

УДК 577.175.12: 581.43:581.824.22

О РАСПРЕДЕЛЕНИЯХ КОНЦЕНТРАЦИЙ АУКСИНА В КЛЕТКАХ ГОРИЗОНТАЛЬНОГО СЛОЯ КОРНЯ

© 2014 г. **Е.С. Новоселова¹, В.В. Миронова^{1,2}, Т.М. Хлебодарова¹, В.А. Лихошвай^{1,2}**

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия, e-mail: likho@bionet.nsc.ru;

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

Поступила в редакцию 29 августа 2014 г. Принята к публикации 22 октября 2014 г.

У растений различают ди-, три-, тетра-, пента- или полиархную структуру центрального цилиндра корня. Вид симметрии отражает характерное взаимное расположение пучков сосудистых тканей флоэмы и ксилемы на поперечном срезе корня. Механизмы формирования различных типов симметрий в структуре центрального цилиндра остаются недостаточно исследованными. Предполагается, что процесс дифференцировки запускается и контролируется фитогормоном ауксином, который выступает в роли морфогена (Sachs, 1969). В работе представлена модель, описывающая транспорт ауксина через одноклеточный слой клеток поперечного среза корня. Изучены стационарные распределения концентраций гормона ауксина, которые могут устанавливаться в поперечном слое клеток. Показано, что нелинейные процессы регуляции транспорта ауксина способны обеспечить существование неравномерных распределений его концентраций, несущих целевую морфогенетическую информацию о диархной структуре цилиндра корня. Однако целевые морфогенетические поля всегда сосуществуют с равномерными распределениями, в которых морфогенетическая информация отсутствует. Полученные результаты свидетельствуют в пользу гипотезы о том, что одним из механизмов формирования целевого распределения концентрации ауксина в клетках поперечного слоя корня может быть неравномерный поток ауксина соответствующей конфигурации из побега в корень.

Ключевые слова: моделирование, морфоген, ауксин, корень, дифференцировка сосудистых тканей растений, флоэма, ксилема.

ВВЕДЕНИЕ

В растениях транспорт воды, питательных и минеральных веществ осуществляется по специализированным проводящим (сосудистым) тканям, флоэме и ксилеме. В меристематической зоне корня эти ткани слабо специализированы и называются протофлоэмой и протоксилемой. Протоксилема и протофлоэма – это два типа непрерывных рядов клеток, активно транспортирующих гормон ауксин вдоль корня в направлении от побега к его кончику.

Гормон ауксин является морфогеном (Sachs, 1969; Benková *et al.*, 2009), и его неравномерное распределение в тканях задает позиционную информацию, необходимую для специализации

тканей (Petrášek, Friml, 2009). В формирование этого распределения включены биосинтез ауксина и его транспорт, пассивный (диффузия) и активный (полярный). Полярный транспорт осуществляется белками семейства PIN и AUX/LAX, расположенными асимметрично на базальной и апикальной сторонах мембран клеток соответственно (Swarup *et al.*, 2001; Benková *et al.*, 2003; Petrášek, Friml, 2009). Первые осуществляют отток ауксина из клетки (Benková *et al.*, 2003), а вторые его приток внутрь клетки (Swarup *et al.*, 2001). Их экспрессия регулируется ауксином (Vieten *et al.*, 2005). На поперечном срезе центрального цилиндра корня относительное расположение тяжей ксилемы и флоэмы

формирует характерный сосудистый рисунок, который в зависимости от количества лучей ксилемы обладает ди-, три-, тетра-, пента- или полиархным типом симметрии (рис. 1).

Механизмы формирования симметрий в расположении ксилемы и флоэмы в горизонтальном слое корня растений исследованы слабо. В ряде теоретических работ (Mitchison *et al.*, 1980, 1981; Merks *et al.*, 2007; Bayer *et al.*, 2009) исследованы механизмы специализации тяжей клеток при формировании проводящей ткани растения, однако механизмы относительного позиционирования параллельных сосудов в ткани в них не рассматривались.

В то же время существуют данные, которые позволяют предположить, что неравномерное распределение ауксина в инициалах протоксилемы и протофлоэмы может быть частью механизма формирования характерного сосудистого рисунка на поперечном срезе корня. Так, некоторые экспериментальные данные указывают на то, что содержание ауксина повышено в инициалах протоксилемы, но не в других клетках поперечного среза меристематической зоны корня арабидопсиса (Bishopp *et al.*, 2011a). В работе Ibañez с соавт. (2009) показана роль

асимметричной локализации белков PIN1, осуществляющих активный транспорт ауксина из клетки, в формировании полиархной структуры побега, а в работе Murago и его коллег (2014) продемонстрирована возможность формирования диархной структуры центрального цилиндра корня под управлением минимальной генной сети, контролируемой ауксином, цитокинином и микроРНК.

