

УДК 575.164

ГЕН *NANA* РЕГУЛИРУЕТ ПРОЛИФЕРАЦИЮ КЛЕТОК АПИКАЛЬНОЙ МЕРИСТЕМЫ ПОБЕГА *ARABIDOPSIS THALIANA*, НЕ ВЗАИМОДЕЙСТВУЯ С ГЕНАМИ *CLV1*, *CLV2*, *CLV3*

© 2014 г. А. В. Альберт*, У. Н. Кавай-оол**, Т. А. Ежова*

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
119992 Москва, ул. Ленинские Горы, ГСП1**Тувинский государственный университет,
667000 Кызыл, ул. Ленина, 36

E-mail: ezhova2001@mail.ru

Поступила в редакцию 10.02.14 г.

Окончательный вариант получен 04.03.14 г.

Постоянство пула стволовых клеток апикальной меристемы побега *Arabidopsis thaliana* обеспечивается системой генетической регуляции с отрицательной обратной связью, основанной на взаимодействии гена *WUS*, поддерживающего недетерминированность клеток, с генами *CLV*, ограничивающими уровень экспрессию гена *WUS* и размер пула стволовых клеток. Мутации *clv* приводит к увеличению пула стволовых клеток в апикальной и флоральной меристеме, а мутация *wus* — к противоположному эффекту. Мутация *na* (*nana*), также как и мутация *wus*, вызывает преждевременную терминацию функции апикальной меристемы побега, хотя не влияет на активность меристемы цветка. Для выяснения роли гена *NA* в контроле функционирования апикальной меристемы побега исследовано взаимодействие генов *NA* и *CLV*. Аддитивный фенотип двойных мутантов *na clv1*, *na clv2-1* и *na clv3-2* свидетельствует о том, что ген *NA* вносит независимый вклад в контроль функционирования апикальной меристемы побега. Предполагается, что ген *NA* осуществляет контроль пролиферации клеток апикальной меристемы побега при переходе растений на репродуктивную стадию развития, действуя значительно позже и независимо от системы генов *WUS–CLV*.

Ключевые слова: развитие побега, апикальная меристема, стволовые клетки, мутанты, *Arabidopsis thaliana*, генные взаимодействия.

DOI: 10.7868/S0475145014050024

ВВЕДЕНИЕ

Развитие надземной части организма высших растений связано с функционированием апикальной меристемы (АМ) побега и содержащимся в ее центральной зоне пулом стволовых клеток. Центральную роль в поддержании стволовости клеток АМ побега у модельного растения *Arabidopsis thaliana* (L.) Neunh. играет ген *WUSCHEL* (*WUS*), экспрессирующийся в организующем центре АМ (Laux et al., 1996; Mayer et al., 1998). Продукт гена *WUS* перемещается в вышележащие клетки, поддерживая их недетерминированный статус (состояние стволовости). Кроме того, ген *WUS* индуцирует экспрессию гена *CLAVATA3* (*CLV3*), связываясь с его промотором (Yadav et al., 2011).

CLV3 кодирует небольшой секреторный белок, связывающийся с рецепторной киназой *CLV1* и рецептор-подобным белком *CLV2*, по принципу лиганд-рецептор (Clark et al., 1997; Fletcher et al., 1999). Помимо этого белок *CLV3* способен фор-

мировать лиганд-рецепторные комплексы с *CLV2* и рецепторной киназой *CRN* (Muller et al., 2008) без участия *CLV1*, а также с рецептор-подобной киназой *RPK2/TOAD2* (Kinoshita et al., 2010). Рецептор-подобная киназа *CRN* также необходима для образования комплекса *CLV1* и *CLV2* (Zhu et al., 2010; Vleckmann et al., 2010). Три образующихся трансмембранных комплекса действуют независимо друг от друга и оказывают репрессирующее влияние на *WUS*. Система генетической регуляции *WUS–CLV* с отрицательной обратной связью способна быстро компенсировать значительные колебания в уровнях экспрессии ее компонентов и оказывать влияние на пролиферацию клеток АМ побега (Reddy, Meyerowitz, 2005; Muller et al., 2006; Yadav et al., 2010).

