

LEAFY, le régulateur clé du développement de la fleur

Gilles Vachon, Gabrielle Tichtinsky et François Parcy

CEA, iRTSV, Laboratoire Physiologie Cellulaire et Végétale, 38054 Grenoble, France
CNRS, UMR5168, 38054 Grenoble, France
Université Joseph Fourier-Grenoble I, UMR5168, 38041 Grenoble, France
INRA, UMR1200, 38054 Grenoble, France

Auteur correspondant : François Parcy, francois.parcy@cea.fr

Reçu le 22 novembre 2011

Résumé – Les plantes à fleurs ou Angiospermes représentent aujourd'hui la majorité des espèces de plantes terrestres. Leur succès évolutif est en grande partie dû à l'efficacité de la fleur comme structure reproductive. Durant les vingt dernières années, les travaux accomplis sur des plantes modèles ont montré que le gène *LEAFY* est un régulateur clé du développement de la fleur chez les Angiospermes. Il code pour un facteur de transcription spécifique aux plantes qui déclenche la formation du jeune bourgeon floral et induit par la suite l'expression des gènes homéotiques responsables de l'identité des organes de la fleur. Mais *LEAFY* est aussi présent chez les plantes qui ne possèdent pas de fleurs comme les Mousses, les Fougères ou les Gymnospermes. Les études portant sur l'évolution du rôle et des propriétés de ce facteur original lèvent peu à peu le voile sur l'origine mystérieuse des plantes à fleurs.

Mots clés : Développement floral / Angiospermes / *LEAFY* / évolution / méristème

Abstract – *LEAFY*, a master regulator of flower development.

Flowering plants or angiosperms constitute the vast majority of plant species. Their evolutionary success is largely due to the efficiency of the flower as reproductive structure. Work performed on model plant species in the last 20 years has identified the *LEAFY* gene as a key regulator of flower development. *LEAFY* is a unique plant transcription factor responsible for the formation of the earliest floral stage as well as for the induction of homeotic genes triggering floral organ determination. But *LEAFY* is also present in non-flowering plants such as mosses, ferns and gymnosperms. Recent studies suggest that *LEAFY* might play a role in cell division and meristem development in basal plants, a function that is probably more ancestral than the later acquired floral function. Analyzing the evolution of the role and the biochemical properties of this peculiar regulator starts to shade light on the mysterious origin of flowering plants.

Key words: Flower development / Angiosperms / *LEAFY* / evolution / meristem

De par la diversité de leurs formes, leurs couleurs et leurs parfums, les fleurs contribuent largement à la poésie du monde qui nous entoure. Au-delà de cet aspect esthétique, elles constituent une structure reproductive très efficace à laquelle on attribue une large part du succès évolutif des plantes à fleurs, les Angiospermes. La fleur est en général composée de deux couronnes d'organes reproducteurs (les étamines, organes mâles,

et les carpelles formant le pistil, organe femelle) entourées par deux couronnes d'organes protecteurs ou décoratifs (les sépales et les pétales). Il existe une incroyable variabilité quant au nombre, à la forme, à la couleur de ces organes, ainsi que dans les parfums qu'ils produisent. Cette flexibilité développementale a notamment permis au cours de l'évolution d'engendrer de nouveaux couples plantes/insectes pollinisateurs,

étroitement adaptés les uns aux autres. Ce phénomène contribue à une pollinisation efficace et favorise ainsi l'apparition de nouvelles espèces.

La floraison, étape de transition vers la phase reproductrice, est un événement crucial dans la vie de la plante. Elle dépend souvent des conditions environnementales comme la durée du jour ou l'exposition au froid de l'hiver (Parcy, 2005 ; Irish, 2010). Une fois la mise à fleurs induite, le méristème apical, structure localisée au sommet de la tige qui renferme les cellules souches à l'origine des nouveaux organes, devient capable de produire des fleurs, alors que durant la phase végétative, il produisait seulement des feuilles et des tiges.