Ранее нами была разработана модель ауксин-регулируемой дифференцировки клеток сосудистой системы корня (Novoselova *et al.*, 2013), которая является развитием наших теоретических исследований механизмов распределения ауксина в корне растений (Лихошвай и др., 2007; Mironova *et al.*, 2010; 2012). Полученные нами результаты позволили связать различные косвенные данные о распределениях ауксина в единую систему и объяснить закономерности его распределения в протососудистых тканях корня, которые определяли дифференцировку клеток меристематической зоны корня в направлении ксилемы или флоэмы вдоль оси центрального цилиндра корня. Естественно было предположить, что архитектура строения центрального цилиндра корня, с характерной

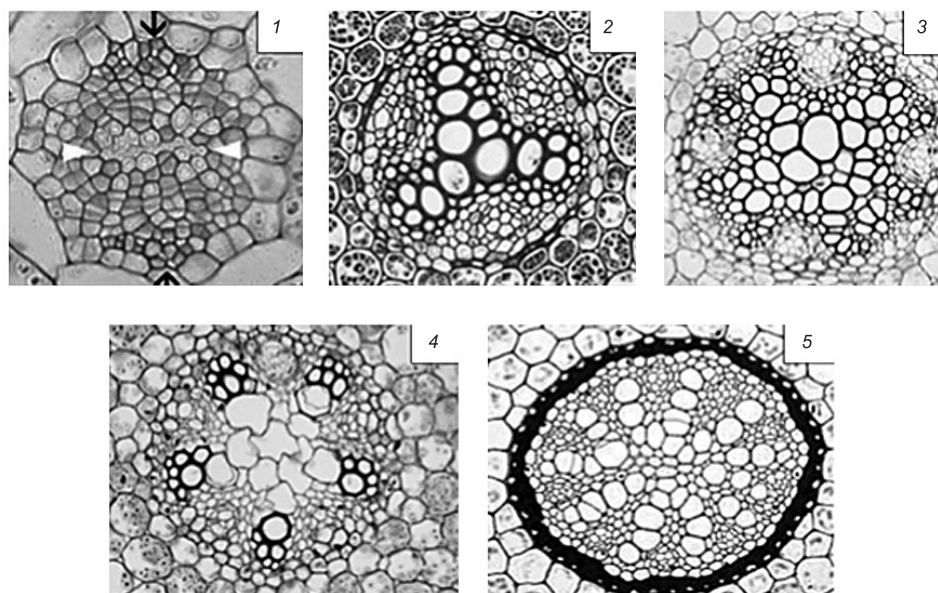


Рис. 1. Разные типы симметрий в расположениях групп первичной ксилемы на поперечных срезах корня различных растений.

1 – диархный, 2 – триархный, 3 – тетраархный, 4 – пентархный и 5 – полиархный.

Фотографии взяты с сайтов <http://botit.botany.wisc.edu/Resources/Botany/Root/Ranunculus/Mature/> и http://www.bio.miami.edu/dana/226/226F09_9print.html и находятся в свободном доступе.

локализацией флоэмы и ксилемы на поперечном срезе, является следствием тех же процессов, которые определяют дифференцировку этих тканей вдоль оси центрального цилиндра. Из анализа математических моделей транспорта ауксина в инициальных клетках протофлоэмы и протоксилемы корня (Novoselova *et al.*, 2013) также следовало, что в инициали протоксилемы поступает больший поток ауксина из вышерасположенной сосудистой ткани, чем в клетки протофлоэмы.

В целом, эти данные позволяли предположить, что возникновение различных видов симметрий в структуре корня может быть следствием неравномерного распределения в горизонтальном слое инициальных сосудистых клеток корня ауксина, поступающего из верхней части проростка и предопределяющего развитие клеток в направлении ксилемы или флоэмы. Причем те клетки, в которых накапливается большее количество ауксина, предeterminируются по ксилемному пути, а те, в которые поступает меньше ауксина, – по флоэмному. Но за счет каких процессов это достигается? Существующие экспериментальные данные не позволяют однозначно ответить на этот вопрос и указывают на возможность существования разных механизмов, участвующих в формировании симметрий (Ibañez *et al.*, 2009; Bishopp *et al.*, 2011a, b; Muraro *et al.*, 2011, 2014).

Например, у двудольных растений одной из возможностей формирования симметрий может быть структурирование потока ауксина в проростке, на уровне формирования семядолей. Косвенно об этом свидетельствует тот факт, что ксилемные элементы в корне дифференцируются, как правило, в плоскости формирования семядолей (Bauby *et al.*, 2007) и нарушение их формирования дезорганизует структуру центрального цилиндра корня (Help *et al.*, 2011).

Но нельзя исключить, что неравномерное распределение ауксина может достигаться за счет механизма, который формируется внутри плоского слоя клеток корня за счет нелинейного взаимодействия процессов вертикального активного транспорта ауксина с процессами его поперечной диффузии. Для проверки этой гипотезы нами была разработана математическая модель распределения ауксина в поперечном одноклеточном слое клеток, расположенном в

центральной цилиндры корня на уровне меристематической зоны, где происходит предetermination клеток сосудистой системы.

