Число лепестков снижено относительно дикого типа (рис. 1е). В 3-ей мутовке наряду с тычинками нормальной морфологии встречаются химерные органы – карпеллоидные тычинки, у которых на верхушке образуется рыльцевая ткань (рис. 1д, стрелка), что особенно характерно для коротких тычинок. Число плодолистиков выше, чем у дикого типа (рис. 1е). Пестик имеет крупное рыльце, часто наблюдается неполное срастание плодолистиков (рис. 1в, 1е), их деформация, а также бифуркация пестика. Мутант характеризуется пониженной фертильностью – только 40% цветков способны завязать семена.

Характерной особенностью мутанта *fas5* является возрастание степени нарушений от базальных цветков к апикальным (рис. 1е). Число органов во 2-ой и 3-ей мутовке *fas5* уменьшается у апикальных цветков в сравнении с базальными (рис. 1е). Доля химерных органов в 1-ой мутовке (карпеллоидные чашелистики) и 3-ей мутовке (карпеллоидные тычинки) при этом не отличается у базальных и апикальных цветков. От базальной части соцветия к апикальной увеличивается доля узких филометообразных лепестков (рис. 1е), а также усиливается степень морфологических нарушений плодолистиков – в апикальных цветках они часто сильно увеличены относительно базальных и имеют изогнутую форму (как на рис. 1в). Для растений дикого типа, в отличие от мутанта *fas5*, различий в структуре цветков от положения на цветоносе не наблюдается (на рис. 1е представлены суммарные значения числа органов цветков трех частей цветоноса). Таким образом, мутация *fas5* вызывает ускорение образования цветоноса, а также изменения структуры цветка, среди которых наиболее яркими являются проявления карпеллоидности чашелистиков и тычинок и увеличение числа плодолистиков.

Взаимодействие с геном *LFY*

Растения мутанта *lfy-10* на генетическом фоне расы Dijon характеризуются небольшой задержкой выметывания цветоноса, что вызывает неко-

торое, хотя и недостоверное, увеличение числа листьев розетки (10.6 ± 1.3) по сравнению с расой Dijon (8.2 ± 0.7). На цветоносе одиночного мутанта образуется значительно больше вегетативных узлов с брактелями (18.5 ± 3.3), чем у растений расы Dijon (3.6 ± 0.7). Растения двойного мутанта *fas5 lfy-10* формируют цветонос в среднем на 10 дней раньше, чем одиночный мутант *lfy-10*, и почти одновременно с растениями *fas5* (рис. 2а). Число листьев розетки у растений одиночного мутанта *fas5* (4.93 ± 0.78) и двойного мутанта *fas5 lfy-10* (5.9 ± 0.8) отличается незначительно. Таким образом, переход двойных мутантов *fas5 lfy-10* к выбросу цветоноса происходит практически одновременно или с небольшой задержкой относительно одиночного мутанта *fas5*. Это данные свидетельствуют о возможном участии гена *FAS5* в негативной регуляции генов, контролирующих переход растений на репродуктивную стадию развития.

Базальные цветки одиночного мутанта *lfy-10* полностью превращаются в побегоподобные структуры, в то время как апикальные трансформированы частично, способны формировать небольшое число лепестков и тычинок (рис. 2б). Число плодолистиков у *lfy-10* не изменено, и растения способны образовывать семена, хотя фертильность таких цветков снижается относительно дикого типа. В отличие от *lfy-10*, растения двойного мутанта полностью стерильны. Это обусловлено тем, что все (и базальные, и апикальные) цветки двойного мутанта *fas5 lfy-10* трансформируются в ветвящиеся побегоподобные структуры, не способные образовывать генеративные органы (рис. 2в, 2г). Известно, что стерильность характерна для жестких аллелей *lfy* (нуль-аллелей). Например, растения *lfy-1* также формируют побегоподобные структуры вместо базальных цветков и лишь частично трансформированные в побег апикальные цветки, хотя и полностью лишенные лепестков и тычинок и полностью стерильные (Schultz and Naughn, 1991). Полная трансформация цветков в побегоподобные структуры у мягкого аллеля *lfy-10* при объединении с мутацией *fas5*, свидетельствует о важной роли гена *FAS5* в поддержании функции гена *LFY*.

