

GENI DI IDENTITA' MERISTEMATICA

In Arabidopsis a seguito della INDUZIONE FIOREALE



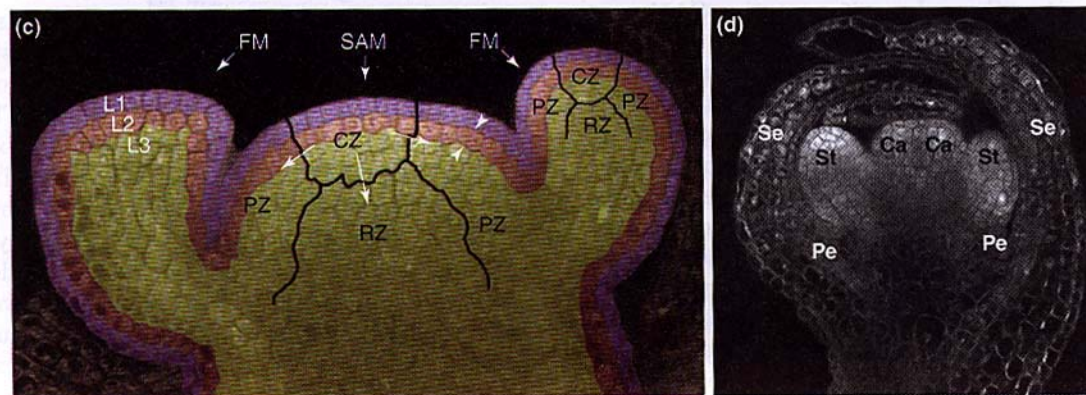
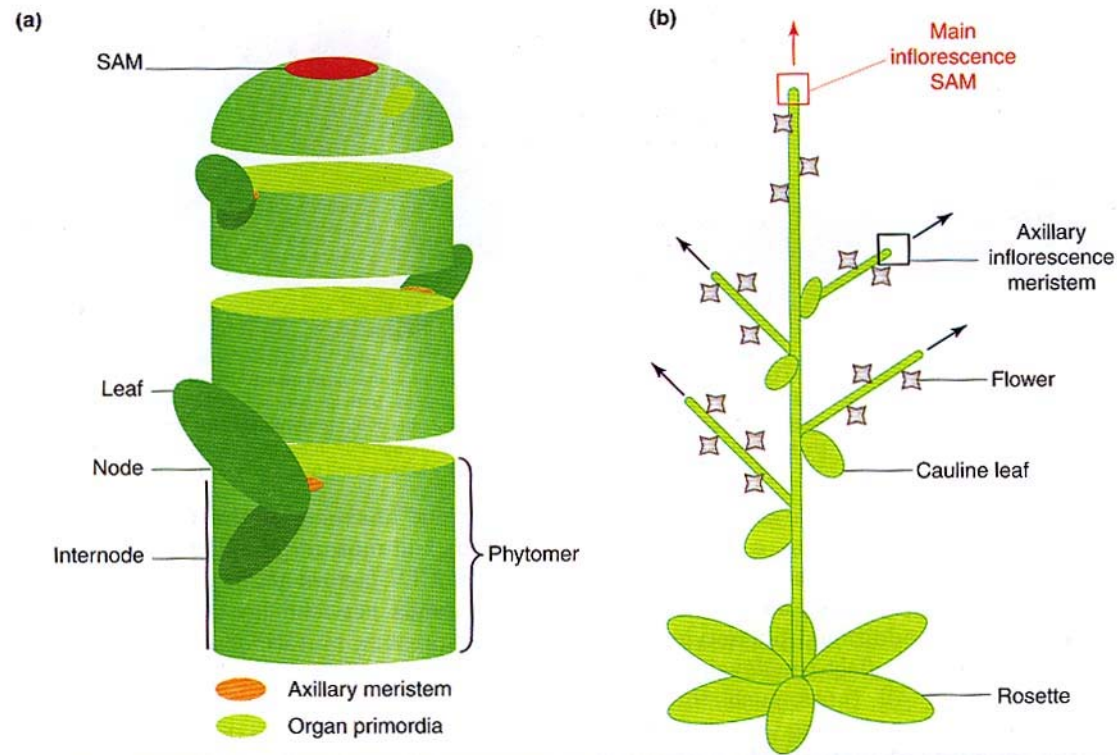
Il meristema vegetativo passa dalla produzione ai suoi lati di foglie e primordi ascellari alla produzione di un numero indeterminato di

PRIMORDI FIORALI

Questo MERISTEMA APICALE si chiama
MERISTEMA DELL'INFIORESCENZA

II MERISTEMA FIOREALE si differenzia da un gruppo di cellule che si trovano ai lati del meristema dell'infiorescenza

Il programma di sviluppo è diverso in quanto il meristema dell'infiorescenza è a crescita indeterminata mentre quello fiorale è a crescita DETERMINATA



➤ SAM è convertito in meristema dell'infiorescenza in risposta ad uno stimolo florale

➤ Il meristema dell'infiorescenza è uno stato transitorio dalla crescita vegetativa a quella riproduttiva

➤ Il meristema dell'infiorescenza genera il MERISTEMA FIORE

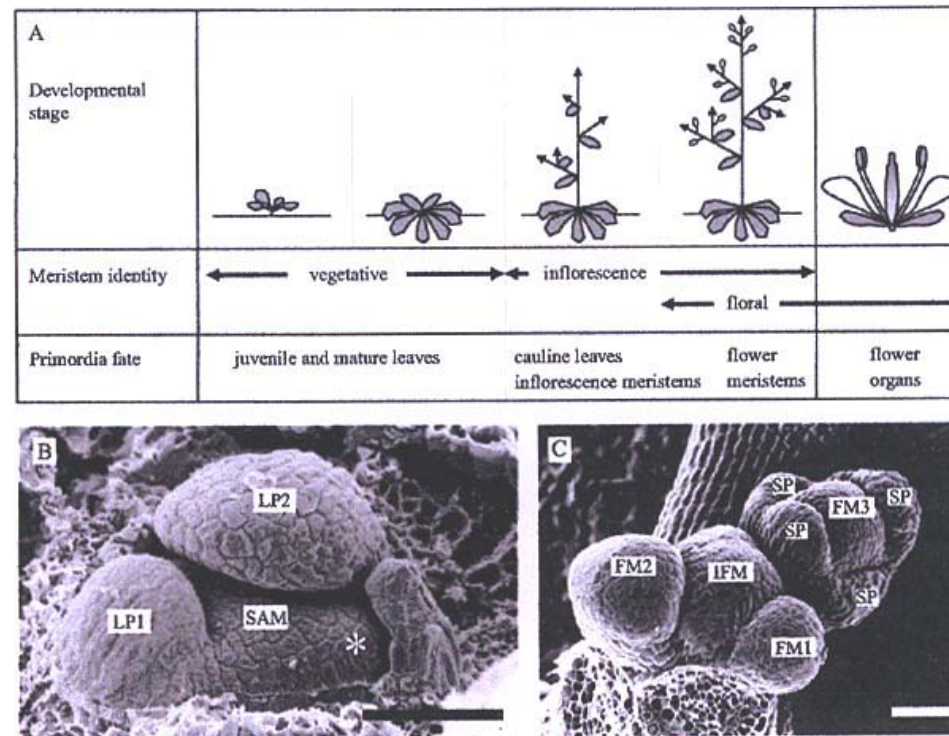


Figure 1. Stages of development. (A) Developmental stage is shown schematically with the corresponding meristem identity and primordia fate. (B) Scanning electron micrograph of the shoot apical meristem (SAM) flanked by two newly produced leaf primordia (LP1 and LP2). The * indicates the site of emergence of the next leaf primordium. (C) The inflorescence meristem (IFM) flanked by newly produced floral meristems (FM1, FM2 and FM3) at different stages of development. FM3, the oldest floral meristem, has begun the production of sepal primordia (SP) on its flanks. Bar = 30 μ m.

