

**ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА ПОЛЯРНОГО ТРАНСПОРТА АУКСИНА
НА МОРФОГЕНЕЗ ЛИСТА И ГЕНЕРАТИВНЫХ СТРУКТУР
ПРИ ФАСЦИИ У *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) HEYNH.**

© 2016 г. Е. А. Быкова, Д. А. Чергинцев, Т. А. Власова, В. В. Чуб

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический ф-т
119234 Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12

E-mail: katebykova.90@mail.ru

Поступила в редакцию 07.10.2015 г.

Окончательный вариант получен 18.12.2015 г.

Увеличение пролиферативной активности побеговой апикальной меристемы (ПАМ) и последующее накопление пула недифференцированных клеток (фасциация) приводит к изменению филлотаксиса. В частности, у *Arabidopsis thaliana* типичное спиральное листорасположение заменяется на супротивное или мутовчатое (в зависимости от степени проявления фасциации). Развитие пестика у мутантных растений сопровождается появлением в центральной его части группы недифференцированных, меристематических клеток. При добавлении N-1-нафтилфталамовой кислоты (НФК) объем меристемы увеличивается как у мутантных растений, так и у контрольных. Так же происходит увеличение числа прилистников у всех исследуемых растений. При флоральном морфогенезе под воздействием НФК происходит еще большее разрастание пула меристематических клеток. Обсуждается взаимодействие различных механизмов контроля объема меристемы.

Ключевые слова: ПАМ, НФК, фасциация, бластозона, *A. thaliana*.

DOI: 10.7868/S0475145016040030

ВВЕДЕНИЕ

Апикальная меристема побега цветковых растений содержит пул недифференцированных клеток, расположенных в центральной зоне и меристеме ожидания (организационном центре), в то время как основные морфогенетические процессы происходят в функционально отграниченной от них периферической зоне (Fletcher, Meyergowitz, 2000; Dodsworth, 2009; Xie et al., 2009; Чуб, Синюшин, 2012). Механизмы поддержания этого пула клеток в данный момент интенсивно изучают на модельном объекте *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Показано, что существует система с отрицательной обратной связью *CLAVATA–WUSCHEL*, контролирующая размеры пула недифференцированных клеток (Dodsworth, 2009; Nieminen et al., 2015). Однако следует отметить, что кроме вышеуказанной системы регуляции существуют другие механизмы контроля объема меристемы. Так, например, было исследовано влияние гена *NANA* на пролиферативную активность побеговой апикальной меристемы (Альберт и др., 2014). Было показано, что *NANA* контролирует активность ПАМ при переходе растений на репродуктивную стадию развития, действуя значительно позже и независимо от системы генов *CLV–WUS*.

Фактор транскрипции *WUS* синтезируется в организационном центре ПАМ и по плазмодемсам направляется в поверхностный слой центральной зоны меристемы. При взаимодействии *WUS* с промотором гена *CLV3* происходит усиление экспрессии последнего (Yadav et al., 2011). Пропептид *CLV3* подвергается протеолизу, модификации аминокислот, гликозилированию, а затем секретруется в форме короткого гликопептида (13 аминокислот). Короткий пептид *CLV3* может связываться с рецепторным комплексом, состоящим из белков *CLV1* и *CLV2* (Xie et al., 2009; Ohuama et al., 2009), что в дальнейшем приводит к уменьшению экспрессии *WUS*.

При нарушении экспрессии тех или иных генов, вовлеченных в эту систему контроля пролиферативной активности побеговой апикальной меристемы, размеры пула недифференцированных клеток могут как уменьшаться (при мутации *wus*), так и увеличиваться (при мутациях *clv1*, *clv2*, *clv3*). Это коррелятивно влияет на размер периферической зоны, в которой происходит разметка (pre-patterning) и последующая закладка примордиев листьев (Быкова и др., 2013).

По мере роста и развития растения, меристема закладывает большое количество органов. Однако прежде, чем тот или иной орган появится в

определенном месте периферической зоны, происходит разметка, которая в заметной мере определяется поворотом потока ауксинов из поверхностных слоев к формирующемуся корпусу (Berleth et al., 2007; Чуб, 2010). Вдоль этого первичного потока ауксинов в стебле в дальнейшем дифференцируются тяжи прокамбия и проводящие пучки, а в примордии листа — центральная жилка.

Существуют механизмы позиционного контроля, которые позволяют дистанцировать два соседних размечающихся листовых примордия друг от друга. При нарушении полярного транспорта ауксина эти механизмы ослаблены, что приводит к появлению слившихся листьев или листьев с несколькими равнозначными главными жилками. Нарушение полярного транспорта характерно для мутантов по генам из семейства *PIN*, кодирующим белки-переносчики ауксинов. Кроме того, снижения скорости полярного транспорта ауксинов можно добиться экспериментально, применяя такие ингибиторы, как трийодбензойная кислота (ТИБК) или N-1-нафтилфаламовая кислота (НФК). При определенных концентрациях обработка растений дикого типа ингибиторами транспорта ауксинов при закладке листьев может вызывать морфологические проявления, сходные с фенотипом мутантов *pin1* (Thomson et al., 1973; Okada et al., 1991; Deb et al., 2015).

