

## GENETYCZNA KONTROLA SAMOODTWARZANIA MERYSTEMU APIKALNEGO PĘDU *ARABIDOPSIS THALIANA*\*

GENETIC CONTROL OF SELF-PERPETUATION  
OF THE SHOOT APICAL MERISTEM IN *ARABIDOPSIS THALIANA*

Tomasz SZCZĘSNY

Instytut Biologii Roślin, Uniwersytet Wrocławski

*Streszczenie:* Merystem apikalny pędu pełni dwie zasadnicze funkcje: samoodtworzenia i tworzenia zawiązków organów bocznych, takich jak liście i pędy pachwinowe. Funkcje te są ściśle związane ze strefami cytohistologicznymi merystemu. Strefa centralna, która jest zaangażowana w samoodtworzenie merystemu, u *Arabidopsis thaliana* charakteryzuje się ekspresją genów rodziny *CLAVATA* i *WUSCHEL*. Tworzenie zawiązków organów bocznych następuje w strefie peryferycznej. Położony poniżej strefy centralnej merystem słupowy uczestniczy w tworzeniu łodygi. Zaburzenie transdukcji sygnałów *CLV* - *WUS* może prowadzić do dwóch różnych efektów fenotypowych. Przy braku aktywności jednego z genów *CLV* następuje nadmierna proliferacja komórek strefy centralnej i powiększenie rozmiarów merystemu. Natomiast w przypadku braku aktywności genu *WUS*, po wytworzeniu kilku zawiązków pula komórek merystemu zostaje prawie całkowicie zużyta. Efekt wczesnego zahamowania rozwoju merystemu został również stwierdzony u roślin z nadekspresją *CLV3*. Badania ostatnich kilku lat wykazały istotny i często bezpośredni wpływ produktów innych genów na ekspresję genów *WUSCHEL* i *CLAVATA*, a tym samym na regulację samoodtworzenia merystemu. Szczególnej regulacji podlega ekspresja genu *WUS*. Produkty genów *ULTRAPETALA*, *HANABA TARANU* i *AGAMOUS* hamują ekspresję, natomiast *SPLAYED* i *STIMPY* – aktywują. Większość tych produktów to czynniki transkrypcyjne. Eksperymenty z laserową ablacją strefy centralnej merystemu apikalnego pędu pomidora (*Lycopersicon esculentum*) wskazują, że komórki otaczające strefę centralną są zdolne do indukowanej ekspresji genu ortologicznego do *WUS Arabidopsis*. Dzięki temu merystem odbudowuje strefę centralną na terenie strefy peryferycznej i staje się zdolny do dalszego funkcjonowania. Badania nad genetyczną kontrolą funkcjonowania merystemu apikalnego pędu są prowadzone nie tylko na *Arabidopsis thaliana*, ale również *Oryza sativa* i *Zea mays* – na gatunkach jednoliściennych, dla których opisano geny ortologiczne do *AtCLV* lub *AtWUS*.

*Słowa kluczowe:* *Arabidopsis thaliana*, merystem apikalny pędu (SAM), komórki inicjalne, samoodtworzenie, *CLAVATA*, *WUSCHEL*.

*Summary:* Two fundamental processes take place at the shoot apical meristem (SAM) the maintenance of its size and shape i.e. self-perpetuation, and the formation of lateral organs, like leaves or lateral shoots.

\*Praca finansowana ze środków 2023/W/IBR/07.

Internally, SAM is organized into cytohistological zones. The central zone, involved in the self-perpetuation, is located most distally. The peripheral zone occupies meristem flanks. The cells here participate in the formation of primordia of lateral organs. In the central zone of *Arabidopsis thaliana* shoot apical meristem *CLAVATA* (*CLV*) and *WUSCHEL* (*WUS*) genes are expressed. The self-perpetuation is regulated by a feedback loop in their activities. Mutations in *CLV* genes lead to excessive proliferation of the central zone cells and as a consequence, to increase in the SAM size. Mutations in *WUS* lead to premature termination of the SAM growth, after formation of only few primordia. The same effect has been shown in plants overexpressing the *CLV3* gene. It has been suggested, that the products of *ULTRAPETALA*, *HANABA TARANU* and *AGAMOUS* genes negatively regulate *WUS* expression, while *SPLAYED* and *STIMPY* regulate positively. Most of these genes products act as transcriptional factors. Thereby the genes are able to influence indirectly the self-perpetuation process. The experiments with laser ablation of the central zone in *Lycopersicon esculentum* shoot apex led to ectopic expression of the *WUSCHEL* gene at the peripheral zone, followed by the establishment of a new meristem centre. After the ablation of the central zone the organ formation is not affected. Studies of monocots, like *Oryza sativa* and *Zea mays*, led to discovery of genes orthologous to *CLV* and *WUS*, which are also involved in the control of the SAM self-perpetuation.

*Key words:* *Arabidopsis thaliana*, shoot apical meristem (SAM), stem cells, self-perpetuation, *CLAVATA*, *WUSCHEL*.

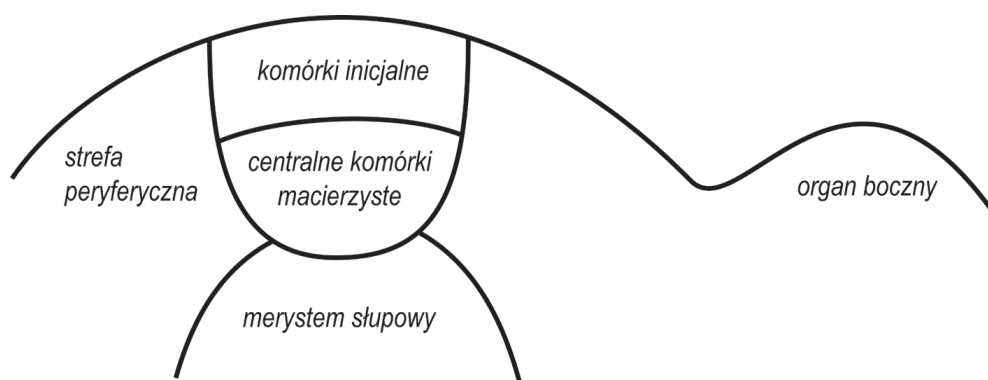
## OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA STRUKTURY I FUNKCJI MERYSTEMU APIKALNEGO PĘDU ROŚLIN NASIENNYCH

Wierzchołki pędu są zlokalizowane w szczytowej części rośliny. Każdy z nich stanowi zakończenie swej własnej osi głównej lub stanowiącej odgałęzienie boczne pędu. Dystalna, niezróżnicowana część wierzchołka to merystem apikalny pędu, który jest zlokalizowany nad najmłodszymi zawiązkami organów bocznych (liści, pąków pachwinowych i elementów kwiatu). Podobnie jak komórki merystemu apikalnego korzenia, również komórki budujące merystem apikalny pędu zachowują charakter embrionalny [13]. Naturalną górną granicę merystemu apikalnego pędu stanowi jego powierzchnia. Natomiast dolna (proksymalna) granica merystemu jest wyznaczona czaszową powierzchnią, która pod kątem prostym przecina oś pędu oraz powierzchnię merystemu w pachwinie najmłodszego zawiązka liścia [13]. W literaturze anglojęzycznej merystem apikalny pędu nazywa się *Shoot Apical Meristem*, dlatego często stosowany jest skrót SAM [13].