Помимо генов системы *WUS–CLV* выявлен целый ряд дополнительных компонентов, большинство из которых модулируют экспрессию этих центральных регуляторов пула стволовых клеток (Альберт, Ежова, 2013; Barton, 2010; Yadav

et al., 2013). Тем не менее, существующая картина генетической регуляции далека от завершения. Так, например, нет информации о генетической регуляции тех структурных и динамических преобразований АМ, которые наблюдаются у самых разных видов растений при переходе на репродуктивную стадию развития. Важнейшими из этих преобразований, необходимых для успешной репродукции, являются следующие: АМ цветоноса увеличивается в объеме по сравнению с вегетативной, а клетки центральной зоны (стволовые клетки) приступают к активным делениям, хотя в вегетативном апексе они делятся редко, как и положено стволовым клеткам (Kwiatkowska, 2008). Для выявления генов, контролирующих эти преобразования АМ побега, необходимо исследовать мутанты с новыми морфологическими особенностями.

Полудоминантная карликовая мутация *nana* (*na*) *A. thaliana* из коллекции кафедры генетики МГУ им. М.В. Ломоносова вызывает формирование укороченного цветоноса (у гетерозигот – в 8–13 раз в сравнении с диким типом) за счет сокращения длины междоузлий и уменьшения числа узлов. Укорочение междоузлий мутанта *na* связано с уменьшением размера клеток (Ежова и др., 2002; Лебедева и др., 2005) и не восстанавливается под действием экзогенного гиббереллина (Ежова и др., 1997, 2002). В АМ цветоноса мутантов *na* уменьшения размеров клеток относительно дикого типа не наблюдается. Тем не менее, размер АМ гетерозиготных растений *na* в 2–3 раза меньше, чем у растений дикого типа (Ежова и др., 2002), что свидетельствует об участии гена *NA* в регуляции размера пула стволовых клеток или пролиферативной активности клеток АМ побега. Для того, чтобы выяснить, действует ли ген *NA* на эти процессы, влияя на систему *WUS–CLV*, необходимо изучить взаимодействие гена *NA* с ранее исследованными генами. Целью данной работы является анализ возможных взаимодействий гена *NA* с генами *CLV1*, *CLV2* и *CLV3* с помощью изучения особенностей развития и структуры АМ побега растений двойных мутантов *na clv1*, *na clv2-1*, *na clv3-2*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы мутанты *A. thaliana* из коллекции кафедры генетики МГУ – *na* (линия К-164), *clv1* (линия К-205) и *ABRC – clv2-1* (CS46) и *clv3-2* (CS8066). Гетерозиготные растения мутанта *na*, прошедшего 3 возвратных скрещивания с родительской расой *Enkheim-M* (линия К-2), скрещивали с гомозиготными мутантами *clv* и в F2–F4 отбирали растения, которые были гомозиготами по мутациям *clv* и гомо- и гетерозиготными по мутации *na*. Для удаления эффекта генетического фона двойные мутанты *na clv1* и *na clv2-1*

возвратно скрещивали с мутантом *na* и в F2–F3 вновь отбирали двойных мутантов. Поскольку мутация *clv3-2* (CS8066) была получена на основе линии *Leg*, содержащей мутацию *er*, тесно сцепленную с *clv3-2*, двойной мутант *na clv3-2* всегда был гомозиготен по *er* (по сути, представлял собой тройной мутант). В связи с этим для корректного сравнения с двойным мутантом *na clv3-2* использовали растений мутанта *na*, с мутацией *er*, выделенные из F2 от скрещивания *na* с линией *Leg*. Для анализа морфологии растения выращивали в смеси почвы и песка (2 : 1) в условиях теплицы на длинном дне (16 ч свет/8 ч темнота). Для анализа вегетативных АМ растения выращивали в стерильных условиях на чашках Петри.

Съемки растений проводили цифровым фотоаппаратом “Canon” (Япония) под биноклем Stemі 2000-C (Германия). Детальный анализ структуры органов проводили с помощью сканирующих электронных микроскопов JSM-6380LA и СЭМ S-405A (фирм Jeol и Hitachi, Япония, соответственно).