MERISTEMA DELL' INFIORESCENZA E MERISTEMA FIORALE

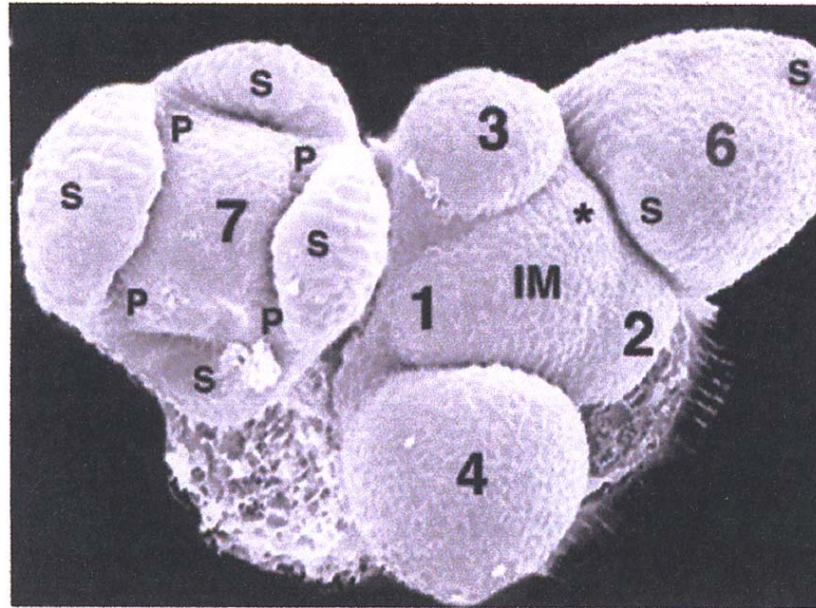


Figure 1. The Arabidopsis inflorescence. After floral transition, the shoot apical meristem acquires inflorescence meristem identity (IM). The IM gives rise to floral meristems (FM) at its flanks in a spiral phyllotaxy. An asterisk marks the position of floral anlagen, while numbers identify the developing FM. In FM at later stages (6 and 7), floral organ primordia are already differentiating (S, sepal; P, petal).

I primordi florali si originano nella stessa posizione nella quale si formano i primordi fogliari durante la crescita vegetativa; la fillotassi non è alterata

La transizione dal **meristema vegetativo al meristema dell'infiorescenza** è promosso da una classe di geni noti come

GENI DI IDENTITA' MERISTEMATICA (FMI)

In Arabidopsis

LEAFY (LFY)

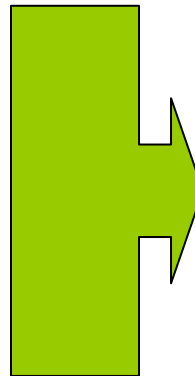
APETALA1 (AP1)

CAULIFLOWER (CAL)

FRUITFULL (FUL)

TERMINAL FLOWER1 (TFL1)

AGAMOUS (AG)



MADS box

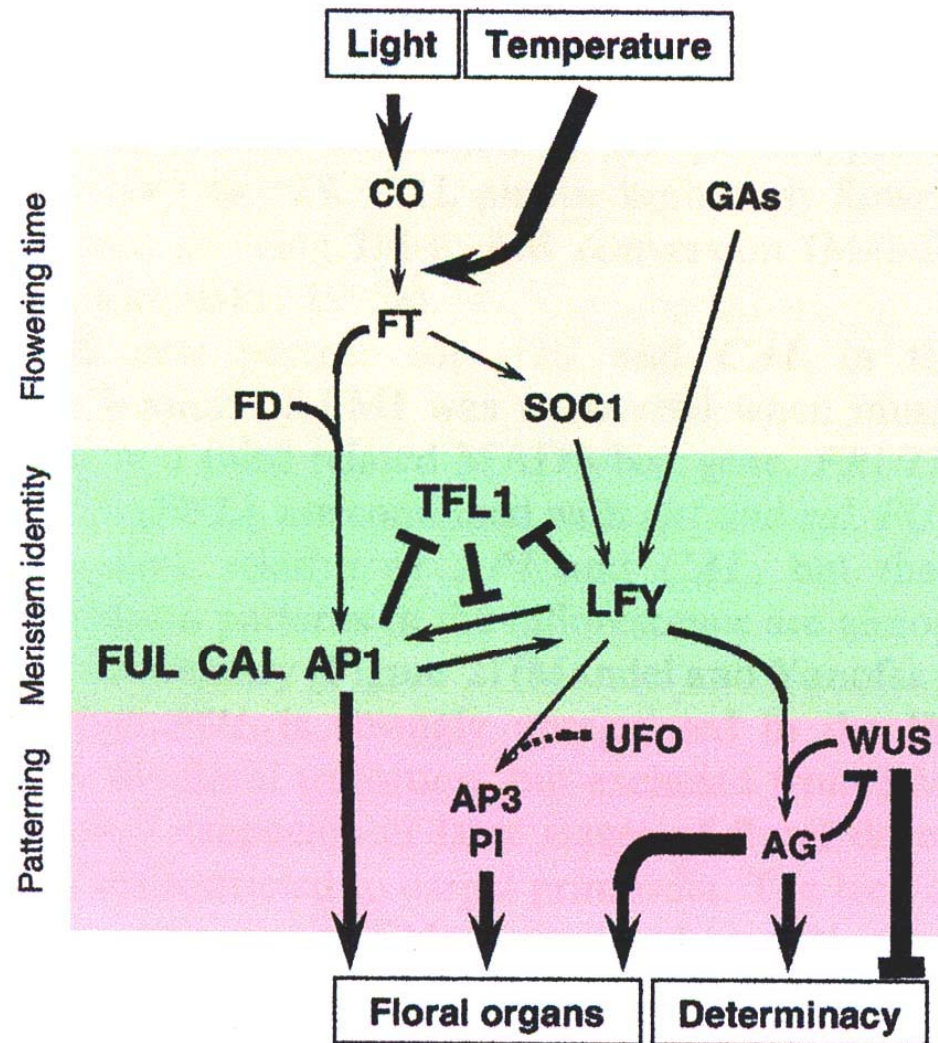


Figure 3. Schematic representation of the interactions involved in the specification of floral meristems. The dotted line refers to the participation of UFO in the activation of B-class genes by LFY, based on genetic interactions. See text for details.

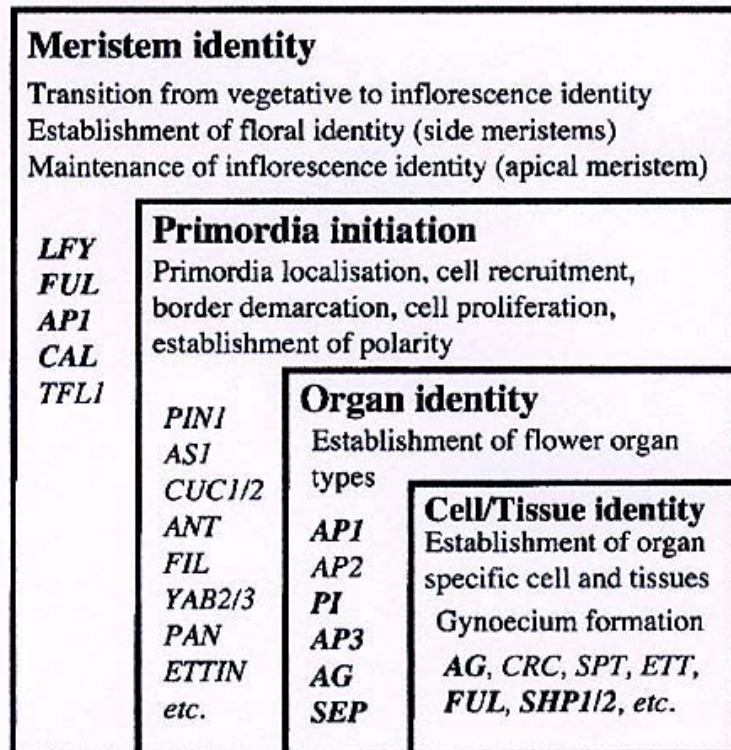
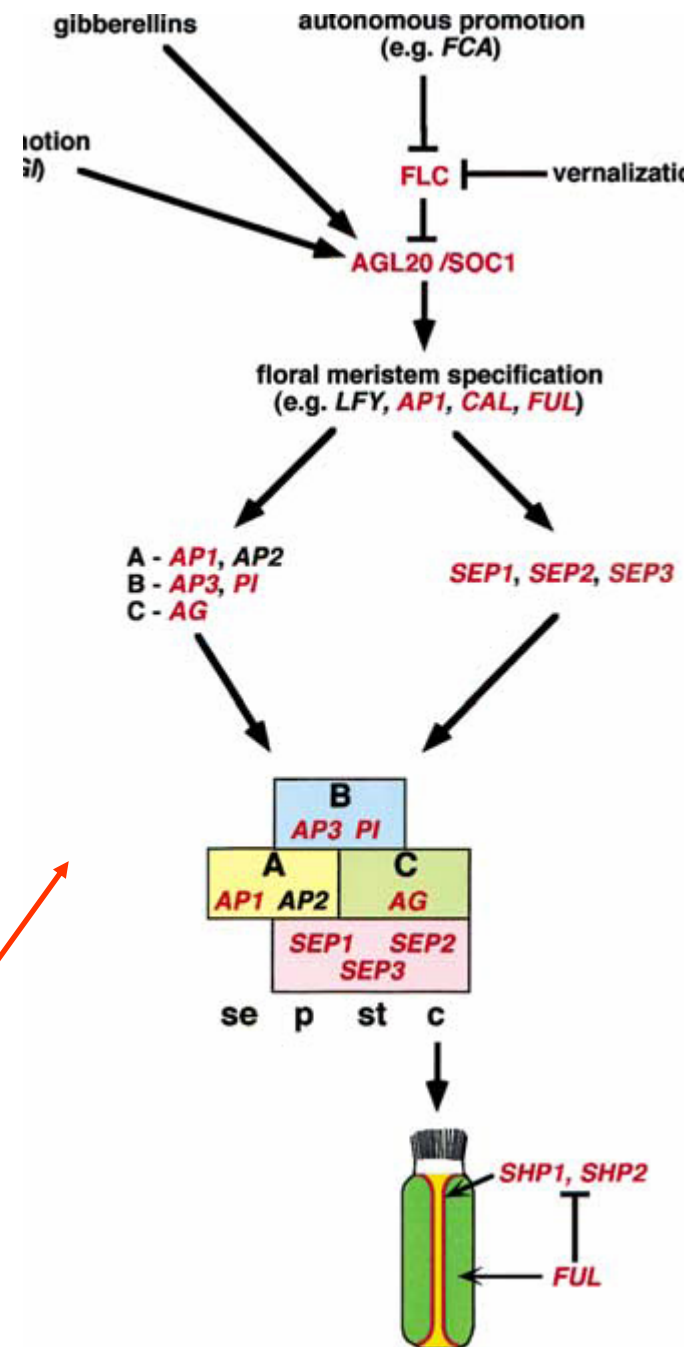