Podstawowa funkcja merystemu to tworzenie tkanek łodygi oraz zawiązków organów bocznych [13]. W cyklu plastochronowym merystem jest częściowo zużywany na wytworzenie zawiązków, co skutkuje zmianą jego kształtu i rozmiarów. Dlatego po każdorazowym uformowaniu zawiązka merystem apikalny pędu musi odtworzyć zużytą pulę komórek. W związku z tym można wyróżnić dwa zasadnicze procesy zachodzące w merystemie: samoodtwarzanie merystemu (ang. *self-perpetuation* [23], *self-renewal* [12,23,38], *self-maintenance* [11]) i tworzenie zawiązków. Samoodtwarzanie polega na dążeniu do utrzymania kształtu i rozmiarów merystemu mimo cyklicznego „zużycia” jego fragmentów na tworzenie zawiązków. Oba procesy są ściśle związane ze strukturalnym zróżnicowaniem merystemu [13].

Struktura wewnętrzna merystemu wegetatywnego wykazuje strefowość cytohistologiczną opisaną po raz pierwszy przez Fostera [10]. Opis ten ma zastosowanie zarówno do nagonasiennych, jak i okrytonasiennych (ryc. 1). Na podstawie badań przekrojów anatomicznych wierzchołka pędu *Microcycas calcoma* Foster wyróżnił dystalnie położoną strefę komórek inicjalnych (ang. *apical initials*) [10], poniżej której znajduje się strefa centralnych komórek macierzystych (ang. *central mother cells*) [10]. Obie te strefy są obecnie często określane razem jako strefa centralna (ang. *central zone*) [21]. Poniżej strefy centralnej Foster wyróżnił merystem słupowy (ang. *rib meristem*) [21]. Strefy komórek inicjalnych, centralnych komórek macierzystych i merystemu słupowego otoczone są strefą peryferyczną (ang. *peripheral zone*) [21], z której komórek tworzone są zawiązki [13].

Komórki strefy centralnych komórek macierzystych są większe i silniej zwakuolizowane niż komórki innych stref. Mają nieco grubsze ściany komórkowe i mniejsze jąderka. Badania aktywności podziałowej wykazują, że liczba mitoz w strefie tej jest znacznie mniejsza niż w strefie peryferycznej [13]. Skrajną interpretacją niskiej aktywności podziałowej i wolnego wzrostu całej strefy centralnej jest postulat przedstawicieli tzw. szkoły francuskiej [1], którzy wyróżnili w merystemie „*méristeme d'attente*”, czyli merystem oczekujący.



RYCINA 1. Strefy cytohistologiczne merystemu apikalnego pędu – opis w tekście  
 FIGURE 1. Cytohistological zonation of the shoot apical meristem

Zagadnienie regulacji funkcjonowania merystemu apikalnego pędu na poziomie molekularnym, a w szczególności samoodtworzenia oraz tworzenia zawiązków jest obecnie przedmiotem licznych badań. Informacje o obu procesach uzyskujemy na podstawie badań merystemu modelowego gatunku *Arabidopsis thaliana* typu dzikiego i jego mutantów [2,12,31,38].

Celem niniejszej pracy jest omówienie współczesnego stanu wiedzy o regulacji genetycznej procesu samoodtworzenia merystemu. Badania nad tym zagadnieniem dotyczą w głównej mierze roli genów z rodziny *CLAVATA* (*CLV1*, *CLV2*, *CLV3*) oraz genu *WUSCHEL* (*WUS*) [2,12,31,38].

## MERYSTEM APIKALNY PĘDU WEGETATYWNEGO, KWIATOSTANOWEGO I KWIATOWEGO *ARABIDOPSIS*

W ontogenezie *Arabidopsis* wyróżniamy fazę zarodkową, wegetatywną i generatywną. W związku z tym możemy również wyróżnić odpowiednio merystemy apikalne pędu zarodkowego, wegetatywnego, kwiatostanowego i kwiatowego. Merystem apikalny pędu zarodkowego jest tworzony między liścieniami. Merystem apikalny pędu wegetatywnego (ang. *vegetative shoot apical meristem*) tworzy liście. Natomiast merystem apikalny pędu kwiatostanowego (ang. *inflorescence shoot apical meristem*) tworzy boczne zawiązki kwiatów (ang. *flower meristems, floral meristems, flower primordia*). W ostatnim etapie tworzenia kwiatostanu, merystem apikalny pędu kwiatostanowego przekształca się w szczytowy związek kwiatu [27,41].

Struktura merystemu wegetatywnego, kwiatostanowego i zawiązka kwiatu *Arabidopsis* została szczegółowo opisana przez Vaughan [41]. Na podstawie tych badań w merystemie wegetatywnym i kwiatostanowym zidentyfikowano tunikę zbudowaną z dwóch warstw komórek. Komórki tych warstw dzielą się wyłącznie antyklinalnie, tzn. płaszczyzna podziałowa jest prostopadła do powierzchni merystemu. Pod warstwami tuniki znajduje się korpus. Jego komórki dzielą się antyklinalnie lub peryklinalnie (płaszczyzna podziałowa jest prostopadła lub równoległa do powierzchni). W dystalnej części merystemu, w każdej warstwie tuniki oraz w zewnętrznych komórkach korpusu znajdują się komórki inicjalne tuniki i korpusu. Komórki inicjalne są to takie komórki, które dzieląc się dają dwie podobne morfologicznie komórki potomne, z których tylko jedna zachowuje status komórki inicjalnej pozostając na szczycie merystemu. Druga potomna po pewnym czasie opuści strefę centralną, a wszystkie jej potomne ulegają różnicowaniu [13]. Tożsamość komórek inicjalnych nie jest na stałe przypisana określonym komórkom. Funkcję komórek inicjalnych mogą z czasem przejmować ich najbliższe potomne [47]. W przypadku *Arabidopsis* możemy mówić o trzech piętrach inicjalnych. Są to: dwa piętra inicjalne warstw tuniki – L1 i L2 oraz piętro korpusu – L3 [13].

W merystemie apikalnym pędu wegetatywnego i kwiatostanowego *Arabidopsis* istnieją trzy strefy cytohistologiczne. Strefa centralna o wysokości 5–6 i szerokości 3–4 komórek jest położona szczytowo. Bazypetalnie od strefy centralnej znajduje się strefa merystemu słupowego. Natomiast strefa peryferyczna obejmuje obszar 5–6 warstw komórek i otacza strefę centralną i merystem słupowy [41].

Pierwsze podziały peryklinalne w drugiej warstwie tuniki w strefie peryferycznej prowadzą do tworzenia zawiązka liścia w merystemie apikalnym pędu wegetatywnego. Natomiast pierwsze podziały peryklinalne prowadzące do tworzenia zawiązka kwiatu w strefie peryferycznej występują w zewnętrznych komórkach korpusu. Pierwsze podziały peryklinalne zapoczątkowujące formowanie działek kielicha występują w drugiej warstwie tuniki zawiązka kwiatu [41].

