Studying of fertilization-independent embryo- and endospermogenesis in maize embryo sacs

Chumakov M.I., Volokhina I.V., Gusev Yu.S., Mazilov S.I., Fadeev V.V., Gutorova O.V., Kolesova A.Yu., Moiseeva E.M.
Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia
E-mail: chumakovmi@gmail.com

Annotation. The literature and experimental analysis of maize embryo and endospermogenesis genes expression before and after pollination will be presented. Data on the CRISPR/Cas9 editing of maize embryo- and endospermogenesis genes are discussed.

Keywords: maize, CRISPR/Cas9, embryo- and endospermogenesis, gamete fusion

The molecular genetic mechanism of asexual reproduction by seeds (apomixis) in maize has not been studied yet, although it is known that the embryo and endosperm can develop without fertilization (fertilization-independent: *fis1*, *fie2* genes) in the ancestor of maize (*Trypsacum*) and, in some modern maize forms [1]. Knowledge of regulation of these processes can help to develop biotechnologies on this basis [2].

Purpose: Studying of the possible mechanisms of fertilization-independent embryo- and endospermogenesis in maize embryo sacs.

The first part of the report presents the own data concerning expression of gamete interaction (*Zm_gex2*) and membrane fusion (*Zm_gsc1*) genes. We obtained for the first-time data on the DNA remodeling and endospermogenesis (*fie1*, *fie2*), genes expression in the parthenogenetic AT-3 maize embryo sac before and after pollination [1].

The second part of this report presents literature data on the genome editing (CRISPR/Cas9) method and our application to maize plants. For the first time, CRISPR/Cas9 vectors containing gRNA to the adhesion (*Zm_gex2*) and fusion (*Zm_gsc1*) genes of maize gametes were created. CRISPR/Cas9 constructs were introduced into the genome of KM maize line using in planta and in vitro methods. The insertion analysis for transformed plants using molecular genetic methods will be presented.

This work was carried out within the Program of Basic Research of the state academies of sciences for 2018-2020 (№ AAAA-A17-117102740101-5) and Russian Foundation for Basic Research grants (№18-29-14048mk; №20-016-00020a; №20-316-80020 mol-e-a).

Исследование независимого от опыления эмбрио- и эндоспермогенеза в зародышевых мешках кукурузы

Чумаков М.И., Волохина И.В., Гусев Ю.С., Мазиллов В.И., Гуторова О.В., Колесова А.Ю., Фадеев В.В., Моисеева Е.М.
Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, 410049 Саратов, Россия

Аннотация. Дан литературный и экспериментальный анализ экспрессии генов эмбрио- и эндоспермогенеза кукурузы до и после опыления. Обсуждаются данные по CRISPR/Cas9-редактированию генов эмбрио- и эндоспермогенеза кукурузы

Ключевые слова: кукуруза, CRISPR/Cas9, эмбрио- и эндоспермогенез, слияние гамет

Молекулярно-генетический механизм бесполого размножения семенами (апомиксис) у кукурузы не изучен, хотя известно, что зародыш и эндосперм может развиваться без опыления (fertilization-independent seeds: *fis*, *fie* гены) у предка кукурузы трипсакума и у некоторых современных форм кукурузы имеются его проявления [1]. Знание закономерностей регуляции этих процессов может помочь развить биотехнологии на этой основе [2].

Целью исследования является исследование возможных механизмов независимого от опыления эмбрио- и эндоспермогенеза у кукурузы.

Во первой части доклада представлены литературные и собственные данные экспрессии генов, функционирующих на ранних этапах эмбрио- и эндоспермогенеза в зародышевых мешках кукурузы без опыления. В частности, генов, кодирующих белки адгезии и слияния мембран гамет, хроматин-моделирующие белки [1] и белки, контролирующие начало развития эндосперма (*Fie1*, *Fie2*).

Во второй части доклада представлены данные по CRISPR/Cas9-методу и практике его применения на кукурузе. Впервые созданы CRISPR/Cas9-векторы, содержащие гид-ПНК к генам адгезии (*Zm_gex2*) и слияния (*Zm_gsc1*) мембран гамет кукурузы. CRISPR/Cas9-конструкции введены в геном генетически маркированной кукурузы KM методами *in planta* и *in vitro*. Представлен анализ трансформированных растений на наличие вставок молекулярно-генетическими методами.

Работа выполнена по Программе фундаментальных научных исследований государственных академий наук (№ гос. регистрации AAAA-A17-117102740101-5) и при финансовой поддержке грантов РФФИ: №18-29-14048mk, №20-016-00020a (*Zm_gex2*) и №20-316-80020mol-e-a (*Zm_gsc1*).

1. Volokhina I., Gusev Y., Moiseeva Y., Fadeev V. Kolesova A., Gutorova O., Chumakov M. Expression of genes coding for chromatin-modifying enzymes in maize lines // Plant Gene. 2020. V.22. 100221.
2. Chumakov M.I. Matroclinic haploidy and gamete interaction in maize // Rus. J. Genetics 2018. V.54. (10): 1137–1141.