Взаимодействие с генами *AP1* и *AP2*

На генетическом фоне расы Dijon у мутантов *ap1-1* и *ap1-20*, различающихся по степени экспрессивности мутантного признака, внутренние мутовки представлены тычинками и плодолистиками, а внешние органы цветка представлены в основном брактелями, в пазухе которых развиваются цветки второго порядка. Число органов во 2-ой мутовке существенно снижено, но у обоих мутантов среди них наблюдались редкие лепестки или лепестковидные органы (рис. 3а, 3б) в апи-

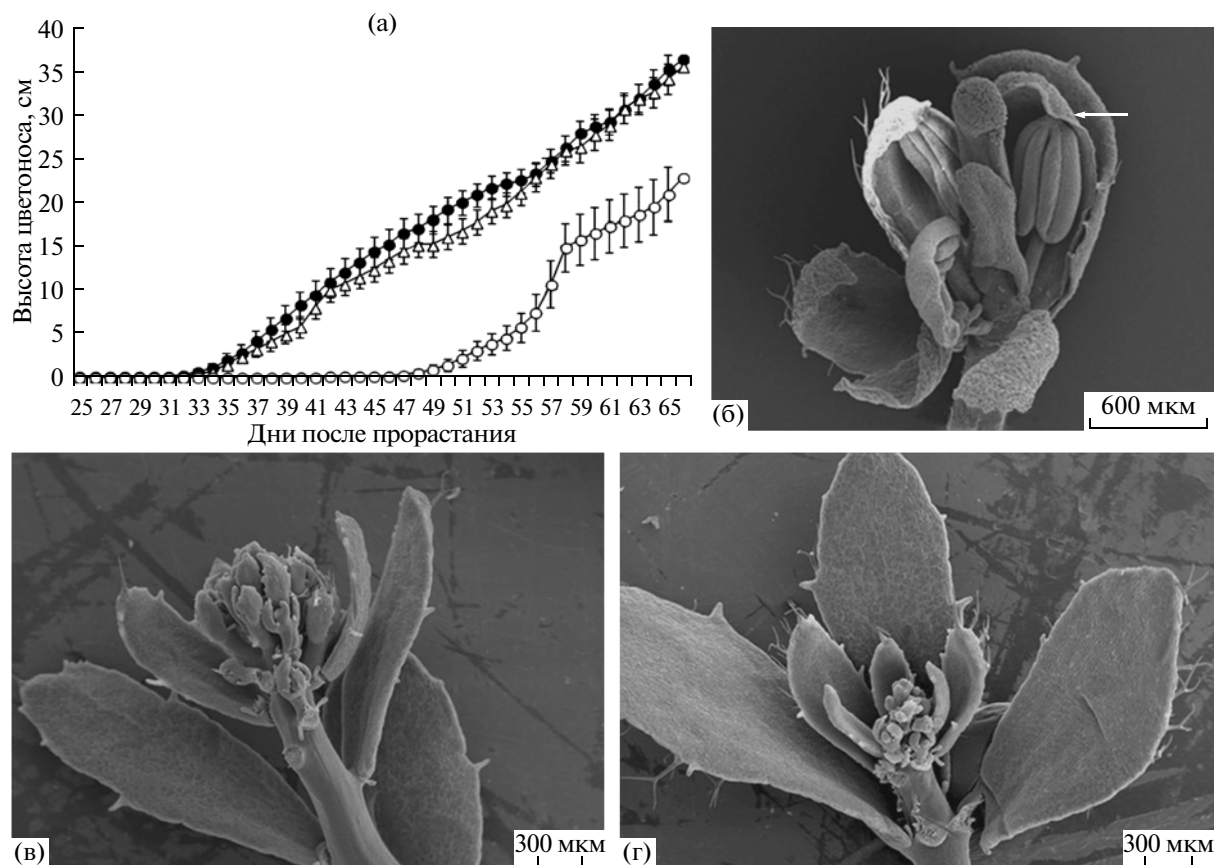


Рис. 2. Динамика перехода на репродуктивную стадию растений одиночных мутантов *lfy-10* и *fas5* и двойного мутанта *fas5 lfy-10* и особенности структуры цветка мутанта *lfy-10* и *fas5 lfy-10*: (а) — динамика изменения высоты цветоноса у растений (*fas4* — черные кружки, *lfy-10* — белые кружки, *fas5 lfy-10* — треугольники); (б) — апикальный цветок *lfy-10* (видны тычинки и отмеченный стрелкой лепесток), (в, г) — соответственно, апикальные и базальные латеральные органы цветоноса двойного мутанта *fas5 lfy-10*.

кальных цветках (Ондар и др., 2008; Кавай-оол и др., 2010).

Внешние органы цветка (особенно в базальных цветках) у двойных мутантов *fas5 ap1-1* и *fas5 ap1-20* представлены стеблевыми листьями (рис. 3в), которые существенно крупнее, чем брактеи у *ap1-1* и *ap1-20*, длина которых никогда не превышает длину гинцея (рис. 3а, 3б). В цветках, расположенных в средней и апикальной части цветоноса, органы первого круга *fas5 ap1-20* часто образуют рыльцевую ткань на верхушке и выросты по краям, напоминающие семязпочки (рис. 3д, 3е), что более характерно для мутантов *ap2*, чем *ap1*. Апикальные цветки характеризуются сильной редукцией всех типов органов, кроме плодolistиков, число которых, наоборот, увеличивается.