Figure 2. Association of genes with developmental processes. The different stages in the production of a floral organ are represented by overlapping boxes. In each box a selection of the key genes, covered in this review, is listed. Genes belonging to the MADS-box family of transcription factors are shown in bold.



MADS-box

In Anthirrinum

FLORICAULA (FLO)  ***LEAFY***

SQUAMOSA (SQUA)  ***AP1***

LEAFY (LFY):

La sua espressione precede la transizione fiorale ed è massima nei giovani meristemi fiorali

Mutanti *lfy* sviluppano foglie e germogli invece di fiori

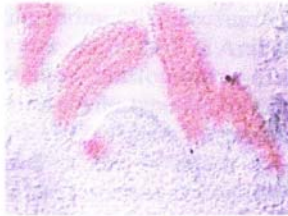
LFY è **necessario e SUFFICIENTE** per conferire identità fiorale ai primordi emergenti: l'espressione ectopica e costitutiva determina la trasformazione precoce di foglie e gemme ascellari in FIORI

LFY codifica per un nuovo tipo di fattori di trascrizione esclusivi delle piante

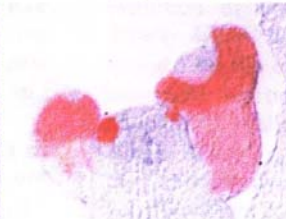
LFY si lega a elementi *cis* nel promotore di *AP1* e *AGAMOUS*
(CCANTGG)

mv

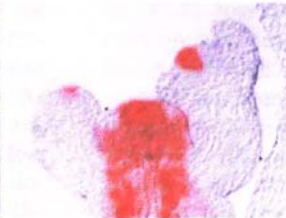
mf



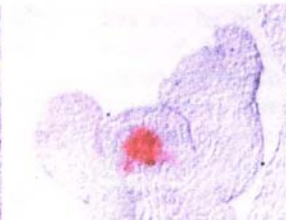
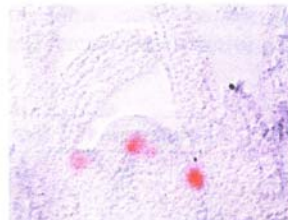
LFY



AP1/CAL



FUL



TFL1



AGL24



FD

Pattern di espressione dei geni MI

LEAFY è il principale interruttore tra i geni di identità meristemica

La sua espressione precede quella degli altri geni

I livelli di espressione di LEAFY correlano con la forza di diversi segnali che inducono la fioritura

è all'incrocio dei diversi pathways di induzione

➤ Regolato da GAs

Elemento di risposta a GA nel promotore

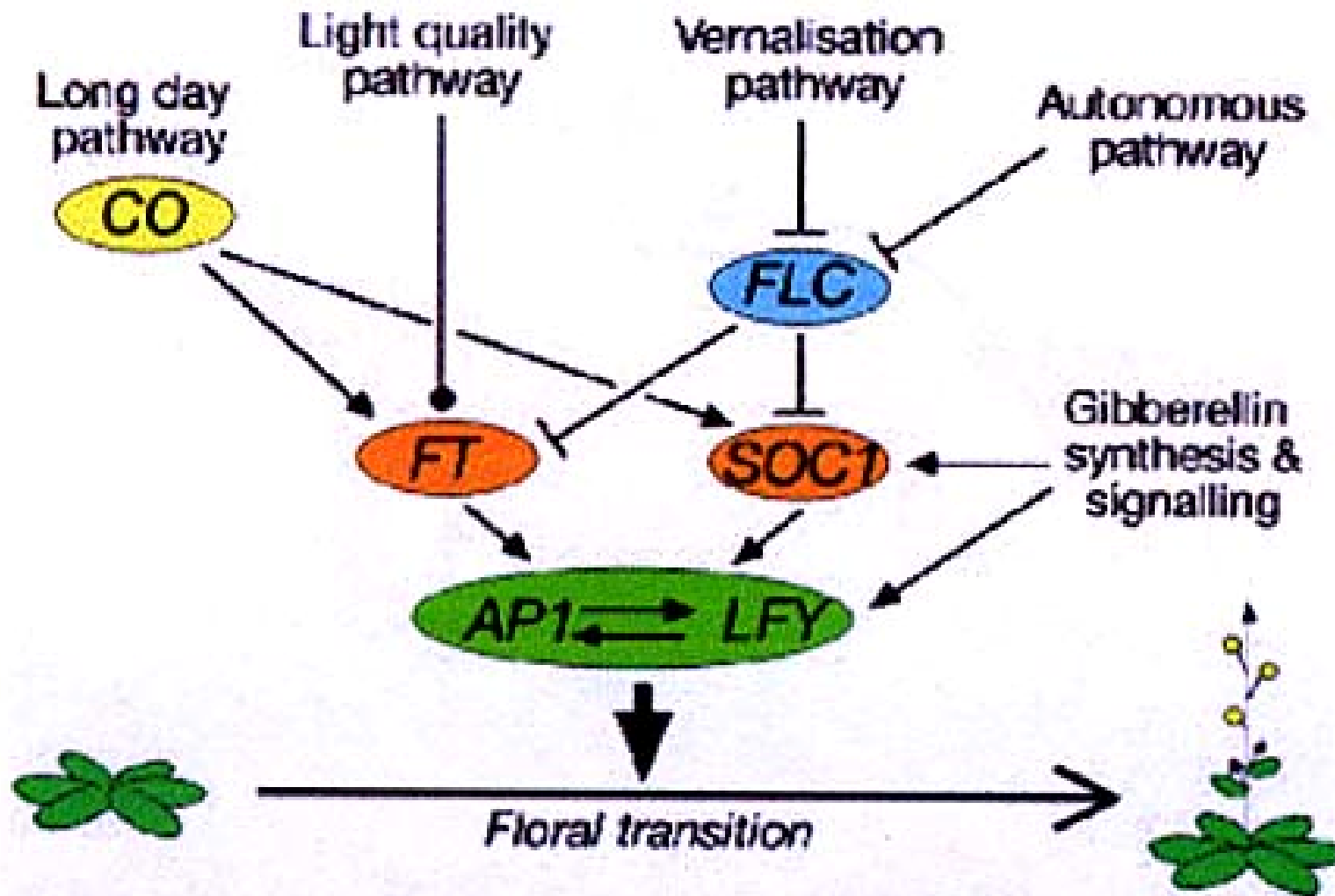
Si lega AtMYB33 i cui livelli aumentano nell'apice durante la transizione fiorale