La compréhension du développement des fleurs doit beaucoup à des plantes mutantes possédant un développement floral anormal. Des variétés de Muflier (ou gueule de loup, *Antirrhinum majus*) prisées par les fleuristes pour leur aspect ornemental, ont constitué la base de collections, enrichies par la suite dans les laboratoires de mutants d'une autre plante modèle l'Arabette (*Arabidopsis thaliana*). Ainsi, de nombreux gènes jouant un rôle important dans les différentes étapes du développement floral (la mise à fleur, le développement des boutons floraux ou des organes floraux) ont été découverts au cours des 25 dernières années (Krizek & Fletcher, 2005 ; Blázquez *et al.*, 2006 ; Liu *et al.*, 2009). L'un d'entre eux, appelé *LEAFY* (*LFY*), possède un rôle central (Moyroud *et al.*, 2010) : lorsqu'il est muté, la plante ne parvient pas à former de fleurs normales mais continue à produire des feuilles et des tiges (d'où le nom *leafy*, « feuillu » donné au mutant). À l'inverse, si on provoque artificiellement une forte expression de *LFY* dans une plante d'*Arabidopsis*, les tiges sont converties en fleurs terminales, témoignant du caractère essentiel de ce gène (qualifié de gène maître) dans la formation des fleurs (Weigel & Nilsson, 1995).

Rôle de LFY chez la fleur des Angiospermes

Chez *Arabidopsis*, l'expression de *LFY* est contrôlée par de nombreux facteurs externes (la durée du jour, le froid) ou internes (le niveau d'hormones, l'âge de la plante) (Blázquez *et al.*, 2006). Du fait de sa capacité à répondre à de multiples stimulations, *LFY* est considéré un intégrateur floral (Parcy, 2005). Son niveau d'expression augmente dans chaque nouvelle ébauche de feuille jusqu'à ce qu'il soit suffisamment élevé pour provoquer la formation d'une fleur (Blázquez *et al.*, 1997). Une fois que *LFY* a conféré cette identité florale à un très jeune bourgeon, un méristème floral,

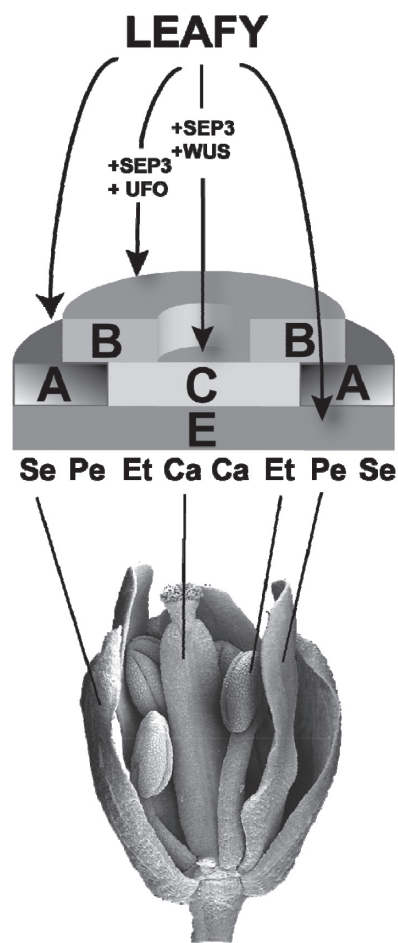


Fig. 1. Réseau floral contrôlé par *LEAFY*. Le modèle ABCE, illustré ici pour une fleur d'*Arabidopsis*, formalise la détermination de l'identité des quatre types d'organes floraux, les sépales (se), pétales (pe), étamines (et) et carpelles (ca). *LFY* contrôle l'expression de plusieurs des gènes A, B, C et E. Pour cela, il interagit avec différents corégulateurs comme *WUSCHEL* (*WUS*), *UNUSUAL FLORAL ORGANS* (*UFO*), or *SEPALLATA3* (*SEP3*).

il contribue à déterminer l'identité des couronnes florales en induisant les gènes homéotiques floraux, appelés « gènes ABCE ». Ces derniers possèdent chacun leur propre territoire d'expression et ce sont leurs activités combinées qui vont déterminer la nature des organes floraux qui se forment (figure 1) (Krizek & Fletcher, 2005). Les gènes A exprimés dans les deux couronnes externes donnent naissance aux sépales dans la première couronne et, combinés aux gènes B, ils engendrent les pétales dans la deuxième. Au centre, les gènes C donnent naissance aux carpelles et, en combinaison avec les gènes B, ils induisent les étamines dans la troisième couronne. L'activité E est présente