Апикальные меристемы для СЭМ выделяли из растений на стадии образования вторых взрослых листьев и на стадии начала цветения. Образцы инкубировали в растворе 70% этанола 16 ч при 4°C. Далее образцы переносили последовательно в растворы этанола 80% – 10 мин, и дважды 95% этанола – по 30 мин. Далее образцы инкубировали в смеси этанол 96% : ацетон 50% (1 : 1) в течение 30 мин и в 100% ацетоне в течение 2-х ч. Высушенные образцы прикрепляли к металлическим столикам, напыляли смесью палладия и платины в ионном напылителе IB-3 (“Eiko”, Япония).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ морфологии побега двойных мутантов

Взрослые растения двойных мутантов *na clv1*, *na clv2-1* и *na clv3-2*, как и растения одиночного мутанта *na* являются карликами. У растений *clv1*, *clv2-1* и *clv3-2*, гетерозиготных по мутации *na*, помимо укороченного главного цветоноса, высота которого не превышала 4 см, формировались многочисленные розеточные побеги, которые придавали растениям кустообразную форму (рис. 1а). У растений *clv1*, *clv2-1* и *clv3-2*, гетерозиготных по мутации *na*, на главном цветоносе образовывалось от 3 до 7 цветков, после чего побег прекращал развитие. Отметим, что ни у родительских форм, ни у двойных мутантов образования терминальных цветков не наблюдалось (рис. 1б–1г), т.е. терминация развития цветоноса связана не с преобразованием апикальной меристемы побега во флоральную, а с прекращением ее активности.

У растений *clv3-2*, гетерозиготных по мутации *na*, на главном цветоносе иногда образовывалось до 15 цветков. Это не было связано с увеличением высоты цветоноса, но объяснялось ярко выра-



Рис. 1. Особенности морфологии двойных мутантов *na clv1*, *na clv2-1* и *na clv3-2*: (а) — общий вид растений (слева—направо) одиночного мутанта *clv1*, гетерозиготы *na* и двойного мутанта *clv1*, гетерозиготного по мутации *na*; (б–г) — главные цветоносы мутантов *clv1*, *clv2-1* и *clv3-2*, соответственно, гетерозиготных по мутации *na* (стрелки указывают на апексы); (д) — сканирующая электронная микроскопия фасцированного цветоноса *clv3-2*, гетерозиготного по мутации *na*; (е–з) — стручки двойных мутантов *na clv1*, *na clv2-1* и *na clv3-2*, соответственно (1 — *na*, 2 — двойной мутант, 3 — *clv*).

женной фасциацией стебля (рис. 1г, 1д), которая является характерной особенностью одиночных мутантов *clv3* (Clark et al., 1995).

У одиночного мутанта *na* изменения строения цветка и формы стручка по сравнению с диким типом мы практически не наблюдали. У всех двойных мутантов увеличивалось число плодолистиков в стручке (рис. 1е–1з), что характерно для мутантов *clv1*, *clv2* и *clv3* (Clark et al., 1993, 1995; Kayes, Clark, 1998).

Гомозиготные двойные мутанты *na clv1*, *na clv2-1* и *na clv3-2* обычно не зацветали, как и одиночные гомозиготы *na*. Редкое появление цветков у ~5% гомозиготных растений *na clv1*, *na clv2-1* и ~10% *na clv3-2* все же было возможно благодаря развитию цветоносов в пазухах розеточных листьев. Причем, длина таких цветоносов не превышала 1.5 см, и их развитие прекращалось после формирования 1–3 цветков, как и у одиночных гомозигот *na* (Ежова и др., 2002). Таким образом, мутации *clv1*, *clv2-1* и *clv3-2* не способны восстановить рост стебля мутанта *na*.