➤ Regolato da CONSTANS

Meccanismo non noto forse mediato da SOC1 e/o AGL24

➤ Regolato da FT

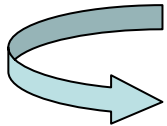
Ridotti livelli di LFY in mutanti ft



APETALA1 (AP1) , CAULIFLOWER (CAL), FRUITFULL (FUL)

AP1 e CAL hanno sequenze strettamente correlate e un pattern di espressione simile; all'inizio espressione in tutto il meristema, poi solo nel I e II verticillo

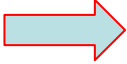
AP1 e CAL mostrano RIDONDANZA nella specificazione della identità florale del meristema

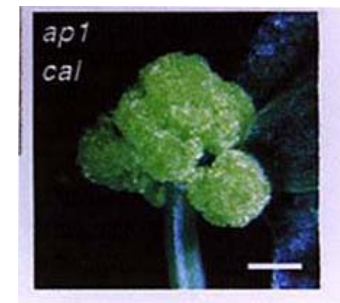


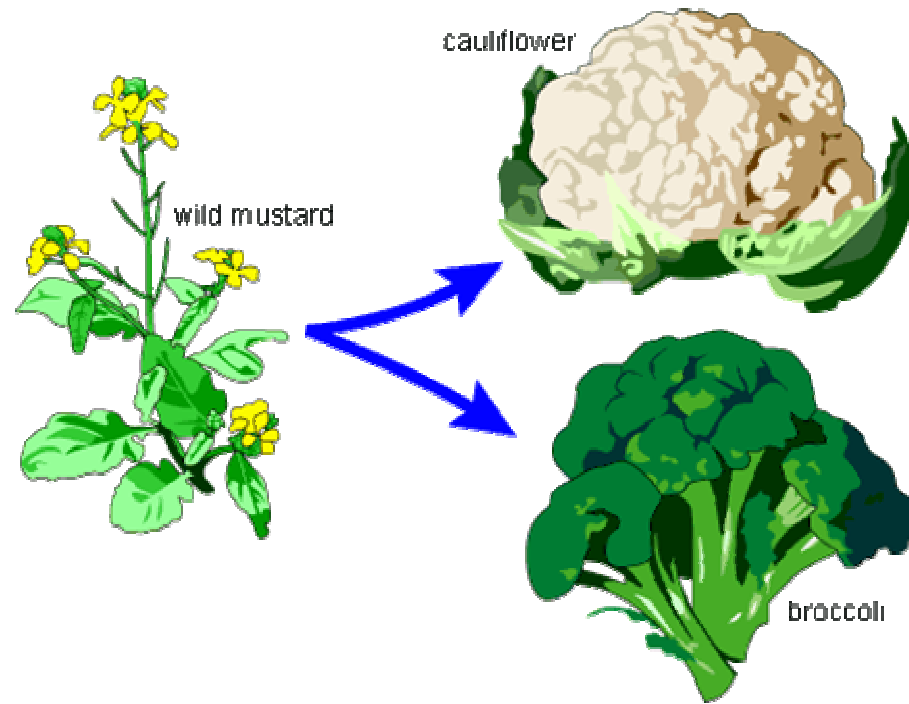
Fenotipo molto più evidente in doppi mutanti



ap1 cal : completa trasformazione del meristema florale in meristema della infiorescenza a crescita indeterminata (strutture simili a cime di cavolfiore)

Necessari per la transizione **MI**  **FI**





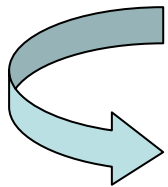
Il gene *CAULIFLOWER* del cavolfiore coltivato ha un codone di stop che inattiva il prodotto genico

Ciò previene la transizione dell'infiorescenza a meristema florale generando la ripetizione di meristemi dell'infiorescenza

FUL: correlato strutturalmente ma pattern di espressione complementare

Up-regolato nel MI ma escluso inizialmente dal MF

In mutanti *ap1* FUL è espresso anche nel MF



AP1 reprime l'espressione di FUL nel MF

Tripli mutanti *ap1 cal ful* assomigliano ai doppi mutanti *ap1 cal* ma con tratti vegetativi più marcati

Sembra non avere un ruolo primario nella specificazione della identità di meristema florale,

AP1 compare nel meristema florale nello stadio 1, dopo l'inizio della transizione, successivamente a LEAFY

i principali regolatori di AP1 sono:

➤ **LEAFY**: regolazione diretta

dimostrato il binding in vitro di *LFY* a sequenze regolative di *AP1* e *CAL* mediante immunoprecipitazione della cromatina

➤ **FT**: mutanti *lfy* esprimono AP1, doppi mutanti *lfy ft* non esprimono AP1

MUTAZIONI loss of function nei geni *LEAFY*, *APETALA1*, *CAULIFLOWER* o *AGAMOUS* compromettono la capacità del meristema vegetativo di svilupparsi in meristema florale

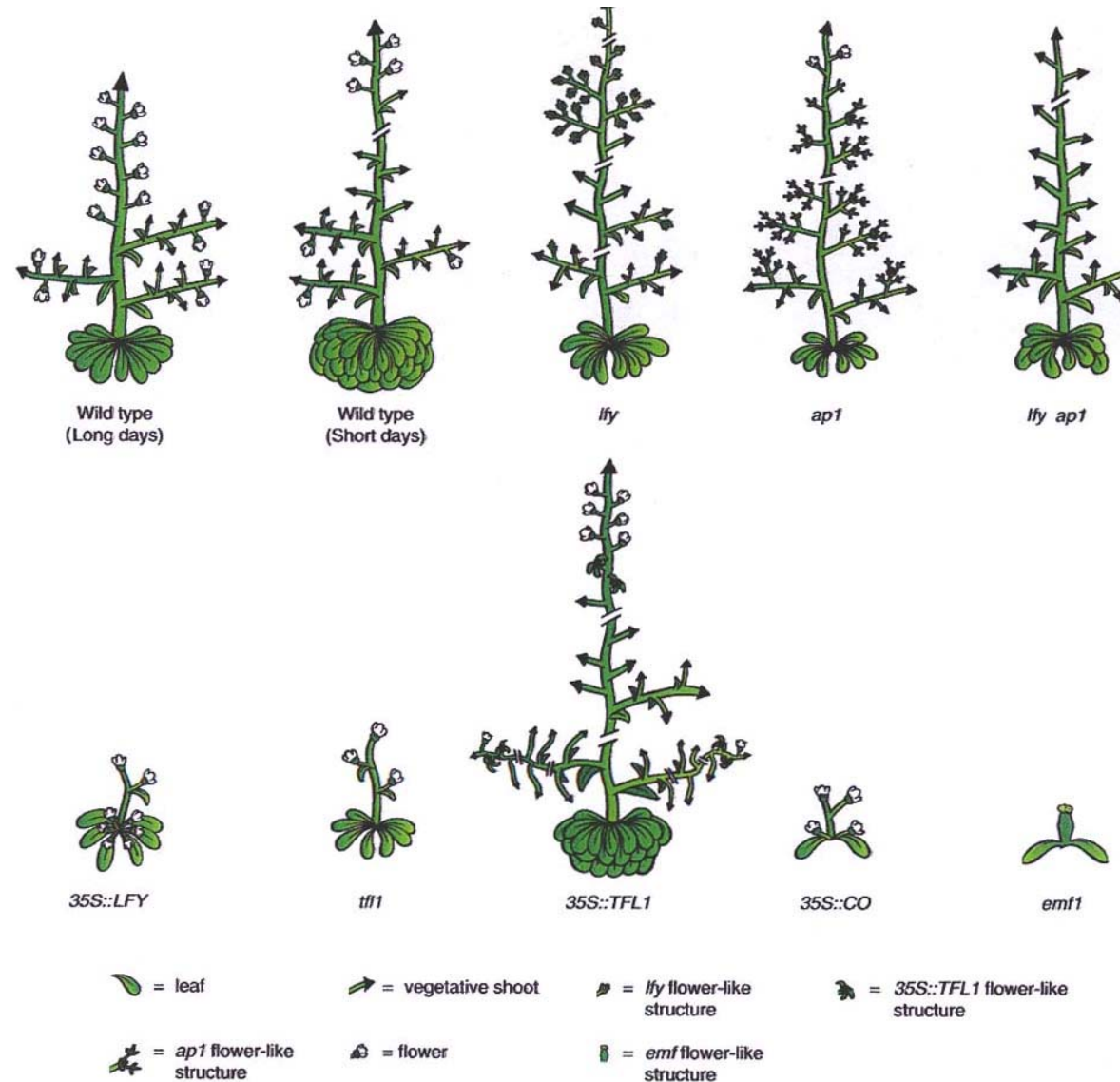
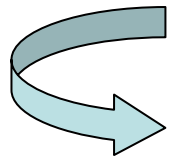


Table 1. Meristem-identity genes from different plant species. Only those have been included, for which there is genetic evidence with respect to their involvement in FMI.

