

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

## Молекулярные механизмы детерминации клеток сосудистой системы корня *Arabidopsis thaliana* L.

А.Д. Сидоренко<sup>1,2</sup>, Н.А. Омелянчук<sup>1</sup>, Е.В. Землянская<sup>1,2</sup> 

<sup>1</sup> Федеральное исследовательское учреждение Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

 [ezemlyanskaya@bionet.nsc.ru](mailto:ezemlyanskaya@bionet.nsc.ru)

**Аннотация.** Сосудистая система является результатом ароморфоза, который позволил растениям успешно освоить сушу. За счет нее осуществляется проведение воды, минеральных и органических соединений, обеспечивается эффективное сообщение между органами, а также выполняется функция механической опоры. Процесс формирования сосудистой системы – общепринятый объект фундаментальных исследований в области биологии развития растений. В частности, ранние этапы развития сосудистой системы корня модельного растения *Arabidopsis thaliana* представляют собой яркий пример самоорганизации бисимметричного (имеющего две плоскости симметрии) паттерна распределения фитогормонов, который направляет детерминацию клеток сосудистой системы. В процессе формирования сосудистой системы корня можно выделить четыре этапа: 1) детерминацию (спецификацию) клеток-предшественников проваскулярной меристемы на ранних стадиях эмбриогенеза; 2) рост и разметку проваскулярной меристемы зародыша; 3) постэмбриональное поддержание инициалей (стволовых клеток) сосудистой системы в апикальной меристеме корня; 4) конечную специализацию (дифференцировку) их дочерних клеток. Анатомические детали развития сосудистой системы *A. thaliana* давно известны и подробно описаны, однако наши знания о молекулярно-генетических механизмах этого процесса все еще ограничены. В последние годы сделано несколько важных открытий, проливающих свет на регуляцию самых ранних событий, предшествующих дифференцировке клеток сосудистой системы. В настоящем обзоре мы обобщаем данные о молекулярно-генетических механизмах, определяющих направление клеточной дифференцировки в элементы сосудистой системы корня у *A. thaliana*. Первая часть обзора посвящена описанию гистогенеза сосудистой системы корня. Далее мы реконструируем последовательность регуляторных событий, которые лежат в основе этого гистогенеза и обуславливают развитие предшественников инициалей сосудистой системы у зародыша и организацию инициалей сосудистой системы в корне проростка.

Ключевые слова: меристема; ксилема; флоэма; (про)камбий; фитогормоны; ауксин; цитокинин; *Arabidopsis thaliana*.

**Для цитирования:** Сидоренко А.Д., Омелянчук Н.А., Землянская Е.В. Молекулярные механизмы детерминации клеток сосудистой системы корня *Arabidopsis thaliana* L. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2022;26(8): 721-732. DOI 10.18699/VJGB-22-88

## Molecular mechanisms of vascular tissue patterning in *Arabidopsis thaliana* L. roots

A.D. Sidorenko<sup>1,2</sup>, N.A. Omelyanchuk<sup>1</sup>, E.V. Zemlyanskaya<sup>1,2</sup> 

<sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

<sup>2</sup> Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

 [ezemlyanskaya@bionet.nsc.ru](mailto:ezemlyanskaya@bionet.nsc.ru)

**Abstract.** A vascular system in plants is a product of aromorphosis that enabled them to colonize land because it delivers water, mineral and organic compounds to plant organs and provides effective communications between organs and mechanical support. Vascular system development is a common object of fundamental research in plant development biology. In the model plant *Arabidopsis thaliana*, early stages of vascular tissue formation in the root are a bright example of the self-organization of a bisymmetric (having two planes of symmetry) pattern of hormone distribution, which determines vascular cell fates. In the root, vascular tissue development comprises four stages: (1) specification of progenitor cells for the provascular meristem in early embryonic stages, (2) the growth and patterning of the embryo provascular meristem, (3) postembryonic maintenance of the cell identity in the vascular tissue initials within the root apical meristem, and (4) differentiation of their descendants. Although the anatomical details of *A. thaliana* root vasculature development have long been known and described in detail, our knowledge of the underlying molecular and genetic mechanisms remains limited. In recent years, several important advances have been made, shedding light on the regulation of the earliest events in provascular cells specification. In this review, we summarize the latest data on the molecular and genetic mechanisms of vascular tissue patterning in *A. thaliana*.

root. The first part of the review describes the root vasculature ontogeny, and the second reconstructs the sequence of regulatory events that underlie this histogenesis and determine the development of the progenitors of the vascular initials in the embryo and organization of vascular initials in the seedling root.

