



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Evolution and development of flowers, fruits and inflorescences of Phalaenopsis and other orchid species

Pramanik, D.

Citation

Pramanik, D. (2023, September 13). *Evolution and development of flowers, fruits and inflorescences of Phalaenopsis and other orchid species*.

Version: Publisher's Version

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

Downloaded from:

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

RINGKASAN

Jumlah spesies anggrek yang sangat banyak mencakup variasi yang sangat besar dalam bentuk bunga dan buah. Keanekaragaman ini telah berevolusi selama 100 juta tahun terakhir sebagai adaptasi terhadap berbagai macam penyerbuk (terutama serangga dan burung) dan penyebar benih (hewan, angin). Beberapa penelitian telah dilakukan tentang evolusi dan perkembangan bunga, buah, dan perbungaan anggrek. Tesis ini berfokus pada peningkatan pengetahuan tentang perkembangan evolusioner dari tiga organ bunga anggrek, zona dehiscensi buah, resupinasi, serta orientasi inflorescens dan lignifikasi.

Transkriptomik telah meningkatkan pemahaman kita tentang bagaimana genom diekspresikan pada tumbuhan dan terus memberikan wawasan baru tentang genom serta ekspresi dan regulasi gen. Pengukuran ekspresi gen pada skala luas genom telah menjadi bagian integral dari banyak penelitian anggrek. Dalam **bab 2**, saya mengulas sejarah singkat analisis transkriptomik. Kemudian saya menjelaskan langkah-langkah dalam persiapan isolasi RNA, persiapan pembuatan pustaka cDNA, sekuensing, dan analisis bioinformatika. Saya juga membahas pendekatan inovatif untuk isolasi RNA standar sebagai metode persiapan sampel potensial untuk mendapatkan RNA spesifik jaringan. Pipeline yang memungkinkan untuk menyusun data transkriptomik menggunakan perakitan *de novo* (*de novo assembly*), perakitan yang dipandu referensi (*reference-guided assembly*), atau pendekatan gabungan dijelaskan dalam bab ini, bersama dengan aplikasi dari pendekatan-pendekatan tersebut.

Meskipun banyak studi evolusi dan perkembangan telah dilakukan pada organ bunga anggrek, angka ini tidak signifikan jika dibandingkan dengan jumlah spesies dan keragaman morfologi yang tinggi pada famili tanaman ini. Saya mempelajari evolusi dan perkembangan kalus, stelidia, dan mentum dengan menggunakan analisis transkriptomik dan mikro-morfologi lanjutan di **bab 3**. Kalus terletak di labellum dan menyediakan pegangan bagi penyerbuk. Stelidia adalah pertumbuhan lateral dari gynostemium yang memposisikan kepala penyerbuk di bawah antera dan di atas kepala putik. Dan mentum terletak di persimpangan gynostemium dan labellum. Mentum berfungsi sebagai engsel, mendorong penyerbuk yang mendarat di bunga melawan antera dan stigma untuk merangsang pemindahan atau penyimpanan pollinia. Untuk bab ini, dipelajari dua spesies berbeda: *Phalaenopsis equestris* dan *P. pulcherrima*. Kedua spesies anggrek ini memiliki bentuk bunga yang sangat berbeda: *P. equestris* memiliki kalus besar, stelidia kecil dan tidak memiliki mentum; *P. pulcherrima* memiliki kalus kecil, stelidia besar dan mentum yang menonjol. Pengamatan ontogenetik menunjukkan bahwa kalus adalah struktur yang paling awal muncul, dan mentum adalah yang terakhir. Analisis ekspresi gen mengungkap

kapkan bahwa ekspresi salinan gen MYB *DIV-2* sesuai dengan perkembangan kalus kecil pada *P. pulcherrima*, dan stelidia pendek dan gynostemium tanpa mentum pada *P. equestris*. Ekspresi salinan gen *AP3-4/AGL6-2* yang ditemukan pada kalus kedua spesies, dan berkas pembuluh di bawah kalus, memastikan asal staminodial dari organ bunga ini. Ekspresi yang lebih tinggi dari salinan gen *AP3* clade 2 dan 4 dan *AGL6* clade 2 dan 3 dan berkas pembuluh dalam stelidia dari kedua spesies mengkonfirmasi asal staminodial dari struktur khusus ini. Berkas pembuluh dari sepal, kelopak dan benang sari ditemukan di mentum *P. pulcherrima*, menunjukkan asal campuran sepaloid-petaloid-staminodial. Penelitian ini mengungkap mekanisme perkembangan evolusioner yang mendorong adaptasi bunga *Phalaenopsis* ke penyerbuk yang berbeda.

