

УДК 575.164

ПЛЕЙОТРОПНЫЙ ЭФФЕКТ МУТАЦИИ *fas5* НА РАЗВИТИЕ ПОБЕГА *ARABIDOPSIS THALIANA*

© 2015 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: eugenealbert2010@gmail.com

Поступила в редакцию 16.07.2014 г.
Окончательный вариант получен 27.08.2014 г.

В работе охарактеризована новая мутация, вызывающая развитие многочисленных меристематических очагов в составе апикальной меристемы побега, которые могут давать начало новым стеблевым осям или приводить к фасциации стебля. Мутация *wus-1* эпистатирует развитие дополнительных апикальных меристем у мутанта *fas5*, что указывает на последовательное действие генов при формировании апикальной меристемы побега и участие гена *FAS5* в ограничении области экспрессии гена *WUS*. Эту функцию ген *FAS5* выполняет независимо от других негативных регуляторов гена *WUS* — генов *CLV*, о чем свидетельствует аддитивный фенотип двойных мутантов *fas5 clv2-1* и *fas5 clv3-2*. Помимо влияния на развитие апикальной меристемы побега мутация *fas5* вызывает изменение формы и числа листьев, ускоряет переход растений на репродуктивную стадию развития и приводит к развитию новообразований на стебле (почек, рыльцевой ткани и семяночек). Мутация вызывает также изменения морфологии клеток апикальных меристем и листа, указывающие на активацию в клетках эндоредупликации ДНК. Плейотропный эффект мутации *fas5* на разные стадии онтогенеза и разные органы свидетельствуют о том, что ген *FAS5* играет сложную регуляторную роль на всех стадиях развития побега *A.thaliana*, и его мишенями (прямыми или непрямыми) являются многие гены.

Ключевые слова: генетический контроль развития побега, *Arabidopsis thaliana*, апикальная меристема, мутанты, генные взаимодействия.

DOI: 10.7868/S0475145015010036

ВВЕДЕНИЕ

Развитие растения обеспечивается за счет постоянного поддержания пула стволовых клеток (СК) апикальной меристемы побега (АМП) и корня. АМП растений состоит из пула медленно делящихся СК, расположенных в центральной зоне, и быстро делящихся дифференцирующихся клеток в периферической зоне, из которых в дальнейшем образуются различные типы тканей и формируются примордии боковых органов побега. Важным компонентом АМП служит организующий центр, расположенный под центральной зоной и являющийся нишей СК меристемы (Stahl, Simon, 2010; Barton, 2010).

У *Arabidopsis thaliana* (L.) Heunh. ключевая роль в поддержании постоянства пула СК АМП принадлежит системе генов *WUS-CLV3*, действующих по принципу отрицательной обратной связи (Brand et al., 2000). Ген *WUS* экспрессируется в организующем центре, его продукт — транскрипционный фактор *WOX*-семейства (Haescker et al.,

2004) поступает в вышележащие СК и регулирует транскрипцию многих генов (Busch et al., 2010; Yadav et al., 2011; Yadav et al., 2013). Это обеспечивает поддержание СК в недифференцированном состоянии и стимулирует их пролиферативную активность. Белок *WUS* индуцирует в клетках центральной зоны экспрессию гена *CLV3*, кодирующего небольшой секреторный белок, который, активируя рецепторные молекулы *CLV1*, *CLV2*, *CRN*, *RPK2/TOAD2* (Ogawa et al., 2008; Muller et al., 2008; Kinoshita et al., 2010), супрессирует транскрипцию *WUS* и таким образом предотвращает чрезмерную пролиферацию СК.

На экспрессию *WUS* влияют и другие гены, оказывающие как индуцирующее, так и супрессирующее действие (Williams and Fletcher, 2005; Shen and Xu, 2009; Альберт, Ежова, 2013). Мутации в генах, индуцирующих экспрессию *WUS*, а также в самом гене *WUS* приводят к нарушениям функционирования АМ — в первую очередь к преждевременному истощению пула СК и оста-

новке роста, нарушениям формирования органов (Kwon et al., 2005; Ung et al., 2011). Мутации в генах, негативно регулирующих *WUS*, вызывают увеличение размеров АМП и усиление ее активности, развитие фасциации стебля, нарушение филлотаксиса и увеличение числа органов побега (Clark et al., 1997; Kaya et al., 2001; Han et al., 2008).

К негативным регуляторам *WUS* входят гены, кодирующие различные по структуре и выполняемой функции белки. Тем не менее, действие большинства негативных регуляторов *WUS* заключается в ограничении области его экспрессии в пределах организующего центра (Williams and Fletcher, 2005), что обеспечивает закладку и формирование нормальной АМП растения. В данной статье представлены результаты изучения рецессивной мутации *fasciata5 (fas5) A. thaliana*, характеризующейся увеличением размеров АМП, развитием фасциации и рядом других нарушений. Задачей данной работы являлся детальный анализ влияния мутации *fas5* на развитие растений *A. thaliana*. Для выяснения взаимодействия нового гена с генами *WUS* и *CLV* изучали также влияние мутации *fas5* на проявление мутаций *wus-1*, *clv3-2* и *clv2-1*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Генетическая характеристика мутации *fas5*. Мутация *fas5* (линия М-21-1) получена на основе расы Dijon (линия К-1) на кафедре генетики МГУ с помощью химического мутагенеза этилметансульфоната и наследуется как ядерная рецессивная. Тесты на аллелизм с ранее изученными мутациями, приводящими к фасциации стебля, показали, что мутация *fas5* не является аллелью генов *CLV1*, *CLV2*, *CLV3* и *FAS1*. Отсутствие аллелизма с геном *FAS2* установлено путем секвенирования кДНК из мутанта *fas5* и родительской расы Dijon. Выявлено сцепление *fas5* с маркерами *lfy-10* и *yi*, расположенными в нижнем плече хромосомы 5 в районе 79сМ и 85сМ, соответственно. Сила сцепления между *fas5* и *yi* составила 5.7 ± 1 сМ и между *fas5* и *lfy-10* – 2.7 ± 0.5 сМ. Поскольку расстояние между генами *YI* и *LFY* составляет 3 сМ, сделан вывод о локализации гена *FAS5* в хромосоме 5 *A. thaliana* левее гена *LFY* в районе 76 сМ, где не описаны гены, мутации которых вызывают фасциацию.