Key words: meristem; xylem; phloem; (pro)cambium; plant hormones; auxin; cytokinin; *Arabidopsis thaliana*.

**For citation:** Sidorenko A.D., Omelyanchuk N.A., Zemlyanskaya E.V. Molecular mechanisms of vascular tissue patterning in *Arabidopsis thaliana* L. roots. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2022;26(8):721-732. DOI 10.18699/VJGB-22-88

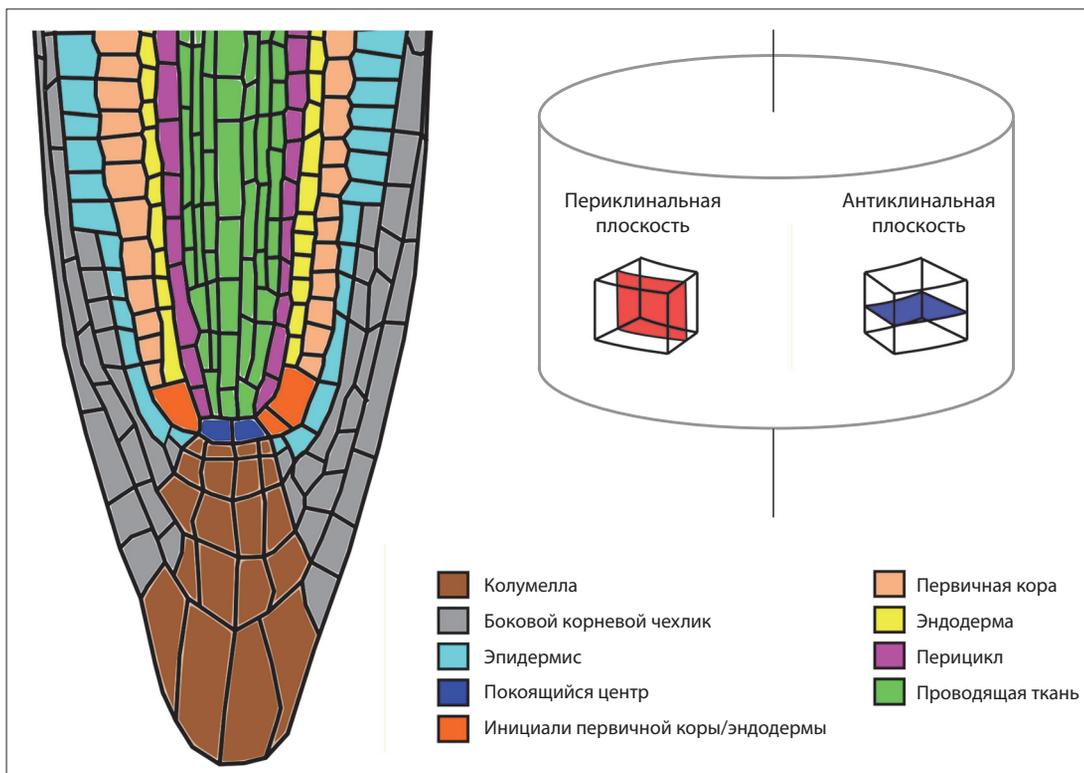
## Введение

В эволюции возникновение сосудистой системы являлось необходимой предпосылкой для выхода растений на сушу (Lucas et al., 2013). Наличие механических элементов в сосудистой системе и эффективность транспорта по ней воды, минеральных и органических веществ, а также сигнальных молекул позволили растениям достигать рекордных размеров и заселять различные территории. Сосудистая система включает в себя два различных структурно-функциональных домена: ксилему, которая осуществляет транспорт воды и минеральных веществ от корня к наземным органам, и флоэму, которая проводит органические вещества от фотосинтезирующих частей растения по направлению к корню (Evert, Eichhorn, 2006).