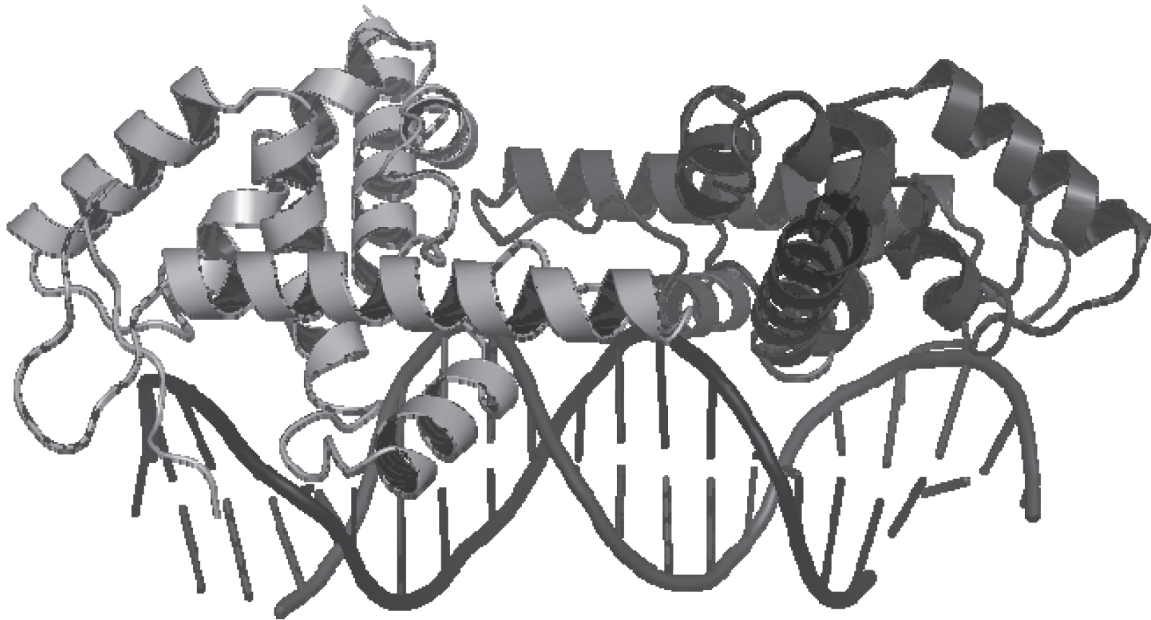


Fig. 2. Structure du domaine de liaison à l'ADN de LEAFY, complexé avec son ADN cible. LEAFY lie l'ADN sous forme d'un dimère, visible au-dessus de la molécule d'ADN.

et requise dans les quatre couronnes. LFY, lui, est exprimé uniformément dans le bourgeon floral : il doit donc interagir avec des corégulateurs exprimés plus localement pour induire ses différents gènes cibles dans des territoires spécifiques. Des analyses récentes effectuées à l'échelle du génome entier (Moyroud *et al.*, 2011 ; Winter *et al.*, 2011) ont permis d'identifier des centaines de gènes activés ou réprimés par LFY. C'est le cas en particulier de certains de ses corégulateurs comme le gène *SEPALLATA3* (figure 1) qui est activé par LFY ce qui forme une boucle de régulation de type *feed forward*, motif d'amplification d'une réponse souvent retrouvé dans les réseaux contrôlant le développement des organismes. LFY est aussi impliqué avec certains de ses gènes cibles dans plusieurs boucles d'autorégulation positive. Ce dernier type de régulation contribue certainement à provoquer la transition brutale que constitue la floraison en réponse à l'augmentation pourtant progressive de LFY.

Mécanisme moléculaire d'action de LFY chez les Angiospermes

LFY est une protéine particulière. Du point de vue évolutif, elle existe chez toutes les plantes terrestres mais n'a jamais été découverte chez les algues. Au niveau moléculaire, elle ne ressemble à aucune autre protéine : seule sa caractérisation biochimique a permis

d'établir qu'il s'agissait d'un facteur de transcription, protéine se fixant directement sur l'ADN des séquences régulatrices de ses gènes cibles. Sa caractérisation structurale a révélé un domaine de liaison à l'ADN original (Hamès *et al.*, 2008), composé exclusivement d'hélices- α et contenant en son cœur un motif appelé Hélice-Tour-Hélice que l'on trouve souvent dans des protéines interagissant avec les acides nucléiques (figure 2). LFY lie l'ADN sous forme d'un dimère et contacte à la fois le grand et le petit sillon de l'ADN, à la façon de certains facteurs bien connus chez les animaux, les facteurs à homéodomains. Sa surface d'interaction avec l'ADN est relativement large (19 paires de bases), lui conférant un haut degré de spécificité. Un modèle mathématique qui capture cette spécificité a été construit récemment. Il permet de prédire avec précision l'affinité de LFY pour n'importe quel fragment d'ADN (Moyroud *et al.*, 2011).