Ранее нами была высказана гипотеза, что между центральной и периферической зонами возникает конкуренция за функциональное пространство меристемы (Чуб, Синюшин, 2012; Быкова и др., 2015). Согласно этой гипотезе, одну из важных ролей в этом процессе разграничения зон играет место поворота потока ауксина из поверхностных слоев туники к корпусу. Такой поворот может осуществиться только в периферической (но не в центральной) зоне. Ослабление потока ауксина должно приводить к коррелятивному сдвигу вниз границы центральной зоны и увеличению пула недифференцированных клеток.

Для экспериментальной проверки этой гипотезы мы использовали в качестве ингибитора полярного транспорта НФК. Чтобы изучить взаимодействие полярного транспорта ауксинов с системой *CLAVATA*–*WUSHEL*, мы использовали мутантные линии *A. thaliana clv2-2* на фоне *Ler* с умеренным нарушением объема меристемы и *clv3-2* на фоне *Ler*, для которой характерен наиболее выраженный эффект фасциации апикальной меристемы побега.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Мутантные растения *A. thaliana* линий *clv1-1*, *clv2-2* и *clv3-2* были получены из коллекции кафедр генетики Биологического факультета

МГУ. Изогенными линиями для *clv1-1* служили растения экотипа *Blanes*, а для *clv2-2* и *clv3-2* — *Landsberg erecta (Ler)*. Растения выращивали на 0.8% агаризованной среде с 1/2 минеральных элементов по MS (Murashige, Scoog, 1962), содержащей 1% сахарозы, в течение 21 дня с добавлением 3, 10, 20 и 30 μM НФК. К контрольной группе растений ингибитор не добавляли. Растения культивировали при 16-ти часовом световом дне под люминесцентным освещением (45 μM квантов ФАР $\text{m}^{-2} \text{c}^{-1}$), и температуре +22°C. Каждые 7 дней проводили выделение побеговых апикальных меристем (7, 14, 21 и 28 дней). Всего было 2 эксперимента, каждой точке соответствовало 3 чашки Петри по 15–20 растений в каждой.

Далее образцы фиксировали 70%-ным этиловым спиртом, дегидратировали в смесях спиртов и ацетона возрастающей концентрации и высушивали методом “критической точки” (Bartlett, Burstin, 1975). Образцы монтировали на столики с помощью углеродного скотча. Столики с образцами напыляли сплавом платины и палладия в ионно-распылительной установке (Eiko IB-3 ION COATER). Напыленные образцы были изучены с помощью сканирующего электронного микроскопа (СЭМ) HITACHI S-405A в общефакультетской лаборатории электронной микроскопии МГУ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для определения эффективной действующей концентрации на *Arabidopsis* была проведена серия экспериментов с четырьмя концентрациями НФК в среде: 3, 10, 20 и 30 μM . При выращивании растений на среде, содержащей 3 μM , по сравнению с контрольными растениями не было зафиксировано существенных морфологических изменений. Анализ растений, выращенных на среде с добавлением 10 μM НФК, показал, что морфологический эффект от ингибитора был слабым, и выражался лишь в срастании некоторых листьев. Кроме того, не все растения в этом варианте проявляли реакцию на воздействие НФК. При увеличении концентрации действующего вещества до 20 и 30 μM у всех растений были выраженные нарушения морфогенеза. Таким образом, действующими концентрациями НФК для получения видимого морфологического ответа меристемы для растений *A. thaliana* являются 20 и 30 μM .

Изменения в вегетативной ПАМ

При выращивании изогенных линий *Ler* и *Blanes* без ингибитора у них наблюдалось очередное спиральное листорасположение, в то время как при добавлении НФК филлотаксис менялся. Так на рис. 1а показана меристема растения *Blanes*, выращенная на среде с 20 μM НФК. Примордии, обозначенные 1 и 1', 2 и 2', 3 и 3', заложены

лись одновременно, о чем свидетельствует их размер, отдаленность от меристемы и степень развития трихом. Угол дивергенции внутри каждой пары примордиев близок к 180° , что свидетельствует о супротивном листорасположении. Такое явление часто можно наблюдать в норме у мутантных растений *clv1* (Быкова и др., 2015).

Следует отметить, что реакция растений дикого типа на воздействие НФК была не одинаковой. У одних образцов появлялись структуры, схожие по фенотипу с мутантами *pin*. Эти фенокопии при переходе из розеточной стадии к выживанию цветоноса развивали безлистные структуры и не закладывали боковых цветков. Чаще всего они останавливались в развитии после образования второго настоящего листа (рис. 2г).

В других случаях происходило образование меристемы, уплощенной с боков, которую очень часто в норме развивают фасцированные мутанты. Так же достаточно часто меристемы контрольных растений под воздействием НФК разделялись на самостоятельно пролиферирующие части, на два очага роста. Это явление называется дефасциацией, и оно наблюдается также у фасцированных мутантов *A. thaliana* (рис. 2б).