В цветках *fas5 ap1-20* (особенно базальных) в отличие от обеих родительских форм иногда наблюдается растяжение междуузлий между мутновками и/или между отдельными органами цветка, из-за чего органотаксис принимает ярко-выраженный спиральный характер, типичный для побега. В отличие от цветков мутанта *ap1-1*, у кото-

рого спиральное листорасположение наблюдается только для органов внешнего круга (брактей), у двойного мутанта *fas5 ap1-1* могут растягиваться и междуузлия между тычинками. Таким образом, двойные мутанты *fas5 ap1-1* и *fas5 ap1-20* демонстрируют усиление экспрессивности одиночных мутаций *ap1*.

Усиление побегоподобности характерно и для двойного мутанта *fas5 ap2-1*. Побегоподобность проявлялась в спиральном расположении внешних органов цветка, частичной трансформации органов второй мутновки (лепестко-тычинок, рис. 3в) в листоподобные органы (рис. 3ж). Более того, в пазухах листоподобных органов наружной мутновки у *fas5 ap2-1*, как и у двойных мутантов *fas5 ap1-1* и *fas5 ap1-20*, могли развиваться дополнительные цветки (рис. 3з, 3и), чего не наблюдается у родительских форм (*fas5* и *ap2-1*). Встречаются цветки и с растяжениями между пестиком и остальными органами. Апикальные цветки двойного мутанта *fas5 ap2-1* состоят из одних плодolistикоподобных органов (рис. 3к), которые напоминают цвет-

