

Kurzzusammenfassung

Bei Angiospermen gibt es, im Gegensatz zu allen anderen Lebewesen, die *Doppelte Befruchtung* bei der jeweils zwei weibliche mit zwei männlichen Gameten fusionieren. Die beiden männlichen Gameten, Spermazellen, sind in der vegetativen Zelle eingebettet und entstehen durch zwei mitotische Teilungen, im Anschluss an eine meiotische Teilung. Trotz der Bedeutung der Gameten im Lebenszyklus und für die Züchtung, ist noch nicht bekannt, wie die Ausdifferenzierung und der Verlauf des Zellzyklus koordiniert sind.

In dieser Arbeit wurden Zellzyklusmutanten, die im typischen Ablauf der Zellteilungen gestört sind, verwendet, um die Entwicklung der Gameten zu untersuchen. Genomweite Expressionsdaten von *cdka;1^{+/-}* Pollen, die zum Teil aus Pollen mit nur einer Spermazelle bestehen, zeigten eine Hochregulierung von CELLULOSE SYNTHASE-LIKE D1 (CSLD1) im Vergleich zu wildtypischen (WT) Pollen. Die Analyse von *csld1* Mutanten ergab, dass CSLD1 in der Bildung des Pollenschlauches eine erhebliche Rolle spielt.

Für die weitere Untersuchung der Pollenentwicklung wurde eine Methode zur Kompletpräparat-Antikörperfärbung von Histonmethylierungsmustern in Pollen entwickelt. Für diese Untersuchungen wurde genutzt, dass das Muster von H3K27me1 im Zellkern der vegetativen Zelle sich deutlich vom Muster in den Zellkernen der Spermazellen unterscheidet. Während dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass verschiedene Stadien der Pollenentwicklung ebenso unterschiedliche Methylierungsmuster aufweisen. Der Zellkern der einzelligen Pollen von *e2fa^{-/-} fbl17^{+/-}* oder *cdka;1^{+/-} fbl17^{+/-}* hat ein dem vegetativen Zellkern von WT Pollen entsprechendes Muster. Die Analyse weiterer Marker im *cdka;1^{+/-} fbl17^{+/-}* Hintergrund bestätigte, dass die einzelligen Pollen das Zellschicksal einer vegetativen Zelle annehmen. Des Weiteren ist der einzellige Pollen in der Lage einen Pollenschlauch zu bilden was für die Kontrolle des Pollenschlauchwachstums durch die vegetative Zelle spricht.

Abgesehen davon ist der Pollen durch seine Zugänglichkeit ein sehr gutes Modellsystem für die Erforschung der Zellzykluskontrolle. Durch die Kombination von *cdka;1^{+/-}* oder *fb17^{+/-}* mit verschiedenen D-typ-cyclin-Mutanten konnte ein genetischer Nachweis erbracht werden, dass CYCD2;1 zusammen mit CDKA;1 eine zentrale Funktion im Zellzyklus zukommt. Im Gegensatz dazu wird der mutante Pollenphänotyp von *cdka;1^{+/-}* durch Kombination mit *msi1^{+/-}* zu einem Teil gerettet, was für eine negative Rolle von MSI1 in der S-Phasen-Initiation spricht.

Abstract

In flowering plants, each sex produces two gametes, which fuse during double fertilization. The male gametes, sperms, are embedded in a vegetative cell and produced through two mitotic divisions after meiosis in the gametophytic life phase. Yet, despite its importance in the life cycle of plants and for breeding, it is still not clear how differentiation and cell-cycle progression are coordinated during gametophyte development.

A unique set of cell-cycle mutants that disrupt the typical course of cell divisions was used here to dissect gametophyte development. Microarray analysis of pollen from *cdka;1^{+/-}* plants, a fraction of which contains only a single sperm cell, detected up-regulation of CELLULOSE SYNTHASE-LIKE D1 (CSLD1) compared to wild-type (WT) pollen. Analysis of *csld1* mutant revealed the importance of CSLD1 for pollen tube formation.

To further study gametophyte development, a method for whole mount immunostaining of histone marks in pollen was established. H3K27me1 was distributed in distinct patterns, both between different stages of pollen development as well as between the vegetative cell and the sperm cells of mature pollen. The nuclei of single-celled pollen from *e2fa^{-/-} fbl17^{+/-}* or *cdka;1^{+/-} fbl17^{+/-}* double mutants showed the same H3K27me1 pattern as the nucleus of the vegetative cell from WT pollen. Analysis of additional markers in the *cdka;1^{+/-} fbl17^{+/-}* double mutant background confirmed that the single-celled pollen adopts vegetative cell fate. The single-celled pollen can generate a pollen tube indicating that the vegetative cell controls pollen germination and tube growth.

Furthermore, due to its accessibility pollen can be used as a powerful model system for cell-cycle control. By combining different D-type cyclin mutants with either *cdka;1^{+/-}* or *fbl17^{+/-}*, genetic evidence for a central function of CYCD2;1 together with CDKA;1 in cell-cycle progression was uncovered. In contrast, combination of *msi1^{+/-}* with *cdka;1^{+/-}* leads to a partial rescue of the pollen mutant phenotype, hinting at a negative role of MSI1 in S-phase initiation.