Результаты анализа показывают, что нелинейные процессы транспорта, протекающие внутри моделируемого ансамбля, обеспечивают существование в нем неравномерных распределений концентраций ауксина, несущих целевую морфогенетическую информацию, например, о диархной структуре цилиндра корня. Однако целевые морфогенетические поля всегда сосуществуют с равномерными распределениями, в которых морфогенетическая информация отсутствует. Сделан вывод, что для формирования необходимого морфогенетического поля в плоском поперечном ансамбле клеток необходимо использовать внешние факторы. Одним из них может стать неравномерность потока ауксина, которая формируется в побеге и затем поступает в плоский ансамбль поперечного среза корня.

МОДЕЛЬ

Модель описывает процессы поступления ауксина из побега в плоский слой клеток, имитирующий одноклеточный слой, лежащий в поперечном срезе корня, и перераспределение ауксина в этом слое за счет протекания в клетках процессов диффузии, активного транспорта и деградации/диссипации. Считаем, что клетки являются неспециализированными, т. е. в них протекают одинаковые процессы. Каждую клетку в поперечном срезе в первом приближении рассматриваем в виде многогранника. Каждая боковая грань (участок грани) клетки либо контактирует с боковой гранью (участком грани) другой клетки, либо является внешней границей. Также различаем верхнюю грань стенки клетки, обращенную к побегу, и нижнюю, обращенную к кончику корня. Для ранней стадии развития растения считаем, что в клетках слоя нет синтеза ауксина *de novo*, т. е. в каждую клетку слоя ауксин поступает только из побега через верхнюю грань. В каждой клетке ауксин может безвозвратно деградировать/диссипировать, также ауксин может уходить из нее через боковые внутренние грани в другие клетки. Ауксин может активно транспортироваться из клетки через нижнюю грань в нижние слои корня. В поперечном направлении активный

транспорт не рассматриваем. Модель имеет следующий вид:

$$\frac{dx_i}{dt} = \alpha_i + k_{pt} \sum_{\substack{j=1 \\ j \neq i}}^n \omega_{i,j} (x_j - x_i) - (k_{at} P(x_i) + k_d) x_i,$$

$$\omega_{i,j} = \begin{cases} 1, & j \in N_i \\ 0, & j \notin N_i \end{cases}, i = 1, \dots, n. \quad (1)$$

Переменные системы (1) имеют следующий смысл: n – общее количество клеток в слое, x_i – концентрация ауксина в i -й клетке, N_i – множество номеров клеток, обменивающихся с i -й клеткой в результате пассивной диффузии, $P(x)$ – функция, описывающая скорость активного транспорта ауксина из клетки в направлении кончика корня. Считаем, что функция определена в неотрицательной области значений переменной, неотрицательная, гладкая, ограничена сверху и достаточно простая, в том смысле, что у системы (1) имеется конечное число стационаров.

В модели заданы следующие параметры: α_i – скорость притока ауксина из побега в i -ю клетку; k_{pt} – константа скорости пассивного транспорта ауксина; k_{at} – константа скорости активного транспорта ауксина; k_d – константа скорости деградации/диссипации ауксина. Концентрации и время в модели (1) измеряются в условных единицах.

Используемые в работе термины

Транспортный контакт (контакт) между клетками – наличие диффузии между клетками.

Равномерный поток ауксина из побега в корень – в каждую клетку поперечного среза корня из побега поток поступает с одной и той же скоростью:

$$(\alpha_i = \alpha, i = 1, \dots, n). \quad (2)$$

Равномерный стационар – концентрации ауксина в клетках равны:

$$(x_i = x, i = 1, \dots, n). \quad (3)$$

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследование стационаров модели (1) при неравномерном потоке ауксина из побега в корень

Раздел посвящен исследованию стационаров модели (1) и механизмов их формирования, так как мы полагаем, что неравномерные стационары могут выступать в качестве морфогенетического поля, под управлением которого на ранних этапах развития растения происходит специализация клеток цилиндра корня.

Сначала отметим, что поток ауксина из побега может выступать в качестве эффективного фактора формирования в поперечном слое клеток морфогенетического поля распределения концентраций ауксина.