Species	Gene	Phenotype of loss-of-function mutant	References
<i>Arabidopsis</i>	<i>LFY</i>	Conversion of flowers into leaves with associated inflorescence shoots. Aberrant carpeloid flowers subtended by bracts develop in apical positions	Schultz and Haugh (1991) and Weigel <i>et al.</i> (1992)
<i>Antirrhinum</i>	<i>FLO</i>	Conversion of flowers into inflorescence shoots	Coen <i>et al.</i> (1990)
Pea	<i>UNI</i>	Partial loss of floral identity. Flowers lack petals and stamens and axillary flowers arise from sepal axils	Hofer <i>et al.</i> (1997)
Petunia	<i>ALF</i>	Extreme reduction in leaf complexity: compound leaves are transformed into unifoliated leaves Conversion of flowers into inflorescence shoots Occasionally, aberrant carpeloid flowers develop in apical positions	Souer <i>et al.</i> (1998)
Tomato	<i>FA</i>	Conversion of flowers into indeterminate vegetative shoots Late flowering	Molinero-Rosales <i>et al.</i> (1999)
Maize	<i>ZFL1/ZFL2</i>	Incomplete vegetative-reproductive transition Reduced number of tassel branches and formation of "tassel ears"	Bomblies <i>et al.</i> (2003)
<i>Arabidopsis</i>	<i>API/CAL</i>	<i>ap1</i> : branched flowers. Sepal-to-bract conversion, new flowers forming in the axils. Petals usually absent <i>ap1 cal</i> : Flower-to-inflorescence conversion in a highly reiterative pattern, forming cauliflower heads composed of undifferentiated meristems. <i>ap1</i> -like flowers develop at later stages	Bowman <i>et al.</i> (1993), Mandel <i>et al.</i> (1992), and Kempin <i>et al.</i> (1995)
<i>Antirrhinum</i>	<i>SQUA</i>	Conversion of flowers into inflorescence shoots. Occasionally flowers develop with no defects in floral organ identity	Huijser <i>et al.</i> (1992)
Pea	<i>PIM</i>	Floral meristems behave as secondary inflorescence meristems producing shoots that eventually form aberrant flowers with leaf-like sepals and reduced petals and stamens	Taylor <i>et al.</i> (2002)
<i>Arabidopsis</i>	<i>TFL1</i>	Inflorescence meristem converted to floral meristem (indeterminate-to-determinate inflorescence) Early flowering	Alvarez <i>et al.</i> (1992)
<i>Antirrhinum</i>	<i>CEN</i>	Inflorescence meristem converted to floral meristem (indeterminate-to-determinate inflorescence)	Bradley <i>et al.</i> (1996)
Pea	<i>DET</i>	Conversion of the primary inflorescence meristem into a secondary inflorescence meristem, which in turn, produces a flower and a determinate inflorescence	Singer <i>et al.</i> (1990) and Foucher <i>et al.</i> (2003)
Tomato	<i>LF</i> <i>SP</i>	Early flowering Premature conversion of the sympodial vegetative apex into a terminal determinate inflorescence shoot	Murfet (1975) Pnueli <i>et al.</i> (1998)

TERMINAL FLOWER 1 (*TFL1*)

Il fenotipo dei mutanti *tfl1* indica che ha funzioni opposte a LFY, AP1/CAI



Previene la trasformazione in meristema florale del meristema vegetativo

Agisce ritardando la progressione attraverso tutte le fasi di crescita

Mutanti loss of function *tfl1* formano precocemente fiori terminali

L'espressione costitutiva di *TFL1* (35S::*TFL1*) ritarda la formazione dei fiori

LFY, AP1, CAL specificano l'identità di MF

TFL1 specifica l'identità di MI

Pattern di espressione di TFL1 in accordo con la funzione di regolatore negativo di LFY, AP1, CAL

Espresso nel centro del meristema ed escluso dai primordi

Strutturalmente è un omologo di FLOWERING LOCUS T (FT)
(fosfatidiletanolamina binding protein)

Ma la funzione è opposta

59% di identità con FT; la sostituzione di un singolo aa (His 88/85 Tyr) è sufficiente ad invertire le funzioni tra i due geni

Funzione biochimica molto simile

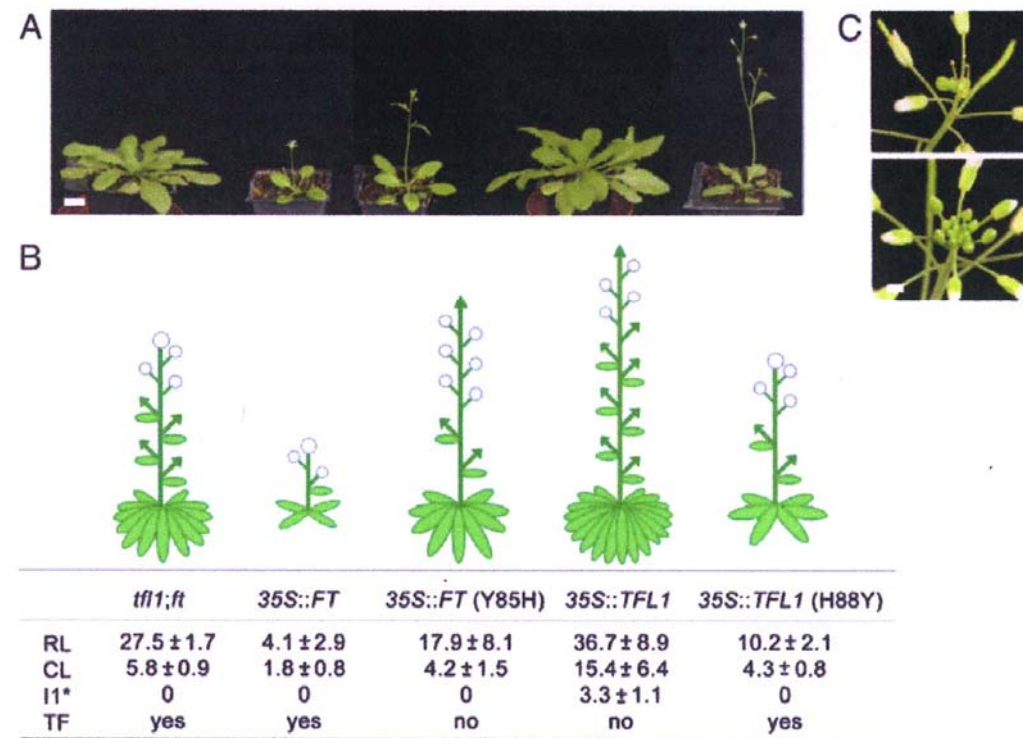
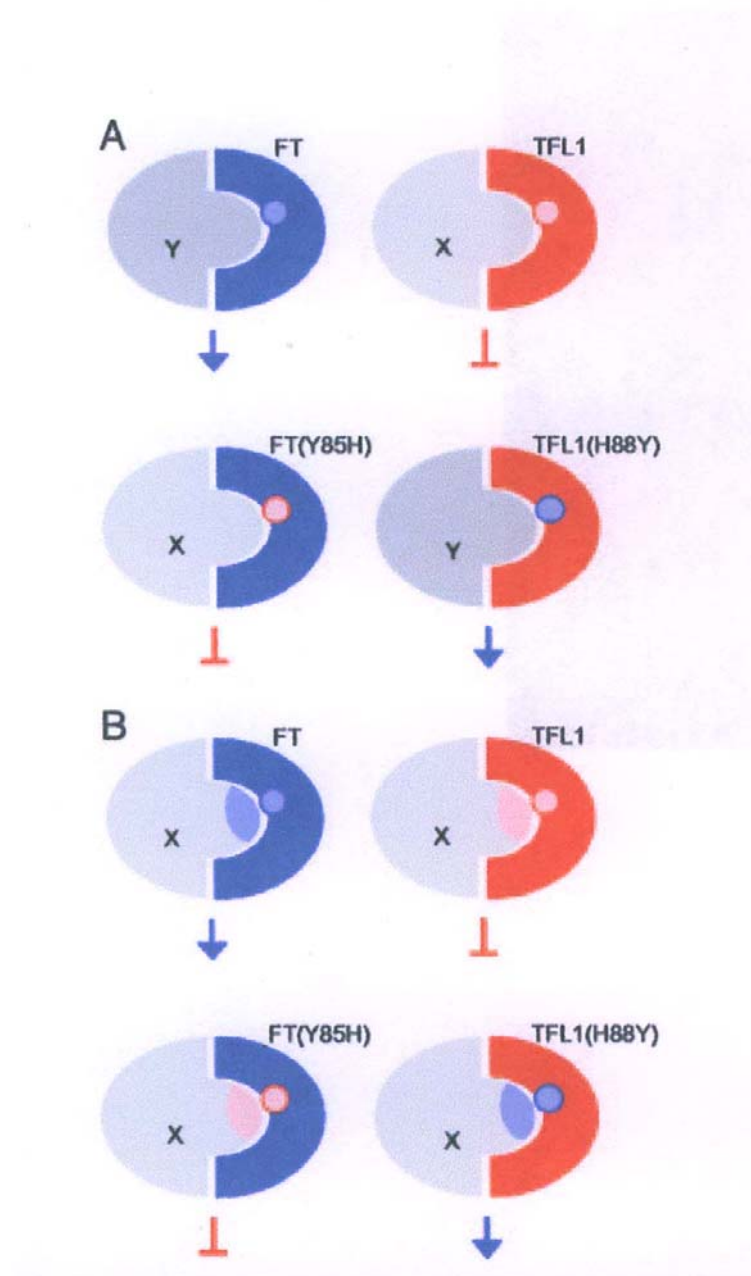