Si la fonction de LFY est bien établie chez la plante modèle *Arabidopsis*, son rôle chez de nombreuses plantes à fleurs reste encore à étudier. Pour comprendre comment les fleurs ont évolué et comment elles sont apparues, il est important de comprendre l'origine et l'histoire évolutive du réseau reliant LFY aux gènes ABCE. Chez les Angiospermes, la séquence en acides aminés du domaine de liaison à l'ADN est extrêmement conservée, ce qui suggère qu'il en est de même pour sa spécificité de liaison à l'ADN (Moyroud *et al.*, 2009). En se basant sur ce postulat, le modèle mathématique

établi chez *Arabidopsis* a été appliqué à d'autres plantes à fleurs : cette analyse a révélé que la relation entre le facteur LFY et le gène *C AGAMOUS* avait été établie avant la divergence entre les Monocotylédones et les Eudicotylédones (Moyroud *et al.*, 2011). Il devrait être possible d'utiliser une stratégie similaire sur les autres gènes ABCE et sur des espèces d'Angiospermes ayant divergé plus tôt dans l'évolution, de façon à essayer de déterminer l'origine de ce réseau de régulation directement à partir de l'analyse de séquences génomiques.

Une fonction végétative pour LFY ?

Les gènes *LFY* sont présents chez toutes les plantes terrestres, y compris celles qui ne possèdent pas de fleurs comme les Gymnospermes, les Fougères ou les Mousses. Cette observation soulève deux questions : quel est le rôle de LFY chez les plantes sans fleur et comment LFY a pu acquérir sa fonction florale au cours de l'évolution ?

Les Gymnospermes représentent le groupe de plantes à graines prédominantes à l'ère secondaire, avant que les Angiospermes ne deviennent prépondérantes. Les conifères, les cycas ou le *Ginkgo biloba* font partie des plantes de ce groupe qui subsistent encore à notre époque. Les Gymnospermes portent pour la plupart des cônes mâles et femelles indépendants et ne possèdent ni pétales ni sépales : ils n'ont donc pas de fleur à proprement parler.

Une des particularités des Gymnospermes est de posséder à la fois *LFY* et un gène paralogue appelé *NEEDLY (NLY)* qui fut probablement perdu chez les Angiospermes (Frohlich, 2000, 2003 ; Moyroud *et al.*, 2010). Ces deux gènes s'expriment dans les cônes reproducteurs, ce qui suggère qu'ils pourraient contrôler un réseau préfloral impliquant des homologues des gènes B et C connus chez certaines Gymnospermes (Melzer *et al.*, 2010) et à partir duquel le réseau floral aurait pu se construire. Il est possible que des modifications des propriétés des gènes *LFY* et *NLY* aient joué un rôle moteur dans l'apparition des premières fleurs en dirigeant la formation des organes mâles et femelles sur une même structure.

Chez les Mousses et les Fougères, qui ont existé avant les plantes à graines, les gènes *LFY* existent aussi mais on connaît bien peu de choses sur leur rôle. Les seules données disponibles proviennent de la mousse modèle *Physcomitrella patens*. Chez des mutants *lfy* de mousse, la division cellulaire s'arrête juste après la fécondation, dans la structure diploïde qu'on appelle le sporophyte (Tanahashi *et al.*, 2005). On ne sait pas comment le LFY de la mousse agit sur la division

cellulaire mais cette action est particulièrement intéressante car elle pourrait représenter la fonction ancestrale de LFY. Or chez les Angiospermes, si la plupart des études se sont focalisées sur la fleur, des travaux récents sur les céréales (Rao *et al.*, 2008) ou les feuilles de certaines légumineuses comme le pois (Champagne *et al.*, 2007) montrent que LFY pourrait aussi jouer un rôle actif sur les divisions cellulaires et la formation des méristèmes. Le rôle ancien de LFY pourrait donc être toujours à l'œuvre chez les groupes de plantes les plus récents mais sous une forme cryptique, masqué par le rôle central de LFY lors du développement des fleurs.