Действительно, пусть в системе (1) необходимо обеспечить существование стационара $(x_1, \dots, x_n)$. Подставим значения внутриклеточных концентраций ауксина x_i в правую часть системы (1) и приравняем ее к нулю. Тогда искомые значения интенсивностей потоков из побега в индивидуальные клетки, которые обеспечивают существование данного стационара, равны $\alpha_i = (k_{at} P(x_i) + k_d) x_i$, $i = 1, \dots, n$. Более того, всегда можно обеспечить устойчивость данного стационара. Для этого достаточно взять функцию P , удовлетворяющую неравенству:

$$\max_{i=1, \dots, n} [P(x_i) + P'(x_i) x_i] > -\frac{k_d}{k_{at}}.$$

Таким образом, у растения существует простой механизм реализации в поперечном срезе стационара целевой конфигурации. Основан он на внешнем первоначальном формировании морфогенетической информации в побеге и в последующем ее переносе в корень. Этот путь не противоречит биологической сути изучаемого процесса: растение в определенный момент развития вполне способно перейти от равномерного потока ауксина из побега в корень к неравномерному. Поэтому следует признать, что неравномерность потока ауксина из побега в корень является естественным фактором реализации конкретного целевого распределения концентраций ауксина в клетках поперечного слоя.

Возможность его реализации в развитии растений подкреплена экспериментальными

данными, согласно которым дифференцировка проводящих тканей в зародыше начинается уже после формирования семядолей – основного источника ауксина (Carpon *et al.*, 2009).

Тем не менее, не оспаривая очевидных преимуществ такого механизма формирования морфогенетических полей, нельзя исключить возможность существования внутренних механизмов, которые позволяют решать проблему формирования необходимых распределений внутриклеточных концентраций ауксина, не прибегая к внешним источникам, т. е. при равномерном потоке ауксина из побега в корень, который не несет в себе позиционной информации.

Исследование стационаров модели (1) при равномерном потоке ауксина из побега в корень

Формально проблема поиска стационаров системы (1) сводится к определению неотрицательных решений системы алгебраических уравнений, которая получается путем приравнивания правой части системы (1) к нулю. Сразу отметим очевидное наблюдение, что если поток ауксина из побега в корень равномерный, то система (1) имеет как минимум один равномерный стационар. В то же время легко построить пример системы (1), в которой наряду с равномерным стационаром будут существовать и неравномерные. В этом можно убедиться уже для $n = 2$. Модель (1) принимает следующий вид:

$$\begin{cases} \frac{dx_1}{dt} = \alpha - k_{pt} [x_1 - x_2] - (k_{at} P(x_1) + k_d) x_1, \\ \frac{dx_2}{dt} = \alpha - k_{pt} [x_2 - x_1] - (k_{at} P(x_2) + k_d) x_2. \end{cases} \quad (4)$$

Зададим значения $0 < F_1 < F_2 < 1$ и вычислим

$$0 < w_1 = \frac{k_{at} F_1 + k_d}{k_{pt}} < w_2 = \frac{k_{at} F_2 + k_d}{k_{pt}}.$$

Найдем решение системы

$$\begin{pmatrix} -1 - w_1 & 1 \\ 1 & -1 - w_2 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} x_1 \\ x_2 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -A \\ -A \end{pmatrix},$$

$$A = \frac{\alpha}{k_{pt}} : x_1 = \frac{A(2 + w_2)}{w_1 w_2 + w_1 + w_2},$$

$$x_2 = \frac{A(2 + w_1)}{w_1 w_2 + w_1 + w_2},$$

$$\text{Построим функцию Хилла } P(x) = \frac{1}{1 + \left(\frac{x}{K_I}\right)^{h_I}},$$

проходящую через точки $(x_1, F_1), (x_2, F_2)$.

Для этого решим уравнения:

$$\left. \begin{aligned} \frac{1}{1 + \left(\frac{x_1}{K_I}\right)^{h_I}} = P(x_1) &\Rightarrow \left(\frac{x_1}{K_I}\right)^{h_I} = \frac{1 - P(x_1)}{P(x_1)} \\ \frac{1}{1 + \left(\frac{x_2}{K_I}\right)^{h_I}} = P(x_2) &\Rightarrow \left(\frac{x_2}{K_I}\right)^{h_I} = \frac{1 - P(x_2)}{P(x_2)} \end{aligned} \right\} \Rightarrow$$

$$\Rightarrow h_I = \frac{\ln \frac{(1 - P(x_1)) P(x_2)}{(1 - P(x_2)) P(x_1)}}{\ln \left(\frac{x_1}{x_2}\right)}, K_I = \frac{x_1}{\sqrt[h_I]{\frac{1 - P(x_1)}{P(x_1)}}}.$$

Численный пример множественности стационаров для двумерной системы (4) приведен на рис. 2.

На основе двумерной системы (4) легко строятся системы более высокой размерности, имеющие стационары, которые могут выступать в качестве морфогенетического поля для формирования диархной структуры цилиндра корня.

В качестве примера приведем модель, которая описывает слой, состоящий из четырех клеток, соединенных между собой транспортными связями по схеме: первая и четвертая клетки обмениваются ауксином в поперечном направлении со второй и третьей клеткой, вторая и третья клетки также обмениваются ауксином. Других транспортных контактов клетки не имеют.