Fig. 3. Phenotypes of *tf1;ft* mutants expressing different versions of TFL1 or FT. (A) Photographs of *Arabidopsis* plants after 3 weeks of growth. From left to right are *tf1;ft*, *35S::FT*, *35S::FT* (Y85H), *35S::TFL1*, and *35S::TFL1* (H88Y). (Scale bar: 1 cm.) (B Upper) Schematic diagrams of mature, flowering plants corresponding to (A). Leaves (ellipses), stems/shoots (lines), flowers (circles) and shoot meristems (arrows). (B Lower) Number of leaves and shoots on the main shoot. RL, rosette leaves; CL, secondary shoots subtended by cauline leaves; I1*, secondary shoots/shoot-like flowers not subtended by a leaf; TF, conversion of the shoot meristem into a terminal flower. Values are given with their standard error of the mean. More than 26 individual T1 plants for each construct were scored. (C) The shoot apex of *tf1;ft* (Upper) and *35S::FT* (Y85H) (Lower) plants. The terminal flower was absent in *35S::FT* (Y85H) expressing plants, showing that this version of FT acted as TFL1 and complemented the *tf1* phenotype. (Scale bar: 0.5 cm.)

Modello interazione TFL1 FT con target



TRANSIZIONE FIOREALE

Una volta avviata la transizione è irreversibile

Ciò è assicurato da interazioni cooperative tra i geni di identità meristemica

➤ LFY induce AP1 e CAL

➤ CAL e AP1 regolano positivamente LFY

➤ LFY, AP1 e CAL regolano negativamente TFL1 (e AGL24)

In questo modo AP1 e CAL mantengono elevati i livelli di espressione di LFY una volta indotto

Le interazioni antagonistiche tra TFL1 e FMI fanno sì che TFL1 non sia espresso nel meristema florale e LFY, AP1 e CAL non siano espressi nel meristema dell'infiorescenza

➤ *LEAFY* è espresso precocemente nel meristema dell'infiorescenza e dà inizio al programma differenziativo

➤ *LEAFY* promuove l'espressione di *AP1/CAL* nei primordi fiorali (prodotto genico di *LFY* si lega al promotore del gene *AP1*)

➤ *LEAFY AP1/CAL* promuovono reciprocamente la loro espressione

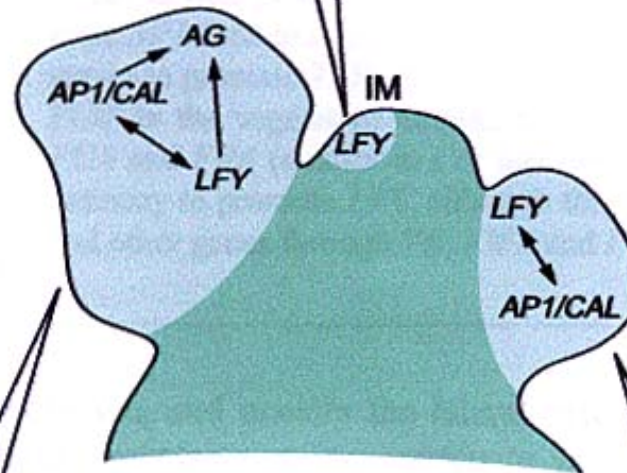
COOPERATIVITA': assicura che tutti i geni necessari per la transizione siano presenti ad elevati livelli nello stesso momento

Prior to Stage 1

LFY expression predicts a new floral primordium

LFY suppresses leaf formation and internode elongation

LFY enhances Stage 1–2 *AP1/CAL* expression



Stage 3

AP1/CAL together with *AP2* direct sepal and petal development in the outer whorls

AG maintains meristem identity, effects determinacy and directs stamen and carpel development in the inner whorls

LFY, with *UFO* directs petal and stamen development

Stage 2

AP1/CAL and *LFY* expression enhance each other

AP1/CAL and *LFY* activate Stage 3 *AG* expression

AP1/CAL suppress lateral meristem formation within the developing floral primordium

ATTIVAZIONE DEI GENI OMEOTICI (ABC)

dati principalmente per **LEAFY**

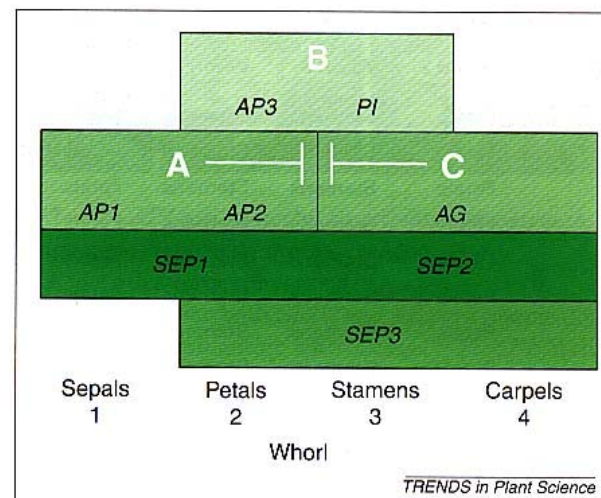
➤ **INDUCE AP1**

➤ **INDUCE AP3** (insieme a **UFO**) (**LFY** si lega al promotore di **AP3**)

L'espressione di **LFY** coincide con i geni di classe **B**

➤ Partecipa all'induzione di **AG** (**WUSCHEL**)

➤ **INDUCE** i geni **SEP** (forse)



Box 1. ABC and *SEP* genes

AG	AGAMOUS (<i>Arabidopsis</i> C class)
AP1	APETALA1 (<i>Arabidopsis</i> A class)
AP3	APETALA3 (<i>Arabidopsis</i> B class)
DEF	DEFICIENS (<i>Antirrhinum</i> AP3 orthologue)
GLO	GLOBOSA (<i>Antirrhinum</i> PI orthologue)
PI	PISTILLATA (<i>Arabidopsis</i> B class)
PLE	PLENA (<i>Antirrhinum</i> AG orthologue)
SEP1	SEPALLATA1
SEP2	SEPALLATA2
SEP3	SEPALLATA3
SQUA	SQUAMOSA (<i>Antirrhinum</i> AP1 orthologue)