В целом у всех растений добавление ингибитора транспорта ауксина стимулировало дополнительное увеличение размеров меристемы относительно контроля. Так у мутантов *clv2 Ler* в норме размер меристемы в ее самой широкой части составлял в среднем 40 мкм, а при добавлении НФК – 200 мкм (рис. 2а). У растений дикого типа фенокопии *pin* в диаметре не превышали 150 мкм, в то время как схожие структуры у мутантных растений достигали 260 мкм. Увеличение происходило не только в длину, но и в высоту. Максимальная высота таких структур у растений дикого типа не превышала 350 мкм, в то время как у мутантов достигала 600 мкм. Следует отметить, что *clv2* и *clv3* на фоне *Ler* развивали на внешней поверхности этой структуры одиночные органы. Например, растения *clv2 Ler* преимущественно образовывали трихомы, а *clv3 Ler* – листья, в пазухах которых располагались чаще всего две боковые почки (рис. 2в). У растений дикого типа в норме должна формироваться одна боковая почка в пазухе листа.

Добавление НФК в среду культивирования приводило не только к дополнительному увеличению размеров меристемы, но и к изменению формы листьев и прилистников. В норме у контрольных растений форма листа обратнойцевидная, листья имеют достаточно длинные черешки. Под воздействием НФК у мутантных растений наблюдались пельтатные листья, представляющие из себя замкнутые чашеобразные структуры (рис. 1в). Как такового черешка они не имели, а прикреплялись к стеблю основанием листовой пластинки.

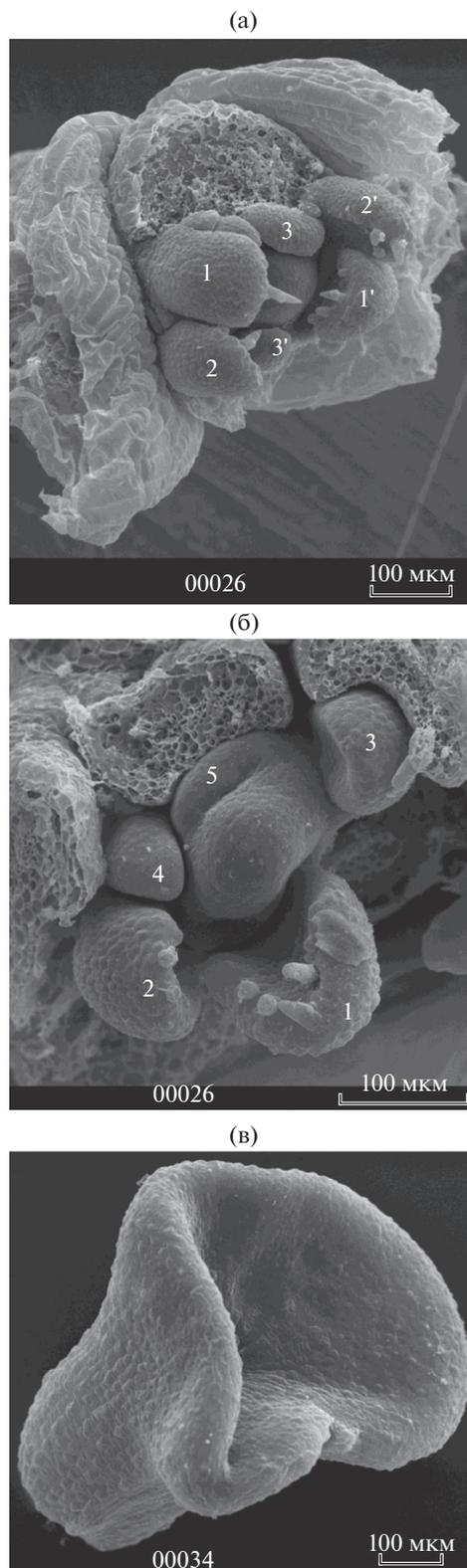


Рис. 1. Изменение филлотаксиса у растений *Arabidopsis thaliana* под воздействием НФК. а – меристема *Blanes* при 20 μM (1 и 1', 2 и 2', 3 и 3' – одновременно заложившиеся пары примордиев), б – меристема *clv1* при 10 μM (цифрами обозначены последовательно заложившиеся примордии), в – пельтатный лист растения *clv3* на фоне *Ler*.