We współczesnej literaturze pulę potencjalnych komórek inicjalnych merystemu apikalnego pędu *Arabidopsis* określa się niekiedy mianem *stem cells* [22,37]. W tych komórkach ekspresji ulega gen *CLV3*, a tożsamość jest im nadawana przez sygnał pochodzący z obszaru położonego tuż poniżej, tj. z komórek, w których ulega ekspresji

gen *WUS*. Ten obszar, odpowiadający strefie centralnych komórek macierzystych, nazywany jest centrum organizacyjnym (ang. *organizing centre*) [25,26,37,38].

Strefy merystemu apikalnego pędu kwiatostanowego *Arabidopsis* różnią się aktywnością mitotyczną komórek i szybkością wzrostu. Strefa centralna wyróżnia się najniższą wartością indeksu mitotycznego [21] równą 1,5–3,3%, podczas gdy wartość indeksu mitotycznego dla komórek strefy peryferycznej wynosi 4,5–5,5%. Powierzchnia merystemu apikalnego pędu kwiatostanowego jest zróżnicowana pod względem szybkości wzrostu. Obszar wolnorosnący nie zawsze musi znajdować się dokładnie na szczycie merystemu, ale szybkość wzrostu powierzchniowych komórek strefy peryferycznej jest zwykle większa niż komórek strefy centralnej [19].

## FENOTYPY MUTANTÓW *WUSCHEL* I *CLAVATA*

Badania fenotypu roślin z mutacją w obrębie genu *WUS* wykazały znaczące zmiany w organizacji merystemu apikalnego pędu. U mutantu *wus* w stadium zarodka między liścieniami, w miejscu, gdzie u typu dzikiego powstaje merystem, występują komórki większe i silniej zwakuolizowane niż typowe komórki merystematyczne. Po wykształceniu dwóch zawiązków liści powierzchnia merystemu mutantów *wus* staje się płaska lub wklęsła. W całej drugiej warstwie merystemu występują podziały peryklinalne, co wskazuje na zachodzący proces różnicowania. U tego mutantu nie stwierdzono różnicowania cytohistologicznego. Rozwój merystemu ulega przedwczesnemu zakończeniu. Jednocześnie tworzone są liczne wierzchołki „bocznych” pędów, z których powstają tzw. rozety powietrzne, kwiatostany i kwiaty. W zawiązku kwiatu nie stwierdzono zmian liczby działek kielicha i płatków korony, natomiast zaobserwowano silną redukcję liczby lub nawet całkowity brak pręcików i owocolistków. Rozwój zawiązka kwiatu podobnie jak merystemu apikalnego pędu ulega zakończeniu we wczesnych etapach [23]. Na podstawie tych obserwacji można przypuszczać, iż gen *WUS* jest niezbędny do prawidłowego funkcjonowania komórek strefy centralnej, czyli uczestniczy w regulacji procesu samoodtworzenia.

Przeciwieństwem fenotypu *wus*, którego główną cechą jest znaczne zmniejszenie merystemu apikalnego pędu, jest fenotyp mutantów *clavata* (*clv1*, *clv2* lub *clv3*), u których merystem powiększa się już na etapie rozwoju zarodkowego [4,5,18]. Silny rozrost merystemu apikalnego pędu wegetatywnego i kwiatostanowego jest efektem nadmiernej proliferacji komórek w strefie centralnej. Konsekwencją tego jest tworzenie zawiązków organów bocznych w znacznej odległości od szczytu merystemu, a także występujące w późniejszych etapach rozwoju silne zniekształcenie czaszy merystemu. Stopień deformacji jest zróżnicowany i zależy od tego, który z genów *CLV* jest zmutowany (*clv1*, *clv2*, *clv3*) lub która z form allelicznych każdego z nich. Ten stopień jest zależny również od warunków uprawy. Na przykład liczba elementów w każdym z okółków kwiatów *clv2-1* i *clv2-4* uprawianych w warunkach dnia krótkiego była zbliżona do fenotypu typu dzikiego. Z drugiej strony rośliny *clv3-2* uprawiane w warunkach dnia krótkiego nie wydłużają międzywęzła w pędzie kwiatostanowym, a merystem ma bardzo nieregularny

kształt i jest znacznie powiększony w stosunku do typu dzikiego [Dorota Kwiatkowska, informacja ustna]. U wszystkich mutantów stwierdzono zaburzenie filotaksji [4,5,18].

Nadmierna proliferacja komórek strefy centralnej występuje również w zawiązku kwiatu. Powoduje ona nawet kilkukrotne zwiększenie rozmiarów zawiązka w porównaniu z typem dzikim. Zwiększona jest również liczba elementów w okółkach. We wszystkich typach mutantów *clavata* największą zmianę stwierdzono w liczbie pręcików i owocolistków. W zawiązku kwiatu typu dzikiego wytworzenie słupka kończy rozwój kwiatu, natomiast w zawiązkach kwiatów *clavata* owocolistki tworzą pierścień, który otacza czaszę stale proliferujących komórek [4,5,18].

### WZORY EKSPRESJI GENÓW *WUSCHEL* I *CLAVATA1,2,3*

Gen *WUS* ulega ekspresji w zarodku już w stadium szesnastokomórkowym w subepidermalnych komórkach regionu apikalnego. W stadium sercowatym transkrypt genu *WUS* jest obecny w komórkach L3, natomiast brak go w komórkach L1 i L2. W merystemie apikalnym pędu wegetatywnego i kwiatostanowego gen *WUS* ulega ekspresji w centralnych komórkach macierzystych poniżej L3 [28], czyli w centrum organizacyjnym. Transkrypt genu *WUS* został również wykryty w zawiązku kwiatu począwszy od etapu uwypuklania zawiązka w strefie peryferycznej [28]. Miejsce ekspresji *WUS* w zawiązku kwiatu jest ustanawiane *de novo*. Transkrypt jest obecny w strefie centralnej komórek zawiązka, ale brak go w komórkach L1 i L2 [28]. Białko *WUS* funkcjonuje tylko w komórkach, w których gen ulega ekspresji. Lokalizacja komórkowa wykazała, że jest ono obecne w jądrze komórkowym.

Gen *CLV1* ulega ekspresji w komórkach L2 i L3 w strefie centralnej merystemu apikalnego pędu wegetatywnego i kwiatostanowego. Nie stwierdzono obecności mRNA genu *CLV1* w L1 i w strefie peryferycznej. W zawiązku kwiatu ekspresja *CLV1* następuje później niż ekspresja *WUS*, ale za to w tym samym obszarze [6].

Gen *CLV2* ulega ekspresji w całym merystemie apikalnym pędu i zawiązkach kwiatów [16].