TERMINAZIONE

Il meristema florale è a **crescita determinata**

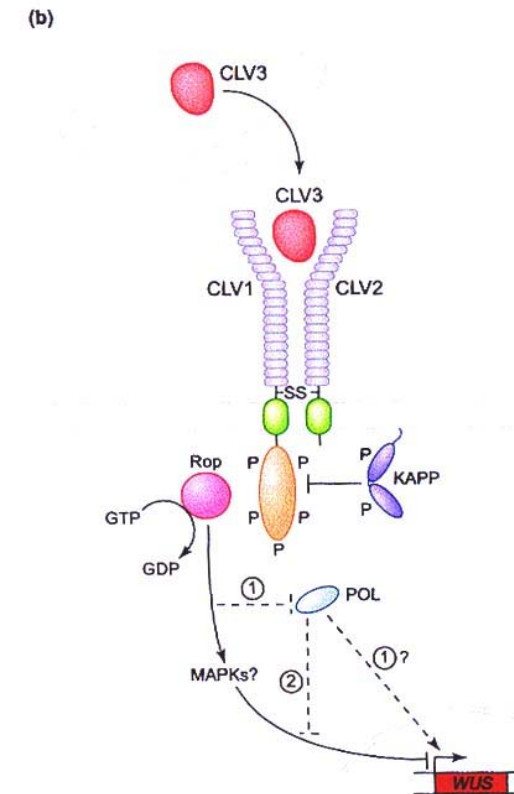
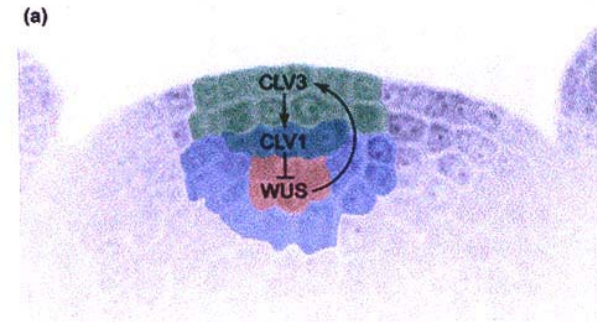
Una volta completato il differenziamento del fiore
il meristema cessa di accrescersi

AGAMOUS è l'interruttore per il segnale di terminazione

Il meccanismo coinvolge il sistema
WUSCHEL/CLAVATA

All'inizio dello sviluppo florale
WUSCHEL attiva la trascrizione di
AGAMOUS

AG successivamente reprime la
trascrizione di *WUS* determinando il
differenziamento delle ultime cellule
meristematiche



Perché l'attivazione di *AG* da parte di *WUS* avviene solo in FM e non in SAM?

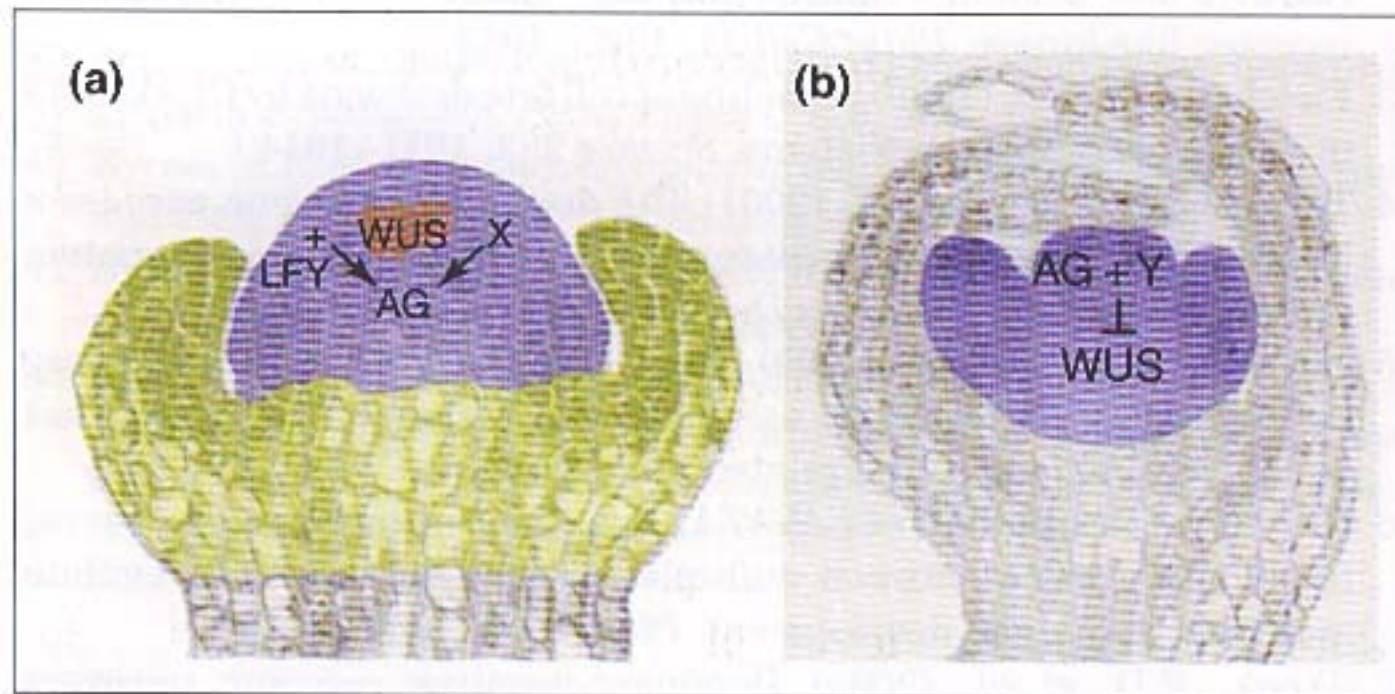
È richiesto un fattore aggiuntivo



LEAFY

gene di identità del meristema florale (FM), non presente nel meristema vegetativo (SAM)

Terminazione fiorale attraverso il feedback *WUSCHEL/AGAMOUS*



DIMOSTRATO che *WUSCHEL* e *LEAFY* si legano a sequenze enhancer distinte sul secondo introne di *AGAMOUS*

Come fa il meccanismo regolativo ad agire al momento giusto?

Cioè quando è stato completato il differenziamento dell'ultimo verticillo?

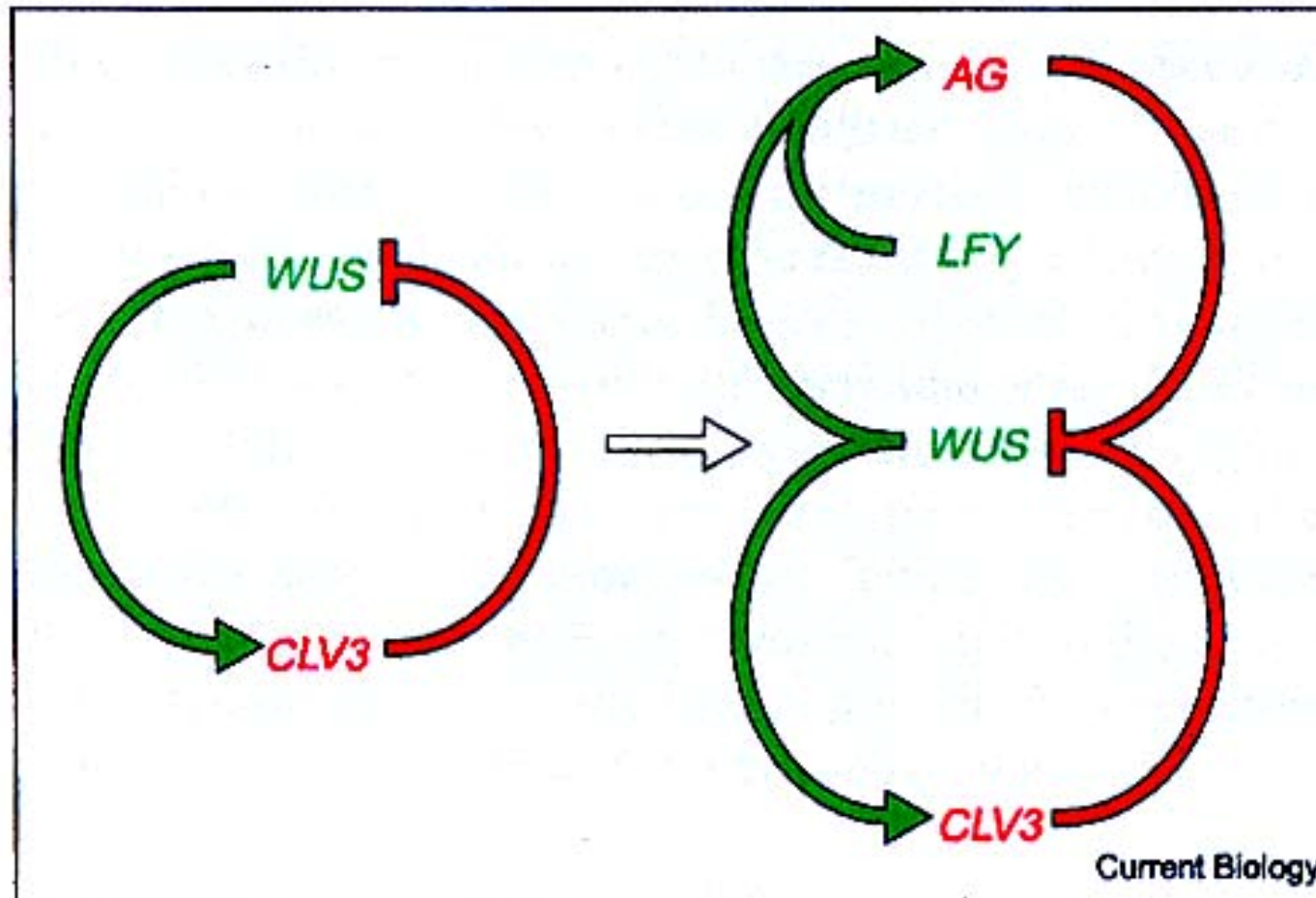
I LIVELLI DI ESPRESSIONE di *LEAFY* aumentano durante tutto il differenziamento

forse valore di soglia di *LEAFY* necessario per la inibizione dell'espressione di *WUSCHEL* , che si raggiunge solo dopo il differenziamento dei carpelli