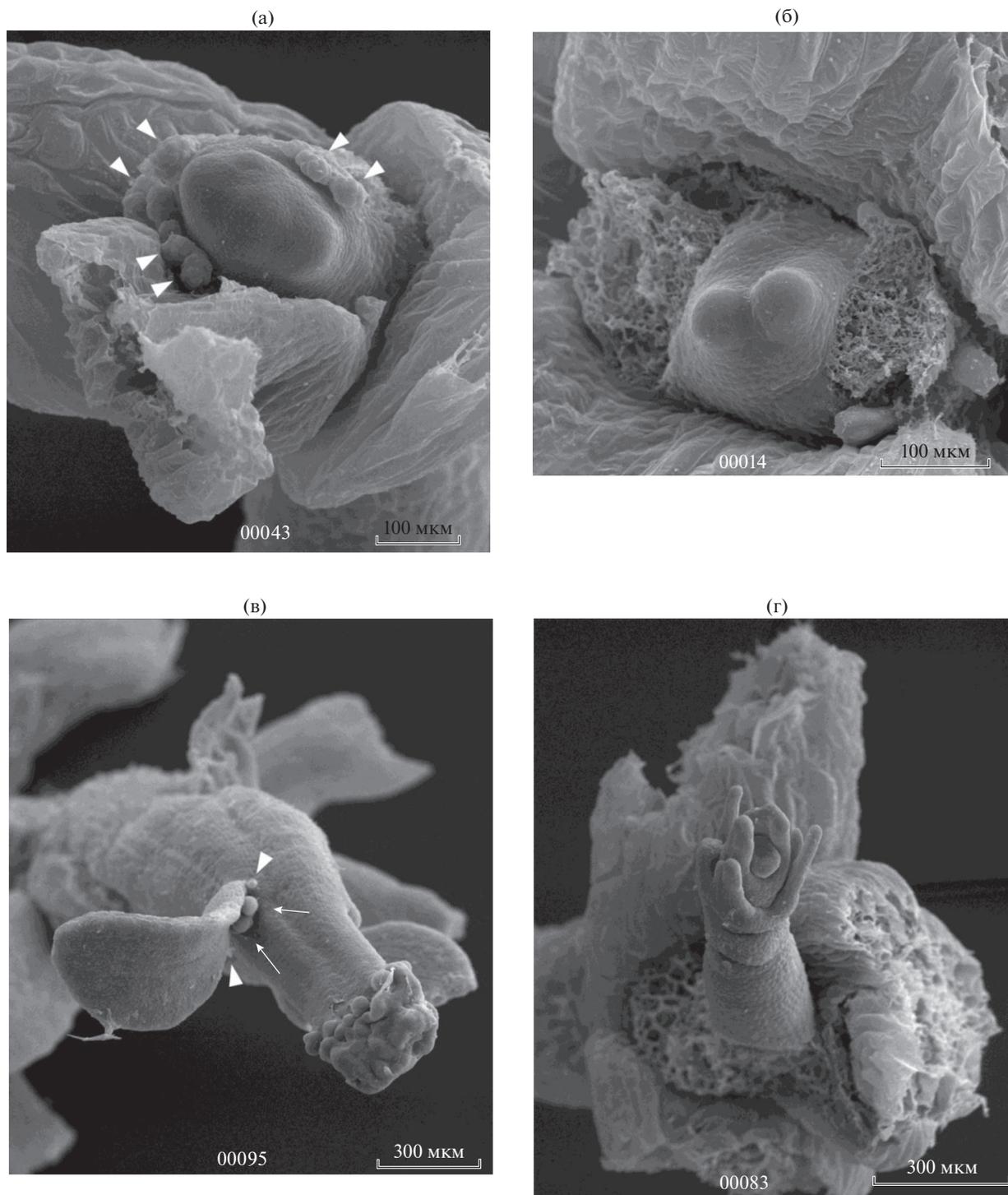


Рис. 2. Изменение формы меристемы у растений *Arabidopsis thaliana* под воздействием НФК. а – меристема *clv2* на фоне *Ler* при 20 μM (треугольниками показаны прилистники), б – меристема *Ler* при 20 μM , разделяющаяся на два очага роста, в – *pin*-образная структура *clv3* на фоне *Ler* при 20 μM (треугольниками показаны прилистники, стрелками показаны одновременно заложившиеся две коллатеральные пазушные почки), г – *pin*-образная структура *Ler* при 20 μM .

Так же нами было зафиксировано увеличение числа прилистников под воздействием НФК. В норме даже у мутантных растений *clv* мы всегда наблюдали два прилистника при основании каж-

дого листа. При фасциации часто увеличивается число листьев в узле, но при этом число прилистников остается прежним. Добавление НФК в среду культивирования вызывало увеличение числа

прилистников, как у мутантных растений, так и у изогенных линий. Так на рис. 3а и 3б показаны меристемы *Blanes* и *clv3* на фоне *Ler* соответственно, у которых увеличено число прилистников. В некоторых случаях мы наблюдали образование до 10 и более прилистников, которые формировали единое поле между основаниями двух соседних листьев (рис. 3б). Форма же прилистников менялась на лопастную.

Изменения в генеративной ПАМ

При анализе флорального морфогенеза были обнаружены следующие изменения. В норме мутанты *clv2* и *clv3* на фоне *Ler* развивали цветки, однако число частей цветка было отличным от контрольных растений, как в меньшую, так и в большую стороны. У *clv2* на фоне *Ler* в ряде случаев происходило уплощение пестика и усиление развития рыльцевой ткани до образования гребневидной формы (рис. 4в). У мутантных растений *clv3* на фоне *Ler* на поверхности пестика внутри кольца из очагов рыльцевой ткани наблюдалось появление многочисленных неупорядоченных очагов пролиферирующих клеток (рис. 4а). Эта структура, разрастаясь, приобретала округлую форму, у которой по периферии располагалась дифференцированная рыльцевая ткань. Такие видоизменения наблюдались только у терминальных структур, при этом они не мешали закладке боковых цветков.

Под воздействием же ингибитора транспорта ауксинов число боковых цветков снижалось или они совсем не закладывались. Одновременно на оси соцветия часто развивалась крупная терминальная структура (рис. 4б и 4г). На апексе располагались неупорядоченные очаги делящихся клеток, причем конечная форма этой структуры варьировала от гребневидной и вытянутой как у *clv2* на фоне *Ler* (фасциация в плоскости) до линейно-вытянутой или крестообразной как у *clv3* на фоне *Ler*. Как и у контрольных мутантных растений, по периферии этой структуры располагались очаги рыльцевой ткани.