Obecność transkryptu genu *CLV3* została stwierdzona w stadium sercowatym zarodka w komórkach znajdujących się pomiędzy liścieniami. W merystemie apikalnym pędu obecność transkryptu stwierdzono w komórkach L1, L2 i L3. W komórkach strefy peryferycznej brak mRNA genu *CLV3*. W zawiązku kwiatu transkrypt ten pojawia się później niż mRNA genu *WUS*. Gen *CLV3* ulega ekspresji w komórkach inicjalnych zawiązka kwiatu i jest obecny do momentu wykształcenia owocolistków [9,35]. Zarówno w merystemach apikalnych pędów, jak i w zawiązkach kwiatów obszary, w których ulegają ekspresji geny *CLV3* i *WUS*, nie pokrywają się ze sobą.

### BIAŁKA *WUS* I *CLV1,2,3*

Gen *WUS* koduje 291-aminokwasowe białko, w którego strukturze zidentyfikowano dwie domeny funkcjonalne: od 33 do 38 aminokwasu – region o charakterze homeodomeny oraz od 234 do 241 aminokwasu – region kwaśnych aminokwasów.

Struktura białka WUS jest typowa dla wcześniej poznanych czynników transkrypcyjnych. Białko to wykazuje budowę charakterystyczną dla homeodomen, gdzie 30% sekwencji aminokwasowych jest identyczna, a 45–50% jest podobna do sekwencji homeodomen u innych roślin, zwierząt i drożdży [28].

Białko CLV1 zbudowane z 980 aminokwasów i o masie 105 kDa jest receptorową kinazą białkową. Domena zewnątrzkomórkowa zawiera 22-aminokwasowy fragment bogaty w leucynę (ang. *Leucin Rich Repeat* – LRR), a eksponowana do cytoplazmy domena wewnątrzkomórkowa wykazuje aktywność kinazy serynowo-treoninowej. Białko CLV1 występuje w dwóch kompleksach. Pierwszy z nich o masie 185 kDa jest zbudowany z białka CLV1 i innego białka receptorowego, połączonych ze sobą mostkami siarczkowymi. Drugi kompleks o masie 450 kDa jest zbudowany z kompleksu 185 kDa, białek KAPP i Rop oraz prawdopodobnie z liganda dla receptora CLV1/2 i białek łączących Rop do CLV1. 35% całego białka CLV1 w komórce tworzy kompleks o masie 185 kDa, a 65% – kompleks o masie 450 kDa. U mutantów *clv3* białko CLV1 było obecne w obu kompleksach. Natomiast u mutantów *clv2* stwierdzono obecność CLV1 na znacznie obniżonym poziomie [6,40]. Gen *CLV1* jest podobny strukturalnie do genu *ERECTA* u *Arabidopsis thaliana*. CLV1, *ERECTA* oraz *CRINKY4* u *Zea mays* należą do receptorowych kinaz białkowych (ang. *Receptor-Like Kinase* – RLK) [15] z zewnątrzkomórkową sekwencją bogatą w leucynę (LRR) oraz wewnątrzkomórkową domeną serynowo-treoninową [6,40].

Gen *CLV2* koduje także błonowe, 720-aminokwasowe białko z 11-aminokwasową domeną cytoplazmatyczną. CLV2 należy do receptorowych kinaz białkowych, pomimo braku fragmentu cytoplazmatycznej domeny kinazowej. Białka receptorowe bez domeny kinazowej to rzadkość [16]. Wykazano, że CLV2 razem z CLV1 budują receptor heterodimerowy [25,31]. Mutacja *clv2* powoduje dysfunkcję wyżej opisanych kompleksów 185 kDa i 450 kDa, co sugeruje, że CLV2 stabilizuje ich strukturę lub jest ich składnikiem [16].

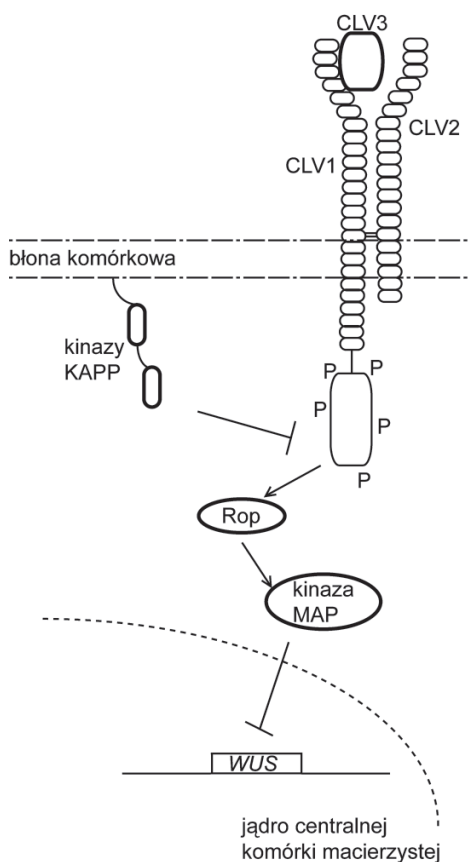
Produkt ekspresji genu *CLV3* to 96-aminokwasowy polipeptyd, będący specyficznym ligandem receptora CLV1/2, którego obecność stwierdzono w apoplacie. Białko CLV3 w pobliżu końca C ma 14-aminokwasową sekwencję charakterystyczną dla rodziny białek CLE [37]. Na końcu N znajduje się 18-aminokwasowa, hydrofobowa sekwencja sygnałowa kierująca polipeptyd na ścieżkę sekrecji. Potwierdzono to badaniami z zastosowaniem białek fuzyjnych CLV3 i GFP lub GUS (CLV3-GFP, CLV3-GUS). Kompleks białkowy CLV3-GUS stwierdzono w apoplacie. Natomiast badania konstruktu CLV3 pozbawionego sekwencji sygnałowej z białkiem GUS (CLV3 $\Delta$ sp-GUS) wykazały występowanie polipeptydu w cytoplazmie i jego brak w apoplacie [30,34]. Badania lokalizacji białka CLV3 w merystemie apikalnym pędu wykorzystujące linie transgeniczne niosące konstrukcję *pCLV3::CLV3-GFP* wykazały, że obszar fluorescencji GFP (CLV3-GFP) jest znacznie szerszy niż obszar występowania mRNA *CLV3-GFP*. Dodatkowo zaobserwowano, iż ekspresja konstrukcji *pCLV3::CLV3-GFP* u roślin *clv3-1* spowodowała utrzymanie rozmiarów merystemu pędu zbliżonych do typu dzikiego. Badania tej samej grupy naukowców dowodzą, że CLV3 rozprzestrzenia się apoplastem [25].

## REGULACJA SAMOODTWARZANIA PRZEZ WZAJEMNE ODDZIAŁYWANIE WUS I CLV

Dla regulacji samoodtworzenia merystemu apikalnego pędu i zawiązków kwiatów zasadnicze znaczenie ma wzajemne oddziaływanie między białkami WUS i CLV (CLV1, 2, 3). Ma ono charakter sprzężenia zwrotnego. Białka CLV hamują ekspresję *WUS* [9,35], a mechanizm regulacji jest dobrze poznany. Mniej natomiast wiadomo o tym, w jaki sposób

produkt genu *WUS* reguluje ekspresję *CLV3*, choć badania wskazują, że *WUS* stymuluje ekspresję genu *CLV3* [9,35]. Transdukcja sygnału w merystemie apikalnym pędu i w zawiązkach kwiatu podlega podobnej regulacji.