Oppure altro fattore regolativo necessario (Y) che compare negli stadi finali

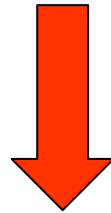
meristema
vegetativo

meristema
dell'infiorescenza



Una mutazione per inserzione di T-DNA nel gene *AtGCN5* induce la formazione di fiori terminali nelle infiorescenze e trasformazioni omeotiche degli organi fiorali

I fenotipi correlano con la UP-regolazione della espressione di *WUS* e *AG* nel meristema florale e con l'estensione dei domini di espressione di questi geni

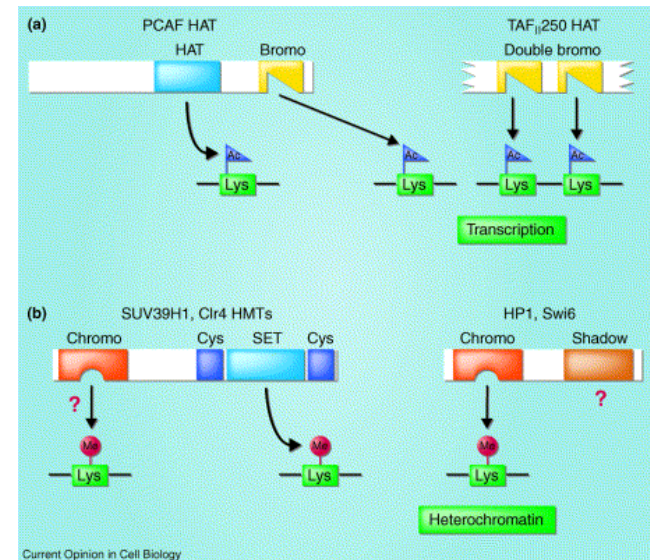


AtGCN5 controlla il pathway di espressione *WUS-AG*

AtGCN5 è omologo alla ACETILTRANSFERASI di lievito *Gcn5*

Gcn5 è una Istone Acetiltransferasi (HAT) che contiene il
“BROMODOMAIN” (con il quale si associa a lisine acetilate)

(*AtGNC5* mutata manca del bromodomain)



HATs e deacetilasi sono in grado di determinare rimodellamenti della cromatina che possono attivare o reprimere la trascrizione genica

La formazione del fiore richiede l'esecuzione di diversi programmi di sviluppo:

- Specificazione della posizione del nuovo fiore
- Formazione del pattern del primordio (simmetria, polarità)
- Controllo della divisione cellulare per dimensioni e numero dei fiori
- Formazione degli organi del fiore

Programmi sequenziali o paralleli

Rete di interazioni molecolari molto complessa

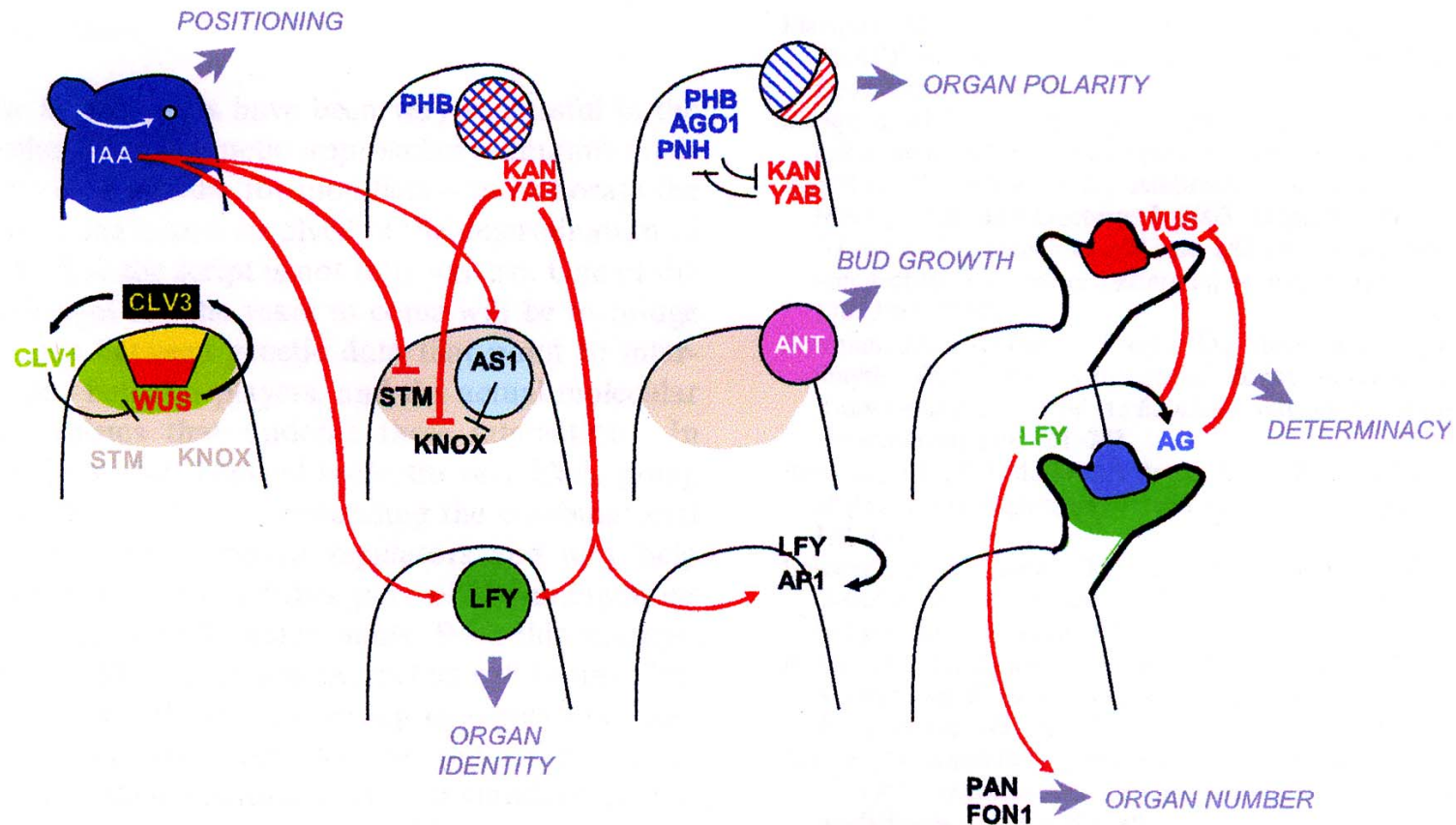


Figure 4. Interactions between developmental processes during the formation of flowers. The sequence of events starts with the positioning of floral anlagen directed by auxin (IAA) gradients in the apex. Organ polarity is established even before primordia are visible, through the action of PHABULOSA (PHB), KANADI (KAN), and several YABBY (YAB) proteins (Sawa *et al.*, 1999a, b; Eshed *et al.*, 2001), and later involve PINHEAD (PNH) and ARGONAUTE (AGO1) (Lynn *et al.*, 1999; Kidner and Martienssen, 2005). Primordium outgrowth depends on the initial down-regulation of *SHOOTMERISTEMLESS* (*STM*) and *KNOX* genes in the anlagen through the activity of *ASYMMETRIC LEAVES1* (*AS1*) (Bowman *et al.*, 2002), and involves *AINTEGUMENTA* (*ANT*) (Mizukami, 2001). Finally, floral identity is specified by the meristem identity genes *LFY* and *AP1*, and termination of the floral meristem is achieved through the activity of *AG*, a primary target of *LFY*. Interactions between overlapping pathways are represented by red arrows, and the expression domains of the genes involved in these processes are depicted in colors.