Анализ структуры апикальной меристемы побега двойных мутантов

Для того чтобы выяснить, связано ли аномальное развитие цветоносов двойных мутантов с уменьшением размера АМ, характерным для мутанта *na*, проведено изучение структуры их АМ побега на двух стадиях развития — ювенильной и репродуктивной. Установлено, что в отличие от дикого типа у гомозигот *na* АМ вегетативного побега после формирования 3-х пар настоящих листьев существенно уменьшается в размере или полностью исчезает. Уменьшение размера АМ может наблюдаться и после формирования 2-х пар листьев, вследствие чего последующие (верхние) розеточные листья имеют меньшие размеры и аномально узкую форму. Тем не менее, общее число листьев в розетке гомозигот *na* не отличается от такового у растений дикого типа. На рис. 2а, 2б показаны верхушки главного побега ювенильных растений дикого типа и гомозиготного мутанта *na* после удаления семядолей и 2-х пар настоящих листьев, соответственно. У дикого типа АМ имеет куполообразную форму (рис. 2а). У мутанта АМ почти плоская, и после формирования еще одной пары листьев (примордий 5-ого листа уже сформирован, примордий 6-ого листа только намечается, рис. 2б) она, по-видимому, полностью прекратит свое существование. Терминация пула стволовых клеток и прекращение функционирования АМ после формирования нескольких листьев розетки характерно для мутантов *wus* (Laux et al., 1996), а также для растений, эктопически экспрессирующих ген *CLV3* (Brand, et al., 2000). Выявленные особенности функционирования АМ побега гомозигот *na* объясняют причины их

почти полной стерильности, и подтверждают важную роль гена *NA* в регуляции поддержания пула стволовых клеток в АМ побега.

У всех двойных мутантов на той же стадии наблюдается увеличение объема АМ побега относительно одиночного мутанта *na*, особенно существенное у двойных гомозигот *na clv1* и *na clv3-2* (рис. 2в, 2г). Вегетативная АМ двойных мутантов *na clv1* и *na clv3-2* образует больше примордиев листьев (рис. 2в, 2г), что характерно для мутантов *clv1* и *clv3-2*. Тем не менее, увеличение размера АМ побега, вызванное мутациями в генах *CLV* (негативных регуляторов гена *WUS*) не восстанавливает пролиферативные способности клеток АМ двойных мутантов после перехода растений на репродуктивную стадию развития. Как отмечено выше, большинство растений двойных гомозигот, как и растений одиночной гомозиготы *na*, не были способны формировать главный цветонос. Большинство дополнительных побегов, образующихся в пазухах розеточных листьев, также заканчивали свое развитие, не переходя к цветению из-за преждевременной терминации АМ. Такие АМ могли иметь большой размер, но имели уплощенный вид, не характерный для функционально активных меристем (рис. 2д). Таким образом, мутация *na* вызывала терминацию пролиферации клеток АМ, независимо от ее размера.

Анализ структуры АМ побега растений *clv1*, *clv2-1* и *clv3-2* гетерозиготных по мутации *na* показал, что после перехода растений на репродуктивную стадию развития АМ главного побега (цветоноса) сохраняла крупный размер и была способна формировать флоральные примордии. Наиболее выраженное увеличение АМ наблюдалось у мутанта *clv3-2*, гетерозиготного по мутации *na*. Апикальная меристема молодого цветоноса таких растений часто приобретала характерную вытянутую форму (рис. 2е), которая обуславливала развитие фасцированного цветоноса (рис. 1д). Размер АМ цветоноса одиночного гетерозиготного мутанта *na* был в 2–3 раза уменьшен по сравнению с диким типом (Ежова и др., 2002, рис. 3а, 3б).

Ранее было показано, что мутация *wus*, которая как и мутация *na* вызывает раннюю терминацию АМ побега, эпистатирует проявление мутаций *clv* (Laux et al., 1996; Schoof et al., 2000). В отличие от мутации *wus*, мутация *na* не вызывала уменьшения размера АМ побега у мутантов *clv* (рис. 2в, 2г, 2д), но приводила к нарушению пролиферации клеток АМ и остановке развития побега. Полученные результаты свидетельствуют о том, что ген *NA* участвует в регуляции пролиферации клеток АМ независимо от системы генов *WUS-CLV*. Способность гомозигот *na* образовывать такое же число листьев розетки, как и у растений исходного экотипа (Ежова и др., 2002) указывает на то, что ген *NA* проявляет свою активность на более поздних стадиях онтогенеза, чем