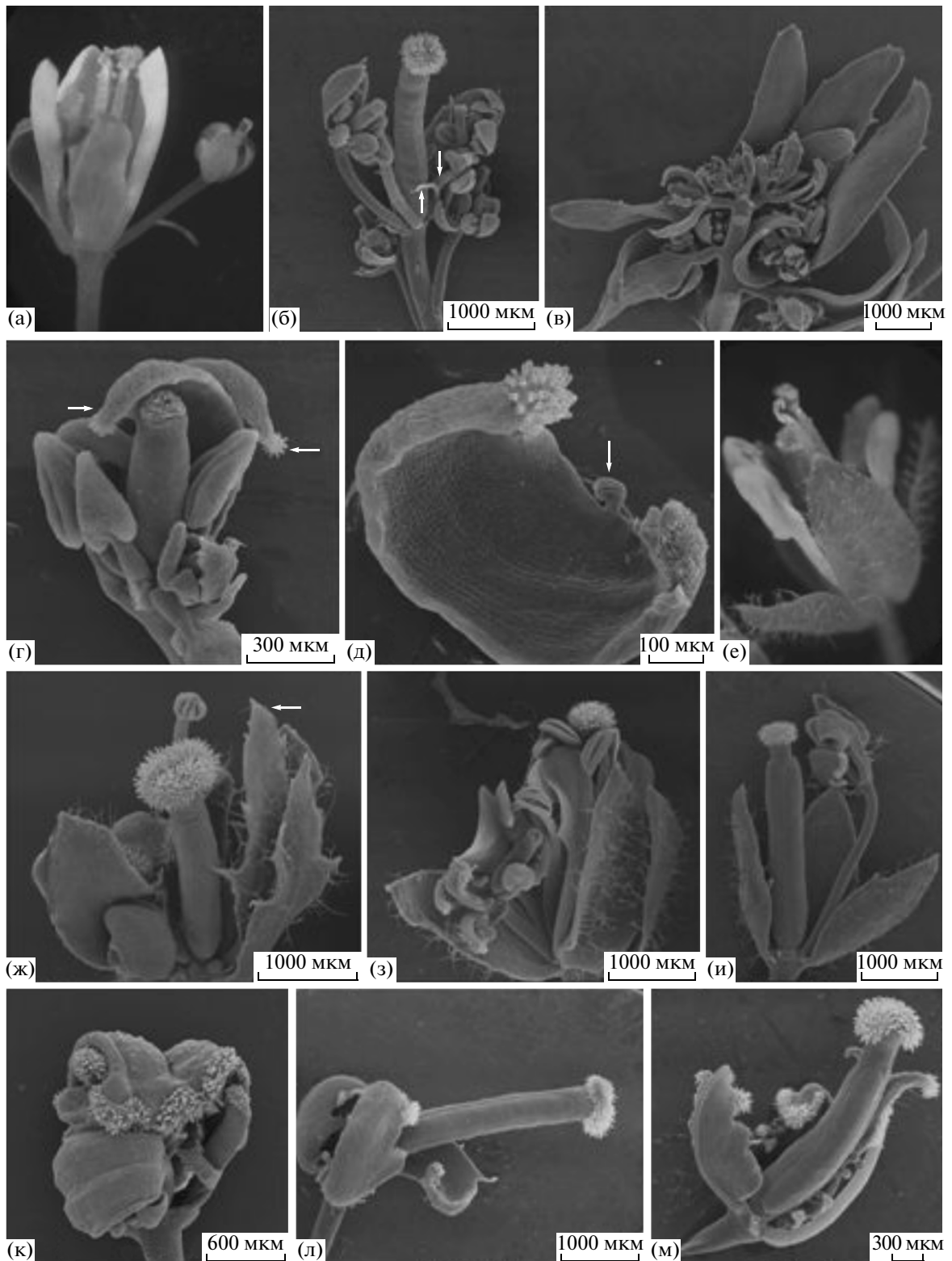


Рис. 3. Структура цветка одиночных мутантов *ap1-20*, *ap1-1*, *ap2-1* и *ap2-14* и двойных мутантов *fas5 ap1-20*, *fas5 ap1-1*, *fas5 ap2-1* и *fas5 ap2-1*: (а, б, е, л) – цветки одиночных мутантов *ap1-20*, *ap1-1*, *ap2-1* и *ap2-14*, соответственно (на рис. (б) стрелками показаны филоментоподобный и узкий лепесток); (в) – двойной мутант *fas5 ap1-1* (наружные органы всех цветков окружены крупными листьями); (г) – цветок двойного мутанта *fas5 ap2-1* с карпеллоидными чашелистиками (стрелки указывают на рыльцевую ткань); (д) – карпеллоидный чашелистик *fas5 ap2-1* с семечкой (стрелка); (ж–и) – цветки двойного мутанта *fas5 ap2-1* с латеральными цветками (на рис. (ж) видны листоподобные листья во второй мутовке, стрелка); (к) – апикальный цветок *fas5 ap2-1*, состоящий из одних плодолистиков; (м) – цветок двойного мутанта *fas5 ap2-14*.

ки одиночных мутантов *ap2* с высокой экспрессивностью (см. рис. 3л).

Двойной мутант *fas5 ap2-14* имеет цветки, которые отличаются от цветков одиночного мутанта *ap2-14* только характерным для *fas5* нарушением срастания плодolistиков. Как и у одиночного мутанта *ap2-14* (рис. 3л) в цветках двойного мутанта *fas5 ap2-14* вместо чашелистиков развиваются карпеллоидные структуры (рис. 3м), лепестки отсутствуют, а одиночные тычинки встречаются очень редко и только в базально расположенных цветках. Число плодolistиков в пестике соответствует таковому у одиночного мутанта *fas5*. Таким образом, на фоне мутации *fas5* в апикальных цветках наблюдается усиление экспрессивности мутации *ap2-1*, а также появление побегоподобности цветков слабого мутантного аллеля *ap2-1*, но не нуль-аллеля *ap2-14*.