Анализ генных взаимодействий с помощью изучения фенотипа двойных мутантов. Для выявления взаимодействий генов использованы мутанты *clv3-2* (CS8066), *clv2-1* (CS46) и *wus-1* (CS15) из Arabidopsis biological Resource Center. Поскольку мутация *clv3-2* (CS8066) была получена на основе линии Ler, содержащей мутацию *er*, тесно сцепленную с *clv3-2*, двойной мутант *fas5 clv3-2* всегда был гомозиготен по *er* (по сути, представлял собой тройной мутант). В связи с этим для коррект-

ного сравнения с двойным мутантом *fas5 clv3-2* мутант *fas5* путем скрещиваний с Ler был переведен на тот же генетический фон. Для получения двойных мутантов *fas5 clv2-1* и *fas5 wus-1* сначала путем скрещиваний с расой Dijon получали мутанты *clv2-1* и *wus-1* без мутации *er1*, после чего их скрещивали с мутантом *fas5*. Для анализа морфологии растения выращивали в смеси почвы и песка (2 : 1) в условиях теплицы на длинном дне.

Документирование материала. Съемки растений проводили цифровым фотоаппаратом “Canon” (Япония) под бинокуляром Stemi 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 цветения. Образцы инкубировали в растворе 70% этанола 16 часов 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 97% (1 : 1) в течение 30 мин и в 100% ацетоне в течение 2-х часов. Высушенные образцы прикрепляли к металлическим столикам, напыляли смесью палладия и платины в ионном напылителе IB-3 (“Eiko”, Япония).

РЕЗУЛЬТАТЫ

*Влияние мутации *fas5* на развитие побега*

Отличия мутанта от растений дикого типа видны уже на ювенильной стадии развития по изменению формы листьев розетки. Листья мутанта *fas5* уже, чем у растений дикого типа, листовая пластинка приобретает характерную ромбовидную форму (рис. 1а). На листьях мутанта можно видеть трихомы, имеющие 4 ветви (рис. 1б), в то время как у дикого типа встречаются трихомы максимум с 3-мя ветвями. В среднем, на третьем розеточном листе мутанта *fas5* можно обнаружить 26% трихом с 2 ветвями, 42% – с 3 ветвями и 31% – с 4 ветвями. На третьем розеточном листе дикого типа 2 ветви имелось у 67% трихом, 3 – у 33%, а трихом с 4 ветвями не наблюдалось. Клетки поверхности листовой пластинки *fas5* характеризуются существенно большим разбросом размеров, чем у дикого типа. Среди них можно заметить крупные клетки, не встречающиеся у растений дикого типа (рис. 1в, 1г). Образование таких клеток у мутанта, а также увеличение степени разветвленности трихом указывают на более ранний переход клеток к эндоредупликации ДНК (удвоение ДНК без последующего деления клетки), приводящий к возникновению более крупных полиплоидных клеток.

Число розеточных листьев у мутанта снижено (таблица), что связано с более ранним образованием цветоноса. Число вегетативных узлов цвето-

