

Zusammenfassung: Dissertation Andrea Busch

Analyse der Entwicklung der monosymmetrischen Blüte in *Iberis amara* (Brassicaceae)

Ein wichtiger Schritt in der Evolution der Angiospermenblüte war die Anpassung an spezialisierte Bestäuber durch die Etablierung von Monosymmetrie, ein Merkmal von dem angenommen wird, dass es innerhalb der Angiospermenevolution mehrmals entstanden ist. Im Modelorganismus *Antirrhinum majus* steuert der Transkriptionsfaktor *CYC* als Schlüsselregulator die Bildung der monosymmetrischen *Antirrhinum*-Blüte.

Die Gattung *Iberis* bildet monosymmetrische Blüten und gehört zu den Brassicaceen, einer Familie deren Mitglieder mehrheitlich polysymmetrische Blüten haben. Die monosymmetrische Blüte von *Iberis* kommt zustande durch ungleich große Petalenpaare mit kleineren adaxialen Petalen.

Es wurde untersucht, ob in *Iberis amara* das *CYC*-orthologe Gen in die Etablierung des Petalenunterschiedes involviert ist. Dazu wurde die Blütenentwicklung von *Iberis* morphologisch mit dem Rasterelektronenmikroskop untersucht und in 12 Entwicklungsstadien eingeteilt. Ein Petalenunterschied, der vermutlich durch eine differentielle Zellteilung zustande kommt, tritt auf, nachdem die Initiation der Blütenorgane abgeschlossen ist und erreicht seine maximale Ausprägung nach Anthese der Blüte. Zur molekularen Analyse wurde das Kandidatengen *IaTCPI* aus *Iberis amara* isoliert. *IaTCPI* zeigt die größte Ähnlichkeit zum *CYC*-orthologen Gen *TCPI* aus *Arabidopsis* und wird daher als *CYC/TCPI*-Ortholog betrachtet. Die Expression von *IaTCPI* ist unterschiedlich stark in adaxialen und abaxialen Petalen. Sie ist in den kleinen, adaxialen Petalen stark erhöht und unterdrückt dort wahrscheinlich die Zellproliferation. Der größte, 50-fache Expressionsunterschied von *IaTCPI* innerhalb der Blütenentwicklung fällt zusammen mit der Ausprägung des maximalen Größenunterschiedes der Petalenpaare. Eine ektopische Expression von *IaTCPI* in *Arabidopsis* führt zu einer Verkleinerung aller Petalen und demonstriert so die Funktion in der Petalenentwicklung im heterologen Organismus. In *Iberis amara* selbst bestätigen pelorische Blüten, in denen alle Petalen der Korolla eine abaxiale Identität haben, durch

eine korrespondierende Reduktion der *IaTCP1*-Transkriptmenge, dass *IaTCP1* eine Rolle in der Blütenbildung von *Iberis* spielt.

Die ektopische Expression von *CYC* und *TCP1* in *Arabidopsis* ermöglicht einen Funktionsvergleich. Dieser zeigt, dass beide Brassicaceen-Gene zu einer Petalenreduktion führen, im Gegensatz zum weiter entfernten Asteriden-Gen *CYC*, welches die Petalen vergrößert. Hiermit wurde zugleich ein System geschaffen mit dem Zielgene der verschiedenen *TCP1/CYC*-Gene in *Arabidopsis* ermittelt werden können. Eine zusätzliche Transkriptom-Analyse von Symmetriemutanten in *Anthirrinum* detektierte Zielgene von *CYC*.

Um die asymmetrische Regulation von *IaTCP1* zu untersuchen, die zu einer späten und adaxialen Expression führt, wurde ein 3,7 kb-Promotorfragment isoliert und auf mögliche *cis*-Elemente hin abgesucht, die diese Expression steuern.

Diese Arbeit zeigt, dass *CYC/TCP1*-artige Transkriptionsfaktoren in Vertretern beider großen phylogenetischen Gruppen - den Asteriden und den Rosiden - in unabhängigen Ereignissen zur Etablierung monosymmetrischer Blüten rekrutiert worden sind.

Die kleineren, adaxialen Petalen in *Iberis* ermöglicht ein Zusammenrücken der Blüten innerhalb der Infloreszenz, wodurch diese die Form eines Corymbus erhält. Die Infloreszenz erscheint als eine auffällig große, weiße Blüte und könnte so, durch eine Erweiterung des Bestäuberspektrums von *Iberis*, dieser Art einen adaptiven Vorteil bieten.

Abstract: Dissertation Andrea Busch

**Analysis of the development of the monosymmetric flower in *Iberis amara*
(Brassicaceae)**

An important step in the evolution of angiosperms was the adaptation to specialized pollinators via the establishment of monosymmetric flowers, a character that is assumed to have evolved several times during angiosperm evolution. In the model organism *Antirrhinum majus* monosymmetry is regulated by the activity of the transcription factor *CYC*.

The genus *Iberis* forms monosymmetric flowers and belongs to the brassicaceae, a family that comprises mainly members with polysymmetric flowers. Monosymmetry in *Iberis* is due to two petal pairs of different sizes, with the adaxial petals being smaller than the abaxial.

The motivation of this study was to elucidate if a *CYC*-ortholog is involved in generating the petal size difference that leads to the monosymmetric corolla in *Iberis amara*. Flower development of *Iberis* was analysed on a morphological basis with a scanning electron microscope and classified into 12 distinct developmental stages. The difference in petal size, which is most probably caused by a differing rate of cell division, appears after floral organ initiation has terminated and peaks after anthesis of the flower. In a molecular analysis, the candidate gene *IaTCPI* was isolated from *Iberis*. *IaTCPI* shows highest similarity to the *CYC*-orthologous gene *TCPI* from *Arabidopsis* and is, thus, considered as a *CYC/TCPI*-ortholog. The expression strength of *IaTCPI* differs in the two petal pairs. *IaTCPI*-expression is drastically increased in the small, adaxial petals, where it might repress the rate of cell proliferation. The maximal *IaTCPI*-expression difference of 50 times coincides with the establishment of the maximal petal size difference. Ectopic expression of *IaTCPI* under the control of the 35S-promoter in *Arabidopsis* results in a reduction of petal size and, thus, demonstrates the role of *IaTCPI* in petal development in the heterologous system. In *Iberis amara*, the sporadic occurrence of a completely abaxialized corolla together with a corresponding reduction in *IaTCPI*-transcript abundance confirmed its functional impact in *Iberis* flower development.

The ectopic expression of *CYC* and *TCPI* in *Arabidopsis* allowed for a comparison of gene function, which shows that the two brassicacean genes reduce petal size. The more distantly related asterid-gene *CYC*, in contrast, increases petal surface area. This system also facilitates the detection of target genes of the different *TCPI/CYC* transcription factors in *Arabidopsis*. An additional transcriptomic analysis of *Antirrhinum*-symmetry mutants detected *CYC* target genes in *Antirrhinum*.

In order to study the asymmetric regulation of *IaTCPI*, a 3,7 kb-promoter fragment was isolated and scanned for potential *cis*-regulatory elements driving this expression.

This study shows that *CYC/TCPI*-like genes have been repeatedly recruited for the establishment of monosymmetric flowers in the two large clades - the asterids and the rosids. The smaller adaxial petals allow flowers within the inflorescence to sit close together, giving it a corymbose shape. As a consequence the inflorescence appears as a single, white flower and could thereby gain adaptive advantage via increasing the spectrum of unspecialized pollinators.