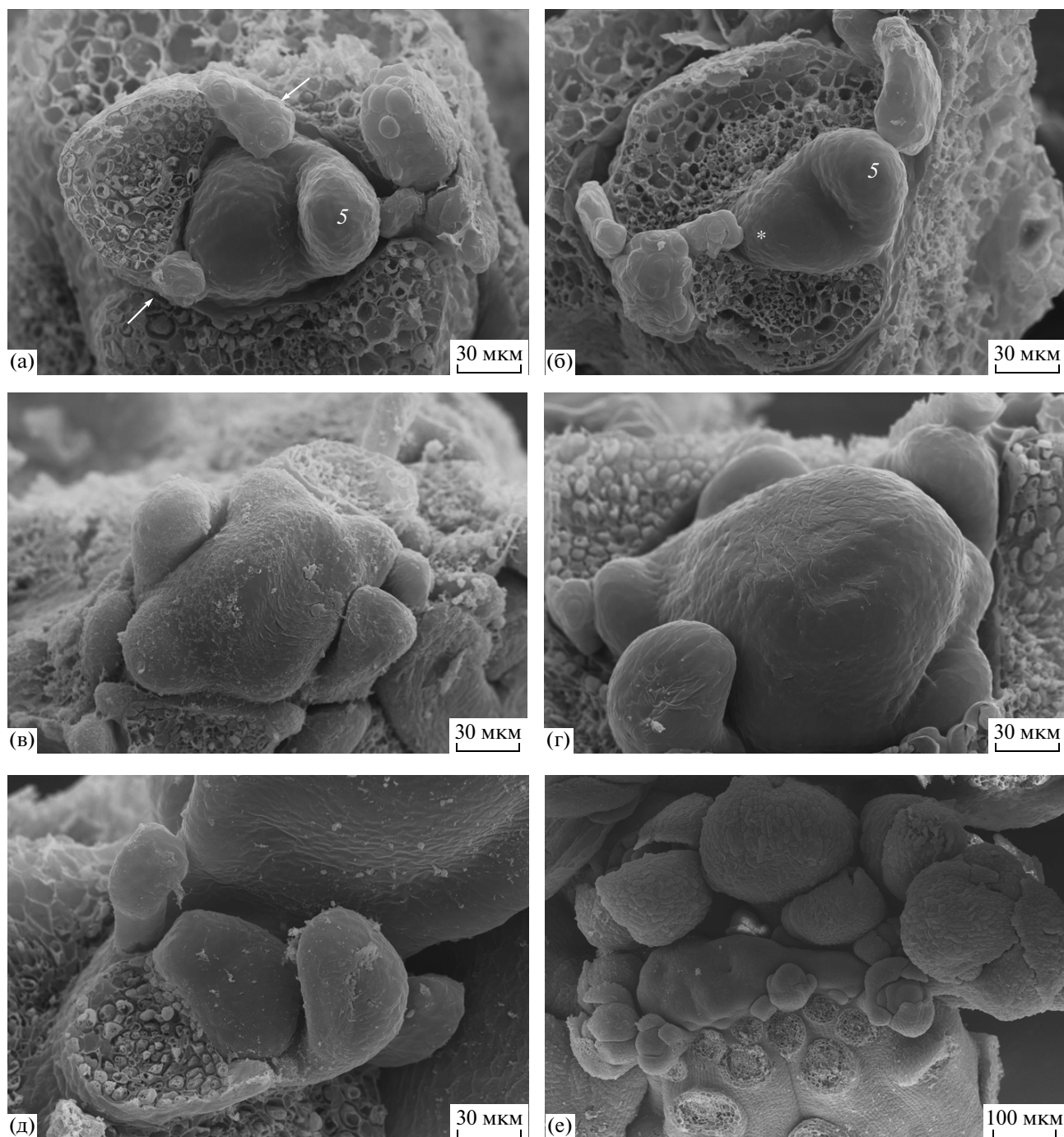


Рис. 2. Сканирующая электронная микроскопия апикальной меристемы вегетативного побега (а–д) и цветоноса (е): (а, б, в, г) – АМ главного побега, соответственно, дикого типа, гомозиготы *na*; двойной гомозиготы *na clv1* и *na clv3-2*; (д) – АМ бокового побега *na clv1*; (е) – АМ цветоноса *na clv3-2*; бары соответствуют – 30 мкм (а–д) и 100 мкм (е). Стрелками показаны прилистники 4-ого удаленного листа (прилистники видны и на рис. 2б); цифрами 5 обозначены примордии 5-ого листа; * – наметившийся примордий 6-ого листа.