Il est vraisemblable que les nouvelles techniques permettant de révéler les gènes cibles d'un facteur de transcription, comme le ChIP-seq, vont aider à mieux comprendre les rôles déjà connus de ce facteur, mais permettront aussi de révéler des fonctions nouvelles. Une étude récente suggère notamment que LFY serait impliqué dans l'inhibition de la réponse aux pathogènes, comme si la plante pouvait mettre ses défenses en sommeil une fois lancé le programme reproducteur (Winter *et al.*, 2011). Nul doute que les progrès des approches multidisciplinaires appliquées à des organismes non modèles permettront aussi d'appréhender comment ce régulateur singulier a vu sa fonction évoluer en accompagnant l'apparition et la diversification des structures florales.

Références

- Blázquez M.A., Soowal L.N., Lee I., Weigel D., *LEAFY* expression and flower initiation in *Arabidopsis*. *Development*, 1997, 124, 3835–3844.
- Blázquez M.A., Ferrandiz C., Madueno F., Parcy F., How floral meristems are built. *Plant Mol Biol*, 2006, 60, 855–870.
- Champagne C.E., Goliber T.E., Wojciechowski M.F., Mei R.W., Townsley B.T., Wang K., Paz M.M., Geeta R., Sinha N.R., Compound leaf development and evolution in the legumes. *Plant Cell*, 2007, 19, 3369–3378.
- Frohlich M.W., An evolutionary scenario for the origin of flowers. *Nat Rev Genet*, 2003, 4, 559–566.
- Frohlich M.W., Parker D.S., The mostly male theory of flower evolutionary origins: from genes to fossils. *Syst Botany*, 2000, 25, 155–170.
- Hamès C., Ptchelkine D., Grimm C., Thevenon E., Moyroud E., Gérard F., Martiel J.L., Benloch R., Parcy F., Müller C.W., Structural basis for LEAFY floral switch function and similarity with helix-turn-helix proteins. *EMBO J*, 2008, 27, 2628–2637.
- Irish V.F., The flowering of *Arabidopsis* flower development. *Plant J*, 2010, 61, 1014–1028.

- Krizek B.A., Fletcher J.C., Molecular mechanisms of flower development: an armchair guide. *Nat Rev Genet*, 2005, 6, 688–698.
- Liu C., Thong Z., Yu H., Coming into bloom: the specification of floral meristems. *Development*, 2009, 136, 3379–3391.
- Melzer R., Wang Y.Q., Theissen G., The naked and the dead: the ABCs of gymnosperm reproduction and the origin of the angiosperm flower. *Semin Cell Dev Biol*, 2010, 21, 118–128.
- Moyroud E., Tichtinsky G., Parcy F., The LEAFY floral regulators in Angiosperms: Conserved proteins with diverse roles. *J Plant Biol*, 2009, 52, 177–185.
- Moyroud E., Kusters E., Monniaux M., Koes R., Parcy F., LEAFY blossoms. *Trends Plant Sci*, 2010, 15, 346–352.
- Moyroud E., Minguet E.G., Ott F., Yant L., Pose D., Monniaux M., Blanchet S., Bastien O., Thevenon E., Weigel D., Schmid M., Parcy F., Prediction of regulatory interactions from genome sequences using a biophysical model for the *Arabidopsis* LEAFY transcription factor. *Plant Cell*, 2011, 23, 1293–1306.
- Parcy F., Flowering: a time for integration. *Int J Dev Biol*, 2005, 49, 585–593.
- Rao N.N., Prasad K., Kumar P.R., Vijayraghavan U., Distinct regulatory role for RFL, the rice LFY homolog, in determining flowering time and plant architecture. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105, 3646–3651.
- Tanahashi T., Sumikawa N., Kato M., Hasebe M., Diversification of gene function: homologs of the floral regulator FLO/LFY control the first zygotic cell division in the moss *Physcomitrella patens*. *Development*, 2005, 132, 1727–1736.
- Weigel D., Nilsson O., A developmental switch sufficient for flower initiation in diverse plants. *Nature*, 1995, 377, 495–500.
- Winter C.M., Austin R.S., Blanvillain-Baufume S., Reback M.A., Monniaux M., Wu M.F., Sang Y., Yamaguchi A., Yamaguchi N., Parker J.E., Parcy F., Jensen S.T., Li H., Wagner D., LEAFY target genes reveal floral regulatory logic, cis motifs, and a link to biotic stimulus response. *Dev Cell*, 2011, 20, 430–443.