Модель (1) для такой системы клеток имеет следующий вид:

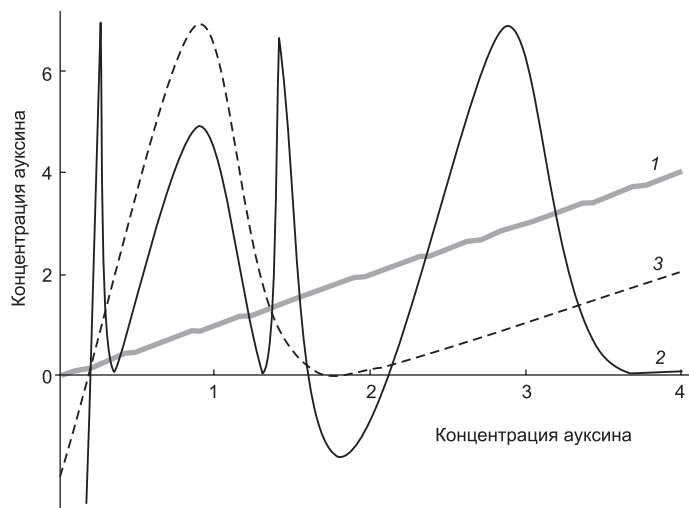


Рис. 2. Множественность стационаров, рассчитанная по модели (4).

Линия 1 – изменение параметра, задающего концентрацию ауксина в 1-й клетке, линии 2 и 3 – рассчитанные концентрации ауксина в 1-й и 2-й клетке. Пересечения кривых 1 и 2 соответствуют стационарам. На графике их показано восемь. Первый и пятый (слева направо) – равномерные стационары (в этих точках кривые 1, 2, 3 пересекаются одновременно), остальные – неравномерные. Девятый стационар лежит в интервале (444,440, ... 444,445) и на графике не представлен в силу удаленности. Этот стационар равномерный. Расчеты проведены со следующими значениями параметров: $\alpha = 2,0$, $k_{pt} = 1,0$, $k_{at} = 10,0$, $k_d = 0,0045$, $h_l = 9,225$, $K_l = 1,122$.

$$\begin{cases} \frac{dx_1}{dt} = \alpha - k_{pt} [2x_1 - x_2 - x_3] - (k_{at}P(x_1) + k_d)x_1, \\ \frac{dx_2}{dt} = \alpha - k_{pt} [3x_2 - x_1 - x_3 - x_4] - (k_{at}P(x_2) + k_d)x_2, \\ \frac{dx_3}{dt} = \alpha - k_{pt} [3x_3 - x_1 - x_2 - x_4] - (k_{at}P(x_3) + k_d)x_3, \\ \frac{dx_4}{dt} = \alpha - k_{pt} [2x_4 - x_2 - x_3] - (k_{at}P(x_4) + k_d)x_4, \end{cases}$$

и в ней при $\alpha = 2,0$, $k_{pt} = 0,5$, $k_{at} = 10,0$, $k_d = 0,0045$, $h_l = 9,225$, $K_l = 1,122$ существует стационар диархной конфигурации: $x_1 = x_4 < x_2 = x_3$.

Таким образом, при равномерном потоке ауксина из побега в ансамбль клеток нелинейность активного транспорта обеспечивает существование в них неравномерных распределений.

Причем не составляет труда указать условия, при которых конфигурация неравномерного распределения концентраций ауксина в клетках будет нести позиционную информацию о диархной структуре цилиндра корня. Однако любой неравномерный стационар, в том числе и целевой, никогда не существует в клеточном ансамбле в единственном экземпляре. Всегда

в системе присутствует как минимум дополнительный равномерный стационар. Этот результат означает, что для формирования в процессе развития растения стационара нужной (целевой) конфигурации в поперечном срезе корня на фоне равномерного потока ауксина из побега, необходимо обеспечить условия, при которых все остальные стационары будут неустойчивыми, т. е. возникает необходимость исследовать равномерные стационары системы (1) на устойчивость. Решение вопроса дано в следующем разделе.

О равномерных стационарах модели (1)

Стационар назовем минимальным, если он содержит минимальное значение компонента. Будем считать, что нелинейная функция активного транспорта достаточно проста, в том смысле, что у системы (1) имеется конечное число стационаров, тогда минимальный стационар всегда существует. Более того минимальный стационар системы (1) является равномерным и устойчивым.

Доказательство равномерности минимального стационара

Пусть $\alpha_1 \leq \dots \leq \alpha_n$ – минимальный стационар системы (1). Принятый порядок возрастания значений переменных не ограничивает общности рассуждения, так как в случае необходимости мы можем произвести перенумерацию переменных системы (1).

