



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Novel role of the AT-HOOK MOTIF NUCLEAR LOCALIZED 15 gene in Arabidopsis meristem activity and longevity

Rahimi, A.

Citation

Rahimi, A. (2020, September 1). *Novel role of the AT-HOOK MOTIF NUCLEAR LOCALIZED 15 gene in Arabidopsis meristem activity and longevity*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/136334>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/136334>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/136334> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Rahimi, A.

Title: Novel role of the AT-HOOK MOTIF NUCLEAR LOCALIZED 15 gene in Arabidopsis meristem activity and longevity

Issue Date: 2020-09-01

Samenvatting

De architectuur van planten kent verschillende vormen in verschillende plantensoorten. Maar ook binnen één soort wordt de uiteindelijke architectuur van een plant bepaald door de geleidelijke ontwikkeling en veranderingen daarin veroorzaakt door omgevingsfactoren tijdens de levenscyclus van de plant. Hogere planten kunnen tijdens hun leven voortdurend nieuwe organen en weefsels aanmaken. Dit unieke vermogen wordt geleverd door stamcellen die in zogenaamde meristemen georganiseerd zijn. Primaire meristemen aan de apicale uiteinden van de plant verzorgen de lengtegroei van de plant, terwijl secundaire meristemen in laterale posities een rol spelen bij vertakking en verdikking. Deze meristeemactiviteit leidt tot de ontwikkeling van stengels, bladeren, takken en bloeiwijzen. **Hoofdstuk 1** van dit proefschrift bespreekt de huidige kennis van de moleculaire mechanismen die de meristemen in planten en hun ontwikkelingsfaseovergangen reguleren. Tijdens post-embryonale ontwikkeling worden twee belangrijke faseovergangen onderscheiden. Na ontkieming begint de ontwikkeling van de plant met de juveniele zaailingfase en tijdens de overgang van de juveniele naar volwassen vegetatieve fase (1) verwerft de plant reproductieve competentie, waardoor de plant vervolgens de vegetatieve naar reproductieve faseovergang kan ondergaan (2). De reproductieve fase eindigt met gametogenese. Het scheut apicale meristeem (SAM) staat bekend als de belangrijkste regulator van deze ontwikkelingsfaseovergangen. Maar ook het belang van de axillaire meristemen (AMn) in de oksels van bladeren wordt besproken, omdat AMn de secundaire scheuten (vertakkingen) vormen en bepalend zijn voor de levensduur van de plant. **Hoofdstuk 1** bespreekt ook de procambium- en cambiummeristemen, die via asymmetrische periclinale celdelingen de belangrijkste vaatweefsels van planten, xyleem en floëem genereren. De regulerende mechanismen en factoren achter cambium meristeeminitiatie en -dynamiek worden kort beschreven. Na de reproductieve fase en zaadzetting ondergaan monocarpe planten (bloeien slechts één keer) veroudering, wat uiteindelijk tot de dood van de plant leidt. Daarentegen houden polycarpe planten (bloeien meer dan eens) een aantal AMn in de vegetatieve fase, en dit stelt hen in staat om in de daaropvolgende groeicyclus weer uit te groeien en daarmee hun levensduur te verlengen. De structuur en functie van de *Arabidopsis thaliana* (Arabidopsis) *AT-HOOK MOTIF NUCLEAR LOCALIZED* (AHL) genfamilie wordt geïntroduceerd in **hoofdstuk 1**, en die van familielid *AHL15* wordt beschreven en in meer detail bestudeerd in **hoofdstuk 2**. *AHL15* codeert voor een nucleair eiwit met een AT-hook motief in het N-terminale deel en een in planten en prokaryoten geconserveerd (PPC) domein aan het C-terminale uiteinde. Het PPC-domein draagt bij aan fysieke interactie met andere AHL- of nucleaire eiwitten, terwijl het AT-hook motief AT-rijke stukken in het DNA bindt.

In **hoofdstuk 2** laten we een nieuwe rol zien voor *AHL15* als onderdrukker van de maturatie van AMn, zoals blijkt uit de verkorte levensduur van enkelvoudige *ahl15*- of meervoudige *ahl*-verlies-van-functie mutanten. Hoge expressie van *AHL15* onderdrukt daarentegen AM maturatie, wat resulteert in een langere levensduur van monocarpe Arabidopsis en *Nicotiana tabacum* (tabak). Gedetailleerde analyses toonden aan dat *AHL15* essentieel is voor het onderdrukken van AM-rijping in de langlevende en polycarpe Arabidopsis *soc1 ful* dubbelmutant. Zoals verwacht werkt *AHL15* direct stroomafwaarts van de bloeigenen *SOC1* en *FUL* en gedeeltelijk door de biosynthese van het groei- en verouderingshormoon gibberelline te onderdrukken. Een vergelijking van de expressie van de *AHL* genfamilie in Arabidopsis en in de verwante polycarpe soort *Arabidopsis lyrata* liet zien dat de expressie van een aantal *AHL* genen (*AHL15*, *AHL17*, *AHL19*, *AHL20* en *AHL27*) significant hoger was in rozetknoppen van bloeiende *Arabidopsis lyrata*-planten in vergelijking met zaailingen. In Arabidopsis bleek

