

УДК 581.14

КОЭВОЛЮЦИЯ СТРУКТУРЫ ПОБЕГОВОЙ АПИКАЛЬНОЙ МЕРИСТЕМЫ И ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ КОНТРОЛЯ КЛЕТОЧНОЙ ПРОЛИФЕРАЦИИ

Е.А. Быкова, Е.А. Лабунская, Я.В. Косенко, В.В. Чуб

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Побеговая апикальная меристема (ПАМ) образует клетки для построения всех тканей побеговой системы растения. Эволюция наземных растений сопровождалась перестройками в архитектуре ПАМ: изменением количества апикальных инициалей, их формы, расположения, а также возникновением новых функциональных зон меристемы. Усложнению структуры побеговой апикальной меристемы сопутствуют перестройки в плазмодесменной сети и возникновение вторичных плазмодесм в ПАМ. У растений из разных таксонов гены, гомологичные CLAVATA1, 2, 3 или WUSHEL, взаимодействуя друг с другом, определяют объем побеговой и корневой меристем, влияют на интенсивность делений клеток. При переходе от голосеменных к цветковым растениям функции семейства генов WOX специализировались как в пространстве (экспрессия разных генов отдельно в побеговой и корневой меристеме), так и во времени (экспрессия на разных этапах онтогенеза). Генное семейство CLE, содержащее гомологи CLV3, обширно как у семенных, так и у споровых растений. Функции этих генов не ограничиваются регуляцией объема меристемы. Рецепторные комплексы CLV1-CLV2, CLV2-RPK2 встречаются как у споровых, так у семенных растений, тогда как комплекс CLV2-SOL2/CRN является поздним эволюционным приобретением и возникает только у цветковых растений. Таким образом, покрытосеменные растения обладают наиболее сложной сетью регуляции объема меристемы. Нарушения в ее функционировании приводят к возникновению фасцированных форм растений, которые широко известны среди цветковых и голосеменных, но не обнаружены у споровых растений.

Ключевые слова: побеговая апикальная меристема, фасциация, генетический контроль развития, морфогенез растений.

Общие представления о строении побеговой апикальной меристемы (ПАМ)

Концепцию апикальной клетки как единственной, обладающей меристематической активностью в 1759 г. предложил Вольф (Wolff). Основой для этой концепции послужили исследования апексов споровых растений. Далее Вольф распространил эту идею также на семенные растения. После работы Вольфа представления об апикальной меристеме побега претерпели множество изменений. Так, в ПАМ

семенных растений не удавалось обнаружить единственную апикальную клетку. Вместо этого наблюдалась масса клеток, зачастую организованная в слои, которая дает все ткани вегетативного побега. Опираясь на эти наблюдения, немецкий ботаник Ганштейн в 1868 г. выдвинул теорию гистогенов [2]. Он предположил, что все клетки растения берут начало из трех частей меристемы (гистогенов): (1) дерматогена, самого наружного слоя, (2) слоев перифлеммы, дающей кору, и (3) многослойной плеромы, образующей центральную часть оси. Эта теория была привлекательна, поскольку связывала происхождение каждой из топографических зон стебля с конкретным гистогеном. Однако не все апексы удавалось строго зонировать на области, соответствующие каждому из гистогенов. К голосеменной теории Ганштейна оказалась не применимой в принципе. Самым уязвимым в ней оказалось жесткое детерминирование судьбы каждой клетки меристемы. Таким образом, от теории гистогенов в применении к апикальной меристеме побега отказались.

Следующая концепция строения ПАМ – теория туники и корпуса – была выдвинута Шмидтом в 1924 г. на основании изучения апексов покрытосеменных. В ней автор предлагал наружные слои клеток, делящиеся антиклинально, назвать туникой, а остальные клетки, делящиеся в разных направлениях, отнести к корпусу. Туника покрытосеменных может включать в себя от 0 до 6 слоев [59], хотя обычно их число равно двум или трем, их принято обозначать L1, L2, L3 и т.д. В отличие от теории гистогенов Ганштейна, теория туники и корпуса не предполагает столь строгой связи между определенными частями меристемы и топографическими зонами стебля. Конечно, эпидермис чаще всего возникает из слоя L1, но судьба более глубоких слоев, так же как и клеток корпуса, не определена столь строго [67]. Термин «туника» оказался неоднозначным. Было обнаружено, что клетки корпуса в какие-то моменты времени могут организовываться в слои. Такой корпус было предложено назвать стратифицированным [70]. Кроме того, в тунике также иногда обнаруживаются периклиальные деления [66]. Как альтернатива тунике был предложен термин «мантия», объединяющий все слои в апексе, в которых антиклинальные деления происходят достаточно часто, чтобы сформировать регулярные слои [57].

Практически ко всем голосеменным неприменимы ни теория гистогенов, ни концепция туники и корпуса, поскольку в их апексе невозможно выделить организованные стабильные слои клеток, делящиеся антиклинально. В связи с этим для голосеменных было предложено цитогистологическое зонирование [18], выделяющее пять зон: (1) зону апикальных инициалей, (2) центральную зону, (3) медулярную или gib-зону, (4) переходную и (5) периферическую зоны (рис. 4).

Строение ПАМ в различных систематических группах

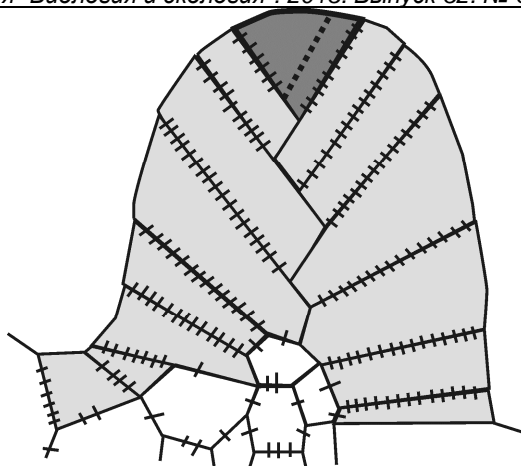
В разных по систематическому положению группах растений клетки ПАМ, функционирующие как апикальные инициалы, распределены по-разному в силу коррелятивного усложнения в ходе эволюции как вегетативного тела растения, так и его меристемы. Функционирование клеток в качестве апикальных инициалей определяется не их внутренними характеристиками, а их положением. Здесь, по-видимому, ключевую роль должна играть позиционная информация [4]. При делении апикальной инициалы сохранить функции материнской клетки может любая из дочерних, и гистологически трудно определить те клетки, которые станут апикальными инициалами. В связи с этим была предложена концепция «непрерывной остаточной меристемы» [49], в которой клетки ПАМ подразделялись на «непрерывную остаточную меристему» (continuing meristematic residue) – клетки, которые функционируют как инициалы и «основную меристему», включавшую в себя остальные клетки. В своей работе Ньюман [49] классифицировал меристемы на три группы.

1. Моноплексные ПАМ, широко представленные у папоротников, у которых инициаль (одна или несколько) находятся в верхнем слое и никогда не делятся периклиналино. Форма инициалы при этом, как правило, тетраэдрическая (рис. 1).

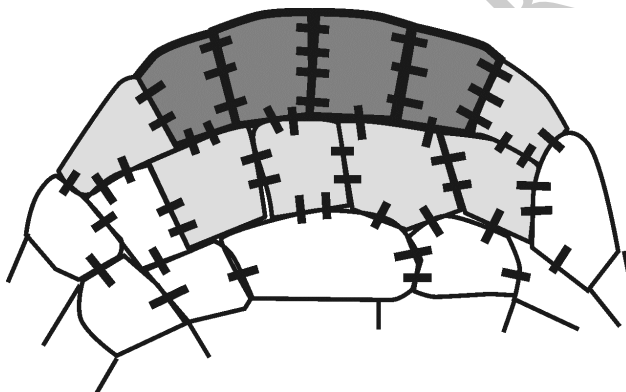
2. Симплексные ПАМ, типичные для голосеменных, где несколько инициалей организованы в виде поверхностного слоя, клетки которого делятся как антиклиналино, так и периклиналино. При этом формируется как поверхностный слой, так и масса нижележащих клеток (рис.2).

3. Дуплексные ПАМ (по типу меристемы покрытосеменных) – инициалы находятся как минимум в двух слоях, их деления антиклиналины, кроме самых глубинных инициалей, которые делятся также периклиналино (рис. 3). Следовательно, в соответствии с теорией туники и корпуса (Эсау, 1969), инициалы поверхностных слоев залегают в тунике, тогда как наиболее глубинные инициалы приурочены к корпусу.