Предположим, что данный стационар является неравномерным. Тогда

$$\alpha + k_{pt} \left[\sum_{j \in N_1} a_j - |N_1| a_1 \right] - (k_{at} P(a_1) + k_d) a_1 = 0 \Rightarrow \\ \Rightarrow \alpha - (k_{at} P(a_1) + k_d) a_1 \leq 0.$$

Если в неравенстве выполняется равенство, то имеем

$$\alpha_1 = \dots = \alpha_j \leq \dots \leq \alpha_n, J = \max (j \in N_1).$$

Тогда имеем $\alpha - (k_{at} P(a_j) + k_d) a_j \leq 0$. Если снова выполняется равенство, то увеличиваем номер до $J = \max (j \in N_2)$. Очевидно, что найдется такой номер J , для которого уже выполняется строгое неравенство. В противном случае стационар равномерный, что противоречит предположению. Отсюда имеем, что если стационар не является равномерным, то для всех минимальных значений его компонентов, в том числе и для первой переменной, имеем строгое неравенство.

Так как при $a_1 = 0$ имеем $\alpha - (k_{at} P(a_1) + k_d) a_1 = \alpha > 0$, то в силу непрерывности функции P существует $0 < a_0 < a_1 \Rightarrow \alpha - (k_{at} P(a_0) + k_d) a_0 = 0$. Получили противоречие.

Этим мы доказали, что минимальный стационар системы (1) является равномерным.

Доказательство устойчивости минимального стационара

Все компоненты равномерной точки покоя вычисляются из уравнения $\alpha = (k_{at} P(a) + k_d) a$.

Обозначим решение через a_0 . Так как точка покоя $(a_0, \dots, a_0)$ минимальная, то

$$\forall a_l < a_0 \Rightarrow \alpha > (k_{at} P(a_l) + k_d) a_l \text{ и}$$

$$\forall a_0 < a_r < a_0 + \varepsilon \Rightarrow \alpha < (k_{at} P(a_r) + k_d) a_r.$$

$$\frac{(k_{at} P(a_r) + k_d) a_r - (k_{at} P(a_l) + k_d) a_l}{a_r - a_l} > 0 \Rightarrow$$

$$\Rightarrow \frac{d \left[(k_{at} P(a) + k_d) a \right]}{da} \Big|_{a=a_0} \geq 0.$$

Если выполняется строгое неравенство, то стационар является устойчивым.

$$\text{Пусть } \frac{d \left[(k_{at} P(a) + k_d) a \right]}{da} \Big|_{a=a_0} = 0.$$

В бесконечно малой окрестности минимального стационара можем записать

$$\frac{d(a)}{dt} = - \sum_{k=k_{\min}}^{\infty} \frac{d^k \left[(k_{at} P(a) + k_d) a \right]}{k! da^k} \Big|_{a=a_0} \\ (a - a_0)^k, i = 1, \dots, n,$$

где $k_{\min}$ равно минимальному значению члена разложения функции в ряд Тейлора, который не равен нулю. Так как слева функция a строго убывает, то

$$\frac{d^{k_{\min}} \left[(k_{at} P(a) + k_d) a \right]}{k_{\min}! da^{k_{\min}}} \Big|_{a=a_0} (-1)^{k_{\min}+1} < 0.$$

В результате получаем, что независимо от четности $k_{\min}$ минимальное стационарное решение устойчиво.

Таким образом, мы доказали, что у системы (1) всегда существует равномерный устойчивый минимальный стационар. Поэтому даже если в ней же существует устойчивый неравномерный стационар, то он не является единственным устойчивым стационаром.

Более того, достаточно очевидно, что примерно равные начальные внутриклеточные концентрации ауксина, скорее, будут лежать в бассейне притяжения равномерного стационара, чем в бассейне притяжения неравномерного стационара, поэтому при равномерном потоке ауксина из побега в корень в качестве итогового распределения, вероятнее всего, будет формироваться именно равномерный стационар, а не другие.

Отсюда вытекает, что система (1) не имеет внутренних механизмов отбора целевого неравномерного стационара из имеющихся стационаров и эта проблема может решаться на постоянной основе только за счет использования внешних факторов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исходя из собственных исследований (Novoselova *et al.*, 2013) и ряда экспериментальных данных (Bauby *et al.*, 2007; Bishop *et al.*, 2011a; Help *et al.*, 2011), мы высказали предположение, что характерное расположение тяжей сосудистых тканей флоэмы и ксилемы на поперечном срезе корня определяется морфогенетическим полем, в качестве которого выступает неравномерное распределение ауксина в клетках поперечного слоя корня. Наиболее просто его формировать через неравномерное поступление ауксина из проростка в ранний корень. Однако также нельзя исключить, что морфогенетическое поле может формироваться за счет внутренних связей и процессов, протекающих в клетках слоя. Для проверки состоятельности этой гипотезы была разработана математическая модель, описывающая поток ауксина, синтезированного в побеге, в горизонтальный слой недифференцированных клеток меристематической зоны корня и его транспорт в нижележащие слои корня.