Białko CLV3 jest kierowane do apoplastu, gdzie funkcjonuje jako ligand dla receptora zbudowanego z białek CLV1 i CLV2 [40]. Najnowsze badania wskazują, że CLV3 wiąże się bezpośrednio z domeną zewnątrzkomórkową białka CLV1, co aktywuje kinazową aktywność domeny cytoplazmatycznej i jej autofosforylację [31]. Połączenie to aktywuje drogę transdukcji sygnału (ryc. 2). Obecność CLV1 i CLV3 została potwierdzona we wcześniej omówionym kompleksie 450 kDa, natomiast w kompleksie 185 kDa CLV3 nie występuje. Ponadto nie stwierdzono obecności kompleksu 450 kDa w roślinach *clv3*. Stąd przypuszczenie, że kompleks 450 kDa to aktywny układ ligand - receptor zdolny do inicjacji transdukcji sygnału [40] (ryc. 2). Sygnał z ufosforylowanej domeny kinazowej białka CLV1 jest przenoszony na aktywne już białko Rop, którego funkcją jest aktywacja kaskady kinaz zależnych od mitogenu (kinaz MAP) [44]. Przekazanie sygnału z kinaz MAP do jąder centralnych komórek macierzystych



RYCINA 2. Schemat transdukcji sygnału CLV3 - *WUS* – opis w tekście  
FIGURE 2. The scheme of signal transduction from CLV3 to *WUS*

powoduje zahamowanie ekspresji genu *WUS* i kończy szlak transdukcji sygnału (ryc. 2) [35].

Istotną rolę w transdukcji sygnału CLV-WUS, a tym samym wpływ na samoodtworzenie merystemu, przypisuje się fosfatazie białkowej typu KAPP (ang. *Kinase Associated Protein Phosphatase*), katalizującej defosforylację cytoplazmatycznej domeny



kinazowej CLV1. Defosforylacja białka CLV1 uniemożliwia dalsze etapy przekazywania sygnału i przyczynia się do utrzymania stałego poziomu ekspresji *WUS* (ryc. 2) [39,40].

Badania ostatnich lat wykazały, że za właściwe zwijanie i konformację białka CLV3 odpowiada chaperonowe białko SHEPHERD (SHD), będące ortologiem ssaczego GRP94. Gen *SHD* ulega ekspresji w merystemie apikalnym pędu i zawiązkach kwiatów. Rośliny *shd* wykazują fenotyp podobny do słabych mutantów *clavata*, ale efekt mutacji *shd* jest plejotropowy. W szczególności mutant *shd* wykazuje zaburzenie w budowie merystemu apikalnego korzenia [14].

Ekspresja *CLV3* pod konstytutywnym promotorem *35S* u *Arabidopsis* (*35S::CLV3*) powoduje zaprzestanie tworzenia przez merystem organów po wytworzeniu kilku liści. Stąd przypuszczenie, że wysoki poziom ekspresji *CLV3* powoduje zaburzenia samoodtworzenia merystemu, podobnie do mutacji *wus*. U roślin *clv1* i *clv2* z nadekspresją *CLV3*, poziom mRNA genu *CLV3* jest wysoki, ale fenotyp roślin pozostaje typowy dla tych mutantów. Ponadto stwierdzono brak mRNA genu *WUS* u roślin, u których ulegał nadekspresji *CLV3*. Stąd wniosek, że dla prawidłowej transdukcji sygnału wymagany jest funkcjonalny receptor zbudowany z białek CLV1/2 [35].

Z badań dotyczących indukowanej nadekspresji *CLV3* w jego natywnej domenie, tj. obszarze komórek inicjalnych (*stem cells*) wynika, że nadekspresja *CLV3* w znaczący sposób hamuje ekspresję *WUS* [29]. U takich roślin transgenicznych merystem apikalny pędu znacznie zmniejsza rozmiary i ulega spłaszczeniu. Zawiązki kwiatów, tworzone bliżej centrum merystemu niż w typie dzikim, są powiększone. Fenotyp obserwowany po indukcji nadekspresji *CLV3* jest więc zbliżony do obserwowanego u roślin *wus*.

Obecność białka CLV3 we wszystkich komórkach powierzchniowych na skutek ekspresji konstrukcji *pATML1::CLV3*, powoduje wygaszenie ekspresji genu *WUS* i zakończenie rozwoju merystemu apikalnego pędu we wczesnych etapach ontogenezy. Natomiast ekspresja pięciu kopii *CLV3*, ale pod promotorem *CLV3* (*pCLV3::CLV3*)<sub>5</sub>, mimo że powoduje zmniejszenie obszaru i poziomu ekspresji *WUS*, nie zaburza samoodtworzenia merystemu [42].

Badania z wykorzystaniem metody indukowanego wyciszenia aktywności genu *CLV3* wykazały, że obszar strefy centralnej powiększa się już po 24 h od wyciszenia, natomiast zwiększenie rozmiarów całego merystemu apikalnego pędu kwiatostanowego następuje po kolejnych 24 h. Jednocześnie stwierdzono, że w czasie trwania eksperymentu (120 h) nie został zaburzony proces tworzenia zawiązków kwiatów. Autorzy postulują, że ekspansja strefy centralnej, jaka następuje po wyciszeniu aktywności genu *CLV3*, może być również rezultatem zmiany tożsamości komórek strefy peryferycznej na tożsamość komórek strefy centralnej [32].

U mutantów *clv3* zauważono, że mRNA genu *WUS* jest obecne w całej powiększonej strefie centralnych komórek macierzystych łącznie z komórkami subepidermalnymi. Ekstopowa ekspresja *WUS* w merystemie apikalnym pędu i zawiązkach organów bocznych w strefie peryferycznej powoduje utrzymanie puli komórek niezróżnicowanych w całym wierzchołku [36].

Zatem wydaje się, że wysoki poziom ekspresji *CLV3* powoduje hamowanie ekspresji genu *WUS*, a niski poziom ekspresji *CLV3* – zwiększenie poziomu ekspresji genu *WUS*.

Regulacja funkcjonowania merystemu apikalnego pędu u innych gatunków modelowych wykazuje pewne podobieństwa do *Arabidopsis thaliana*. Stwierdzono,

że ortologiem genu *CLV1* u ryżu (*Oryza sativa*) jest gen *FLORAL ORGAN NUMBER1* (*FON1*). Mutanty *fon1* wykazują silną proliferację komórek merystemu apikalnego pędu i tworzą dodatkowe organy kwiatowe. Jednak *FON1* w przeciwieństwie do *CLV1* ulega ekspresji w całym zawiązku kwiatu [38]. Z kolei u kukurydzy (*Zea mays*) zidentyfikowano gen *FASCIATED EAR2* (*FEA2*). Mutacja w obrębie tego genu powoduje efekt podobny do mutacji *fon1* i *clv* – silną proliferację komórek merystemu apikalnego pędu i zawiązków kwiatów [38]. Białko *FEA2* wykazuje dużą homologię do *CLV2* i jest zlokalizowane w błonie komórkowej [36].