Среди очагов пролиферирующей ткани также наблюдались участки с более-менее выраженной дифференцировкой, напоминающие по внешнему виду сильно разросшиеся плаценты с семязачатками на ранних этапах развития (рис. 4б). Таким образом, эта терминальная структура, состоящая в большей степени из меристематических клеток, была более дифференцированной, нежели чем в контроле без НФК.

Если же растение развивало структуру, напоминающую по фенотипу растения *pin*, то оно не образовывало никаких цветков, но в некоторых случаях на апексе развивались аппендикулярные структуры, которые напоминали филаменты

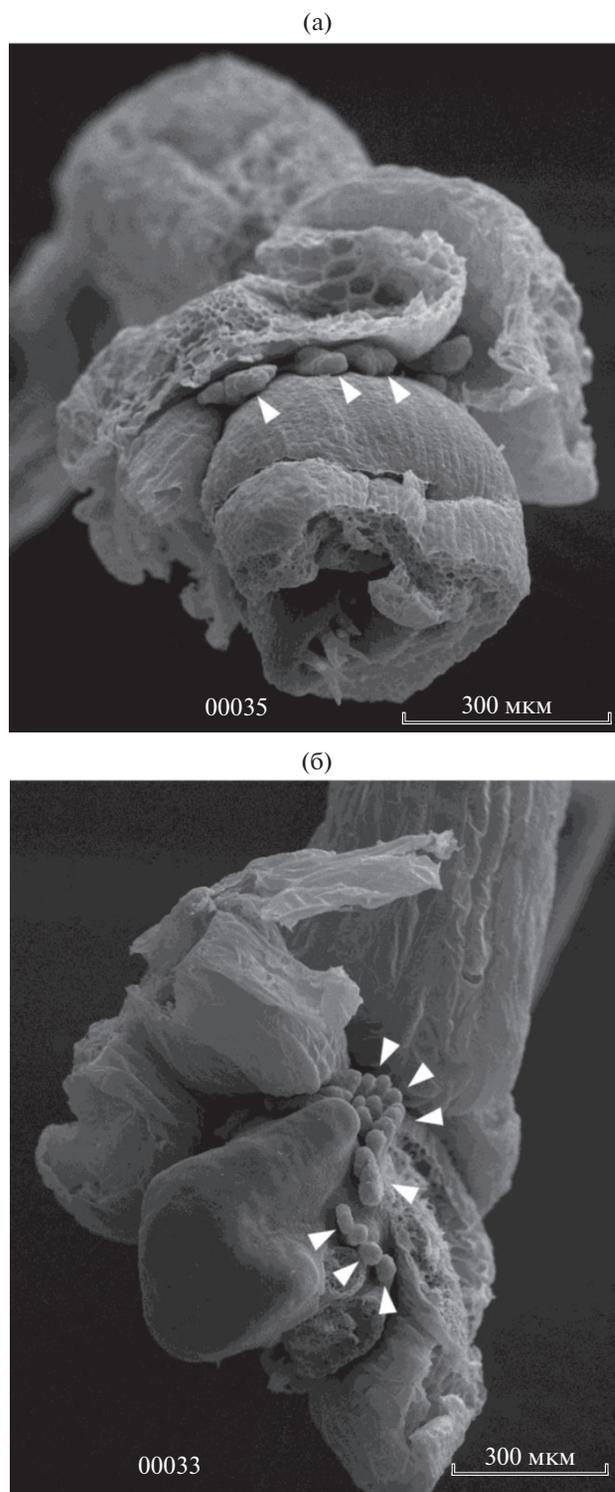


Рис. 3. Изменение числа прилистников у растений *Arabidopsis thaliana* под воздействием НФК. а – растение *Blanes* при 10 μM , б – растение *clv3* на фоне *Ler* при 20 μM . Треугольниками показаны прилистники.

(рис. 2г). В центре находился очаг роста, который в дальнейшем мог развиваться в гинецей или дать очаги пролиферации.



Рис. 4. Флоральный морфогенез у мутантных растений *Arabidopsis thaliana*. а – генеративная меристема *clv3* на фоне *Ler* без добавления НФК, б – генеративная меристема *clv3* на фоне *Ler* при 20 μM , в – генеративная меристема *clv2* на фоне *Ler* без добавления НФК, г – генеративная меристема *clv2* на фоне *Ler* при 20 μM . Стрелками показана рыльцевая ткань, треугольниками – семязачатки.

ОБСУЖДЕНИЕ

Экотип *Landsberg erecta* отличается от расы *Columbia* мутацией *erecta* (*er*). Ген *ERECTA* кодирует мембранный белок-рецептор из семейства киназ, участвующих в поддержании пула стволовых клеток. В геноме присутствуют также гомологи *ERECTA-LIKE1* и *ERECTA-LIKE2*. Мутанты по

этим генам характеризуются фенотипом, сходным с фенотипом мутантов *erecta*. При этом меристема заметно уменьшается в размерах (Shpak et al., 2004; Terpstra et al., 2010; Uchida et al., 2013).

На фоне *Ler* повреждение других систем регуляции объема меристемы приводит к более резко выраженному фенотипическому проявлению.

Так, мутация *fas5* на фоне *Landsberg erecta* дает сильное гребневидное разрастание меристемы соцветия (Альберт, 2015). По нашим данным мутанты *clv3* на фоне *Ler* также давали аналогичные структуры, но только если транспорт ауксина был ингибирован НФК (рис. 4б). Можно предположить, что в случае *clv3* потоки ауксина в периферической части меристемы способны контролировать нижнюю границу центральной зоны. При добавлении НФК этот механизм ослабляется, и усиливается пролиферация как клеток меристемы соцветия, так и клеток центра флоральной меристемы. Рост флоральной меристемы становится недетерминированным, а закладка гинецея нарушается (рис. 4б).