У покрытосеменных зрелая ксилема состоит из проводящих элементов (сосудов), которые осуществляют транспорт воды, волокон, основной функцией которых является механическая поддержка растения, и клеток паренхимы (Evert, Eichhorn, 2006). Сосуды представляют собой полые трубки, образованные соединенными в ряд клетками

с перфорациями в **антиклинальных** стенках и порами в **периклинальных** стенках (рис. 1). Сосуды и волокна формируются в результате запрограммированной гибели клеток, сформировавших лигнифицированную вторичную клеточную стенку (Courtois-Moreau et al., 2009; Smith et al., 2013; Furuta et al., 2014). Живые клетки паренхимы выполняют запасающую функцию, а также участвуют в лигнификации сосудов и регуляции скорости транспорта воды (Ménard, Pesquet, 2015; Růžicka et al., 2015).

Флоэма покрытосеменных образована ситовидными трубками, осуществляющими транспорт пластических веществ; клетками-спутницами; волокнами и склереидами, обеспечивающими механическую поддержку; а также клетками паренхимы (Sjolund, 1997; Evert, Eichhorn, 2006). В отличие от полых лигнифицированных сосудов ксилемы, ситовидные трубки представляют собой тяж живых клеток (ситовидных элементов), которые сообщаются ситовидными полями – скоплением мелких пор в антиклинальных стенках. Ситовидные элементы формируют утолщенную нелигнифицированную вторичную клеточную



**Рис. 1.** Организация апикальной меристемы корня *Arabidopsis thaliana*.

Вертикальной линией на схеме отмечена центральная ось корня.

стенку (Neo et al., 2014). Особенность цитологического строения ситовидных элементов заключается в том, что в них отсутствует большинство органоидов (в том числе ядро, вакуоль, шероховатый эндоплазматический ретикулум, комплекс Гольджи, цитоскелет, рибосомы), наличие которых могло бы препятствовать транспорту веществ. Поддержание жизнеспособности ситовидных элементов обеспечивают расположенные в непосредственном контакте с ними клетки-спутницы – паренхимные клетки с крупными ядрами и митохондриями. Механические элементы флоэмы – волокна и склереиды – отличаются друг от друга формой клеток: первые сильно вытянуты в длину и заострены на концах, вторые могут быть лишь слегка удлиненными.

Организация сосудистой системы различается в разных органах, у разных видов и на разных этапах развития растений (Scarpella, Meijer, 2004; Lucas et al., 2013; Furuta et al., 2014). Тем не менее механизмы, определяющие ее развитие, достаточно консервативны (Li et al., 2010; Seo et al., 2020). Так как растительные клетки не способны к миграции, формирование архитектуры органов и тканей в процессе морфогенеза происходит за счет регуляции последовательности и ориентации клеточных делений. Анатомически процесс развития сосудистой системы изучен достаточно хорошо и подробно описан (Scheres et al., 1994; Evert, Eichhorn, 2006; Miyashima et al., 2013; Furuta et al., 2014; De Rybel et al., 2014b, 2016), однако контролируемые его молекулярно-генетические механизмы известны гораздо меньше. Наши представления о них основаны преимущественно на результатах исследований модельного растения *Arabidopsis thaliana*.

В следующих разделах мы приведем краткое описание гистогенеза проводящей ткани у *A. thaliana*, а также реконструируем соответствующую гистогенезу последовательность регуляторных событий. Рассмотрим контроль развития сосудистой системы корня в зародыше и проростке, т. е. на самых ранних этапах ее формирования. Описание механизмов, регулирующих последующие этапы, можно найти в обзорах (Agustí, Blázquez, 2020; Seo et al., 2020).

### Гистогенез проводящих тканей корня

Онтогенетически различают первичные (продуцируемые *первичной меристемой*) и вторичные (продуцируемые *вторичной меристемой*) проводящие ткани.