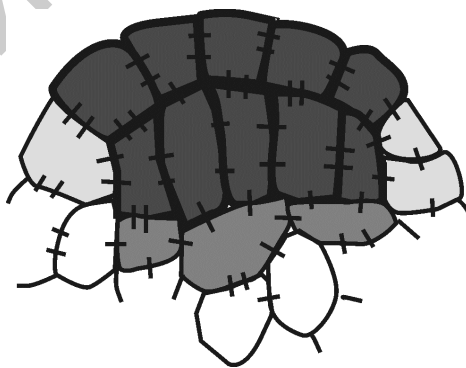
При рассмотрении этих трех типов ПАМ следует отметить, что симплексный и дуплексный типы строения близки друг к другу, тогда как моноплексный существенно отличается от них. Этот принцип лег в основу другой классификации распределения апикальных инициалей: (1) по типу семенных и (2) по типу папоротниковидных [55], где в первый (семенной) тип попадают как симплексные, так и дуплексные апексы. Рассмотрим строение ПАМ у разных систематических групп растений (кроме мхов, у которых спорофит настолько сильно отличается от спорофитов других наземных растений, что сравнение провести трудно).



Р и с . 1 . Моноплексная меристема: темно-серым показана апикальная инициаль, светло-серым – ее производные, объединенные первичными плазмодесмами. Поперечные штрихи означают плазмодесмы



Р и с . 2 . Симплексная меристема. Обозначения – см. рис. 1



Р и с . 3 . Дуплексная меристема. Темно-серым обозначены инициали туники, более светлым – инициали корпуса (L3), самой светлой заливкой показаны непосредственные производные инициалей. Число плазмодесм на схеме условно (не отражает наблюдаемой плотности). На рисунках показано, что плотность плазмодесм моноплексных меристем значительно выше, чем у симплексных и дуплексных

ПАМ у Polypodiophyta

ПАМ папоротниковидных соответствует моноплексному типу по классификации Ньюмана и содержит одну или несколько клеток, функционирующих как апикальные инициалы. Обычно инициаль имеет форму треугольной пирамиды (тетраэдра) с основанием, обращенным наружу, три другие грани смотрят внутрь. Плоскости делений ориентированы антиклинально, при этом дочерние клетки располагаются по спирали. Апикальная инициаль может быть и трехгранной, с линзовидной наружной поверхностью и двумя внутренними (проксимальными) сторонами, параллельно которым ориентированы плоскости делений. Такая особенность строения характерна для билатерально симметричных побегов, как у водного папоротника *Salvinia natans* (L.) All. [37] или, к примеру, у *Equisetum* L.

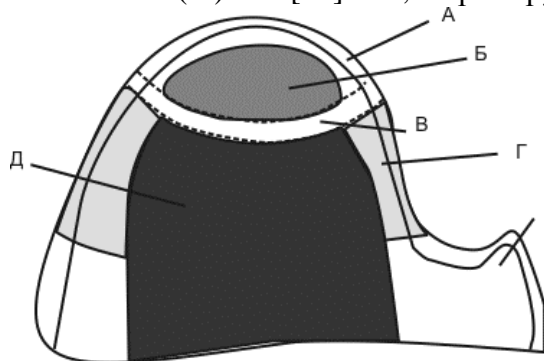


Рис. 4. Схема зонирования меристемы, предложенная Фостером [18]:

А – слой туники. Б – меристема ожидания (организационный центр).

В – переходная зона. Г – периферическая (фланговая) зона.

Д – медуллярная (rib) зона. Е – примордий листа

Некоторые исследователи пытались описывать ПАМ папоротников с позиции зонирования, выделяя в протомеристеме два слоя: поверхностный и нижележащий. Под ними находятся зоны, дающие начало коре и центральному цилиндру [41]. В таком варианте в качестве инициалей рассматривается целый слой. Однако ряд работ опроверг эту гипотезу, и представления об апикальной клетке у Polypodiophyta занимают прежние позиции [7; 39]. Были попытки присвоить апикальной инициали функции меристемы ожидания [55], однако эта гипотеза не подтвердилась, поскольку была показана митотическая активность клеток, выполняющих функции инициалей [21].

ПАМ у Lycophyta

Несмотря на то, что у плауновидных нередко встречается крупная апикальная инициаль (или несколько), апикальные клетки, в отличие от инициалей Папоротниковидных, имеют параллельные друг другу клеточные стенки, широкое основание (а не острый угол, как у пирамидальных клеток). Таким образом, меристемы Lycophyta имеют

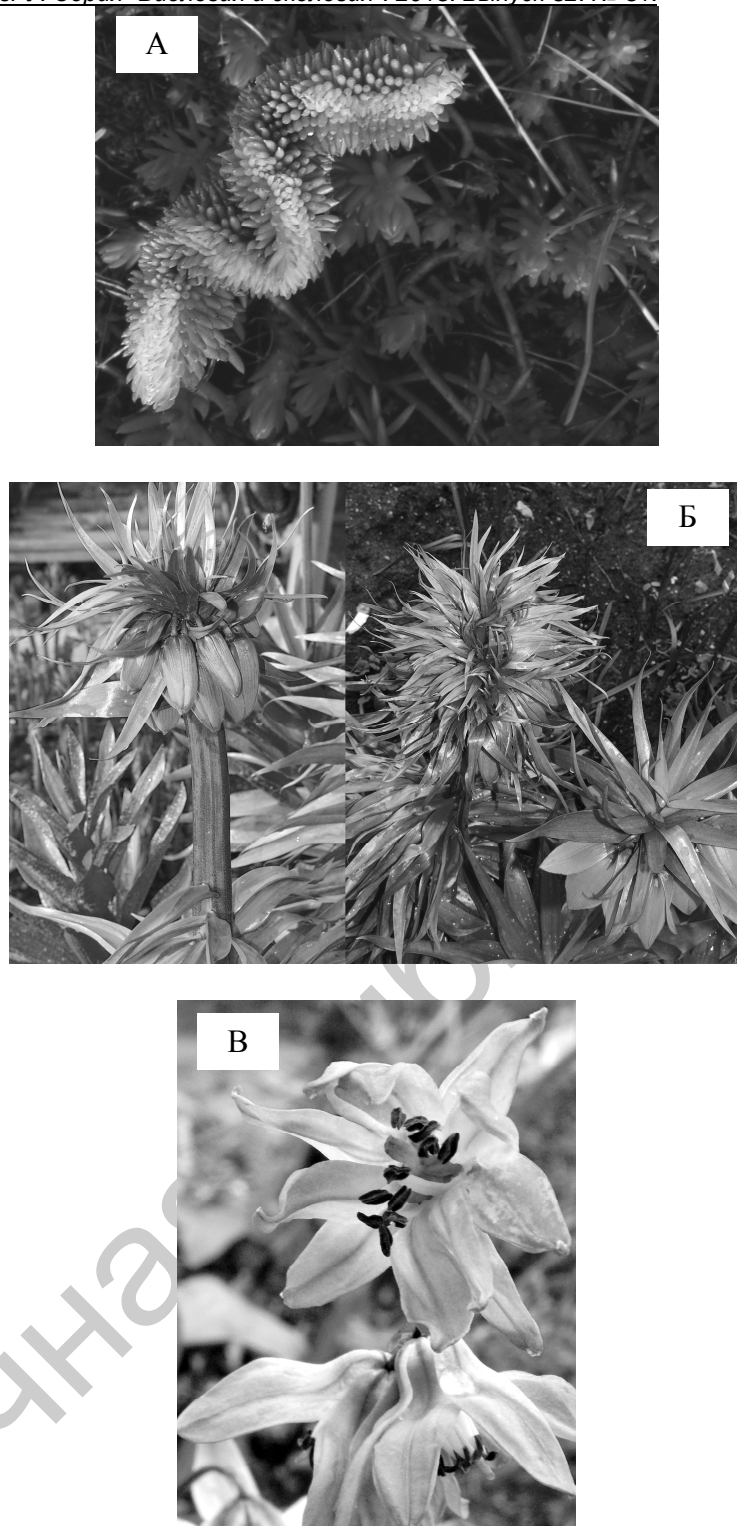
существенные структурные отличия от меристем, характерных для папоротниковидных. Таким образом, согласно классификации Ньюмана ПАМ *Lycophyta* соответствует симплексному типу. У *Isoetes* L., однако, имеется крупная центральная апикальная клетка, которая может создать обманчивое представление, что апикальные инициалы здесь организованы моноплексному типу, как у папоротниковидных [31]. Но, в отличие от моноплексных инициалей, деления в них ориентированы как антиклинально, так и периклинально, что соответствует симплексному типу по Ньюману [55].

Selaginella P. Beauv. среди других *Lycophyta* стоит особняком, что подтверждают и молекулярно-генетические данные [57]. Ее апикальные инициалы соответствуют моноплексному типу с 2-, 3- и 4-сторонними пирамидальными инициалами [55]. По-видимому, *Selaginella* – не самый типичный объект для сравнительно-анатомических и эволюционных исследований среди *Lycophyta*. Хотя в связи с относительно небольшим геномом ее часто используют в молекулярно-генетических работах как удобную модель.

ПАМ семенных растений

У семенных растений как минимум одна инициаль в апексе делится как в антиклинальном, так и в периклинальном направлении, что позволяет их объединить по этому признаку [55]. Таким образом, апикальные инициалы непосредственно участвуют в образовании нижележащих клеток меристемы. Рассмотрим подробнее строение апикальной меристемы побегу у голосеменных и покрытосеменных.