При фасциации из центральной зоны в периферическую выходит больше клеток, чем у нормально функционирующих меристем. В результате увеличивается пространство, в котором происходит разметка листовых примордиев, что влечет за собой увеличение числа органов в одном узле и/или изменение филлотаксиса (Mayer et al., 1998; Fletcher, Meyerowitz, 2000; Hamada et al., 2000; Чуб, 2010).

У растений экотипа *Landsberg erecta* угол дивергенции у розеточных листьев близок к углу золотого сечения (137.5°) (Mandel et al., 2014). При оверэкспрессии *miR166g* объем меристемы изменяется, что приводит к увеличению числа листовых примордиев в одном узле вплоть до четырех (Mandel et al., 2014). Мы наблюдали аналогичные явления. Так, у некоторых растений *clv3* на фоне *Ler* на среде без НФК в одном узле закладывалось одновременно четыре примордия. У мутантов *clv1* в одном узле наблюдалось не более двух примордиев (Быкова и др., 2015). В других случаях угол дивергенции между соседними примордиями уменьшался до $72-90^\circ$ (рис. 1б).

У тройного мутанта *er erl1 erl2* было отмечено образование примордиев вокруг меристемы в виде мутовки (Uchida et al., 2013). При этом все примордии были одного размера и возраста. Однако у авторов не было достаточных оснований интерпретировать их как листовые примордии, поскольку они не сопровождалась прилистниками и не развивали эпидермальных трихомов. Действительно, можно ожидать образования большого количества одновозрастных примордий-подобных структур в одном узле, так как у тройных мутантов *er erl1 erl2* блокированы механизмы ограничения роста пула меристематических клеток ПАМ.

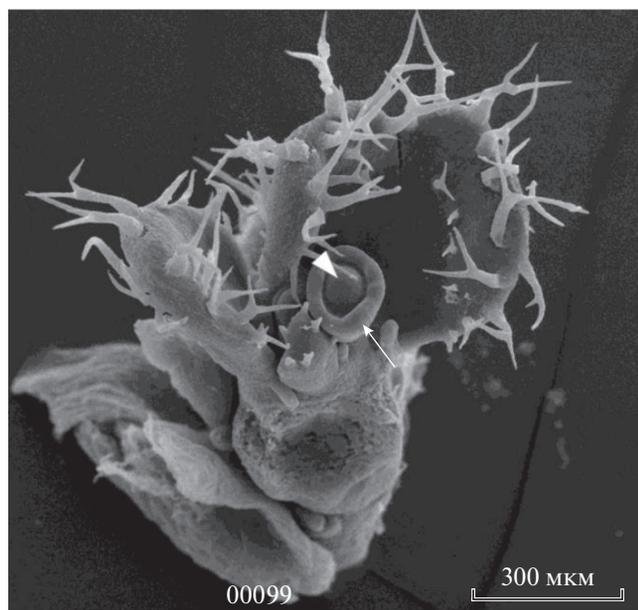
В наших экспериментах пролиферативная активность была увеличена из-за мутации в другом механизме контроля объема меристемы (*CLAVATA-WUSHEL*). При этом закладка листьев происходила нормально, примордии листовых пластинок всегда сопровождалась прилистниками. Но сам механизм формирования листа под действием НФК

на фоне мутаций *clv* и *ler* нарушался. В норме лист возникает из определенного пула клеток, который можно назвать бластозоной (Gourlay et al., 2000; Быкова и др., 2015). У *Arabidopsis* большая часть клеток бластозоны используется для формирования листовой пластинки, однако в ней также размечаются два сайта для формирования пазушных прилистников. Если в норме в каждом сайте образуется только по одному прилистнику (как у растений дикого типа, так и у мутантов), то под действием НФК размеры сайтов увеличиваются, и в них могут закладываться до 10 прилистников (рис. 3б). При этом размеры сайтов у мутантов *clv* оказываются больше, чем у изогенных растений. Следовательно, на размеры и разметку структур в бластозонах листа оказывают влияние не только потоки ауксина, но и система регуляции объема меристемы.

Прилистники могут играть важную сигнальную роль при морфогенезе. Было показано, что в молодых прилистниках происходит накопление ауксина (Tsukaya, Uchimiya, 1997; Aloni et al., 2003). Возможно, образование дополнительных прилистников позволяет растениям частично компенсировать ослабление потоков ауксина, вызванное НФК.

Обработка НФК дополнительно стимулирует увеличение пула меристематических клеток: даже у контрольных линий происходили значительные изменения в строении как вегетативной, так и генеративной ПАМ. На рис. 5а показана 14-дневная меристема *Ler*. Видно образование лопастных листьев, с увеличенным количеством трихомов. В генеративной части растения обнаруживается конгенитальное срастание чашелистиков. В норме из одного примордия развивается один чашелистик, при нарушении полярного транспорта ауксина они срастаются, в результате чего мы наблюдаем кольцевую лопастную чашечку. В центре флоральной меристемы сначала закладывается кольцевой примордий гинецея, а затем центральная часть начинает обильно пролиферировать. Наблюдается частичная дифференцировка центрального пула клеток в рыльцевые папиллы. По данным литературы, в норме гинецей закладывается кольцом и по мере его роста вверх, лежащие в центре клетки должны останавливать свое деление (Smyth et al., 1990). Но на фоне НФК этого не происходит. Схожая картина наблюдается и у мутантов *clv2* на фоне *Ler*, только здесь число цветков увеличено и гинецей имеет вытянутую форму, с дополнительными очагами роста посередине (рис. 5б).