### Развитие первичных проводящих тканей корня

У *A. thaliana* в раннем эмбриогенезе на стадии глобулы происходит спецификация четырех *проваскулярных инициалей*, которые в результате роста и скоординированных во времени ориентированных делений дают начало *проваскулярной меристеме* зародышевого корня и гипокотыля (рис. 2) (Scheres et al., 1994; Evert, Eichhorn, 2006; Miyashima et al., 2013; Furuta et al., 2014; De Rybel et al., 2014b, 2016). Ее клетки не дифференцированы, однако клеточная судьба некоторых из них уже определена – после прорастания зародыша они дадут начало либо клеткам ксилемы, либо клеткам флоэмы. Расположение этих преддетерминированных клеток в проваскулярной меристеме совпадает с бисимметричной (т. е. обладающей двумя плоскостями симметрии) *диархной* организацией

### Словарь терминов

**Амфирибральный проводящий пучок** – проводящий пучок, в котором флоэма окружает ксилему.

**Антиклинальное клеточное деление** – деление клеток в антиклинальной плоскости. Оно приводит к росту в длину.

**Антиклинальный** – располагающийся в плоскости, перпендикулярной поверхности ткани или органа. Говоря об антиклинальных клеточных стенках или делениях, мы будем подразумевать антиклинальную плоскость, перпендикулярную центральной оси органа.

**Апикальная меристема корня** – первичная меристема корня, которая дает начало всем клеткам корня в процессе его роста в постэмбриональный период.

**Асимметричное клеточное деление** – деление клетки, в результате которого образуются две дочерние клетки с различной клеточной судьбой.

**Вторичная меристема** – меристема, которая закладывается в постэмбриональный период.

**Гипофиза** – верхняя клетка суспензора, которая приобретает свою идентичность на стадии 16–32 клеток; дает начало покоящемуся центру (организующему центру апикальной меристемы корня) и корневому чехлику.

**Диархный проводящий пучок** – проводящий пучок, в котором флоэма и ксилема расположены на разных радиусах; при этом выделяется два луча ксилемы.

**Ксилемная пластинка** – расположенные слоем в центральной плоскости вдоль оси корня клетки первичной ксилемы (или их преддетерминированные предшественники).

**Первичная кора** – периферическая, лежащая снаружи от стелы часть молодого корня.

**Первичная меристема** – меристема, формирующаяся в эмбриогенезе.

**Периклинальное клеточное деление** – деление клеток в периклинальной плоскости. Приводит к увеличению количества клеточных слоев в радиальном направлении.

**Периклинальный** – располагающийся в плоскости, параллельной поверхности ткани или органа.

**Перицикл** – слой паренхимных клеток, окружающих проводящие ткани, наружный слой стелы.

**Проваскулярная меристема корня/гипокотыля** – первичная меристема зародышевого корня и гипокотыля, из которой дифференцируется первичная сосудистая система этих органов после прорастания зародыша.

**Проваскулярные инициали** – четыре клетки проэмбриона, возникающие на стадии ранней глобулы, из которых происходит вся проваскулярная меристема корня/гипокотыля, и только она.

**Прокамбий** – недетерминированные клетки первичной сосудообразующей меристемы, которые в корне *Arabidopsis thaliana* располагаются между ксилемной пластинкой и флоэмными полюсами.

**Сосудистый камбий** – вторичная сосудообразующая меристема, обеспечивающая рост корня в толщину.

**Стела (центральный цилиндр)** – расположенный в центре осевого органа комплекс первичных проводящих тканей, окруженных перициклом.

**Суспензор** – структура у основания зародыша, соединяющая его с эндоспермом. Состоит из потомков базальной клетки двуклеточного проэмбриона.