Цитогистологическое зонирование меристемы голосеменных. Фостер предложил зонирование ПАМ голосеменных при работе с *Ginkgo biloba* L., впоследствии распространив его на другие объекты [18–20]. В апексе можно выделить группу апикальных инициалей на поверхности, что соответствует симплексному типу меристемы по Ньюману [49]. Непосредственно под ними находится зона центральных материнских клеток, которые заметно вакуолизированы и имеют толстые клеточные стенки, что указывает на относительно низкую митотическую активность. Вместе с инициалами эта зона входит в состав протомеристемы (наименее дифференцированной зоны апекса побега). Зону центральных материнских клеток окружает периферическая зона, а под ней располагается *rib*-зона (медуллярная зона) – из нее образуются клетки сердцевины. Разделяет зону центральных материнских клеток и *rib*-зону тонкая переходная зона из упорядоченных клеток.



Р и с . 5. Временное увеличение объема ПАМ у покрытосеменных, приводящие к фасциации: А – вегетативных побегов (*Sedum reflexum* L.); Б – соцветий (*Fritillaria imperialis* L.); В – цветков (*Scilla rosenii* K.Koch)

Особенности строения ПАМ в различных группах голосеменных варьируют. Так, апексы у *Gymnosperms* очень широкие, с большим числом поверхностных клеток, которые, делясь периклинально, дают клетки более глубоких слоев. Фостер интерпретировал все эти поверхностные клетки как инициалы [18; 20]. Число инициалей также является предметом дискуссии. Так, работы с секториальными химерами *Juniperus* L. позволяют предположить в ПАМ наличие трех апикальных инициалей [60; 67]. Однако в более поздней работе Корн высказывает точку зрения о существовании всего лишь одной апикальной инициалы у представителей того же рода [34]. Хотя у большинства голосеменных апикальные инициалы делятся как антиклинально, так и периклинально, не образуя слоя, подобного тунике, некоторые представители – например, *Juniperus* – образуют инициалы, делящиеся строго в антиклинальном направлении [60].

У *Gymnosperms* показано четкое разделение на поверхностный слой и нижележащую массу клеток, имеющую происхождение, не зависящее от поверхностных инициалей. Таким образом, апексы побегов *Ephedra* L. и *Gnetum* L. можно описать с позиций теории туники и корпуса. Тунику и корпус можно также выделить в покоящихся ПАМ у *Tsuga heterophylla* Sarg. [53]. и *Picea mariana* Kunt. [58], которые утрачивают при этом зонирование, характерное для голосеменных.

Зонирование побеговой апикальной меристемы покрытосеменных. Структура ПАМ у покрытосеменных хорошо согласуется с теорией туники и корпуса. Инициалы, относящиеся по классификации Ньюмана к дуплексному типу [49], дают клетки туники. В каждом слое работают свои инициалы, при этом у клеток корпуса также есть свои инициалы, которые делятся как антиклинально, так и периклинально. Иногда инициалы корпуса оказываются организованы в слой, образуя стратифицированный апекс [70]. Число организованно делящихся слоев у разных таксонов покрытосеменных варьирует. Так, наиболее распространенный вариант среди однодольных – это один или два слоя туники [10].

Слои туники представляют собой отдельные клеточные линии, что подтверждено многочисленными работами на растительных химерах, в частности на цитохимерах [56; 61]. Обычно такие химеры у двудольных обладают тремя независимыми слоями – двумя слоями туники и одним слоем инициалей корпуса, которые у химер генетически различаются.

Следует добавить, что цитогистологическое зонирование, разработанное для голосеменных Фостером [18], вполне применимо и к покрытосеменным [35]. Таким образом, функционально-анатомическая разметка ПАМ покрытосеменных включает в себя 5 основных зон, наложенных на слои туники и корпус (рис. 4).

Симпластические домены ПАМ

Анализ плотности плазмодесменных контактов в апикальных меристемах побегов различных сосудистых растений также подтверждает классификацию меристем по типу организации на «папоротниковидный» и «семенной» типы – в первом средняя плотность плазмодесм в три раза выше, чем во втором [28]. Важным показателем того, как в меристеме распределены потоки различных веществ (в том числе и сигнальных молекул), является расположение и динамика формирования плазмодесм. Первичные плазмодесмы формируются при цитокинезе, тогда как вторичные прорываются позже, проходя через уже существующие клеточные стенки [1]. В меристеме с организацией по типу папоротниковидных формируются преимущественно первичные плазмодесмы, и они приурочены к определенному клеточному слою, внутри которого клетки делятся только антиклинально (lineage-specific plasmodesmata network, LPD). В меристемах по типу семенных образуются также вторичные плазмодесмы, прорывающиеся между клетками разных слоев (interface-specific plasmodesmata network, IPD) [28]. Меристемой IPD-типа, с плазмодесмами между слоями, обладают голосеменные и покрытосеменные, а также представители Lycophyta, такие, как *Lycopodium* L. и *Isoetes*. Однако сеть плазмодесм у *Selaginella* развивается только в пределах одного слоя (LPD-тип меристемы), что также характерно для Polypodiophyta. Это соответствует типу организации меристемы у селлагинелл, проявляющей большое сходство с ПАМ папоротниковидных [28]. Таким образом, можно проследить тесную связь между организацией меристемы и распределением плазмодесм, в некоторой степени отражающим трафик сигнальных веществ в пространстве меристемы. Апикальные инициалы, делящиеся антиклинально, формирующие один слой своих дочерних клеток, очевидно, не регулируют рост нижележащей массы клеток, а передают сигнальные молекулы по плазмодесмам только в своем слое. Клеточный слой (или слои) в семенном типе организации ПАМ растет каквширь, так и вглубь, и плазмодесмы между слоями клеток позволяют напрямую передавать сигнальные молекулы к апикальным инициалам и от них. Такой тип организации меристемы предполагает наличие организационного центра – меристемы ожидания, находящейся под инициалами и регулирующей их активность. Следует подчеркнуть, что LPD-плазмодесмы обычно являются первичными, тогда как IPD преимущественно вторичные. Это подтверждается наличием вторичных плазмодесм у покрытосеменных [5] и отсутствием их у папоротников на примере *Azolla* Lam. [23].

Компоненты регуляторного контура CLAVATA-WUSHEL,
обнаруженные у различных растений

Объект	Ген	Функция	Экспрессия	Ссылка
<i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>WUS</i>	+	организационный центр ПАМ	[63]
	<i>WOX5</i>	+	организационный центр КАМ	[22]
	<i>CLV1</i> (рецептор)	+	организационный центр ПАМ	[12]
	<i>CLV2</i> (рецептор)	+	многие ткани растений	[12]
	<i>CLV3</i> (сигн. пепт.)	+	многие ткани растений	[11]
<i>Zea mays</i>	<i>ZmWUS1</i>	–	периферическая зона ПАМ, центральная зона в репродуктивный период	[13]
	<i>ZmWUS2</i>	–	листовые примордии, периферическая зона ПАМ, центральная зона в репродуктивный период	[47]
	<i>ZmWOX5A/ZmWOX5B</i>	–	покоящийся центр КАМ	[48]
	<i>TD1</i> (рецептор)	+	вегетативная ПАМ, листовые примордии	[47]
	<i>FEA2</i> (рецептор)	+	вегетативная ПАМ	[71]
<i>Oryza sativa</i>	<i>OsWUS</i>	+	периферическая зона ПАМ, листовые примордии центральная зона в репродуктивный период	[13]
	<i>OsWOX5/QHB</i>	+	покоящийся центр КАМ	[30]
	<i>FON1</i> (рецептор)	+	ПАМ, ФМ, центральная зона в репродуктивный период	[30]
	<i>FON2</i> (сигн. пепт.) <i>FCP1</i> (сигн. пепт.)	+	<i>FON2</i> -репродуктивная меристема <i>FCP1</i> -вегетативная ПАМ	[13]
<i>Petunia hybrida</i>	<i>PhWUS (TER)</i>	+	ПАМ	[69]
<i>Vitis vinifera</i>	<i>VvWUS</i>	+	ПАМ	[16]
	<i>VvWOX5</i>	–	КАМ	[16]
	<i>VvCLE</i> (сигн. пепт.)	+	ПАМ, пазушные почки	[43]
<i>Nymphaea jamesoniana</i>	<i>NjWUS</i>	–	ПАМ	[45]
	<i>NjWOX5</i>	–	ПАМ, КАМ	[45]
<i>Pinus sylvestris</i>	<i>PsWUS</i>	–	ПАМ, КАМ	[45]
<i>Picea abies</i>	<i>PaWUS</i>	?	?	[26]
	<i>PaWOX5</i>	–	ПАМ, КАМ, развитый эмбрион	[26]
<i>Gnetum gnemon</i>	<i>GgWUS</i>	+	вегетативная ПАМ, мужские стробилы, женские стробилы	[45]
<i>Ginkgo biloba</i>	<i>GbWUS</i>	–	ПАМ, КАМ	[45]
<i>Ceratopteris richardii</i>	<i>CrWUL</i>	+	КАМ	[46]
<i>Cyathea australis</i>	<i>CaWUL</i>	+	КАМ	[46]

Примечание. сигн. пепт. – сигнальный пептид их семейства CLE; рецептор – один из компонентов рецепторного комплекса, гомологичный либо CLV1, либо CLV2; ПАМ – побеговая апикальная меристема; КАМ – корневая апикальная меристема; «+» – показано, что при нарушении работы гена изменяется объем меристемы; «–» – показана лишь гомология гена, но функция контроля объема меристемы не доказана; «?» – точные данные авторы статьи не приводят.