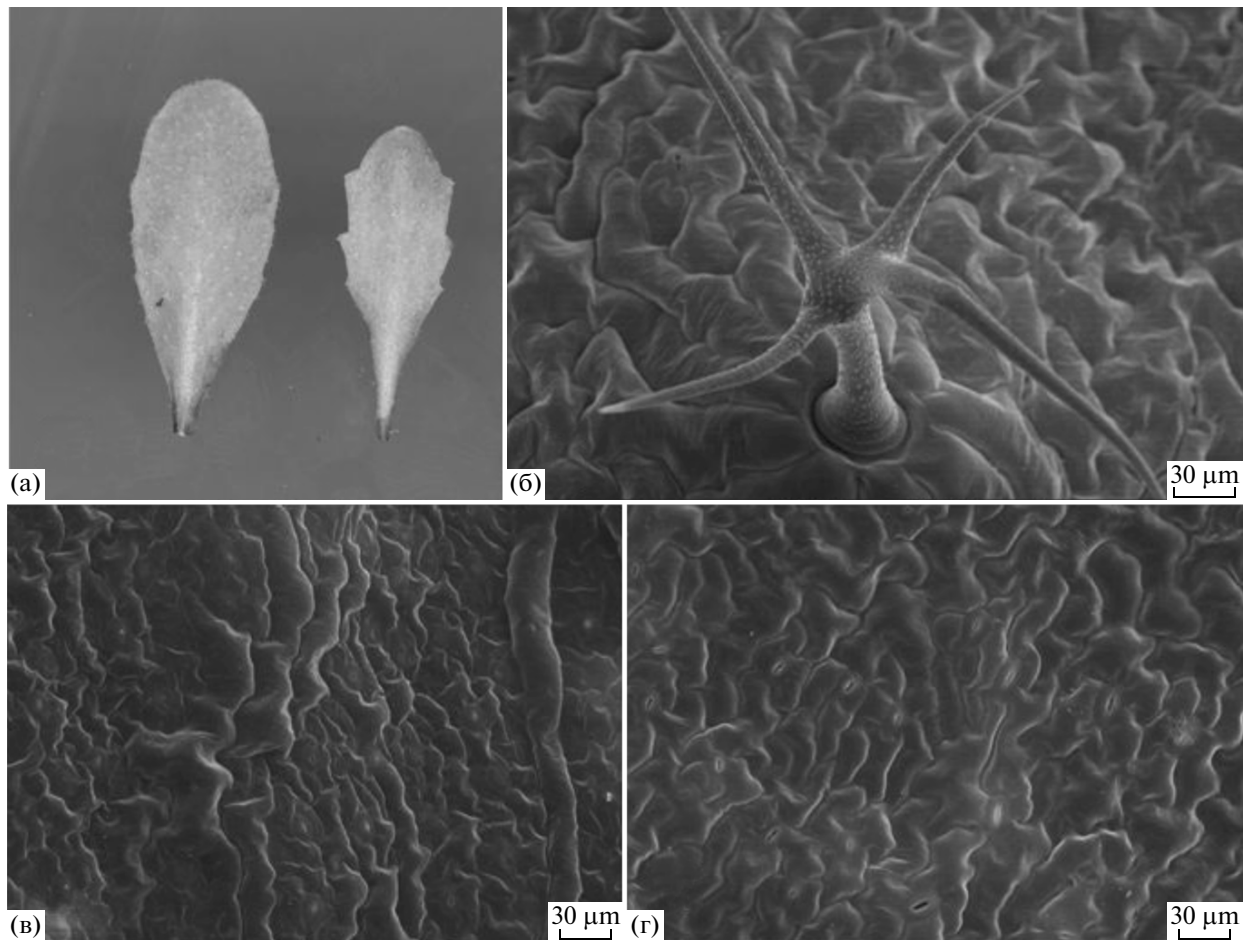


Рис. 1. Морфология розеточных листьев мутанта *fas5* и растений дикого типа: (а) — общий вид розеточных листьев (слева-направо) дикого типа и мутанта *fas5*; (б) — аномально разветвленная трихома на поверхности листа *fas5*; (в, г) — верхняя сторона листовой пластинки *fas5* и дикого типа соответственно.

носа со стеблевыми листьями у мутанта несколько увеличено, но эти различия не достоверны. По высоте цветоносов растения *fas5* не отличаются от растений дикого типа (таблица).

Наиболее яркое проявление мутации *fas5* — фасциация цветоноса — признак, который лег в

основу названия мутанта. Эта особенность связана с изменениями строения апикальной меристемы побега (АМП). АМП мутанта *fas5* сильно увеличивается в размере по сравнению с АМП растений дикого типа (рис. 2а, 2б), что приводит к существенному разрастанию стебля в ширину

Сравнение морфометрических характеристик побега растений *A. thaliana* дикого типа (раса Dijon) и мутанта *fas5*

Показатель	Dijon	<i>fas5</i>
Число листьев розетки	8.2 ± 0.7	$4.7 \pm 0.6^*$
Высота побега	40.8 ± 4.8	43.8 ± 3.2
Высота вегетативной части	20.5 ± 2.2	22.0 ± 2.8
Число узлов вегетативной части	3.6 ± 0.65	5.73 ± 1.02
Высота генеративной части	20.4 ± 4.4	21.8 ± 1.8
Число узлов генеративной части	38.7 ± 5.3	35.2 ± 2.9
Число дополнительных побегов розетки	3.7 ± 0.7	4.9 ± 0.5

* Средние величины мутанта *fas5* достоверно отличаются от растений дикого типа при уровне значимости $P > 0.99$.