Natomiast u petunii funkcjonuje gen *TERMINATOR* (*TER*), który jest ortologiem *WUS*, a jego ekspresja następuje w merystemie pędu. Mutanty *ter* wykazują cechy fenotypowe charakterystyczne dla mutantów *wus* u *Arabidopsis* [38].

## ROLA INNYCH GENÓW W REGULACJI SAMOODTWARZANIA MERYSTEMU

Wśród czynników regulujących ekspresję *WUS* są białka *SPLAYED* (*SYD*) i *STIMPY/WOX9* (*STIP*). *SYD* należy do czynników transkrypcyjnych aktywujących ekspresję genu *WUS*. Mutanty *syd* wykazują przedwczesne zakończenie funkcjonowania merystemu apikalnego pędu [20,42] (ryc. 3). Z kolei u mutantów *stip* merystem apikalny pędu jest zdeformowany, ponadto stwierdzono brak ekspresji *CLV3* i *WUS*. Interesujące jest, że fenotyp tego mutantu może zostać zniesiony. Po dodaniu sacharozy do podłoża hodowlanego komórki merystemu dzieląc się tworzą prawidłowy merystem. Stwierdzono również, że nadekspresja *STIP* stymuluje ekspresję *WUS* i *CLV3*. Autorzy postulują, że produkt genu *STIP* aktywuje ekspresję *WUS*, ale zarazem ekspresja genu *STIP* jest hamowana przez produkty genów *CLV* [45] (ryc. 3).

U mutantów *I28* w obrębie genu *APETALA2* (*AP2*) stwierdzono, że rozwój merystemu apikalnego pędu zarodka jest przedwcześnie zakończony. Zaobserwowano, że nie ma różnic w strukturze merystemu między podwójnymi mutantami *clv1 I28* lub *clv3 I28*, a mutantami *clv1* i *clv3*. Nie stwierdzono wzrostu poziomu ekspresji *CLV3* u roślin z mutacją *I28*. Te dane sugerują, że *AP2* nie wpływa na poziom ekspresji *CLV3*. Autorzy postulują, że u roślin typu dzikiego *AP2* lub czynnik regulowany przez *AP2* hamuje transdukcję sygnału *CLV* - *WUS* i jednocześnie indukuje ekspresję *WUS*. Należy zauważyć, że *AP2* działa antagonistycznie do *CLV3* i *AGAMOUS* (*AG*), które hamują ekspresję *WUS* w kwiecie [46] (ryc. 3).

Badania ostatnich lat wskazują, że na ekspresję genu *WUS* oprócz omówionych wcześniej genów (ich produktów), bezpośrednio oddziałują produkty co najmniej dwóch innych genów: *HANABA TARANU* (*HAN*) i *ULTRAPETALA* (*ULT*). Produkty ekspresji obu genów to czynniki transkrypcyjne. Funkcją obu jest ograniczanie transkrypcji *WUS*. *HAN* ulega ekspresji na granicy między merystemem a zawiązkami organów bocznych. Jego aktywność ujawnia się już we wczesnych etapach rozwoju zarodkowego, znacznie wcześniej niż genów *CLV1* i *CLV3*. Obszar ekspresji *WUS* w merystemach zarodkowych roślin *han* jest znacznie większy niż w typie dzikim. Badacze proponują, iż białko *HAN* jest niezbędne do określenia prawidłowego położenia i liczby komórek, w których

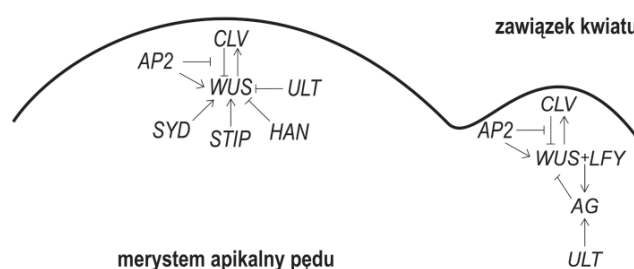
następuje ekspresja *WUS* [48] (ryc. 3). Natomiast gen *ULTRAPETALA1* ulega ekspresji w merystemie apikalnym pędu kwiatostanowego i w zawiązkach kwiatów. Mutacja w obrębie tego genu powoduje powiększenie rozmiarów tych struktur przy jednoczesnym powiększeniu obszaru ekspresji *WUS*. Wykazano, że produkty genów *ULT* i *CLV*, choć mają odrębne ścieżki aktywności, to hamują ekspresję genu *WUS* [3] (ryc. 3).

W zawiązku kwiatu ekspresja genu *WUS* jest hamowana przez *AGAMOUS* (*AG*). Jednocześnie *WUS* i *LEAFY* (*LFY*) funkcjonują jako czynniki transkrypcyjne dla genu *AG*, stymulując jego ekspresję [26]. *LEAFY* jest kluczowym genem, którego aktywność wskazuje na fazę generatywną merystemu apikalnego pędu. *LFY* ulega ekspresji tylko w merystemie kwiatostanowym i zawiązkach kwiatów. *AG* jest genem klasy C w modelu ABC tworzenia kwiatu [8]. Mutanty *ag* tworzą płatki korony w miejsce okółka pręcików i działki kielicha zamiast owocolistków. Równocześnie wzrost zawiązka kwiatu nie jest ograniczony. W konsekwencji kwiaty *ag* tworzą na przemian okółki działek kielicha i płatków korony oraz utrzymują stale proliferującą pulę komórek na szczycie kwiatu. Tym samym utrzymywana jest aktywność *CLV* - *WUS*. W roślinach typu dzikiego biało *AG* hamuje ekspresję *WUS*, tym samym komórki inicjalne różnicują się, a kwiat kończy rozwój. W przeciwieństwie do *CLV3*, *AG* ulega ekspresji nawet pod nieobecność *WUS*. Stwierdzono, że produkt ekspresji *ULTRAPETALA* (*ULT*), działając jako czynnik transkrypcyjny stymuluje ekspresję *AG* [24] (ryc. 3).

Zupełnie odrębną grupę czynników, wpływających na samoodtworzenie merystemu apikalnego pędu poprzez bezpośrednią lub pośrednią regulację ekspresji genów, stanowią cząsteczki mikroRNA (*miRNA*). Są to jednoniciowe cząsteczki RNA zbudowane z 21 do 24 nukleotydów. *miRNA* reguluje ekspresję genów poprzez przyłączanie się do komplementarnych sekwencji transkryptu danego genu. Badania Williams i współpracowników [43] wykazały, że *miR166* prawdopodobnie reguluje rozmiar merystemu apikalnego pędu wegetatywnego i kwiatostanowego poprzez pośrednią kontrolę poziomu transkrypcji genu *WUS*. Tym samym potwierdzono, że ekspresja *WUS* w centralnych

RYCINA 3. Regulacja ekspresji genów w merystemie i zawiązku kwiatu (→ oznacza stymulację, a ← hamowanie ekspresji) – opis w tekście

FIGURE 3. Regulation of genes expression in the shoot apical meristem and flower primordium (→ refers positive, and ← the negative regulation of gene expression)



komórkach macierzystych (centrum organizacyjnym) jest hamowana nie tylko przez produkty genów *CLAVATA*, ale również pośrednio przez *miRNA*.