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования выявили влияние мутации *fas5* на время перехода растений на репродуктивную стадию и морфогенез цветка. Ускорение перехода на репродуктивную стадию развития у мутанта *fas5* проявляется в уменьшении числа листьев розетки и более раннем выметывании цветоноса, чем у растений дикого типа. Более того, мутация *fas5* ускоряет развитие цветоноса у мутанта *lfy-10*, который на фоне расы Dijon характеризуется некоторой задержкой перехода на репродуктивную стадию. Ускорение развития цветоноса у одиночного мутанта *fas5* и двойного мутанта *fas5 lfy-10* можно объяснить активацией под влиянием мутации *fas5* генов, инициирующих этот процесс, но не самого гена *LFY*, поскольку в этом случае выявленного усиления экспрессивности мутации *lfy-10* у двойного мутанта не должно было наблюдаться.

Усиление экспрессивности мягкого аллеля *lfy-10* на фоне *fas5* проявлялось в виде полной трансформации цветков в побегоподобные структуры. Такой фенотип двойного мутанта *fas5 lfy-10* свидетельствует о важной роли гена *FAS5* в поддержании функции гена *LFY*. Трансформация цветков в разветвленные вегетативные структуры характерна для двойных мутантов *lfy ap1*, где инактивированы оба ключевых для развития флоральной меристемы гена (Weigel et al., 1992; Huala and Sussex, 1992). Следовательно, действие гена *FAS5* на стадиях инициации цветения и развития флоральной меристемы разнонаправлено. Ген *FAS5* задерживает переход на репродуктивную стадию развития (выметывание цветоноса), но после образования цветоноса он способствует образованию флоральной меристемы, активируя экспрессию гена *LFY*. По-видимому, на стадии перехода к развитию цветоноса мишенью *FAS5* является не ген *LFY*, который вносит некоторый вклад в инициацию

цветения (Blázquez et al., 1997; Winter et al., 2011), а другие гены, действующие независимо от *LFY*.