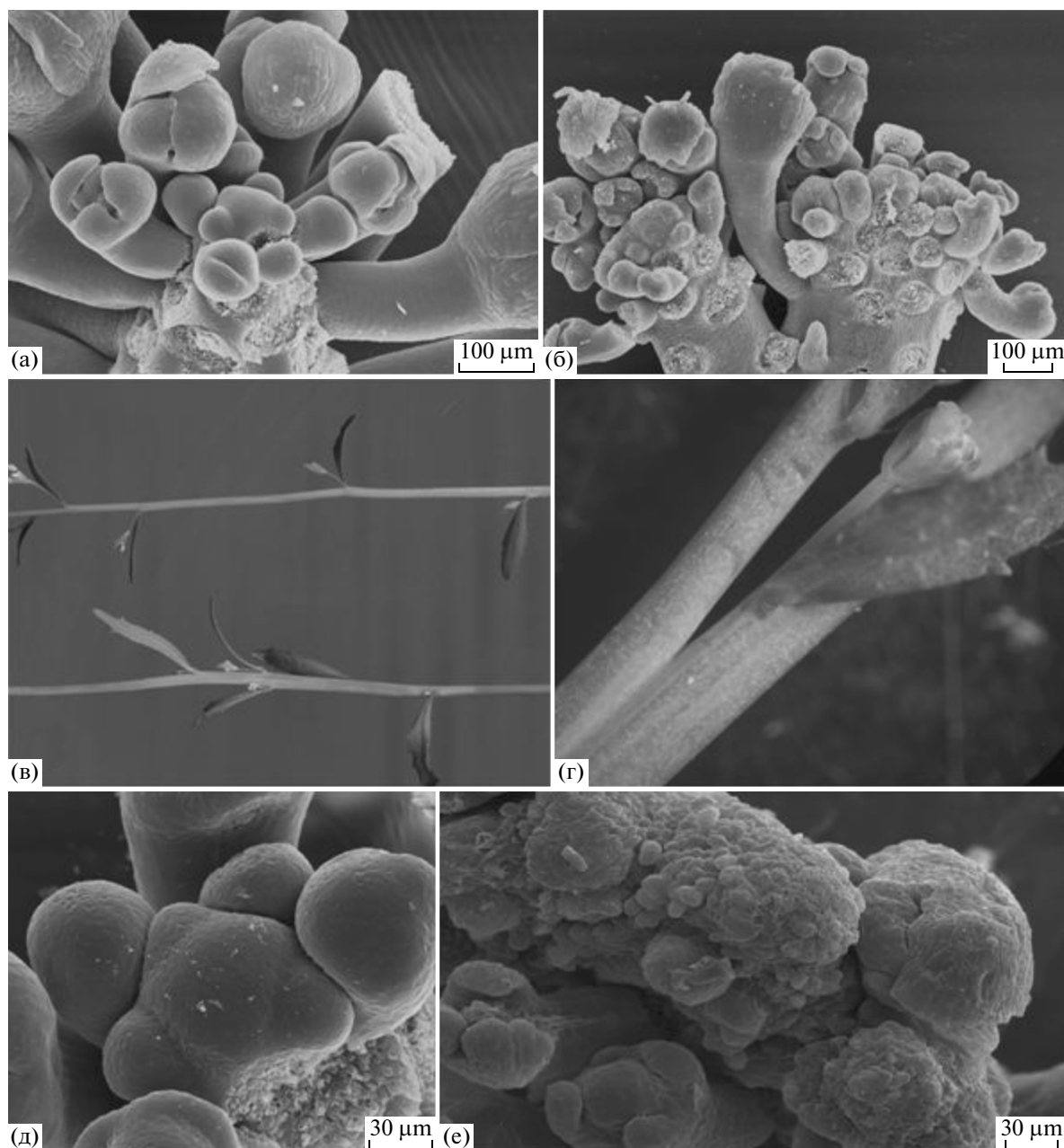


Рис. 2. Особенности строения побега и АМП растений дикого типа (а, д) и мутанта *fas5* (б, в, г, е): (а, б) – верхушки цветоносов (у мутанта видны две оси побега, возникшие в результате дробления АМП; на верхушках обеих осей – многочисленные АМП); (в) – типичная структура вегетативной части цветоноса растений дикого типа (сверху) и мутанта (снизу); (г) – характерное для мутанта *fas5* раздвоение оси побега; (д, е) – АМП соответственно дикого типа и мутанта при большем увеличении (на поверхности АМП мутанта видны крупные клетки, утратившие меристематическую активность).

(рис. 2в). Характерной чертой АМП растений *fas5* является образование нескольких слившихся, но хорошо различимых друг от друга “дочерних” меристем в составе АМП. Вследствие этого формируется стебель, состоящий из нескольких слившихся осей, и наблюдается некоторое увеличение числа вегетативных узлов (таблица) и стеблевых листьев. АМП *fas5* склонна к разделению на несколько частей по границам “дочерних” мери-

стем (рис. 2б), что приводит к распадению единого стебля на несколько независимых осей (рис. 2г). Подобное ветвление носит аномальный характер, так как в данном случае образование бокового побега происходит не в пазухе листа, а в результате расщепления стебля.

Филлотаксис у мутантов *fas5* нарушается – стеблевые органы утрачивают спиральное расположение, характерное для дикого типа. Часто на-