гены *WUS* и *CLV*, экспрессия которых наблюдается уже в эмбриогенезе (Barton et al., 2010). По-видимому, гены *WUS* и *CLV* поддерживают гомеостаз пула стволовых клеток в АМ побега на всем протяжении онтогенеза. Ген *NA*, действуя независимо от *WUS–CLV*, контролирует пролиферацию

клеток уже сформировавшейся меристемы главным образом – при переходе растений на репродуктивную стадию развития (при трансформации вегетативной АМ в АМ цветоноса).

Ген *NA* пока не клонирован, и полудоминантный характер наследования затрудняет определе-

ние его организменной функции. Ген *NA*, как и гены *CLV*, может осуществлять негативную регуляцию пула стволовых клеток (если мутация *na* приводит к избыточности функции гена). В то же время, если мутация *na* вызывает нарушение функции гена (является так называемой доминантно – негативной мутацией), то ген *NA* в растениях дикого типа может выступать в роли позитивного регулятора пролиферации клеток АМ, т.е. действовать наподобие гена *WUS* и других генов, поддерживающих недетерминированность клеток АМ побега. Необходимо, однако, отметить, что мутация *na*, в отличие от мутаций *wus* и *clv*, практически не влияет на пролиферацию клеток флоральной меристемы. Структура цветка мутанта *na* и число органов не отличается от дикого типа, в то время как мутации *wus* и *clv* вызывают, соответственно, уменьшение или увеличение числа органов цветка, особенно плодolistиков (Laux et al., 1996; Kayes, Clark, 1998). Таким образом, действие гена *NA* является более специфичным – он регулирует пролиферацию клеток АМ цветоноса, но не влияет на пролиферацию клеток флоральной меристемы. Возможно, ген *NA* относится к новой группе генов, которые участвуют в регуляции структурных и динамических преобразований АМ побега при переходе на репродуктивную стадию развития, но не влияют на функционирование системы *WUS–CLV*.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проект № 13-04-00122_a). Электронномикроскопические и морфологические исследования мутантов выполнены на оборудовании ЦКП МГУ и ЦКП Тувинского ГУ при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Альберт Е.В., Ежова Т.А. Стволовые клетки побега растений – генетическая регуляция // Генетика. 2013. Т. 49. № 2. С. 149–163.
- Ежова Т.А., Ондар У.Н., Солдатова О.П., Маманова Л.Б. Генетическое и физиологическое изучение карликовых мутантов *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. // Онтогенез. 1997. Т. 28. № 5. С. 344–351.
- Barton M.K. Twenty years on: The inner workings of the shoot apical meristem, a developmental dynamo // Developmental Biology. 2010. V. 341. P. 95–113.
- Bleckmann A., Weidtkamp-Peters S., Seidel C.A.M., and Simon R. Stem cell signaling in *Arabidopsis* requires CRN to localize CLV2 to plasma membrane // Plant Physiol. 2010. V. 152. P. 166–176.
- Brand U., Fletcher J.C., Hobe M. et al. Dependence of stem cell fate in *Arabidopsis* on a feedback loop regulated by CLV3 activity // Science. 2000. V. 289. P. 617–619.
- 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. V. 121. P. 2057–2067.
- Clark S.E., Running M.P., Meyerowitz E.M. *CLAVATA1*, a regulator of meristem and flower development in *Arabidopsis* // Development. 1993. V. 119. P. 397–418.
- Clark S.E., Williams R.W., Meyerowitz E.M. The *CLAVATA1* gene encodes a putative receptor kinase that controls shoot and oral meristem size in *Arabidopsis* // Cell. 1997. V. 89. P. 575–585.
- Fletcher J.C., Brand U., Running M.P. et al. Signaling of cell fate decisions by *CLAVATA3* in *Arabidopsis* shoot meristems // Science. 1999. V. 283. № 5409. P. 1911–1914.
- Kayes J.M., Clark S.E. *CLAVATA2*, a regulator of meristem and organ development in *Arabidopsis* // Development. 1998. V. 125. P. 3843–3851.
- Kinoshita A., Betsuyaku S., Osakabe Y. et al. RPK2 is an essential receptorlike kinase that transmits the CLV3 signal in *Arabidopsis* // Development. 2010. V. 137. P. 3911–3920.
- Kwiatkowska D. Flowering and apical meristem growth dynamics // Journal of Experimental Botany. 2008. V. 59. P. 187–201.
- Laux T., Mayer K.F., Berger J., Jürgens G. The *WUSCHEL* gene is required for shoot and floral meristem integrity in *Arabidopsis* // Development. 1996. V. 122. № 1. P. 87–96.
- Mayer K.F., Schoof H., Haecker A. et al. Role of *WUSCHEL* in regulating stem cell fate in the *Arabidopsis* shoot meristem // Cell. 1998. V. 95. № 6. P. 805–815.
- Muller R., Borghi L., Kwiatkowska D., Laufs P., Simon R. Dynamic and compensatory responses of *Arabidopsis* shoot and floral meristems to *CLV3* signaling // Plant Cell. 2006. V. 18. P. 1188–1198.
- 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. V. 20. № 4. P. 934–946.
- Reddy G.V., Meyerowitz E.M. Stem-cell homeostasis and growth dynamics can be uncoupled in the *Arabidopsis* shoot apex // Science. 2005. V. 310. P. 663–667.
- Schoof H., Lenhard M., Haecker A. et al. The stem cell population of *Arabidopsis* shoot meristems is maintained by a regulatory loop between the *CLAVATA* and *WUSCHEL* genes // Cell. 2000. V. 100. P. 635–644.
- Yadav R.K., Tavakkoli M., Reddy G.V. *WUSCHEL* mediates stem cell homeostasis by regulating stem-cell number and patterns of cell division and differentiation of stem-cell progenitors // Development. 2010. V. 137. P. 3581–3589.
- Yadav R.K., Perales M., Gruel J. et al. *WUSCHEL* protein movement mediates stem cell homeostasis in the *Arabidopsis* shoot apex // Genes Dev. 2011. V. 25. P. 2025–2030.
- Yadav R.K., Perales M., Gruel J. et al. Plant stem cell maintenance involves direct transcriptional repression of differentiation program // Molecular Systems Biology. 2013. V. 9. Issue 1. № 654. P. 1–13.
- Yu L.P., Miller A.K., Clark S.E. *POLTERGEIST* encodes a protein phosphatase 2C that regulates *CLAVATA* pathways controlling stem cell identity at *Arabidopsis* shoot and flower meristems // Curr. Biol. 2003. V. 13. № 3. P. 179–188.
- Zhu Y., Wang Y., Li R. et al. Analysis of interactions among the *CLAVATA3* receptors reveals a direct interaction between *CLAVATA2* and *CORYNE* in *Arabidopsis* // Plant Journal. 2010. V. 61. P. 223–233.