Регуляторный контур CLAVATA-WUSHEL

Для поддержания специфической пространственной структуры меристемы необходимы регуляторные механизмы, обеспечивающие как митотическую активность, так и направление деления клеток.

Наиболее подробно регуляторные процессы изучены на модельном объекте *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., обладающем дуплексной меристемой (по типу семенных). Хорошая изученность этого объекта служит отправной точкой для исследования молекулярно-генетических процессов регуляции активности ПАМ. В работах, посвященных ПАМ *Arabidopsis*, в основном используют теорию туники и корпуса, а также упрощенный вариант цитогистологического зонирования, выделяя центральную, периферическую и медуллярную (rib) зоны [4].

Основным регулятором пролиферативной активности меристемы считают ген *WUSCHEL* (*WUS*). Он был первым из всех изученных генов, относящихся к семейству гомеобокс-содержащих факторов транскрипции *WOX* (*WUSCHEL*-related homeobox). *WUS* экспрессируется в группе клеток, лежащих непосредственно под слоем L3 и ниже, называемых организационным центром [36]. Мутанты *wus* характеризуются преждевременной остановкой роста и развития, так как ПАМ прекращает функционирование на ранних этапах развития [9]. В экспериментах с оверэкспрессией гена *WUS* в месте инициации листа или же в самом листовом примордии дальнейшее развитие филлома останавливалось. Ген *WUS* поддерживает в недифференцированном состоянии центральную зону, а также контролирует её границы [13].

Система регуляции экспрессии гена *WUS* довольно сложна и состоит из нескольких компонентов. В эту систему вовлечены такие гены как *SHOOTMERISTEMLESS* (*STM*), *STIMPY* (*STIP*), *POLTERGEIST* (*POL*) и др. [77]. Можно сказать, что любой фактор, влияющий на активность ПАМ, должен тем или иным способом изменять экспрессию гена *WUS*. Однако одними из самых важных регуляторов являются продукты генов *CLAVATA* (*CLV*). Ген *CLAVATA1* (*CLV1*) кодирует рецептор-подобную киназу с лейцин-обогащённым повтором (LRR), а ген *CLV2* кодирует рецептор, содержащий LRR, у которого есть лигандный домен, но отсутствует киназный домен [29; 43]. Предполагают, что белковые продукты обоих генов в процессе функционирования объединяются в гетеродимер.

Ген *CLV3* не гомологичен двум предыдущим, и кодирует 96-аминокислотную последовательность, которая на своем N-конце имеет секреторную сигнальную область [43; 63]. Показано, что промотор *CLV3* является непосредственной мишенью фактора транскрипции *WUS*. При этом транскрипция *CLV3* усиливается [78]. В процессе секреции, сопряженной с протеолизом и гликозилированием, белок *CLV3* превращается в короткий гликопептид (13 аминокислот) с двумя

гидроксипролиновыми остатками, который может связываться с рецепторным комплексом из белков CLV1 и CLV2 [52; 77]. При этом именно пост-транскрипционное гликозилирование короткого пептида арабинозой по одному из гидроксипролиновых остатков переводит его в активное состояние. Удаление арабинозного остатка ведет к снижению активности и слабой аффинности связывания с рецепторным комплексом CLV1+CLV2. На данный момент существуют прямые биохимические доказательства лиганд-рецепторных взаимодействий между доменом LRR из CLV1 и CLV3 [33; 51]. После связывания рецепторного комплекса с пептидом CLV3 сигнал передается в ядро, и экспрессия гена *WUS* снижается [4].

Мутанты *clv3* имеют увеличенную ПАМ вследствие того, что домен, в котором экспрессируется *WUS*, расширяется. А увеличенная экспрессия *CLV3* приводит к преждевременному снижению митотической активности ПАМ [9; 40; 43]. Таким образом, *CLV3* работает как репрессор транскрипции гена *WUS*, и вместе с ним образует регуляторный контур с отрицательной обратной связью [17].

Ген *CORYNE (CRN)* кодирует рецептор-подобную киназу с коротким внеклеточным доменом [43; 44]. Ряд исследований с использованием мутантов *crn*, *clv1*, *clv2*, а также двойных мутантов *clv1 crn* и *clv2 crn* показал, что белки CRN и CLV2 дополняют друг друга, создавая функциональный рецептор и взаимодействуя с CLV3. Таким образом, в растении существует два пути восприятия сигнала от пептида CLV3: при помощи CLV1, а так же CLV2 и CRN [54].

У *Arabidopsis* зоны экспрессии обсуждаемых генов хорошо совпадают с цитогистологическим зонированием меристемы по Фостеру (см. выше). Так, ген *CLV3* экспрессируется в L1 и L2 слоях меристемы в центральной зоне, а ген *WUS* – в организационном центре, накладывающемся на нижние слои центральной зоны и частично – на *rib*-зону. Зоной, в которой области экспрессии этих двух генов перекрываются, является слой L3, не всегда хорошо выраженный у *Arabidopsis*. Следует отметить, что *CLV1* экспрессируется в ограниченной области, приближенной к области экспрессии *WUS*, в то время как *CLV2* и *CRN* способны давать свои продукты во многих тканях растений [38; 42; 43].

Все эти данные были получены при исследовании *Arabidopsis thaliana*, однако не совсем понятно, когда в процессе эволюции возникла эта система контроля меристемы и насколько она консервативна. Для этого круг изучаемых объектов планомерно расширяют. Наиболее продвинутыми оказались исследования, посвященные поиску генов, гомологичных *WUS*, *CLV3* и, в меньшей мере, *CLV1 / CLV2*. Еще меньше данных по пространственным паттернам экспрессии этих генов. Труднее всего оказывается провести полное экспериментальное доказательство функциональной

взаимосвязи обнаруженных компонентов системы CLAVATA-WUSCHEL.

Эволюция генов семейства WOX

На данный момент у *Arabidopsis* было найдено 14 генов семейства WOX. Это семейство характеризуется наличием атипичного гомеодомена, состоящего из 66 аминокислотных остатков, в отличие от обычного гомеодомена, состоящего из 60 аминокислот [24; 75]. Помимо этого *WOX1* – *WOX7* и *WUS* содержат на С-конце белка консервативный домен из 8 аминокислот (TLXLFPXX, где X может быть любой аминокислотой). Эту последовательность принято называть WUS-боксом [24]. Все они выполняют различные функции и экспрессируются на разных стадиях морфогенеза. Принято разделять это семейство генов на три группы (клады), в зависимости от гомологии этих генов у *Arabidopsis* и представителей различных таксонов, у которых они были найдены. Если рассматривать филогенетическое древо, то оказывается, что предшественниками всего семейства являются гены, найденные у зелёных водорослей *Ostreococcus tauri* C.Court. et M.-J. Chrétiennot-Dinet (*OtWOX*) и *O. lucimarinus* (*OiWOX*) [26]. К первой группе относятся гены, наиболее гомологичные *WUS* и *WOX5* у *Arabidopsis thaliana*. В геноме *Arabidopsis* и различных цветковых растений к ним относят гены *WOX1* – *WOX7*, *WUS* и их близкие гомологи.

У большинства из исследованных двудольных растений удалось показать консервативность функций гена *WUS*. Мутанты по большинству из этих гомологов проявляют фенотип, схожий с мутантом *wus* у *Arabidopsis thaliana*. Так, независимо от исследований на *Arabidopsis* были открыты некоторые гены, участвующие в регуляции активности ПАМ, а лишь затем была показана гомология с *WUS*. Например, у *Antirrhinum majus* L. ген и соответствующий ему белок получили название ROSULATA (ROA), у *Petunia hybrida* E.Vilm. – TERMINATOR (TER) [13; 69]. Однако большинство ортологов обнаружено благодаря исследованиям сравнительной геномики. В этом случае по установившейся традиции в название этих генов включают название растительного объекта. Например, обнаруженный у *Streptocarpus rexii* (Bowie ex Hook.) Lindl. ортолог *WUS*, получил название *SrWUS*. Данный пример интересен в первую очередь тем, что эмбриональная ПАМ рано прекращает функционирование, и на растении образуется единственный фотоассимилирующий лист. Вид *S. rexii* демонстрирует анизокотилию (неравный рост семядолей у семян) и отсутствие типичного ПАМ. Тем не менее, место экспрессии *SrWUS* коррелирует с меристематической активностью, хотя топологически не совпадает с местом экспрессии гомологичных генов у видов *Streptocarpus*, образующих полноценную розетку листьев с обычной ПАМ [13].