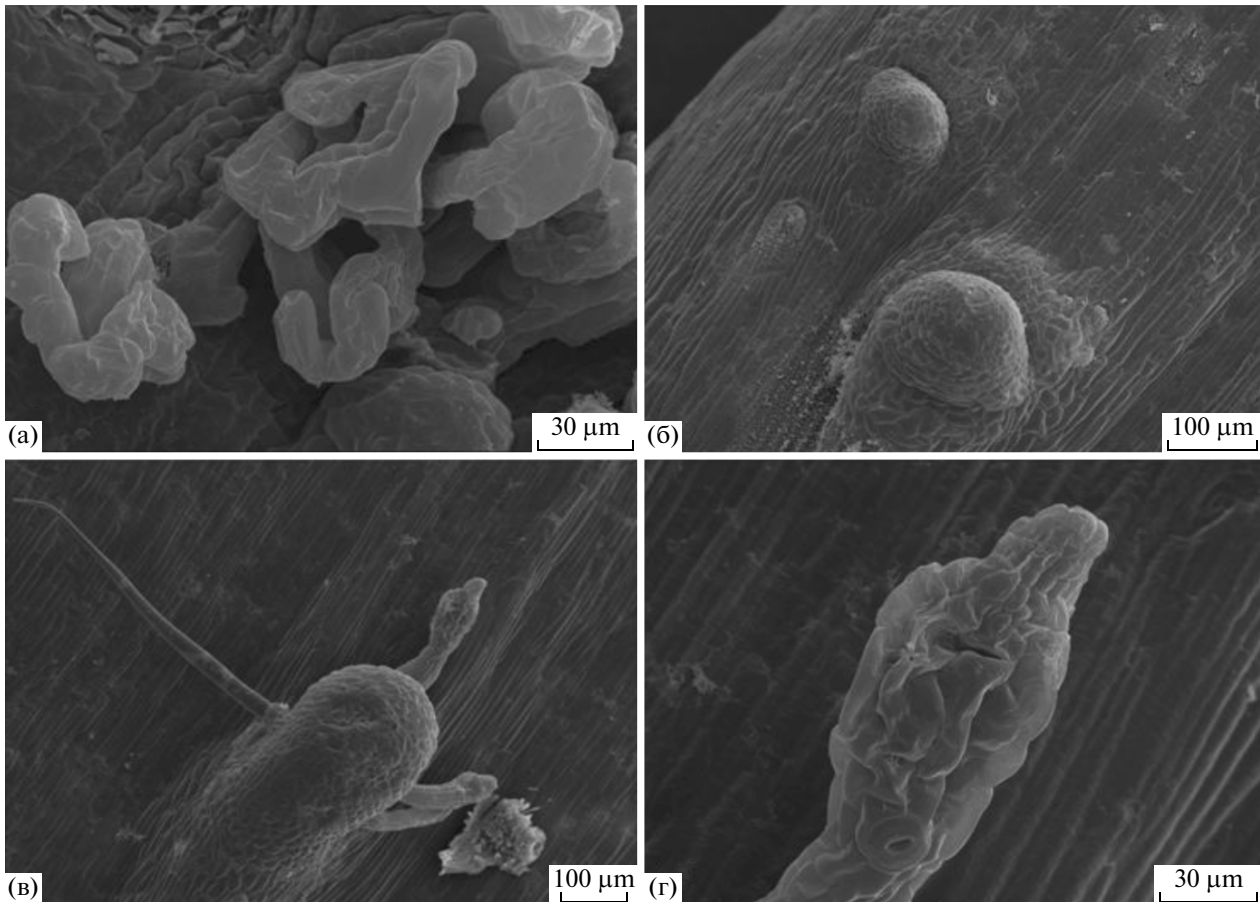


Рис. 3. Эктопические очаги пролиферативной активности на стебле мутанта *fas5*: (а) – клеточные тяжи на стебле, напоминающие рыльцевые сосочки; (б, в) – осевые структуры, напоминающие почки (на рис в видны семяпочкоподобные образования и трихома); (г) – структура, напоминающая семяпочку при более крупном увеличении.

блюдается развитие двух или более листьев в одном узле и формирование групп сильно сближенных друг с другом узлов, разделенных длинными междоузлиями (рис. 2в).

В отличие от других фасцированных мутантов у мутанта *fas5* наблюдаются изменения АМП на клеточном уровне. АМП мутантов *fas5* часто образуют на своей поверхности крупные клетки, фенотипически сходные с клетками, прекратившими деление и перешедшими к эндоредупликации, которые не встречаются в АМП растений дикого типа (рис. 2д, 2е). Переход к эндоредупликации характерен для дифференцирующихся клеток, что не свойственно стволовым клеткам АМП, поддерживающимся в недетерминированном состоянии.

На поверхности стебля мутантов *fas5* часто формируются очаги эктопической пролиферации клеток, особо многочисленные в верхней части стебля, непосредственно примыкающей к апикальной меристеме. В результате эктопической пролиферации клеток образуются разнообразные клеточные выросты. Чаше всего клетки имеют

аномально крупные размеры и их скопление напоминает рыльцевую ткань (рис. 3а). Могут развиваться осевые образования, напоминающие почки (рис. 3б, 3в). Иногда на их поверхности (рис. 3в, 3г) или прямо на стебле можно обнаружить семяпочки или напоминающие их структуры.

Взаимодействие гена FAS5 с генами CLV и WUS

Поскольку основную роль в поддержании структуры АМП играют гены *WUS* и *CLV*, исследовано взаимодействие гена *FAS5* с этими генами. Растения двойного мутанта *fas5 clv3-2* демонстрируют увеличение АМП относительно обоих одиночных мутантов (рис. 4а, 4б; рис. 2б). В то время как АМП одиночного мутанта *clv3-2* представляет собой единую валикообразную структуру (рис. 4а), АМП одиночного мутанта *fas5*, как указано выше, состоит из большого числа “дочерних” меристем (рис. 2б). АМП двойного мутанта *fas5 clv3-2* также не является единым массивом, а формирует слившиеся “дочерние” меристемы (рис 5 в, как у одиночного мутанта *fas5*). Тем не менее, морфология