Проявление более высокой экспрессивности мутаций *ap1-1* и *ap1-20* на фоне мутации *fas5*, которая выражалась в усилении побегоподобности цветков у двойных мутантов *fas5 ap1-20* и *fas5 ap1-1* свидетельствует о том, что ген *FAS5* участвует в позитивной регуляции гена *AP1* и поддерживает остаточную активность мутантных аллелей *ap1-20* и *ap1-1* в растениях одиночных мутантов. Как показано выше, замена цветков на побеги характерна для двойного мутанта *fas5 lfy-10*, что также указывает на позитивную регуляцию *LFY* со стороны *FAS5*. Поскольку между *LFY* и *AP1* существует взаимная позитивная регуляция (Pajero et al., 2014), мишенью *FAS5* может быть один из этих генов. Т.е. активация *AP1* может быть опосредована влиянием гена *FAS5* на экспрессию гена *LFY* или же, наоборот – активация *LFY* может быть опосредована влиянием гена *FAS5* на экспрессию *AP1*.

Мутация *fas5* приводила также к усилению экспрессивности мутации *ap2-1*, что выражалось в развитии апикальных цветков, которые состояли из одних плодolistиков, что характерно для нуль-аллелей *ap2*. Эти данные указывают на участие *FAS5* в поддержании экспрессии гена *AP2*. Вместе с тем, мутация *fas5* приводила к развитию дополнительных цветков в пазухах внешних органов и развитию листьев во второй мутровке в некоторых цветках мутанта *ap2-1* (но не нуль-аллеля *ap2-14*). Дополнительные цветки в пазухах внешних органов цветка мутанта *ap2-1* ранее наблюдали в условиях короткого дня (Okamoto et al., 1997), поэтому появление этого признака у мутанта *ap2-1* на фоне мутации *fas5* может указывать на участие *FAS5* в контроле фотопериодического сигнала. Возможно также, что появление у двойного мутанта признаков, характерных для мутантов *ap1*, связано со снижением уровня экспрессии *AP1* и/или *LFY* на фоне мутации *fas5*. В пользу этого предположения свидетельствует побегоподобность цветков у двойных мутантов *fas5 lfy-1*, *fas5 ap1-20* и *fas5 ap1-1* (см. выше), а также описанное ранее усиление побегоподобности цветков у мутантов *ap2 ap1* и *ap2 lfy* (Irish and Sussex, 1990; Huala and Sussex, 1992).

Отсутствие признаков побегоподобности в цветках двойного мутанта *fas5 ap2-14* является, по-видимому, результатом усиления активности гена *AG* при полном отсутствии активности гена *AP2*, который является негативным регулятором *AG* (Drews et al., 1991; Krogan et al., 2012). Ген *AG* играет центральную роль в терминации флоральной меристемы путем подавления экспрессии гена *WUS*, поддерживающего пул стволовых клеток в апикальной меристеме побега и в меристеме цветка (Lenhard et al., 2001). По-видимому, отсутствие экспрессии гена *WUS* объясняет отличие фенотипа двойного мутантов *fas5 ap2-14* от *fas5 ap2-1*.

Аналогичное снижение побегоподобности цветков наблюдали у двойного мутанта *ap1-1 ap2-2*, несущего сильные мутантные аллели двух генов А-касса, по сравнению с двойным мутантом *ap1-1 ap2-1*, у которого аллель *ap2-1* частично функционален (Bowman et al., 1993).

Анализ взаимодействий с генами *LFY*, *AP1* и *AP2* свидетельствует о важной роли гена *FAS5* в контроле развития флоральной меристемы. Формальный анализ фенотипа двойных мутантов дает основания для предположения, что ген *FAS5* позитивно регулирует экспрессию всех трех генов *LFY*, *AP1* и *AP2*. Между этими генами существуют взаимодействия, поэтому пока не ясно, зависят ли все три гена от активности гена *FAS5*, или же ген *FAS5* оказывает влияние только на один из них, который затем влияет на экспрессию остальных.