Близкие гомологи *WUS* обнаружены у однодольных, в том числе

Oryza sativa L., *Zea mays* L., и *Brachypodium distachyon* (L.) P.Beauv. (см. табл.). Для риса было показано, что *OsWUS* является ортологом *WUS*, т.е. выполняет те же самые функции в регуляции активности ПАМ. У кукурузы найдены два паралога *ZmWUS1* и *ZmWUS2*. Эти гены экспрессируются в периферической зоне меристемы и в листовых примордиях, хотя их функция в регуляции активности ПАМ для кукурузы пока не доказана. Экспрессия в центральной области ПАМ (вместе с ортологами *CLV1*) у всех изученных злаков происходит только в репродуктивный период [47]. Таким образом, клетки, которые входят в состав листовых примордиев, занимают значительную часть поверхности ПАМ у злаков, в отличие от небольших групп клеток у *Arabidopsis* [43; 47]. Видно, что паттерны экспрессии *OsWUS* и *ZmWUS1/2* заметно отличается от таковых у *AtWUS*, поэтому, как следствие, может возникать типичная для злаков архитектура стебля. Поведение мутантов позволяет предположить, что существуют и другие механизмы регуляции активности вегетативной ПАМ у злаков [45].

В настоящее время наиболее распространена точка зрения, что специализация функций генов *WUS* (как регулятора активности ПАМ) и *WOX5* (как регулятора активности апикальной меристемы корня) произошло после расхождения голосеменных и покрытосеменных. Собственно у голосеменных один и тот же ген из этого семейства экспрессируется как в ПАМ, так и в корневых апексах [75]. Это обстоятельство вызывает неоднозначность в определении гомологии: одни авторы считают гены голосеменных потенциальными ортологами *WUS*, а другие считают более обоснованной гомологизацию с геном *WOX5*, и при этом приводят одинаковое обозначение для этих двух генов. Однако недавние исследования показали наличие у голосеменных (в частности *Picea abies* (L.) H.Karst.) и гена *WUS*, и гена *WOX5* (см. табл.). Функции, выполняемые *PaWUS*, пока еще недостаточно изучены. Однако уже удалось показать, что функции гена *PaWOX5* такие же как и у *AtWOX5*, за исключением экспрессии в развивающемся эмбрионе [26].

Следующая группа генов из семейства *WOX* называется промежуточной, так как её представители в своих генетических последовательностях имеют не только участки, характерные для цветковых растений, но и для *Selaginella moellendorffii* Hieron. К этой кладе относятся гены *WOX8*, *9*, *11* и *12*.

Последняя клада называется древней, так как содержит *WOX* последовательности с высокой гомологией с генами из зеленых водорослей и мха *Physcomitrella patens* (Hedw.) Bruch et Schimp. [75]. К ней относятся гены *Arabidopsis thaliana* *WOX10*, *13* и *14*. Следует отметить, что это разделение на клады базируется на особенностях генов семейства *WOX* у *Arabidopsis thaliana*. На данный момент обнаружено множество гомологичных генов у представителей

различных таксономических групп (таблица).

Изначально считалось, что голосеменные имеют *WOX*-гены только из древней клады. Однако последние исследования показали, что, например, *Picea abies* имеет гены, гомологичные *WOX2 – 5*, *WOX13*, *WUS* и *WOX8/9*. (Последний ген на кладограмме равноудален от *AtWOX8* и от *AtWOX9*.) Так же были найдены гены *WOX8A*, *8B*, *8C* и *8D*, которые очень схожи между собой, а также гомологичны *AtWOX8*. Все они входят в состав разных клад. Было показано, что в *WUS*-кладе есть гены из *Ginkgo biloba* и *Gnetum gnemon* L., а в промежуточной – из *Gnetum gnemon*.

Интересно, что у папоротников также выделены гены из семейства *WOX*, в частности гены *WOXA* и *WOXB* из *Ceratopteris richardii* Brongn. Однако точная гомологизация с известными группами генов из других таксонов затруднена, поскольку на кладограмме *WOXA* и *WOXB* стоят особняком между древней и промежуточной кладой [26; 75].

Семейство CLE генов

Одним из первых обнаруженных гомологов *CLV3* был ген кукурузы *EMBRYO SURROUNDING REGION (ESR)*, ответственный за сигналинг между зародышем и эндоспермом. Поэтому все семейство коротких сигнальных пептидов получило название *CLE*: от *CLAVATA3 / ESR*. Семейство *CLE* довольно обширно и характеризуется наличием консервативной аминокислотной последовательности (14 аминокислот), которая расположена на С-конце пептидной последовательности. Это маленькие пептиды (примерно 15 кДа), которые участвуют в передаче сигнала в качестве лиганда. Среди них выделяют два класса белков – класс *CLV3*-белков и класс *TDIF*-белков (*Tracheary element Differentiation Inhibitory Factor*) [43]. На данный момент известно 32 гена у *Arabidopsis thaliana*. Многочисленные исследования показывают, что *CLE*-гены экспрессируются по всему растению и в разные этапы морфогенеза. Очень часто гены этого семейства являются антагонистами друг к другу. Например, при гиперэкспрессии *CLE9 – 11*, *CLE13*, *CLE19*, *CLE21* и *CLV3* происходит задержка роста корня, а гены *CLE 2*, *CLE4 – 7*, *CLE18*, *CLE25* и *CLE26* наоборот стимулируют его удлинение [29; 68].

Ортологи *CLV3* с доказанной функцией контроля объема ПАМ обнаружены у *Vitis vinifera* L. и *Oryza sativa* (таблица). *FON2* и *FON2-LIKE CLE PROTEIN1 (FCP1)* кодируют *CLE*-пептиды похожие на *AtCLV3*. Причем *FON2* у риса регулирует поддержание репродуктивной (соцветия/цветки) меристемы, в то время как *FCP1* регулирует вегетативную ПАМ и апикальную меристему корня. Таким образом, *FON2* и *FCP1* регулируют различные типы меристем у риса.

Рецептор-подобные киназы, гомологичные CLV1

На данный момент известно несколько различных рецепторных комплексов, с которыми может связаться CLV3. Это CLV1-CLV2 [12], CLV2-SOL2/CRN [42; 44] и CLV2-RPK2 (Receptor-like Protein Kinase 2) [32]. Гомологи гена *CLV2*, хорошо исследованного у *A. thaliana*, найдены только у цветковых растений [43]. Недавно было показано наличие независимого от CLV1 пути передачи сигнала для поддержания пула недифференцированных клеток в ПАМ, включающего в себя CLV3, CLV2 и LRR-рецептор-подобную киназу SOL2/CRN [42; 44]. В отличие от компонентов классического пути, *CLV1/2* и *CLV3*, продукты генов *SOL2/CRN* не обнаружены у *Physcomytrella patens* и *Selaginella moelendorffii* [43]. CRN (CORYNE) по последним данным не обладает киназной активностью, а является псевдокиназой [50]. Следовательно, CRN/CLV2 реализуют другой механизм передачи сигнала к CLV3, нежели комплекс CLV1/2, возможно, связанный с транспортом CLV2 к плазматической мембране [50]. *SOL2* (*SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF LLP1-2*) высоко гомологичен *CRN* [42; 64], доказана его функциональная активность в поддержании объема корневой меристемы [42].

Другим вариантом рецепторного комплекса является RPK2/TOADSTOOL2 (TOAD2)-CLV2. В отличие от SOL2/CRN, RPK2 обнаружена не только у цветковых растений, но у мхов – *Physcomitrella patens* и печеночников – *Marchantia polymorpha* L. [62].

Гомологи CLV1 обнаружены среди однодольных, например, у *Zea mays* и *Oryza sativa* (таблица), а также у *Physcomytrella patens* и *Selaginella moelendorffii* [43]. В рисе *FLORAL ORGAN NUMBER 1* (*FON1*) кодирует ортолог *AtCLV1*. Потеря функции гена *FON1* в мутантах приводит к удлинению меристемы и увеличению числа цветков. Ортологи *AtCLV1* и *AtCLV2* также были обнаружены у кукурузы – *THICK TASSEL DWARF1* (*TD1*) и *FASCIATED EAR2* (*FEA2*) соответственно. Однако в кукурузе потеря функций *TD1* / *FEA2* не влияет на вегетативное развитие ПАМ, а только на число цветков, в отличие от *CLV1* и *CLV2* в *Arabidopsis*. Кроме того, было показано, что *TD1* не экспрессируется в вегетативной ПАМ, его присутствие обнаружили в листовых примordiaх [8]. В репродуктивный период он экспрессируется в генеративных меристемах: соцветия, колоска и др. На более поздних стадиях *TD1* накапливается в дифференцированных органах, таких как цветковые и колосковые чешуи. *FON1* транскрибируется в течение флорального морфогенеза, а так же в дифференцирующихся боковых цветковых органах [47]. Гомологи *AtCLV1/2* и CLE-пептиды, присутствующие у однодольных, играют важную роль в регуляции роста и развития меристемы. Однако у двудольных гомологи этих генов выполняют функции, не характерные для однодольных или же для *Arabidopsis*. Для ортологов *CLV1* у

бобовых было показано, что они играют определенную роль в формировании клубеньков, а не в контроле ПАМ. Например, ген *SUPERNUMERIC NODULES (SUNN)* в *Medicago truncatula* Gaertn. и *HYPERNODULATION ABERRANT ROOT 1 (HAR1)* в *Lotus japonicus* (Regel) K.Larsen [43]. Мутанты по этим генам демонстрируют увеличенное число корневых клубеньков (с симбиотическими азотфиксирующими бактериями) и не имеют видимых дефектов в развитии ПАМ [13].