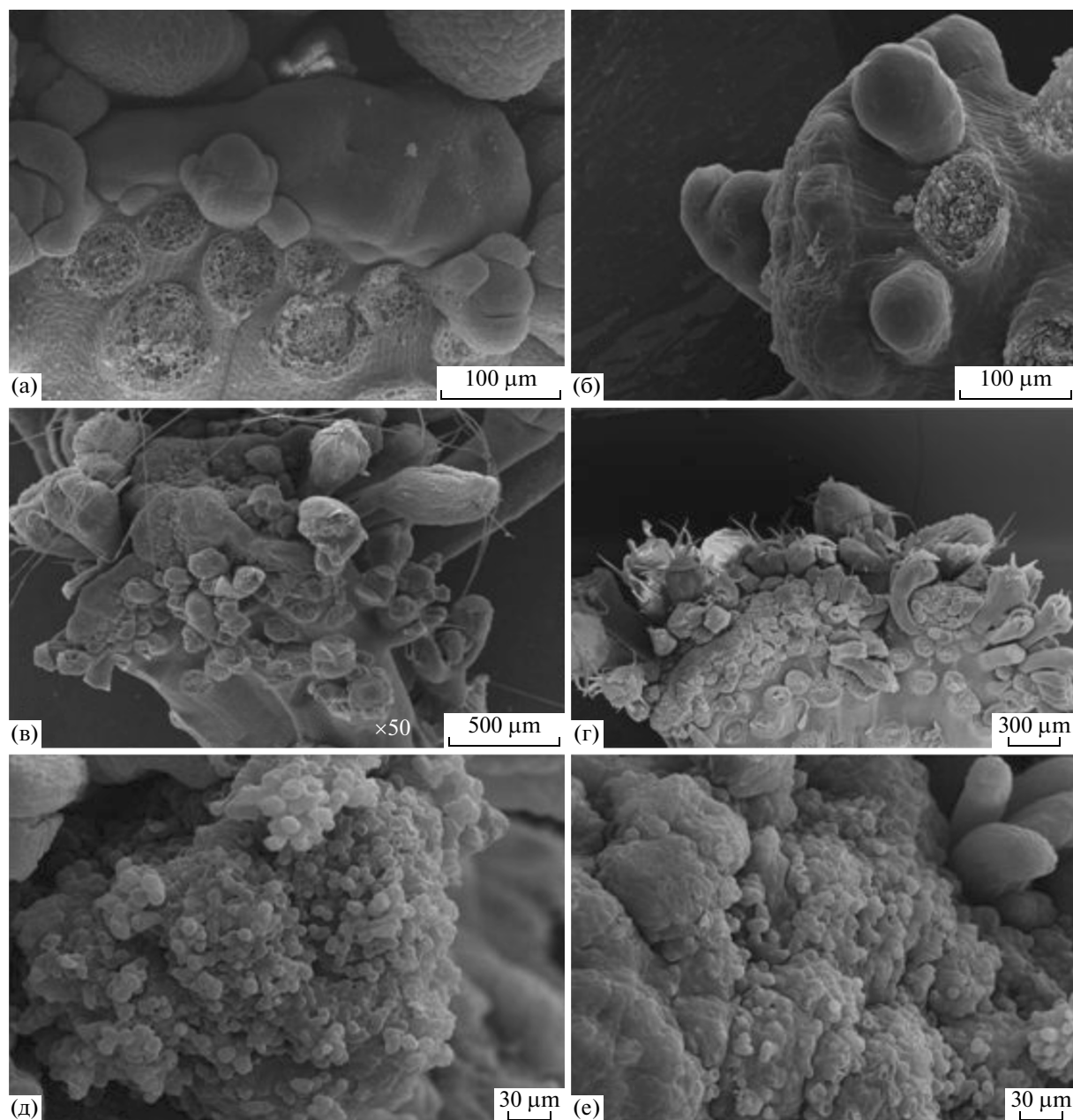


Рис. 4. Структура АМП одиночных мутантов *clv3* (а) и *clv2* (б) и двойных мутантов *fas5 clv3* (в, д) и *fas5 clv2* (г, е); (а–г) – общий вид АМП (видно существенное увеличение АМП у двойных мутантов по сравнению с одиночными); (д–е) – АМП при большом увеличении (поверхность состоит из крупных дифференцирующихся клеток).

отдельных “дочерних” меристем в составе АМП *fas5 clv3-2* практически идентична фенотипу АМП одиночных мутантов *clv3-2*. При этом АМП *fas5 clv3-2* приобретает сложную разветвленную форму, разрастаясь в нескольких плоскостях, в отличие от одиночных мутантов *fas5* и *clv3-2*, АМП которых как правило демонстрирует увеличение только в одной плоскости.

Сходная структура АМП формируется и у АМП двойного мутанта *fas5 clv2-1*. АМП *fas5 clv2-1* также сильно увеличивается в размере (рис. 4г),

хотя и не так существенно, как у *fas5 clv3-2* (рис. 4в). Она также образует в своем составе слившиеся “дочерние” меристемы, морфология которых схожа АМП одиночного мутанта *clv2-1* (рис. 4б). В отличие от *fas5 clv3-2* АМП растений *fas5 clv2-1* увеличивается преимущественно в одной плоскости и имеет большую склонность к разделению на независимые оси по границам “дочерних” меристем аналогично одиночному мутанту *fas5*.

На поверхности АМП двойных мутантов *fas5 clv3-2* и *fas5 clv2-1* образовывались крупные клет-

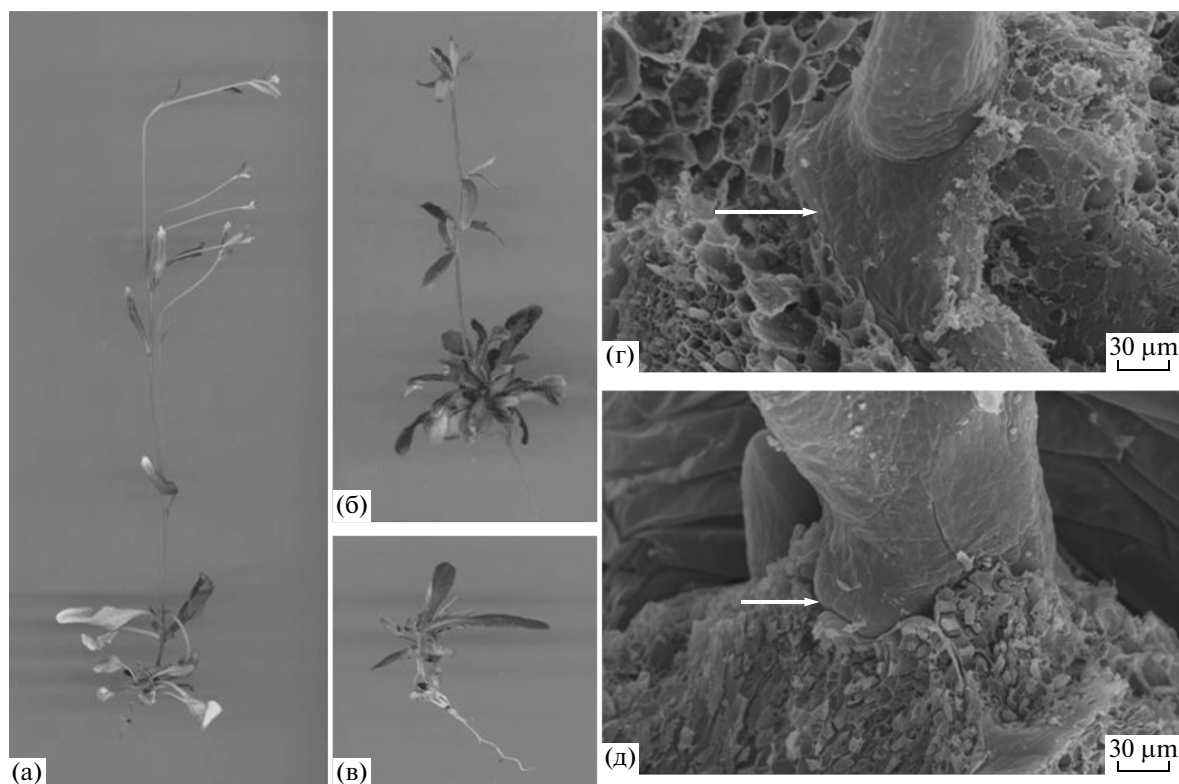


Рис. 5. Общий вид одиночных и двойных мутантов *fas5*, *wus-1*, *fas5 wus-1* и структура их АМП: (а, б, в) — растения соответственно *fas5*, *wus-1*, *fas5 wus-1* в возрасте 40 дней; (г, д) — АМП соответственно одиночного мутанта *wus-1* и двойного мутанта *fas5 wus-1* на стадии 4-го розеточного листа (стрелки указывают на клетки в основании примордиев листьев, которые представляют собой остатки клеточный пул АМП; остальные листья удалены).