The Gene *NANA* Regulates Cell Proliferation in *Arabidopsis thaliana* Shoot Apical Meristem without Interaction with *CLV1*, *CLV2*, *CLV3*

E. V. Albert^a, U. N. Kawai-ool^b, and T. A. Ezhova^a

^a Moscow State University, Moscow, 119992 Russia

e-mail: ezhova2001@mail.ru

^b Tuva State University, ul. Lenina 36, Kyzyl, 667000 Russia

Received February 10, 2014; in final form, March 3, 2014

Abstract—A constancy of stem cell pool in shoot apical meristem of *Arabidopsis thaliana* is provided by a genetic regulation system with negative feedback loop based on the interaction of the gene *WUS*, which maintains indeterminate state of cells, with *CLV* genes, which restrict the level of *WUS* expression and stem cell pool size. *clv* mutations lead to an increase in the pool of stem cells in the apical and floral meristems and *wus* mutation leads to the opposite effect. Mutation *na* (*nana*), like *wus* mutation, causes premature termination of shoot apical meristem function, although it does not affect the activity of the flower meristem. To elucidate the role of *NA* in the control of shoot apical meristem functioning, the interaction of *NA* with *CLV* genes were investigated. Additive phenotype of double mutants *na clv1*, *na clv2-1*, and *na clv3-2* indicates that the *NA* gene makes an independent contribution to the functioning of the shoot apical meristem. It is assumed that the *NA* gene controls apical meristem cell proliferation during the transition to the reproductive phase of plant development, acting much later and independently of the genes *WUS–CLV*.

Keywords: shoot development, apical meristem, stem cells, mutants, *Arabidopsis thaliana*, gene interactions