Подводя итог, необходимо подчеркнуть, что комплекс CLV2-SOL2/CRN – сравнительно позднее эволюционное приобретение. Он обнаружен только у цветковых растений, причем число гомологов в геноме одного вида сравнительно невелико. Заметим, что рецептор-подобные киназы *CLV1* в пределах одного генома представлены большим числом генов [43]. Это может указывать на специализацию комплекса CLV2-SOL2/CRN в связи с усложнением организации апикальных инициалей в виде нескольких слоев клеток в сравнении с инициалами *S. moelendorffii*. Дальнейшие поиски гомологов этих генов у голосеменных, папоротниковидных и других плауновидных позволят проверить эту гипотезу.

Нарушение структуры меристемы при фасциации

Контроль пролиферации клеток апикальной меристемы побега в ряде случаев нарушается, что приводит к неконтролируемому увеличению ПАМ. Это явление получило название «фасциация» [4]. Наиболее яркими примерами фасциированных растений являются суккуленты, например, *Opuntia*, *Euphorbia* [14], лилии [6], известны мутации с фасциированным фенотипом у *Arabidopsis* [72], *Pisum sativum* L. [3], *Glycine max* Merr. По нашим наблюдениям в отдельные годы аномальное увеличение объема меристемы может возникать как физиологическое (ненаследуемое) отклонение, которое у многолетних растений может в последующие годы приходить в норму. Это свойственно как для однодольных, так и для двудольных объектов, а также для разных стадий онтогенеза (рис. 5).

Следует отметить, что фасциация весьма характерна для покрытосеменных, но время от времени также встречается у голосеменных, например, у ели [73], саговников [74].

По всей видимости, фасциация совершенно не характерна для споровых растений – ни базы научных статей, такие как PubMed, ни садовая литература не сообщают о фасциации у какого-либо вида среди споровых. Очевидно, что это связано с причинами фасциации: она возникает при нарушениях контроля пролиферативной активности меристемы ожидания, топографически находящейся под зоной апикальных инициалей [4]. Как было сказано выше, папоротниковидные, а также *Selaginella*, не обладают вторичными плазмодесмами, соединяющими различные слои клеток между собой

[28], что затрудняет симпластическую передачу сигналов в пространстве меристемы. Конечно, остается возможность классического апопластического сигналинга по типу системы CLAVATA-WUSL. Однако этот вопрос остается открытым. Исключением могли бы быть остальные плауновидные, однако сообщений об их фасциации не имеется, возможно, в связи с тем, что садоводы их не культивируют, и наблюдений по этому вопросу за плауновидными слишком мало.

Эволюция структуры ПАМ у сосудистых растений определенным образом направлена от моноплексных ПАМ (по типу споровых) к симплексным и дуплексным ПАМ (по типу семенных). При этом моноплексные ПАМ с единственной инициальной, по-видимому, обладают гораздо большей детерминированностью в развитии. Контроль фактически осуществляется в самой апикальной инициальной. Можно предположить, что фасциация (увеличение объема меристемы) при таком типе регуляции невозможна. В случае утраты апикальной инициальной регенерация оказывается затрудненной. Обилие первичных плазмодесм, по-видимому, может представлять легкий путь для распространения вирусных инфекции.

Увеличение числа инициалей позволяет повысить устойчивость развития к различным факторам. Так, у *Selaginella kraussiana* показано, что после радиоактивном облучении меристема может временно образовать две или даже четыре инициали [25]. Увеличение числа инициалей в меристемах по типу семенных позволяет существенно увеличить объем самой меристемы, разделить функции контроля объема меристемы между клетками, существенную часть из них передать в организационный центр (меристему ожидания). Повышается разнообразие пролиферативного поведения инициалей, их взаимозаменяемость в случае повреждения. Развитие становится в большей мере регулятивным.

Вместе с усложнением зонирования меристемы возникает вопрос о согласованной пролиферативной активности разных групп клеток. Для этого семенные растения используют консервативные системы управления ростом и дифференцировкой. Главными сигнальными молекулами в меристеме становятся короткие пептиды из CLE-семейства, которые уже использовались для контроля дифференцировки проводящей системы, взаимодействия с патогенной и симбиотической микрофлорой и в других процессах. По-видимому, путем дубликации и дальнейшей дивергенции генов появились специфические для апикальных меристем сигнальные пептиды. Это, в свою очередь, не могло не отразиться на рецепторных системах, воспринимающих сигнальные пептиды. Одна из ветвей эволюции LRR-рецепторных киназ специализировалась на восприятии сигналов в меристемах. У покрытосеменных уже наблюдается дублирование системы рецепции сигнала, что повышает надежность при функционировании [4].

Параллельно эволюционирует и система ключевых транскрипционных факторов WOX, переключающих крупные программы развития. У некоторых видов голосеменных один и тот же ген *WUS/WOX5* участвует в контроле как объема ПАМ, так и объема корневого апекса. При этом он работает в разном «гормональном контексте»: в случае корня через покоящийся центр проходят мощные потоки ауксинов, тогда как в ПАМ они не доходят до организационного центра. «Гормональный контекст» позволяет включать разные программы развития в корневом и побеговом апексах. Интересен пример ели, у которой произошло удвоение и дивергенция генов на *PaWUS* и *PaWOX5*, однако активность *PaWOX5* по-прежнему выявляется как в корневых, так и в побеговых апексах [26].

Глубокая специализация этих транскрипционных факторов у покрытосеменных приводит к появлению двух автономных систем: CLAVATA-WUSHEL для побега и CLE-WOX5 для корня. Теперь их функционирование может быть независимым от «гормонального контекста», и дифференцировка корневого и побегового полюсов становится еще более выраженной, и сама система регуляции объема апикальных меристем усложняется. Первичные симпластические контакты ослабляются, и акцент переносится на вторичные плазмодесмы, что позволяет организовать регуляцию объема меристемы даже в случае, если она составлена генетически разнородными клетками. Возможно, при этом усиливается защита центральной зоны и организационного центра меристемы от вирусных инфекций, улучшается контроль за функционированием симпластических доменов в меристеме.

В силу сложной организации в регуляции коллективной пролиферации клеток возможны нарушения. В случае ослабления сигнальной ветви от CLE к WOX происходит увеличение объема меристемы (фасциация), а в случае нарушения обратного сигнала от WOX к CLE – уменьшение объема меристемы. Модуляция уровня обоих сигнальных путей позволяет семенным растениям создать большое разнообразие меристем, заметно различающихся по размерам и степени дифференцировки отдельных зон. При этом после специализации транскрипционных факторов на WUS и WOX5 размер корневой и побеговой апикальных меристем может в процессе эволюции меняться независимо.

Дополнительные возможности дает полиплоидизация (в том числе – аллополиплоидизация, характерная для многих культурных растений). Так, у *Zea mays* транскрипционные факторы представлены в двух копиях: *ZmWUS1* и *ZmWUS2*. При этом *ZmWUS1* показывает паттерн экспрессии, близкий к *AtWUS* (в организационном центре ПАМ), тогда как экспрессия второго гена – *ZmWUS2* – приурочена краям листовых примордиев [47]. По-видимому, в процессе эволюции

возможно возникновение нового регуляторного контура, который будет работать в контроле развития листа. Кроме того, нарушения в регуляции объема ПАМ должны возникать в результате селекционной деятельности человека (при отдаленной гибридизации).

Список литературы

1. *Гамалей Ю.В.* Транспортная система сосудистых растений. СПб.: Изд-во С.-Петербур. ун-та, 2004. 424 с.
2. *Лотова Л.И.* Ботаника: морфология и анатомия высших растений. М.: КомКнига, 2007. 512 с.
3. *Синюшин А.А., Гостимский С.А.* Фасциация у гороха посевного (*Pisum sativum* L.): основные закономерности морфогенеза. // Онтогенез. 2006. Т. 37. С. 449-456
4. *Чуб В.В., Синюшин А.А.* Фасциация цветка и побега: от феноменологии к построению моделей преобразования апикальной меристемы. // Физиология растений. 2012. Т. 59. С. 574-590
5. *Bergmans A. C. J., de Boer A. D., Derksen J. W. M., van der Schoot C.* The symplasmic coupling of L2-cells diminishes in early floral development of *Iris* // *Planta*. 1997. Vol. 203. P. 245-252.
6. *Bertaccini A., Fránová J., Botti S., Tabanelli D.* Molecular characterization of phytoplasmas in lilies with fasciation in the Czech Republic // *FEMS Microbiol Lett*. 2005. Vol. 249. P. 79-85.
7. *Bierhorst D.W.* On the stem apes, leaf initiation and early leaf ontogeny in filicalean ferns // *American Journal of Botany*. 1977. Vol. 64. P. 125-152.
8. *Bommert P., Lunde C., Nardmann J., Vollbrecht E., Running M., Jackson D., Hake S., Werr W.* *Thick tassel dwarf1* encodes a putative maize ortholog of the Arabidopsis CLAVATA1 leucine-rich repeat receptor-like kinase // *Development*. 2005. Vol. 132. P. 1235-1245.
9. *Brand U., Fletcher J.C., Hobe M., Meyerowitz E.M., Simon R.* Dependence of stem cell fate in *Arabidopsis* on a feedback loop regulated by CLV3 activity // *Science*. 2000. Vol. 289. P. 617-619.
10. *Brown W. V., Heimsch C., Emery H. P.* The organization of the grass shoot apex and systematics // *Am. J. Bot.* 1957. Vol. 44. P. 590-595.
11. *Clark S.E., Running M.P., Meyerowitz E.M.* CLAVATA3 is a specific regulator of shoot and floral meristem development affecting the same processes as CLAVATA1 // *Development*. 1995. Vol. 121. P. 2057-2067.
12. *Clark S.E., Running M.P., Meyerowitz E.M.* CLAVATA1, a regulator of meristem and flower development in *Arabidopsis* // *Development*. 1993. Vol. 119. P. 397-418.
13. *Dodsworth S.A.* diverse and intricate signalling network regulates stem cell fate in the shoot apical meristem // *Developmental Biology*. 2009. Vol. 336. P. 1-9.