W rozwoju zawiązka kwiatu, kluczową rolę dla tożsamości zawiązków działek kielicha odgrywa aktywność białka *AP2*. Wyniki badań Chen [7], wskazują, że cząsteczka *miR172* bezpośrednio łączy się z sekwencją komplementarną transkryptu wspomnianego genu.

## JAKIE SĄ SKUTKI USUNIĘCIA STREFY CENTRALNEJ MERYSTEMU APIKALNEGO PĘDU?

Bardzo interesujące wyniki uzyskali badacze [33], którzy wykorzystując wiązkę laserową usunęli (ablacja laserowa) strefę centralną merystemu apikalnego pędu pomidora (*Lycopersicon esculentum*). Po sześciu dniach od ablacji powstałe uszkodzenie zostało zepchnięte ze szczytu merystemu. Transkrypt genu *LeWUS*, homologicznego do *AtWUS*, pojawił się już w jeden dzień po ablacji. Obszar ekspresji *LeWUS* był pierścieniem formującym się wokół obszaru uszkodzenia. Natomiast w dwa dni po ablacji obszar ekspresji *LeWUS* był ograniczony tylko do jednej strony uszkodzenia. Badacze wnioskowali, że w ten sposób zostało utworzone nowe centrum organizacyjne merystemu apikalnego pędu.

Wyniki badań molekularnych służą również do tworzenia modeli komputerowych merystemu apikalnego pędu. Wykorzystując opisane powyżej wyniki doświadczeń z laserową ablacją strefy centralnej opracowano model, którego celem było sprawdzenie, jaki będzie wzór ekspresji *WUS* ustanowiony *de novo* po ablacji *in silico* komórek centralnych w merystemie apikalnym pędu [17]. Zbadano modele merystemu apikalnego pędu przy dwóch różnych założeniach: 1) w merystemie obecny jest czynnik aktywujący ekspresję genu *WUS*, 2) w merystemie obecny jest czynnik hamujący ekspresję genu *WUS*. Ustanowiona, w modelach komputerowych, ekspresja genu *WUS de novo* w pierwszym przypadku ograniczona była do komórek znajdujących się po dwóch przeciwległych stronach uszkodzenia (biegunowo). Natomiast obecność czynnika hamującego powodowała, że ekspresja *WUS* następowała w pierścieniu komórek otaczającym uszkodzenie [17].

Wyniki uzyskane *in silico* są zgodne z danymi eksperymentalnymi. Należy jednak zauważyć, że model ten [17] zakłada przestrzenną separację czynników wpływających na ekspresję *WUS*. Mogą nimi być czynniki opisane w niniejszej pracy.

## PODSUMOWANIE

Funkcjonowaniem merystemu apikalnego pędu rządzą bardzo zróżnicowane mechanizmy, działające na różnych poziomach organizacji, tj. molekularnym, komórkowym i ponadkomórkowym. Przedstawione w pracy systemy genetycznej regulacji dotyczą jedynie procesu samoodtworzenia merystemu, który obok procesu tworzenia zawiązków organów bocznych zapewnia utrzymanie tak charakterystycznego dla roślin pokroju.

## Podziękowania

Składam podziękowanie dr hab. Dorocie Kwiatkowskiej za krytyczne uwagi i merytoryczną dyskusję w trakcie pisania niniejszego artykułu. Dziękuję Pani Prof. dr hab. Beacie Zagórskiej-Marek za cenne uwagi pomocne w przygotowaniu manuskryptu.

## LITERATURA

- [1] BUVAT R. Ontogeny, cell differentiation, and structure of vascular plants. Springer-Verlag 1989, Niemcy.
- [2] CARLES CC, FLETCHER JC. Shoot apical meristem maintenance: the art of a dynamic balance. *Trends in Plants Science* 2003; **8**: 394–401.
- [3] CARLES CC, LERTPIRIYAPONG K, REVILLE K, FLETCHER JC. The *ULTRAPETALA1* gene functions early in *Arabidopsis* development to restrict shoot apical meristem activity and acts through *WUSCHEL* to regulate floral meristem determinancy. *Genetics* 2004; **167**: 1893–1903.
- [4] CLARK SE, RUNNING MP, MEYEROWITZ EM. *CLAVATA1*, a regulator of meristem and flower development in *Arabidopsis*. *Development* 1993; **119**: 397–418.
- [5] CLARK SE, RUNNING MP, MEYEROWITZ EM. *CLAVATA3* is a specific regulator of shoot and floral meristem development affecting the same processes as *CLAVATA1*. *Development* 1995; **121**: 2057–2067.
- [6] CLARK SE, WILLIAMS RW, MEYEROWITZ EM. The *CLAVATA1* gene encodes a putative receptor kinase that controls shoot and floral meristem size in *Arabidopsis*. *Cell* 1997; **89**: 575–585.
- [7] CHEN X. A microRNA as a translational repressor of *APETALA2* in *Arabidopsis* flower development. *Science* 2004; **303**: 2022–2025.
- [8] COEN ES, MEYEROWITZ EM. The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development. *Nature* 1991; **353**: 31–37.
- [9] FLETCHER JC, BRAND U, RUNNING MP, SIMON R, MEYEROWITZ EM. Signaling of cell fate decisions by *CLAVATA3* in *Arabidopsis* shoot meristem. *Science* 1999; **283**: 1911–1914.
- [10] FOSTER AS. Zonal structure and growth of the shoot apex in *Microcycas calcoma* (Miq) A.DC. *American J Bot* 1943; **30**: 56–73.
- [11] GALLOIS JL, WOODWARD C, REDDY GV, SABLowski R. Combined SHOOT MERISTEMLESS and *WUSCHEL* trigger ectopic organogenesis in *Arabidopsis*. *Development* 2002; **129**: 3207–3217.
- [12] GROß-HARDT R, LAUX T. Stem cell regulation in the shoot meristem. *J Cell Sci* 2003; **116**: 1659–1666.
- [13] HEJNOWICZ Z. Anatomia i histogeneza roślin naczyniowych. Wydaw Nauk PWN 2002, Warszawa.
- [14] ISHIGURO S, WATANABE Y, ITO N, NONAKA H, TAKEDA N, SAKAI T, KANAYA H, OKADA K. SHEPHERD is the *Arabidopsis* GRP94 responsible for the formation of functional CLAVATA protein. *EMBO J* 2002; **21**: 898–908.
- [15] JAKUBOWSKAA, OSTROWSKI M, KOWALCZYK S. Kinazy receptorowe roślin. *Post Biochem* 2007; **53**: 133–142.
- [16] JEONG S, TROTOCHAUD AE, CLARK SE. The *Arabidopsis* *CLAVATA2* gene encodes a receptor-like protein required for the stability of the CLAVATA1 receptor-like kinase. *Plant Cell* 1999; **11**: 1925–1933.
- [17] JÖNSSON H, HEISLER M, REDDY VG, AGRAWAL V, GOR V, SHAPIRO BE, MJOLSNES E, MEYEROWITZ EM. Modeling the organization of the *WUSCHEL* expression domain in the shoot apical meristem. *Bioinformatics (Suppl. 1)* 2005, **21**: 232–240.
- [18] KAYES JM, CLARK SE. *CLAVATA2*, a regulator of meristem and organ development in *Arabidopsis*. *Development* 1998; **125**: 3843–3851.
- [19] KWIATKOWSKA D. Surface growth at the reproductive shoot apex of *Arabidopsis thaliana* pin-formed1 and wild type. *J Experim Bot* 2004; **55**: 1021–1032.
- [20] KWON ChS, CHEN Ch, WAGNER D. *WUSCHEL* is primary target for transcriptional regulation by *SPLAYED* in dynamic control of stem cell fate in *Arabidopsis*. *Genes & Development* 2005; **19**: 992–1003.
- [21] LAUFS P, GRANDJEAN O, JONAK C, KIEU K, TRAAS J. Cellular parameters of the shoot apical meristem in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 1998; **10**: 1375–1389.
- [22] LAUX T. The stem cell concept in plants: a matter of debate. *Cell* 2003; **113**: 281–283.
- [23] LAUX T, MAYER KFX, BERGER J, JÜRGENS G. The *WUSCHEL* gene is required for shoot and floral meristem integrity in *Arabidopsis*. *Development* 1996; **122**: 87–96.
- [24] LENHARD M, BOHNERT A, JÜRGENS G, LAUX T. Termination of stem cell maintenance in *Arabidopsis* floral meristem by interaction between *WUSCHEL* and *AGAMOUS*. *Cell* 2001; **105**: 805–814.
- [25] 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; **130**: 3163–3173.
- [26] LOHMANN JU, HONG RL, HOBE M, BUSCH MA, PARCY F, SIMON R, WEIGEL D. A molecular link between stem cell regulation and floral patterning in *Arabidopsis*. *Cell* 2001; **15**: 793–803.
- [27] MAŁUSZYŃSKA J. *Arabidopsis thaliana* – modelowa roślina nie tylko w biologii molekularnej. *Acta Biologia Silesiana* 1997; **31**: 7–16.
- [28] MAYER KFX, SHOOF H, HAECKER A, LENHARD M, JÜRGENS G, LAUX T. Role of *WUSCHEL* in regulating stem cell fate in the *Arabidopsis* shoot meristem. *Cell* 1998; **95**: 805–815.