Функция гена *FAS5* важна не только для инициации перехода на репродуктивную стадию развития и развития (детерминации) флоральной меристемы, но и для формирования органов цветка. Структура цветка мутанта *fas5* похожа на вызванную мутациями *lug*, *seu*, *slk*, вызывающими эктопическую экспрессию *AG* (Conner and Liu, 2000; Bao et al., 2010). Уменьшение числа лепестков и тычинок, а также возникновение химерных карпеллоидных органов (чашелистиков и тычинок) у мутанта *fas5* также может являться следствием роста активности *AG*. Возможно, ген *FAS5*, также как и гены *LUG*, *SEU* и *SLK* ограничивают уровень и место экспрессии гена *AG*. В пользу такого предположения свидетельствует не только изменение структуры цветка, но и признаки карпеллоидности на стеблевых листьях, появление на стебле у мутанта *fas5* рыльцевой ткани и даже структур, похожих на семяпочки (Альберт и др., 2015). Такая регуляция может осуществляться и опосредованно, через активацию негативных регуляторов *AG*, к которым относятся как вышеперечисленные гены, так и ген класса А *AP2* и некоторые другие гены (Liu et al., 2009).

Представленные результаты, также как и результаты ранее проведенных исследований, свидетельствуют о плейотропном эффекте мутации *fas5* на развитие побега *A. thaliana*. Ранее показано, что мутация *fas5* увеличивает объем апикальной меристемы побега и приводит к фасциации стебля, изменяет форму листовой пластинки и вызывает аномальную пролиферацию клеток на стебле. Кроме того, мутация изменяет морфологию клеток поверхности листовой пластинки (в том числе, клеток, образующих трихомы) и апикальной меристемы побега, что указывает на эктопическую эндоредупликацию ДНК в клетках мутанта (Альберт и др., 2015). В данной работе выявлено влияние мутации *fas5* на время перехода растений на репродуктивную стадию и морфогенез цветка. Эти исследования расширяют представления о функции гена *FAS5* и показывают, что

ген *FAS5* играет комплексную роль в развитии побега, начиная с ювенильной стадии, на которой формируются листья розетки, и заканчивая стадией развития цветка.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проект № 13-04-00122_a). Электронномикроскопические и морфологические исследования мутантов выполнены на оборудовании ЦКП МГУ и ЦКП Тувинского ГУ при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Альберт Е.В., Кавай-оол У.Н., Ежова Т.А. Плейотропный эффект мутации *fas5* на развитие побега *Arabidopsis thaliana* // Онтогенез. 2015. Т. 46. № 1. С. 13–21.
- Кавай-оол У.Н., Куприянова Е.В., Ежова Т.А. Различное влияние аллелей гена *APETALA1* на развитие репродуктивных органов в цветках мутанта *abruptus Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh // Онтогенез. 2011. Т. 42. № 4. С. 307–311.
- Ондар У.Н., Бу Х.Ч., Ежова Т.А. Новый делеционный мутант *apetala1-20 Arabidopsis thaliana* // Онтогенез. 2008. Т. 39. № 6. С. 430–436.
- Bao F., Azhakanandam S., Franks R.G. SEUSS and SEUSS-LIKE transcriptional adaptors regulate floral and embryonic development in *Arabidopsis* // Plant Physiol. 2010. V. 152 (2). P. 821–836.
- Blázquez M.A., Soowal L.N., Lee I., Weigel D. *LEAFY* expression and over initiation in *Arabidopsis* // Development. 1997. V. 124. P. 3835–3844.
- Bowman J.L., Alvarez J., Weigel D. Control of over development in *Arabidopsis thaliana* by *APETALA1* and interacting genes // Development. 1993. V. 119. P. 721–743.
- Bowman J.L., Smyth D.R., Meyerowitz E.M. Genes directing flower development in *Arabidopsis* // Plant Cell. 1989. V. 1. P. 37–52.
- Conner J. and Liu Z. *LEUNIG*, a putative transcriptional corepressor that regulates *AGAMOUS* expression during flower development // PNAS U S A. 2000. V. 97 (23). P. 12902–12907.
- Drews G.N., Bowman J.L., Meyerowitz E.M. Negative regulation of the *Arabidopsis* homeotic gene *AGAMOUS* by the *APETALA2* product // Cell. 1991. V. 65. P. 991–1002.
- Huala E. and Sussex I.M. *LEAFY* Interacts with floral homeotic genes to regulate *Arabidopsis* floral development // Plant Cell. 1992. V. 4. P. 901–913.
- Irish V.F. and Sussex I.M. Function of the *apetala-1* gene during *Arabidopsis* floral development // Plant Cell. 1990. V. 2. P. 741–753.
- Krogan N.T., Hogan K., Long J.A. *APETALA2* negatively regulates multiple floral organ identity genes in *Arabidopsis* by recruiting the co-repressor *TOPLESS* and the histone deacetylase *HDA19* // Development. 2012. V. 139 (22). P. 4180–4190.