ки, аналогичные тем, что присутствуют у одиночного мутанта *fas5*. Причем на поздних стадиях цветения образование таких клеток становилось особенно обильным (рис. 4д, 4е). Большинство растений *fas5 clv3-2* останавливали рост цветоноса уже после достижения высоты 10–16 см, что, очевидно, связано с прекращением пролиферации АМП вследствие потери их клетками состояния недетерминированности.

Таким образом, у двойных мутантов *fas5 clv3-2* и *fas5 clv2-1* происходит сильное увеличение размеров АМП относительно одиночных мутантов *fas5*, *clv3-2*, *clv2-1*. Это связано с тем, что у обоих двойных мутантов проявляются признаки характерные для мутанта *fas5* — образование множественных дочерних меристем в составе АМП, по границам которых (по крайней мере у *fas5 clv2-1*) происходит разделение стебля на независимые оси. Однако, каждая из дочерних меристем имеет крупные размеры, характерные для мутантов *clv2-1* или *clv3-2*. Следовательно, фенотип двойных мутантов можно трактовать как аддитивный.

В отличие от мутанта *fas5* и одиночного мутанта *wus-1*, который способен образовывать розетку и слаборазвитый цветонос (рис. 5а, 5б), двойной мутант *fas5 wus-1* образует розетку меньшего размера и не формирует цветоноса (рис. 5в). АМП

двойного мутанта *fas5 wus-1* (рис. 5д) морфологически не отличается от АМП одиночного мутанта *wus-1* (рис. 5г). Она представляет собой небольшую плоскую структуру, что характерно для мутанта *wus-1*, но при этом имеет несколько уменьшенные размеры по сравнению с *wus-1*. Образование крупных клеток, приподнимающихся над поверхностью меристемы у *fas5 wus-1*, в отличие от мутанта *fas5*, не наблюдается.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования свидетельствуют о плейотропном эффекте мутации *fas5* на развитие растений. Мутация *fas5* вызывает изменение формы листа и стебля, ускоряет переход растений на репродуктивную стадию развития, вызывает дробление АМП и развитие новообразований на стебле, часть из которых представлена рыльцевой тканью и семяпочками. Кроме того, мутация вызывает изменение морфологии клеток АМП и листа (появление крупных клеток и сильно разветвленных трихом), что указывает на активацию в клетках эндоредупликации ДНК, которая связана с прекращением пролиферации и началом дифференцировки клеток (De Veylder et al., 2011). Все эти изменения затрагивают разные стадии онто-

генеза и разные органы и свидетельствуют о важной роли гена в контроле развития побега *A. thaliana*.

Наиболее важна роль гена *FAS5* в формировании функционально активной АМП. Серьезное увеличение размеров АМП у растений *fas5* относительно растений дикого типа говорит о возможном участии гена *FAS5* в пространственном ограничении активности *WUS*. Фрагментация АМП мутантных растений *fas5*, не встречающаяся у других фасцированных форм (например, у линии *clv1, 2, 3*) и приводящая к формированию дополнительных осей у мутанта, является, по-видимому, результатом формирования нескольких слившихся апикальных меристем, в каждой из которых действует своя система регуляции *WUS-CLV*. Фенотип мутанта свидетельствует о том, что ген *FAS5* принимает участие в поддержании целостности АМП путем ограничения области экспрессии *WUS*. В пользу влияния гена *FAS5* на пространственные особенности экспрессии *WUS* свидетельствует и способность мутации *wus-1* эпистатировать образование множественных апикальных меристем у мутанта *fas5*.

Хотя ген *FAS5* взаимодействует с геном *WUS*, он не взаимодействует с генами *CLV3* и *CLV2*, о чем свидетельствует аддитивный фенотип двойных мутантов *fas5 clv2-1* и *fas5 clv3-2*. Следовательно, ген *FAS5* действует независимо от генов *CLV*, которые играют центральную роль в ограничении активности гена *WUS* (Schoof et al., 2000).

Увеличение размера АМП и формирование дополнительных меристем объясняет фасциацию и нарушения филлотаксиса у мутанта *fas5*. Тем не менее, некоторые изменения у мутанта *fas5* сложно свести к эффекту увеличения размеров АМП. Так, например, наличие в АМП *fas5* крупных клеток, морфологически сходных с дифференцирующимися клетками, говорит о нарушении поддержания клеток АМП в недетерминированном состоянии, что не согласуется с явными свидетельствами увеличения числа доменов экспрессии гена *WUS* у мутанта. Это может объясняться тем, что, помимо пространственной регуляции активности *WUS* ген *FAS5* может участвовать в регуляции других генов, необходимых для поддержания недетерминированности клеток центральной зоны АМП. Например, *FAS5* может участвовать в регуляции генов, контролирующих переход клеток к эндоредупликациям ДНК. В пользу участия гена *FAS5* в контроле эндоредупликации говорит и наличие крупных клеток и аномально разветвленных трихом на поверхности розеточных листьев мутантов *fas5*.

Предположение о существовании у гена *FAS5* нескольких функций в АМП (ограничение области экспрессии гена *WUS* и предотвращение дифференцировки клеток АМП) позволяет объяснить и некоторое ужесточение фенотипа *wus-1* у

двойного мутанта *fas5 wus-1*. Это ужесточение фенотипа, выражающееся в неспособности образовывать цветonos и уменьшении размера АМП у двойного мутанта по сравнению с одиночным мутантом *wus-1*, может объясняться преждевременным истощением АМП вследствие потери функции *FAS5*, который предотвращает переход клеток к эндоредупликации ДНК и дифференцировке.