Beberapa studi tentang evolusi dan perkembangan buah anggrek telah dilakukan karena siklus hidup yang relatif panjang dan genom yang kompleks. Saya mempelajari evolusi dan perkembangan pembentukan zona dihisensi buah (ZD) di **bab 4** menggunakan model tanaman anggrek yaitu *Erycina pusilla*, yang memiliki zona dihisensi yang terlipidasi. Saya menerapkan gabungan analisis molekuler dan morfologi pada buah *E. pusilla* yang berumur 1 minggu setelah penyerbukan (MSP) dan 3 MSP. Saya juga melakukan analisis Rekonstruksi Karakter Leluhur (RKL/ASR) di lima subfamili anggrek. Buah anggrek yang pecah, dengan orientasi yang tegak, ZD tidak terlignifikasi, dan periode pematangan pendek ditemukan sebagai karakter-karakter leluhur. ZD terlignifikasi pada buah anggrek berevolusi beberapa kali dari ZD yang tidak terlignifikasi, menunjukkan bahwa jalur metabolisme lignin mungkin berasal dari lipid. Ekspresi yang lebih tinggi dari gen biosintesis lipid *EpKCS6*, *EpPDH-E1*, dan *EpMAH1* terdeteksi pada katup buah *E. pusilla* yang berumur 3 MSP. Gen-gen ini mungkin terlibat dalam lipidasi ZD karena gen terkait ZD terlignifikasi, seperti *IND/HEC3* dan *ALC/SPT*, memiliki ekspresi yang rendah dalam jaringan yang sama. Model-genetik yang ada untuk dihisensi buah pada *Arabidopsis thaliana* membutuhkan penyesuaian untuk anggrek, hal ini tidak mengherankan mengingat perbedaan anatomi dan makro-morfologi.

Untuk memastikan keberhasilan pertumbuhan, penyerbukan dan penyebaran benih, organ tanaman seperti akar, daun, perbungaan, bunga, dan buah melakukan resupinasi. Resupinasi adalah proses perputaran dari struktur tanaaman sebesar 180 derajat selama perkembangan tanaman, membawa apa yang akan menjadi bagian basal organ ke atas, dan bagian apikal ke bawah. Kajian resupinasi pada anggrek selama ini difokuskan pada bunga. Pada **bab 5**, saya mempelajari resupinasi akar *E. pusilla* dengan melakukan pemindaian pada bibit dan tanaman dewasa secara mingguan menggunakan pemindaian 3D-CT, selanjutnya hasil pemindaian tersebut digabungkan dalam video yang menunjukkan selang waktu proses resupinasi dengan menggunakan pipeline bioinformatik yang baru. Akar

E. pusilla memutar dan beresupinasi beberapa kali sejak perkembangan awal dan seterusnya, juga berlawanan arah. Slot waktu yang paling optimal untuk memanen jaringan untuk analisis transkriptom akar *E. pusilla* adalah 11 hingga 12 dan 20 hingga 24 minggu setelah perkecambahan. Kami menangkap gerakan dan resupinasi buah *P. equestris* dan *E. pusilla* dengan menggunakan 2D foto. Resupinasi buah anggrek memiliki arah dan derajat torsi yang independen dari posisi awal hingga akhir. Waktu pemanenan yang optimal untuk menangkap gen yang terkait dengan resupinasi buah tampaknya adalah 9 MSP untuk *E. pusilla* dan 20 MSP untuk *P. equestris*.

Karakter anggrek terakhir yang saya pelajari untuk disertasi ini adalah orientasi infloresense. Pada *Phalaenopsis*, orientasi dan lignifikasi infloresense adalah karakter-karakter penting yang menjadi fokus produksi kultivar baru. **Bab 6** menyajikan studi tentang karakter ini dari spesies dan hibrida hortikultura *Phalaenopsis* yang berbeda. Pola filogenetik juga diselidiki untuk mengeksplorasi pengembangan lebih lanjut hibrida hortikultura dengan batang infloresense yang cukup terlignifikasi sehingga tidak memerlukan dukungan tambahan. Dari enam spesies dan 17 hibrida hortikultura yang dipelajari, orientasi infloresense bervariasi dari tegak, agak tegak, melengkung, hingga menggantung. Perbedaan yang signifikan dalam tingkat lignifikasi antara spesies *Phalaenopsis* yang berbeda dan hibrida ditemukan, tidak hanya antara ibu tangkai dan rachis, tetapi juga di antara berbagai posisi infloresense yang dianalisis. Secara topologi, tingkat lignifikasi sesuai dengan usia jaringan: semakin tua jaringan, semakin terlignifikasi. Orientasi tegak berkorelasi positif dengan tingkat lignifikasi yang lebih tinggi pada batang infloresense. Gabungan RKL dan analisis heritabilitas menunjukkan bahwa tingkat lignifikasi adalah karakter yang dapat diwariskan dan bahwa spesies atau hibrida *Phalaenopsis* yang berkerabat dekat memiliki tingkat lignifikasi yang lebih mirip dibandingkan dengan yang berkerabat lebih jauh. Kami merekomendasikan penggunaan *P. viridis* dan *P. "Purple Gem"* sebagai tetua untuk pemuliaan kultivar baru dengan batang infloresense yang tegak dan kokoh sehingga tidak memerlukan dukungan buatan selama perkembangannya.