- [29] MÜLLER R, BORGHI L, KWIATKOWSKA D, LAUFS P, SIMON R. Dynamic and compensatory response of *Arabidopsis* shoot and floral meristems to CLV3 signaling. *Plant Cell* 2006; **18**: 1188–1198.
- [30] NI J, CLARK SE. Evidence for functional conservation, sufficiency and proteolytic processing of the CLAVATA3 CLE domain. *Plant Physiology* 2006; **140**: 726–733.
- [31] OGAWA M, SHINOHARA H, SAKAGAMI Y, MATSUBAYASHI Y. *Arabidopsis* CLV3 peptide directly binds CLV1 ectodomain. *Science* 2008; **319**: 249.
- [32] REDDY GV, MEYEROWITZ EM. Stem-cell homeostasis and growth dynamics can be uncoupled in the *Arabidopsis* shoot apex. *Science* 2005; **310**: 663–667.
- [33] REINHARDT D, FRENZ M, MANDEL T, KUHLEMEIER C. Microsurgical and laser ablation of interactions between the zones and layers of tomato shoot apical meristem. *Development* 2003; **130**: 4073–4083.
- [34] ROJO E, SHARMA VK, KOVALEVA V, RAIKHEL NV, FLETCHER JC. CLV3 is localized to the extracellular space, where it activates the *Arabidopsis* CLAVATA stem cell signaling pathway. *Plant Cell* 2002; **14**: 969–977.
- [35] SHARMA VK, CARLES C, FLETCHER JC. Maintenance of stem cell populations in plants. *PNAS* 2003; **100**: 11823–11829.
- [36] SHARMA VK, FLETCHER JC. Maintenance of shoot and floral meristem cell proliferation and fate. *Plant Physiology* 2002; **129**: 31–39.
- [37] SIMON R, STAHL Y. Plant cell CLEave their way to differentiation. *Science* 2006; **313**: 773–774.
- [38] STAHL Y, SIMON R. Plant stem cell niches. *Internat J Develop Biol* 2005; **49**: 479–489.
- [39] STONE JM, TROTOCHAUD AE, WALKER JC, CLARK SE. Control of meristem development by CLAVATA1 receptor kinase and kinase-associated protein phosphatase interaction. *Plant Physiology* 1998; **117**: 1217–1225.
- [40] TROTOCHAUD AE, HAO T, WU G, YANG Z, CLARK SE. The CLAVATA1 receptor-like kinase requires CLAVATA3 for its assembly into a signaling complex that includes KAPP and a Rho-related protein. *Plant Cell* 1999; **11**: 393–405.
- [41] VAUGHAN JG. The morphology and growth of the vegetative and reproductive apices of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medic. and *Anagalis arvensis* L. *J Linnean Soc* 1955; **55**: 279–301.
- [42] WILLIAMS L, FLETCHER JC. Stem cell regulation in the *Arabidopsis* shoot apical meristem. *Current Opinion in Plant Biology* 2005; **8**: 582–586.
- [43] WILLIAMS L, GRIGG SP, XIE M, CHRISTENSEN S, FLETCHER JC. Regulation of *Arabidopsis* shoot apical meristem and lateral organ formation by microRNA miR166g and its AtHD-ZIP target genes. *Development* 2005; **132**: 3657–3668.
- [44] WILLIAMS RW, WILSON JM, MEYEROWITZ EM. A possible role for kinase-associated protein phosphatase in the *Arabidopsis* CLAVATA1 signaling pathway. *PNAS* 1997; **94**: 10467–10472.
- [45] WU X, DABI T, WEIGEL D. Requirement of homeobox gene STIMPY/WOX9 for *Arabidopsis* meristem growth and maintenance. *Current Biology* 2005; **15**: 435–440.
- [46] WÜRSCHUM T, GROß-HARDT R, LAUX T. APETALA2 regulates the stem cell niche in the *Arabidopsis* shoot meristem. *Plant Cell* 2006; **18**: 295–307.
- [47] ZAGÓRSKA-MAREK B, TURZAŃSKA M. Clonal analysis provides evidence for transient initial cells in shoot apical meristems of seed plants. *J Plant Growth Regulation* 2000; **19**: 55–64.
- [48] ZHAO Y, MEDRANO L, OHASHI K, FLETCHER JC, YU H, SAKAI H, MEYEROWITZ EM. HANABU TARANU is a GATA transcription factor that regulates shoot apical meristem and flower development in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2004; **16**: 2586–2600.

Redaktor prowadzący – Janusz Kubrakiewicz

Otrzymano: 12.11.2007 r.

Przyjęto: 11.03. 2008 r.

ul. Kanonia 6/8, 50-137 Wrocław,

e-mail: tomeksz@biol.uni.wroc.pl