14. *El-Banna A.N., El-Nady M.F., Dewir Y.H., El-Mahrouk M.E.* Stem fasciation in cacti and succulent species – tissue anatomy, protein pattern and RAPD-polymorphisms. // *Acta Biol Hung.* 2013. Vol.64. P. 305- 318
15. *Evert R.F.* Esau's plant anatomy. Meristems, cells and tissues of the plant body – their structure, function and development. Third edition. Wiley-Interscience, New Jersey, USA, 2006. 601 p.
16. *Fernandes J., Tavares S., Amâncio S.* Identification and expression of cytokinin signaling and meristem identity genes in sulfur deficient grapevine (*Vitis vinifera* L.) // *Plant Signal Behav.* 2009. Vol. 4(12). P. 1128–1135.
17. *Fletcher J.C., Meyerowitz E.M.* Cell signalling within the shoot meristem // *Curr. Opin. Plant Biol.* 2000. Vol. 3. P. 23–30.
18. *Foster A.S.* Comparative studies on the shoot apex in seed plants // *Bull. Torrey Bot. Club.* 1941. Vol. 68. P. 339–350.
19. *Foster A.S.* Structure and growth of the shoot apex of *Ginkgo biloba* // *Bull. Torrey Bot. Club.* 1938. Vol. 65 . P. 531–556.
20. *Foster A.S.* Zonal structure and growth of the shoot apex in *Microcycas calocoma* (Miq.) A. DC // *Am. J. Bot.* 1943. Vol. 30. P. 56–73.
21. *Gifford E.M., Kurth E.* Quantitative studies of the vegetative shoot apex of *Equisetum scirpoides* // *American J. of Botany.* 1983. Vol. 70. P. 74–79.
22. *Gonzali S., Novi G., Loreti E., Paolicchi F., Poggi A., Alpi A., Perata P.* A turanose-insensitive mutant suggests a role for WOX5 in auxin homeostasis in *Arabidopsis thaliana* // *Plant J.* 2005. Vol. 44. P. 633-645.
23. *Gunning B.E.S.* Age-related and origin-related control of the numbers of plasmodesmata in cell walls of developing *Azolla* roots // *Planta.* 1978. Vol. 143. P. 181–190.
24. *Haecker A., Gross-Hardt R., Geiges B., Sarkar A., Breuninger H., Herrmann M., Laux T.* Expression dynamics of WOX genes mark cell fate decisions during early embryonic patterning in *Arabidopsis thaliana* // *Development.* 2004. Vol. 131. P. 657-668.
25. *Harrison C.J., Rezvani M., and Langdale J.A.* Growth from two transient apical initials in the meristem of *Selaginella kraussiana* // *Development.* 2007. Vol. 134. P. 881–889.
26. *Hedman H., Zhu T., von Arnold S. and Sohlberg J.J.* Analysis of the WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN gene family in the conifer *Picea abies* reveals extensive conservation as well as dynamic patterns // *BMC Plant Biology.* 2013. Vol. 13. P. 89.
27. *Hirakawa Y., Kondo Y., Fukuda H.* TDIF peptide signaling regulates vascular stem cell proliferation via the WOX4 homeobox gene in *Arabidopsis* // *Plant Cell.* 2010. Vol. 22. P. 2618-2629.
28. *Imaichi R., Hiratsuka R.* Evolution of shoot apical meristem structures in vascular plants, with respect to plasmodesmatal network // *American Journal of Botany.* 2007. Vol. 94. P. 1911–1921.

29. Jun J.H., Flume E., Fletcher J.C. The CLE family of plant polypeptide signaling molecules // *Cell. Mol. Life Sci.* 2008. Vol. 65. P. 743–755.
30. Kamiya N., Nagasaki H., Morikami A., Sato Y., Matsuoka M. Isolation and characterization of a rice WUSCHEL-type homeobox gene that is specifically expressed in the central cells of a quiescent center in the root apical meristem // *Plant J.* 2008. Vol. 35. P. 429–441.
31. Karrfalt E.E. An apical cell in the shoot apex of *Isoetes tuckermanii* // *American Fern Journal.* 1977. Vol. 67. P. 68–72.
32. Kinoshita A., Betsuyaku S., Osakabe Y., Mizuno S., Nagawa S., Stahl Y., Simon R., Yamaguchi-Shinozaki K., Fukuda H., Sawa S. RPK2 is an essential receptor-like kinase that transmits the CLV3 signal in *Arabidopsis* // *Development.* 2010. Vol. 137. P. 3911–3920.
33. Kondo T., Nakamura T., Yokomine K., Sakagami Y. Dual assay for MCLV3 activity reveals structure–activity relationship of CLE peptides // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2008. Vol. 377. P. 312–316.
34. Korn R.W. Analysis of shoot apical organization in six species of the *Cupressaceae* based on chimeric behavior // *American Journal of Botany.* 2001. Vol. 88. P. 1945–1952.
35. Kwiatkowska D. Structural integration at the shoot apical meristem: models, measurements, and experiments // *American Journal of Botany.* 2004. Vol. 91. P. 1277–1293.
36. Laux T., Mayer K.F.X., Berger J., Jurgens G. The WUSCHEL gene is required for shoot and floral meristem integrity in *Arabidopsis* // *Development.* 1996. Vol. 122. P. 87–96.
37. Lemon G.D., Posluszny U. Shoot morphology and organogenesis of the aquatic floating fern *Salvinia molesta* D. S. Mitchell, examined with the aid of laser scanning confocal microscopy // *Int. J. Plant Sci.* 1997. Vol. 158. P. 693–703.
38. Lenhard M., Laux T. Stem cell homeostasis in the *Arabidopsis* shoot meristem is regulated by intercellular movement of CLAVATA3 and its sequestration by CLAVATA1 // *Development.* 2003. Vol. 130. P. 3163–3173.
39. Ma Y., Steeves T.A. Characterization of stelar initiation in shoot apices of ferns // *Ann. Bot.* 1995. Vol. 75. P. 105–117.
40. Mayer K.F.X., Schoof H., Haecker A., Lenhard M., Jurgens G., Laux T. Role of WUSCHEL in regulating stem cell fate in the *Arabidopsis* shoot meristem // *Cell.* 1998. Vol. 95. P. 805–815.
41. McAlpin B.W., White R.A. Shoot organization in the *Filicales*: the promeristem // *American Journal of Botany.* 1974. Vol. 61. P. 562–579.
42. Miwa H., Betsuyaku S., Iwamoto K., Kinoshita A., Fukuda H., Sawa S. The receptor-like kinase SOL2 mediates CLE signaling in *Arabidopsis* // *Plant Cell Physiol.* 2008. Vol. 49. P. 752–757.
43. Miwa H., Kinoshita A., Fukuda H., Sawa S. Plant meristems: CLAVATA3/ ESR-related signalling in the shoot apical meristem and the