В зависимости от концентрации НФК проявлялись разные эффекты. Максимальная концентрация ингибитора в $30 \mu\text{M}$ приводила к появлению лопастных (как у мутантов, так и у контрольных растений) и пельтатных листьев (только у *clv3* на фоне *Ler*), а также развитию сросшихся около-



(б)

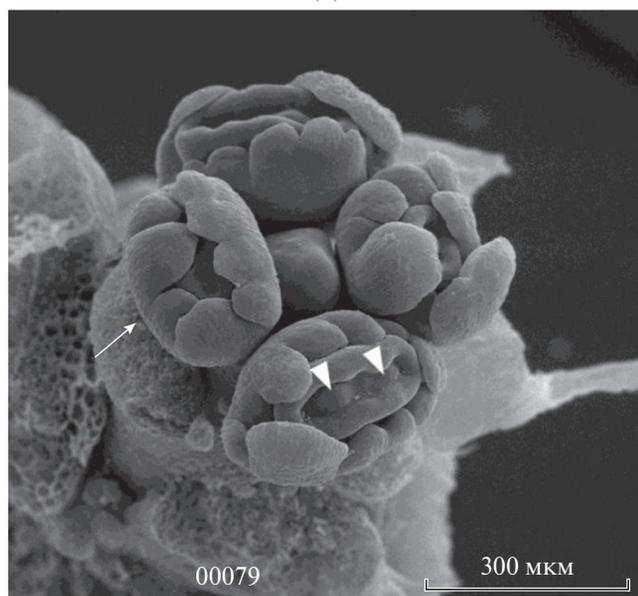


Рис. 5. Флоральный морфогенез при 30 μM у растений *Arabidopsis thaliana*. а – растение *Ler* при 30 μM , б – растение *clv2* на фоне *Ler* при 30 μM . Стрелками показано конгенитальное срастание околоцветника, треугольниками – пул пролиферирующих клеток в центре меристемы.

цветников (как у мутантов, так и у контрольных растений). При этой концентрации мы никогда не наблюдали развитие булавоковидных (pin-formed) структур, в отличие от 20 μM , где они представлены в различных вариантах и у всех растений.

По мере возрастания концентраций происходит нарушение симметрии меристемы и, как следствие, филлотаксиса. Так при 20 μM у *Ler* на-

блюдалась плоская фасциация вегетативных ПАМ, однако это никак не влияло на форму флоральной меристемы. У мутантных растений *clv3* на фоне *Ler* без добавления НФК наблюдались круглые терминальные структуры, которые изменяли свою форму от линейно-гребневидной (20 μM) до крестообразной (20 и 30 μM). Изменения числа, формы и размеров прилистников происходило только под действием НФК. Можно предположить, что под действием НФК происходит увеличение участка blastozоны, предназначенного для образования прилистников, то есть изменяется механизм разметки blastozоны. Этот механизм до конца не изучен и требует дальнейших исследований.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность д. б. н. Т.А. Ежовой за предоставленные образцы семян *A. thaliana*, к. б. н. А.А. Синюшину за плодотворное обсуждение результатов. Работа проведена на оборудовании Общефакультетской лаборатории электронной микроскопии МГУ. Работа частично поддержана грантом РФФИ № 15-04-06374.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Альберт Е.В. Изучение мутантов *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. с изменением пролиферативной активности апикальной меристемы побега. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.: МГУ, 2015. 20 с.
- Альберт Е.В., Кавай-оол У.Н., Ежова Т.А. Ген *NANA* регулирует пролиферацию клеток апикальной меристемы побега *Arabidopsis thaliana*, не взаимодействуя с генами *CLV1*, *CLV2*, *CLV3* // Онтогенез. 2014. Т. 45. № 5. С. 326–332.
- Быкова Е.А., Лабунская Е.А., Косенко Я.В., Чуб В.В. Коэволюция побеговой апикальной меристемы и генетических механизмов контроля клеточной пролиферации // Вестн. ТвГУ. Сер. Биология и экология. 2013. Вып. 32. № 31. С. 25–50.
- Быкова Е.А., Лабунская Е.А., Чуб В.В. Морфологические изменения структуры blastozон при фасциации у *Pisum sativum* L. и *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. // Известия РАН. Серия Биологическая. 2015. № 3. С. 1–7.
- Чуб В.В. Роль позиционной информации в регуляции развития органов цветка и листовых серий побегов. Москва: Бином, 2010. 263 с.
- 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.
- Aloni R., Schwalm K., Langhans M., Ullrich C.I. Gradual shifts in sites of free-auxin production during leaf-primer development and their role in vascular differentiation and leaf morphogenesis in *Arabidopsis* // Planta. 2003. V. 216. P. 841–853.