daarentegen de expressie van dezelfde genen juist laag in AMn en hoger in zaailingen. Dit suggereert dat differentiële regulatie van *AHL* genen in AMn bepalend is voor de langlevendheid en de reproductiestrategie van planten.

Hoofdstuk 3 bespreekt de veroudering bij bloeiende planten gekenmerkt door de verschillende ontwikkelingsfaseovergangen. De overgang van de juveniele naar de volwassen vegetatieve fase, ook wel de vegetatieve faseverandering genoemd, wordt in *Arabidopsis* gemarkeerd door veranderingen in de bladmorphologie, waarbij kleine ronde jonge bladeren zonder abaxiale trichomen veranderen in volwassen bladeren die langwerpig en gekarteld zijn, en trichomen op de onderkant dragen. Tijdens de overgang van het juveniele naar volwassen stadium neemt de expressie van *miR156 / 157* geleidelijk af en die van de *SQUAMOSA-PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE (SPL)* doel genen toe, wat de veroudering van planten bevordert. Een verlies-van-functie *ahl15* mutant liet een vroege vegetatieve faseverandering zien, terwijl hoge expressie van *AHL15* de vegetatieve faseverandering en bloei in *Arabidopsis* en tabak vertraagde. Door *AHL15* onder controle van een SAM-specifieke promotor tot expressie te brengen, kon worden aangetoond dat *AHL15* de vegetatieve faseverandering en bloeitijd kan veranderen door een direct effect op de SAM. *AHL15* bleek de expressie van *SPL* genen onafhankelijk van *miR156 / 157* te onderdrukken, en *SPL* eiwitten bleken op hun beurt de expressie van *AHL* genen te onderdrukken. Er is dus een reciproke negatieve feedback tussen *AHL15* en *SPL* genen. Concluderend hebben we in **hoofdstuk 3** een nieuwe tak van de verouderingsroute in *Arabidopsis* ontdekt, waarin het *AHL15* eiwit de levensduur van de plant verlengt door veroudering onafhankelijk van *miR156 / 157* te onderdrukken. **Hoofdstuk 4** van dit proefschrift focust op het effect van *AHL15* op de vasculaire cambiumactiviteit en de secundaire groei in *Arabidopsis*. Gedetailleerde analyse toonde aan dat in een *ahl15* verlies-van-functie mutant de interfasculaire secundaire groei aanzienlijk is verminderd. Daarentegen leidt overexpressie van *AHL15* tot een opmerkelijke verhoging van secundair xyleemvorming. Een meer gedetailleerde analyse liet zien dat *AHL15* in de cambium-ring tot expressie komt. Cambium-specifieke expressie van *AHL15* onder de *pPXY* promotor resulteerde in een verhoogde vorming van secundair xyleem. Interessant genoeg bleek *AHL15* ook verantwoordelijk te zijn voor de verhoogde houtvorming in de langlevende *soc1 ful* dubbel mutant. Zoals beschreven in **hoofdstuk 2**, staat *AHL15* onder controle van de SOC1 en FUL transcriptiefactoren. Een verdere analyse van het mechanisme verantwoordelijk voor weinig of veel secundair xyleem in respectievelijk *ahl15* verlies-van-functie mutanten of *AHL15* overexpressielijnen toonde aan dat het plantenhormoon cytokinine ook in dit geval als centrale regulator van cambiumactiviteit en secundaire groei functioneert. De expressie van de *IPT* cytokinine biosynthesegenen was laag in de *ahl15* mutant en hoog in *pPXY: AHL15* planten, wat aangeeft dat *AHL15* secundaire xyleemvorming in *Arabidopsis* stimuleert door de cytokininebiosynthese te verhogen. Onze resultaten leggen een nieuw mechanisme voor de regulatie van secundaire groei in planten bloot, waarbij SOC1 en FUL de expressie van *AHL15* onderdrukken, en *AHL15* op zijn beurt de cytokininebiosynthese stimuleert om daarmee cambiumactiviteit en houtvorming in *Arabidopsis*-stengels te bevorderen. Tevens laten we zien dat de SOC1/FUL-AHL15-cytokinine-route ook betrokken is bij de regulering van AM-activiteit.