- root apical meristem // *J. Plant Res.* 2009. Vol. 122. P. 31–39.
44. Muller R., Bleckmann A., Simon R. The receptor kinase CORYNE of *Arabidopsis* transmits the stem cell-limiting signal CLAVATA3 independently of CLAVATA1 // *Plant Cell.* 2008. Vol. 20. P. 934–946.
45. Nardmann J., Reisewitz P., Werr W. Discrete shoot and root stem cell-promoting WUS/WOX5 functions are an evolutionary innovation of angiosperms // *Mol Biol Evol.* 2009. Vol. 26. P.1745-1755.
46. Nardmann J., Werr W. The invention of WUS-like stem cell-promoting functions in plants predates leptosporangiate ferns // *Plant Mol Biol.* 2012. Vol. 78. P. 123-134.
47. Nardmann J., Werr W. The shoot stem cell niche in angiosperms: expression patterns of WUS orthologues in rice and maize imply major modifications in the course of mono- and dicot evolution // *Mol Biol Evol.* 2006. Vol. 23. P. 2492-2504.
48. Nardmann J., Zimmermann R., Durantini D., Kranz E., Werr W. WOX gene phylogeny in *Poaceae*: a comparative approach addressing leaf and embryo development // *Mol Biol Evol.* 2007. Vol. 24. P. 2474-2484.
49. Newman I.V. Pattern of the meristems of vascular plants. 3. Pursuing the patterns in the apical meristem where no cell is a permanent cell // *J. Linn. Soc. London Bot.* 1965. Vol. 59. P. 185–214.
50. Nimchuk Z.L., Tarr P.T., Meyerowitz E.M. An evolutionary conserved pseudokinase mediates stem cell production in plants // *Plant Cell.* 2011. Vol. 23. P. 851–854.
51. Ogawa M., Shinohara H., Sakagami Y., Matsubayashi Y. *Arabidopsis* CLV3 peptide directly binds CLV1 ectodomain // *Science.* 2008. Vol. 319. P. 294.
52. Ohyama K., Shinohara H., Ogawa-Ohnishi M., Matsubayashi Y. A glycopeptides regulating stem cell fate in *Arabidopsis thaliana* // *Nat. Chem. Biol.* 2009. Vol. 5. P. 578–580.
53. Owens J. N., Molder M. Bud development in western hemlock. I. Annual growth cycle of vegetative buds // *Can. J. Bot.* 1973. Vol. 51. P. 2223–2231.
54. Pautler M., Tanaka W., Hirano H.-Y., Jackson D. Grass Meristems I: Shoot Apical Meristem Maintenance, Axillary Meristem Determinacy and the Floral Transition // *Plant Cell Physiol.* 2013. Vol. 54(3). P. 302–312.
55. Philipson W.R. The significance of apical meristems in the phylogeny of land plants // *Plant Systematics and Evolution.* 1990. Vol. 173. P. 17–38.
56. Poethig R.S. Clonal analysis of cell lineage patterns in plant development // *Am. J. Bot.* 1987. Vol. 74. P. 581–594.
57. Popham R.A. Principal types of vegetative shoot apex organization in vascular plants // *Ohio J. Sci.* 1951. Vol. 51. P. 249–270.
58. Riding R.T. The shoot apex of trees of *Picea mariana* of differing rooting potential // *Can. J. Bot.* 1976. Vol. 54. P. 2672–2678.
59. Romberger J.A. Meristems, growth and development in woody plants. An

- analytical review of anatomical, physiological and morphogenic aspects // Tech. Bull. U.S. Dept. of Agriculture, Forest Service. 1963. № 1293. P. 256
60. Ruth J., Klekowski E. J., Stein O. L. Impermanent initials of the shoot apex and diplonic selection in a juniper chimera // Am. J. Bot. 1985. Vol. 72. P. 1127–1135.
61. Satina S., Blakeslee A.F., Avery A.G. Demonstration of the three germ layers in the shoot apex of *Datura* by means of induced polyploidy in periclinal chimeras // Am. J. Bot. 1940. Vol. 27. P. 895–905.
62. Sawa S., Tabata R. RPK2 functions in diverged CLE signaling // Plant Signal. Behav. 2011. Vol. 6. P. 86–88.
63. Schoof H., Lenhard M., Haecker A., Mayer K.F., Jürgens G., Laux T. The stem cell population of *Arabidopsis* shoot meristems is maintained by a regulatory loop between the CLAVATA and WUSCHEL genes // Cell. 2000. Vol. 100. P. 635–644.
64. Song X.-S., Guo P., Ren S.-C., Xu T.-T., Liu C.-M. Antagonistic peptide technology for functional dissection of *CLV3/ESR* genes in *Arabidopsis* // Plant Physiology. 2013. Vol. 161. P. 1076–1085.
65. Stewart R., Derman N.H. Determination of number and mitotic activity of shoot apical initial cells by analysis of mericlinal chimeras // American Journal of Botany. 1970. Vol. 57. P. 816–826.
66. Stewart R.N., Burk L.G. Independence of tissues derived from apical layers in ontogeny of the tobacco leaf and ovary // Amer.Journ.Bot. 1970. Vol. 57. P. 1010–1016.
67. Stewart R.N., Dermen H. Flexibility in ontogeny as shown by the contribution of the shoot apical layers to leaves of periclinal chimeras // Amer.Journ.Bot. 1975. Vol. 62. P. 935–947.
68. Strabala T.J. CLE genes in plant development // Plant Signaling & Behavior. 2008. Vol. 7. P. 457–459.
69. Stuurman J., Jaggi F., Kuhlemeier C. Shoot meristem maintenance is controlled by a GRAS-gene mediated signal from differentiating cells // Genes Dev. 2002. Vol. 16. P. 2213–2218.
70. Sussex I.M. Morphogenesis in *Solanum tuberosum* L.: Apical structure and developmental pattern of the juvenile shoot // Phytomorphology. 1955. Vol. 5. P. 253–273.
71. Taguchi-Shiobara F., Yuan Z., Hake S., Jackson D. The *fascinated ear2* gene encodes a leucine-rich repeat receptor-like protein that regulates shoot meristem proliferation in maize // Genes Dev. 2001. Vol. 15. P. 2755–2766.
72. Takagi N., Ueguchi C. Enhancement of meristem formation by bouquet-1, a mis-sense allele of the vernalization independence 3 gene encoding a WD40 repeat protein in *Arabidopsis thaliana*. // Genes to cells. 2012. Vol. 17. P. 982–993.
73. Tremblay L., Levasseur C., Tremblay F.M. Frequency of somaclonal

- variation in plants of black spruce (*Picea mariana*, *Pinaceae*) and white spruce (*P. glauca*, *Pinaceae*) derived from somatic embryogenesis and identification of some factors involved in genetic instability // *American Journal of Botany*. 1999. Vol. 86. P. 1373–1381.
74. Turner B.L., Harms R.T. Fasciation of microsporangiate cones of *Cycas revoluta* (*Cycadaceae*) in Austin, Texas // *Phytoneuron*. 2010. Vol. 23. P. 1–3.
75. van der Graaff E., Laux T., Rensing S.A. The WUS homeobox-containing (WOX) protein family // *Genom Biol*. 2009. Vol. 10. P. 248.
76. Wu X., Chory J., Weigel D. Combinations of WOX activities regulate tissue proliferation during *Arabidopsis* embryonic development // *Dev Biol*. 2007. Vol. 309. P. 306–316.
77. Xie M., Tataw M., Venugopala G. Towards a functional understanding of cell growth dynamics in shoot meristem stem-cell niche. // *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 2009. Vol. 20. P. 1126–1133.
78. Yadav R. K., Perales M., Gruel J., Girke T., Jonsson H., Reddy J.V. WUSCHEL protein movement mediates stem cell homeostasis in the *Arabidopsis* shoot apex // *Genes Dev*. 2011. Vol. 25. P. 2025–2030.

**SHOOT APICAL MERISTEM:
THE CO-EVOLUTION OF STRUCTURE
AND OF CELL PROLIFERATION GENETIC CONTROL**

E.A.Bykova, E.A. Labunskaya, Y.V.Kosenko, V.V.Choob

Moscow State University

Shoot apical meristem (SAM) produces the initial cells for all the tissues in the plant shoot system. Land plant evolution was accompanied by changes in the SAM cell arrangement, i.e. by the enrichment of the number of apical initial cells, by the initial cell shape evolution, by differentiation of separate functional zones of SAM. The increasing complexity of SAM is correlated with reorganization of the whole plasmodesmata net, as well as with free secondary plasmodesmata development. In different taxa the interaction of some homologues of CLAVATA1, 2, 3 and WUSCHEL genes regulates the cell number in shoot and root apical meristems by the control of cellular division rate. The evolutionary trend from Gymnosperms to Angiosperms was marked by the WOX-family gene function specialization. We observe both spatial (different WOX-gene expression in shoot and root apical meristems) and temporal (WOX-gene expression on different stages of ontogenesis) specialization. Gene family CLE is widely spread in seed and spore plants and contains the CLAVATA 3 homologues. The functions of this gene family are not restricted to the meristem proliferation control. The receptor complexes, composed of CLV1-CLV2, CLV2-RPK2, are widely distributed among spore and seed plants, whereas CLV2-SOL2/CRN complex appeared to be the

evolutionary innovation of Angiosperms. Thus Angiosperms evolved the most complex regulatory network in SAM development control. Any dysfunction in this net leads to stem fasciation. This phenomenon is well-documented for Angiosperms and Gymnosperms, but is not observed in spore plants until now.

Keywords: shoot apical meristem, fasciation, genetic control of development, plant morphogenesis

Об авторах:

БЫКОВА Екатерина Алексеевна—аспирант кафедры физиологии растений, ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, e-mail: kayebykova.90@mail.ru

ЛАБУНСКАЯ Елена Алексеевна—кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры физиологии растений, ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, e-mail: styxelenalab@gmail.com

КОСЕНКО Яна Валерьевна—научный сотрудник кафедры физиологии растений, ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1.

ЧУБ Владимир Викторович—доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии растений, ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, e-mail: choob_v@mail.ru