



## Doctoral Thesis

# The role of cell wall-related proteins during leaf growth of *Festuca pratensis* Huds.

**Author(s):**

Reidy, Beat

**Publication Date:**

2001

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-004173075> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH No. 14177

# **The Role of Cell Wall-related Proteins during Leaf Growth of *Festuca pratensis* Huds.**

A dissertation submitted to the  
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY  
ZURICH

for the degree of  
DOCTOR OF NATURAL SCIENCES

presented by

**Beat Reidy**  
Dipl. Ing. Agr. ETH

born August 3, 1971  
citizen of Freiburg, Schmittlen and St. Antoni

accepted on the recommendation of

PROF. DR. J. NÖSBERGER (em.)  
examiner

PD Dr. A.J. Fleming & Prof. Dr. N. Amrhein  
co-examiners

2001

# I SUMMARY

---

---

*Festuca pratensis* Huds. is a valuable forage grass in semi-natural and sown grasslands. In contrast to other forage grasses, it has the advantage of withstanding harsh climatic conditions. However, *F. pratensis* lacks persistence when grown with other competitive companion grasses. This limited competitive ability, especially in intensively managed grasslands, has been shown to be tightly linked to leaf growth, mainly after defoliation. Leaf growth is determined by cell division and cell expansion, two related processes that are spatially separated within the leaf elongation zone (LEZ) at the basal end of the growing grass leaf. Turgor-driven cell expansion has a large impact on leaf growth and has been shown to depend on the biophysical relaxation of the cell wall. Expansins and xyloglucan endotransglycosylases (*XETs*) are two gene families that encode proteins, which have been proposed as candidates important in the molecular regulation of wall relaxation. In order to improve our understanding of the molecular mechanisms involved in the control of leaf growth in *F. pratensis*, we aimed to elucidate the role of expansins and *XET*-related proteins in the control of leaf growth in *F. pratensis*.

Although  $\alpha$ - and  $\beta$ -expansins were primary gene candidates responsible for the control of cell expansion and leaf growth, a detailed analysis of the spatial distribution of growth along the LEZ revealed no correlation between tissue elongation and the expression of different members of this gene family. However, as demonstrated by *in situ* mRNA hybridisation, the expression of the predominant  $\alpha$ -expansin (*FpExp2*) and  $\beta$ -expansin (*FpExpB3*) was strictly localised to the differentiating vascular tissue at the distal end of the LEZ. In addition, another  $\beta$ -expansin (*FpExpB2*) was highly expressed in roots and tiller primordia. These results demonstrate that the activity of the predominantly leaf

expressed  $\alpha$ - and  $\beta$ -expansins in *F. pratensis* is associated primarily with tissue differentiation rather than tissue elongation.

In contrast to the findings for expansins, the characterisation of three different cDNAs encoding *XET*-related proteins revealed a strictly leaf-specific gene expression pattern. Transcript accumulation for *FpXET1* and *FpXET2* was linked to the onset of the dark period, slightly delayed with respect to the recorded peak of the leaf elongation rate. A detailed expression analysis of the three genes in two *F. pratensis* genotypes with contrasting leaf growth characteristics showed a specific correlation between *FpXET1* expression and tissue elongation that was maintained under the different growth conditions, while the two other *FpXETs* showed different transcript dynamics. *In situ* mRNA localisation of *FpXET1* and *FpXET2* indicated an accumulation in young tissue. The results indicate that the encoded *XET*-related proteins may play an important role in cell wall modification processes during leaf growth. However, the contrasting spatial expression pattern within the LEZ of *FpXET1* and *FpXET2* suggests different physiological functions for the encoded proteins.

The results presented support the idea that the control of cell expansion is an important checkpoint for the control of leaf growth in *F. pratensis*. However, an analysis of the cellular growth dynamics in the LEZ of *F. pratensis* revealed that low nitrogen supply had a greater impact on cell division than on cell expansion, emphasizing also the significance of cell division in the control of leaf growth. Future studies focusing on the molecular regulation of leaf growth in forage grasses should therefore also incorporate an analysis of key enzymes involved in the control of the cell cycle.