Появление на стеблях растений *fas5* участков эктопической пролиферации также может быть следствием возникновения новых областей экспрессии гена *WUS*. Эктопические новообразования на цветоносе наблюдаются и у растений *A. thaliana* суперэкспрессирующих ген *WUS* (Xu et al., 2005). В тоже время, образование на стебле мутанта структур, сходных с семяпочками и рыльцевой тканью, указывает на возможное участие гена *FAS5* в регуляции экспрессии генов, ответственных за формирование генеративных органов. Более быстрый переход растений мутанта на репродуктивную стадию развития – еще один измененный признак, который заставляет предполагать существование еще одной функции у гена *FAS5*. Детальному изучению этого признака будет посвящено отдельное исследование. Выявленное разнообразие онтогенетически не связанных между собой нарушений у мутанта свидетельствует о том, что ген *FAS5* играет сложную регуляторную роль на всех стадиях развития побега, и его мишенями (прямыми или косвенными) являются многие гены.

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.
- 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.
- 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.
- Busch W., Miotk A., Ariel F.D. et al. Transcriptional Control of a Plant Stem Cell Niche // *Developmental Cell*. 2010. V. 18. P. 841–853.
- Clark S.E., Williams R.W., Meyerowitz E.M. The CLAVATA1 gene encodes a putative receptor kinase that controls shoot and floral meristem size in *Arabidopsis* // *Cell*. 1997. V. 89. P. 575–585.

- De Veylder L., Larkin J.C., Schnittger A.* Molecular control and function of endoreplication in development and physiology // *Trends Plant Sci.* 2011. V. 16. P. 624–634.
- Haeccker A., Gross-Hardt R., Geiges B. et al.* Expression dynamics of WOX genes mark cell fate decisions during early embryonic patterning in *Arabidopsis thaliana* // *Development* 2004. V. 131. P. 657–668.
- Han P., Li Q., Zhu Y.X.* Mutation of *Arabidopsis BARD1* causes meristem defects by failing to confine WUSCHEL expression to the organizing center // *Plant Cell.* 2008. V. 20 (6). P. 1482–1493.
- Kaya H., Shibahara K., Taoka K. et al.* FASCIATA genes for chromatin assembly factor-1 In *Arabidopsis* maintain the cellular organization of apical meristems // *Cell.* 2001. V. 104. P. 131–142.
- Kinoshita A., Betsuyaku S., Osakabe Y. et al.* RPK2 is an essential receptor-like kinase that transmits the CLV3 signal in *Arabidopsis* // *Development.* 2010. V. 137. P. 3911–3920.
- Kwon C.S., Chen C., Wagner D.* WUSCHEL is a primary target for transcriptional regulation by SPLAYED in dynamic control of stem cell fate in *Arabidopsis* // *Genes Dev.* 2005. V. 19. P. 992–1003.
- 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.
- Ogawa M., Shinohara H., Sakagami Y., Matsubayashi Y.* *Arabidopsis* CLV3 peptide directly binds CLV1 ectodomain // *Science.* 2008. V. 319 (5861). P. 294.
- 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.
- Shen W.H., Xu L.* Chromatin remodeling in stem cell maintenance in *Arabidopsis thaliana* // *Mol. Plant.* 2009. V. 2. P. 600–609.
- Stahl Y., Simon R.* Plant primary meristems: shared functions and regulatory mechanisms // *Curr. Opin. Plant Biol.* 2010. V. 13. P. 53–58.
- Ung N., Lal S. and Smith H.* The role of PENNYWISE and POUND-FOOLISH in the maintenance of the shoot apical meristem in *Arabidopsis* // *Plant Physiology.* 2011. V. 156. P. 605–614.
- Williams L., Fletcher J.C.* Stem cell regulation in the *Arabidopsis* shoot apical meristem // *Curr. Opin. Plant Biol.* 2005. V. 8. P. 582–586.
- Xu Y.Y., Wang X.M., Li J. et al.* Activation of the WUS gene induces ectopic initiation of floral meristems on mature stem surface in *Arabidopsis thaliana* // *Plant. Mol. Biol.* 2005. V. 57 (6). P. 773–784.
- 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. P. 654.

Pleiotropic Effect of the *fas5* Mutation on the Shoot Development of *Arabidopsis thaliana*

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

^a Moscow State University, Moscow, 119992 Russia

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

e-mail: ezhova2001@mail.ru

Received July 16, 2014; in final form, August 27, 2014

The paper described a new mutation that causes the development of multiple meristematic foci as part of shoot apical meristem, which can give rise to new stem axes or cause stem fasciation. The *wus-1* mutation represses development of additional apical meristem in *fas5* mutant, indicating to the sequential action of the genes in the formation of the shoot apical meristem and *FAS5* gene participation in spatial restriction of the *WUS* gene expression. This function gene *FAS5* performs independently of other negative regulators of *WUS* gene – namely genes *CLV*, as demonstrated by additive phenotype of double mutants *fas5 clv2-1* and *fas5 clv3-2*. Besides the effect on the development of the shoot apical meristem *fas5* mutation causes a change in the shape and number of leaves, accelerates the plant transition to the reproductive stage and leads to the development of cell neoplasms on the stem (buds, stigmatic tissues and ovule-like structures). The mutation also causes changes in apical meristems and leaf cell morphology indicating the activation in cells of DNA endoreduplication. Pleiotropic effect of the *fas5* mutation on different stages of ontogeny and different organs suggests that the *FAS5* gene plays a complex regulatory role at all stages of the *A.thaliana* shoot development, and affects many direct or indirect target genes.

Keywords: genetic control of shoot development, *Arabidopsis thaliana*, apical meristem, mutants, gene interaction