- Berleth T., Scarpella E., Prusinkiewicz P. Towards the systems biology of auxin-transport-mediated patterning // Trends Plant Sci. 2007. V. 12. № 4. P. 151–159.
- Burlet A.A., Burstin H.P. A review of the physics of critical point drying // Proc. of the 8th SEM-Symposium. Chicago, 1975. P. 305–316.
- Deb Y., Marti D., Frenz M. et al. Phyllotaxis involves auxin drainage through leaf primordia // Development. 2015. V. 142. P. 1992–2001.
- Dodsworth S. A diverse and intricate signalling network regulates stem cell fate in the shoot apical meristem // Dev. Biol. 2009. V. 336. P. 1–9.
- Fletcher J.C., Meyerowitz E.M. Cell signaling within the shoot meristem // Curr. Opin. Pl. Biol. 2000. V. 3. P. 23–30.
- Gourlay C.W., Hofer J.M.I., Ellis T.H.N. Pea compound leaf architecture is regulated by interactions among the genes *UNIFOLIATA*, *COCHLEATA*, *AFILA*, and *TENDRIL-LESS* // Plant Cell. 2000. V. 12. P. 1279–1294.
- Mandel T., Moreau F., Kutsher Y. et al. The ERECTA receptor kinase regulates *Arabidopsis* shoot apical meristem size, phyllotaxy and floral meristem identity // Development. 2014. V. 141. P. 830–841.
- Mayer K.F.X., Schoof H., Haecker A. et al. Role of WUSCHEL in regulating stem cell fate in the *Arabidopsis* shoot meristem // Cell. 1998. V. 95. P. 805–815.
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // Physiologia Plantarum. 1962. V. 15. № 3. P. 473–497.
- Nieminen K., Blomster T., Helariutta Y., Mähönen A.P. Vascular cambium development // The Arabidopsis Book. 2015. e0177. doi 10.1199/tab.0177
- Ohyama K., Shinohara H., Ogawa-Ohnishi M., Matsubayashi Y. A glycopeptides regulating stem cell fate in *Arabidopsis thaliana*. // Nat. Chem. Biol. 2009. V. 5. P. 578–580.
- Okada K., Ueda J., Komaki M.K. et al. Requirement of the auxin polar transport system in early stages of *Arabidopsis* floral bud formation // The Plant Cell. 1991. V. 3. P. 677–684.
- Shpak E.D., Berthiaume C.T., Hill E.J., Torii K.U. Synergistic interaction of three ERECTA-family receptor-like kinases controls *Arabidopsis* organ growth and flower development by promoting cell proliferation // Development. 2004. V. 131 P. 1491–1501.
- Smyth D.R., Bowman J.L., Meyerowitz E.M. Early flower development in *Arabidopsis* // Plant Cell. 1990. V. 2. № 6. P. 755–767.
- Terpstra I.R., Snoek L.B., Keurentjes J.J.B. et al. Regulatory network identification by genetical genomics: signaling downstream of the *Arabidopsis* receptor-like kinase ERECTA // Plant Physiology. 2010. V. 154. P. 1067–1078.
- Thomson K.-S., Hertel R., Mfiller S. 1-N-Naphthylphthalamic acid and 2,3,5-triiodobenzoic acid. *In vitro* binding to particulate cell fractions and action on auxin transport in corn coleoptiles // Planta. 1973. V. 109. P. 337–352.
- Tsukaya H., Uchimiya H. Genetic analyses of the formation of the serrated margin of leaf blades in *Arabidopsis*: combination of a mutational analysis of leaf morphogenesis with the characterization of a specific marker gene expressed in hydathodes and stipules // Mol. Gen. Genet. 1997. V. 256. P. 231–238.
- Uchida N., Shimada M., Tasaka M. ERECTA-family receptor kinases regulate stem cell homeostasis via buffering its cytokinin responsiveness in the shoot apical meristem // Plant Cell Physiology. 2013. V. 54. № 3. P. 343–351.
- Xie M., Tataw M., Venugopala G. Towards a functional understanding of cell growth dynamics in shoot meristem stem-cell niche // Sem. Cell Dev. Biol. 2009. V. 20. P. 1126–1133.
- 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.

Effect of the Auxin PolarTransport Inhibitor on the Morphogenesis of Leaves and Generative Structures During Fasciation in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

E. A. Bykova, D. A. Chergintsev, T. A. Vlasova, and V. V. Choob

Faculty of Biology, Moscow State University, Moscow, 119234 Russia

e-mail: katebykova.90@mail.ru

Received October 7, 2015; in final form, December 12, 2015

An increase in the proliferative activity of a shoot apical meristem (SAM) and the further accumulation of a pool of undifferentiated cells (fasciation) results in phyllotaxis changes. In the case of *Arabidopsis thaliana*, a typical spiral leaf arrangement is replaced by an opposite or verticillate one (depending on the level of a fasciation manifestation). Pistil development in mutant plants is accompanied by the appearance of a group of undifferentiated meristematic cells in its central part. The addition of N-1-naphthylphthalamic acid (NPA) causes an increase in the meristem volume and number of stipules in both mutant and control plants. The NPA effect on the floral morphogenesis results in a significant growth of meristematic cell pool. The interaction of different mechanisms of a meristem volume control is discussed.

Keywords: SAM, NPA, fasciation, blastozone, *A. thaliana*