- Kunst L., Klenz J.E., Martinez-Zapater J. and Haughn G.W. *AP2* gene determines the identity of perianth organs in flowers of *Arabidopsis thaliana* // Plant Cell. 1989. V. 1. P. 1195–1208.
- Lenhard M., Bohnert A., Jürgens G., Laux T. Termination of stem cell maintenance in *Arabidopsis* floral meristems by interactions between *WUSCHEL* and *AGAMOUS* // Cell. 2001. V. 105 (6). P. 805–814.
- Liu C., Thong Z., Yu H. Coming into bloom: the specification of floral meristems // Development. 2009. 136, 3379–3391.
- Mizukami Y., Ma H. Determination of *Arabidopsis* floral meristem identity by *AGAMOUS* // Plant Cell. 1997. V. 9 P. 393–408.
- Okamoto J.K., Szeto W., Lotys-Prass C., Jofuku K.D. Photo and hormonal control of meristem identity in the *Arabidopsis* flower mutants *apetala2* and *apetala1* // Plant Cell. 1997. V. 9 (1). P. 37–47.
- Pajoro A., Biewers S., Douglis E. et al. The (r)evolution of gene regulatory networks controlling *Arabidopsis* plant reproduction; a two decades history // Journal of Experimental Botany. 2014. doi: 10.1093/jxb/eru233
- Penin A.A., Logacheva M.D. Correlation between number and position of floral organs in *Arabidopsis* // Annals of Botany. 2011. V. 108. P. 123–131.
- Schultz E.A., Haughn G.W. *LEAFY*, a Homeotic Gene That Regulates Inflorescence Development in *Arabidopsis* // Plant Cell. 1991 V. 3. P. 771–781.
- Weigel D., Alvarez J., Smyth D.R. et al. *LEAFY* controls floral meristem identity in *Arabidopsis* // Cell. 1992. V. 69. P. 843–859.
- Winter C.M., Austin R.S., Blanvillain-Baufumé S. et al. *LEAFY* target genes reveal floral regulatory logic, cis motifs, and a link to biotic stimulus response // Dev. Cell. 2011. V. 20. P. 430–443.

Studying the Role of *FASCIATA5* Gene in the Regulation of Flower Development in *Arabidopsis thaliana*

E. V. Albert^a, U. N. Kawai-ool^b and T. A. Ezhova^a

^a Moscow State University, Moscow, 119992 Russia

^b Tuva State University, ul. Lenina 36, Kyzyl, 667000 Russia

e-mail: ezhova2001@mail.ru

Received July 18, 2014; in final form, August 28, 2014

Identification of new genes involved in the control of flower initiation and development, is an important problem of the plant developmental genetics. Central approach to solve it is the study of mutants with changes in these characters. The effect of pleiotropic mutation *fasciata5* on the transition to the reproductive stage and flower development was studied. By analyzing double mutants we identified interactions of *FASCIATA5* gene with *LEAFY*, *APETALA1* and *APETALA2*, which control the floral meristem identity. The results indicate an important role of gene *FASCIATA5* in upregulation of these genes.

Keywords: genetic control of floral development, *Arabidopsis thaliana*, mutants, genes *LFY*, *API*, *AP2*, homeotic genes, gene interactions