## II ZUSAMMENFASSUNG

---

---

*Festuca pratensis* Huds. ist ein wertvolles Futtergras der Natur- und Ansaatwiesen. Im Gegensatz zu anderen qualitativ hochwertigen Gräsern liefert es auch in höheren und klimatisch raueren Lagen hohe und qualitativ gute Erträge. Verglichen mit anderen Gräsern verfügt *F. pratensis* jedoch über eine relativ geringe Konkurrenzkraft und wird deshalb in intensiv bewirtschafteten Wiesen durch andere Gräser verdrängt. Seine geringe Konkurrenzkraft ist stark mit dem Blattwachstum korreliert, vor allem nach einem Schnitt ist die Blattwachstumsrate niedrig. Das Ziel dieser Arbeit war einen Einblick in die molekulare Regulation des Blattwachstums von *F. pratensis* zu gewinnen. Von besonderem Interesse war die Bedeutung von Expansin und Xyloglucan endotransglycosylase (*XET*) in der Kontrolle des Blattwachstums. Es wird vermutet, dass diese zwei Proteine für die Zellstreckung von fundamentaler Bedeutung sind.

Obwohl  $\alpha$ - und  $\beta$ -Expansin als Schlüsselfaktoren für die Kontrolle der Zellstreckung gelten, korrelierte die Expression von mehreren Isogenen nicht mit der räumlichen Verteilung des Streckungswachstums innerhalb der Blattwachstumszone. Mit Hilfe von *in situ* mRNA Lokalisierung konnte jedoch gezeigt werden, dass sich die Expression der zwei am stärksten im Blatt exprimierten  $\alpha$ - (*FpExp2*) und  $\beta$ -Expansine (*FpExpB3*) auf sich differenzierende Gefäßbündel am distalen Ende der Blattwachstumszone beschränkte. Die Expression eines weiteren  $\beta$ -Expansin (*FpExpB2*) war limitiert auf wachsende Wurzelspitzen und Primordien von Seitentrieben. Die Resultate deuten darauf hin, dass die in der Blattwachstumszone von *F. pratensis* am stärksten exprimierten Expansine eine wichtige Rolle bei der Differenzierung von Geweben spielen. Für die Regulation des Streckungswachstums scheinen die analysierten Isogene von untergeordneter Bedeutung zu sein.

Im Gegensatz zu Expansin war die Expression von drei Isogenen, die für *XET*-ähnliche Proteine codieren, ausschliesslich auf die Blattwachstumszone beschränkt. Die Expression von zwei Isogenen schwankte beträchtlich während des Tagesverlaufs. Eine detaillierte Expressionsanalyse der drei Isogene in zwei Genotypen von *F. pratensis* mit unterschiedlichem Blattwachstum ergab unterschiedliche Expressionsmuster. Nur die Expression von *FpXET1* korrelierte eng mit der räumlichen Verteilung des Streckungswachstums. Die *in situ* mRNA Lokalisierung von *FpXET1* und *FpXET2* zeigte eine spezifische Akkumulation der mRNAs in Zellen von jungem Blattgewebe. Diese Resultate weisen darauf hin, dass diese Proteine eine wichtige Funktion bei der Differenzierung der Zellwände haben. Das räumlich unterschiedliche Expressionsmuster von *FpXET1* und *FpXET2* zeigt jedoch, dass die zwei Proteine verschiedene physiologische Funktionen erfüllen.

Die hier präsentierten Ergebnisse belegen deutlich, dass die Regulation der Zellstreckung einen wichtigen Faktor für die Regulation des Blattwachstums von *F. pratensis* darstellt. Eine Analyse der zellulären Wachstumsdynamik zeigte aber auch, dass sich die relative Bedeutung der Zellstreckung und der Zellteilung für das Blattwachstum mit den Wachstumsbedingungen änderte. Bei einer niedrigen Stickstoffversorgung limitierte die Zellteilung das Blattwachstum signifikant stärker als die Zellstreckung. Um einen tieferen Einblick in die molekulare Regulation des Blattwachstums von Futtergräsern zu gewinnen, sind deshalb auch Schlüsselenzyme zu berücksichtigen, die massgeblich an der Regulation des Zellzyklus beteiligt sind.