Анализ модели показал, что даже при равномерном потоке ауксина из побега в корень можно так подобрать функцию активного транспорта и параметры модели (1), что в системе будет присутствовать неравномерное стационарное распределение концентраций ауксина. Тем не менее основной вывод работы состоит в том, что даже если в клеточном ансамбле существует целевой неравномерный стационар, то проблема его фиксации не может быть решена за счет внутренних механизмов, так как в системе всегда дополнительно присутствует равномерное устойчивое минимальное распределение.

Этот результат приводит к выводу, что на определенном этапе развития в клеточном ансамбле должны быть либо модифицированы существующие между клетками связи, либо должны инициироваться новые процессы, которые могут выступить в качестве дополнительного морфогенетического фактора. Такими факторами могут выступать активный транспорт ауксина в поперечных направлениях, асимметричный синтез ауксина *de novo* в клетках слоя, неравномерный поток ауксина из побега и т. д. Например, в работе Muraro с соавт. (2014) показана возможность влияния распределения

PIN-транспортёров в центральном цилиндре корня на стабильность распределения ауксина по диархному типу. Однако ничего не известно о механизмах формирования этих потоков в нужной конфигурации.

Асимметричность синтеза ауксина в клетках горизонтального слоя может быть связана с возникновением на определенном этапе в данном слое меристематических клеток, в которых происходит основной синтез ауксина *de novo* (Ljung *et al.*, 2005). Однако, чтобы сформировать меристематические клетки, необходимо уже иметь градиент концентрации ауксина. В результате получаем противоречие: чтобы формировать градиент концентрации ауксина, требуется наличие этого градиента.

Поэтому наиболее вероятным фактором формирования морфогенетического поля в поперечном слое клеток корня, по нашему мнению, являются не структурные отношения между клетками слоя и не процессы, протекающие в них, а подходящая конфигурация неравномерного потока ауксина из побега в корень. Это предположение поддержано рядом исследований, свидетельствующих о том, что асимметрия центрального цилиндра корня закладывается еще в зародыше растения, после начала формирования семядолей (Capron *et al.*, 2009). Ксилемные элементы в корне арабидопсиса дифференцируются, как правило, в плоскости формирования семядолей (Bauby *et al.*, 2007), предопределяя диархную структуру центрального цилиндра корня на поперечном срезе.

Тот факт, что у мутантов арабидопсиса со слитыми семядолями строение центрального цилиндра корня дезорганизовано (Help *et al.*, 2011), предполагает наличие связи между процессами формирования семядолей и дифференцировкой клеток сосудистых тканей, которая реализуется через ауксин как морфоген (Benková *et al.*, 2009). В корне взрослого растения симметрия поддерживается нисходящим по флоэме потоком ауксина, однако «правильная» структура проводящих пучков формируется *de novo* во всех боковых и придаточных корнях. Является ли входящий поток ауксина в развивающиеся корни также асимметричным – вопрос для дальнейшего экспериментального и теоретического исследования.

Формирование распределений ауксина более сложных, чем диархное, представляет отдельный интерес. Однако, в целом, существующих экспериментальных данных недостаточно для выдвижения конкретных гипотез о механизмах формирования сложных симметрий в структуре поперечного среза корня различных растений. Можно только полагать, что в формировании сложных неравномерных распределений ауксина могут играть роль и другие гормоны, в частности цитокинин. Его преимущественный транспорт из побега в корень по сосудистым пучкам флоэмы и индуцирующее влияние на активность некоторых PIN-белков (Bishopp *et al.*, 2011a, b; Muraro *et al.*, 2011, 2014) могут создавать дополнительные условия для перераспределения ауксина в горизонтальном слое клеток центрального цилиндра и накопления ауксина в клетках, предопределяя их развитие в направлении ксилемы. Это направление предполагает развитие более сложных моделей гормон-зависимого механизма формирования сосудистого пучка корня и будет предметом дальнейших исследований.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект 13-01-00344), СО РАН (интеграционный проект № 80), фонда «Династия» (грант для молодых биологов) и бюджетного проекта (VI.61.1.2).

ЛИТЕРАТУРА

- Лихошвай В.А., Омелянчук Н.А., Миронова В.В. и др. Математическая модель распределения ауксина в корне растения // *Онтогенез*. 2007. Т. 38. С. 446–456.
- Bauby H., Divol F., Truernit E. *et al.* Protophloem differentiation in early *Arabidopsis thaliana* development // *Plant Cell Physiol*. 2007. V. 48. P. 97–109.
- Bayer E.M., Smith R.S., Mandel T. *et al.* Integration of transport-based models for phyllotaxis and midvein formation // *Genes Dev*. 2009. V. 23. P. 373–384.
- Benková E., Ivanchenko M.G., Friml J. *et al.* A morphogenetic trigger: is there an emerging concept in plant developmental biology? // *Trends Plant Sci*. 2009. V. 14. P. 189–193.
- Benková E., Michniewicz M., Sauer M. *et al.* Local, efflux-dependent auxin gradients as a common module for plant organ formation // *Cell*. 2003. V. 115. P. 591–602.
- Bishopp A., Lehesranta S., Vaten A. *et al.* Phloem-transported cytokinin regulates polar auxin transport and maintains vascular pattern in the root meristem // *Curr. Biol*. 2011a. V. 21. P. 927–932.
- Bishopp A., Help H., El-Showk S. *et al.* A mutually inhibitory interaction between auxin and cytokinin specifies vascular pattern in roots // *Curr. Biol*. 2011b. V. 21. P. 917–926.
- Capron A., Chatfield S., Provart N., Berleth T. Embryogenesis: pattern formation from a single cell // *Arabidopsis Book*. 2009. V. 7. P. e0126.
- Help H., Mähönen A.P., Helariutta Y., Bishopp A. Bismetry in the embryonic root is dependent on cotyledon number and position // *Plant Signal Behav*. 2011. V. 6. P. 1837–1840.
- Ibañez M., Fàbregas N., Chory J., Caño-Delgado A.I. Brassinosteroid signaling and auxin transport are required to establish the periodic pattern of *Arabidopsis* shoot vascular bundles // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2009. V. 106. P. 13630–13635.
- Ljung K., Hull A.K., Celenza J. *et al.* Sites and regulation of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* roots // *Plant Cell*. 2005. V. 17. P. 1090–1104.
- Mironova V.V., Omelyanchuk N.A., Novoselova E.S. *et al.* Combined *in silico/in vivo* analysis of mechanisms providing for root apical meristem self-organization and maintenance // *Ann. Bot*. 2012. V. 110. P. 349–360.
- Mironova V.V., Omelyanchuk N.A., Yosiphon G. *et al.* A plausible mechanism for auxin patterning along the developing root // *BMC Syst Biol*. 2010. V. 98. P. 98.
- Mitchison G.J. A model for vein formation in higher plants // *Proc. R. Soc. Lond. B*. 1980. V. 207. P. 79–109.
- Mitchison G.J., Hanke D.E., Sheldrake A.R. The polar transport of auxin and vein patterns in plants // *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*. 1981. V. 295. P. 461–471.
- Muraro D., Wilson M., Bennett M.J. Root development: cytokinin transport matters, too! // *Curr. Biol*. 2011. V. 21. P. R423–425.
- Muraro D., Mellor N., Pound M.P. *et al.* Integration of hormonal signaling networks and mobile microRNAs is required for vascular patterning in *Arabidopsis* roots // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2014. V. 111, P. 857–862.
- Novoselova E.S., Mironova V.V., Omelyanchuk N.A. *et al.* Mathematical modeling of auxin transport in protoxylem and protophloem of *Arabidopsis thaliana* root tips // *J. Bioinform. Comput. Biol*. 2013. V. 11. 1340010.
- Petrásek J., Friml J. Auxin transport routes in plant development // *Development*. 2009. V. 136. No. 16. P. 2675–2688.
- Swarup R., Friml J., Marchant A. *et al.* Localization of the auxin permease AUX1 suggests two functionally distinct hormone transport pathways operate in the *Arabidopsis* root apex // *Genes Dev*. 2001. V. 15. P. 2648–2653.
- Vieten A., Vanneste S., Wisniewska J. *et al.* Functional redundancy of PIN proteins is accompanied by auxin-dependent cross-regulation of PIN expression // *Development*. 2005. V. 132. P. 4521–4531.

AUXIN DISTRIBUTION IN A TRANSVERSE ROOT SECTION

E.S. Novoselova¹, V.V. Mironova^{1,2}, T.M. Khlebodarova¹, V.A. Likhoshvai^{1,2}

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

e-mail: likho@bionet.nsc.ru;

² Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia

Summary

Plants differ in the types of the root central cylinder: diarch, triarch, tetrarch, pentarch, or polyarch. The type of the symmetry is the reflection of the relative positions of xylem and phloem bundles in a cross section of the root. The mechanisms forming different types of symmetries in the central cylinder remain poorly understood. It is assumed that vasculature differentiation is triggered and controlled by plant hormone auxin (Sachs, 1969). We have developed a model that describes auxin flow through a cell layer, imitating a cross section of the vascular cylinder in a root. We have studied the stationary distributions of auxin in the cell layer depending on the model parameters. It is shown that the nonlinear processes of auxin transport regulation are responsible for the formation of asymmetric auxin distributions, which may be interpreted as the positional information for development of the diarch structure of the vascular cylinder. However, these distributions always coexist with uniform stationary distributions, not providing positional information. It is hypothesized that the most likely factor in the formation of the final auxin distribution in a root section is an appropriate geometry of the auxin flow from the shoot to the root.

Key words: mathematical modeling, morphogen, auxin, root, vascular tissue differentiation, phloem, xylem.