**Эндодерма** – самый внутренний слой клеток первичной коры, окружающий стелу.

сосудистой системы кончика корня в постэмбриональный период развития: на поперечном срезе по диаметру располагается один слой клеток-предшественников ксилемы, к которому с обеих сторон прилегают клетки **прокамбия**, отделяя будущую ксилему от двух тяжей клеток-предшественников флоэмы, расположенных в перпендикулярной плоскости (Dolan et al., 1993) (рис. 2 и 3, а). Эта структура окружена клетками **перицикла**, которые также происходят от проваскулярных инициалей. Вместе они составляют **центральный цилиндр (стелу)** (см. рис. 1). Стоит отметить, что номенклатура стадий развития проводящей ткани корня достаточно размыта (Furuta et al., 2014), в частности, во многих источниках термин «прокамбий» используют для обозначения не только недетерминированных клеток первичной проводящей ткани проростка, но и всей проваскулярной меристемы зародыша (например, (Busse, Evert, 1999)).

Вскоре после прорастания дифференцировка проводящих элементов начинается в стеле гипокотилия и жилках семядолей (проваскулярная меристема последних происходит от апикальной меристемы побега (Miyashima et al., 2013)). От гипокотилия этот процесс распространяется вверх и вниз по эпикотилию и корню соответственно (Busse, Evert, 1999; De Rybel et al., 2014b; Furuta et al., 2014). У *A. thaliana* первыми дифференцируются прилегающие к перициклу ситовидные элементы протофлоэмы. Поскольку окружающие их клетки продолжают активно расти в длину, клетки протофлоэмы вскоре погибают, и их функционально замещают дифференцирующиеся позднее ситовидные элементы метафлоэмы, которые располагаются ближе к центру стелы (Graeff, Hardtke, 2021; Truernit, 2022). Далее формируются проводящие элементы протоксилемы, расположенные на полюсах **ксилемной пластинки** и имеющие кольчатые или спиральные утолщения вторичных клеточных стенок. Последними дифференцируются клетки метаксилемы с точечно-порвыми или ретикулярными отложениями лигнина, занимающие центральное положение в ксилемной пластинке (Růžička et al., 2015).

В процессе роста корня в длину новые клетки продуцируются за счет **антиклинальных делений** клеток **апикальной меристемы**, расположенной в кончике корня (Desvoyes et al., 2021). Апикальная меристема корня *A. thaliana* закрытого типа, т. е. разные стволовые клетки (инициали), имея неограниченный потенциал деления, продуцируют не любой, а строго ограниченный тип клеток, и для каждой дифференцированной клетки легко проследить, от какой стволовой клетки она произошла (см. рис. 1). Среди инициалей стелы можно выделить те, которые дают начало: 1) протоксилеме; 2) метаксилеме; 3) клеткам прокамбия и ситовидным элементам прото- и метафлоэмы (в этом случае три типа клеток происходят от одной стволовой клетки в результате серии антиклинальных и **периклиальных делений**); 4) только клеткам прокамбия; 5) перициклу (см. рис. 3, б) (Mähönen et al., 2000; Rodriguez-Villalon et al., 2015; Truernit, 2022). Взаимное расположение инициалей соответствует диархной организации сосудистой системы корня (см. рис. 3). Таким образом, клеточная идентичность, установленная в проваскулярной меристеме зародыша, поддерживается

в апикальной меристеме корня. Следует отметить, что в сосудистой системе помимо прото- и метаксилемы, прото- и метафлоэмы и прокамбия выделяют также клетки-спутницы. Некоторые авторы предлагают более строго определять их как клетки, подобные клеткам-спутницам (Truernit, 2022). Эти клетки прилегают к ситовидным элементам прото- и метафлоэмы и обладают рядом морфологических и физиологических характеристик клеток-спутниц (Stadler et al., 2005; Ross-Elliott et al., 2017; Smetana et al., 2019; Graeff, Hardtke, 2021), но, в отличие от последних, в нише стволовых клеток они не имеют общей инициали с элементами прото- и метафлоэмы (Mähönen et al., 2000). Клетки, подобные клеткам-спутницам, дифференцируются, когда начинают функционировать ситовидные элементы протофлоэмы (Graeff, Hardtke, 2021). У *A. thaliana* паренхима ксилемы и флоэмы, волокна, а также истинные клетки-спутницы дифференцируются только во время вторичного роста (Růžička et al., 2015; Truernit, 2022).

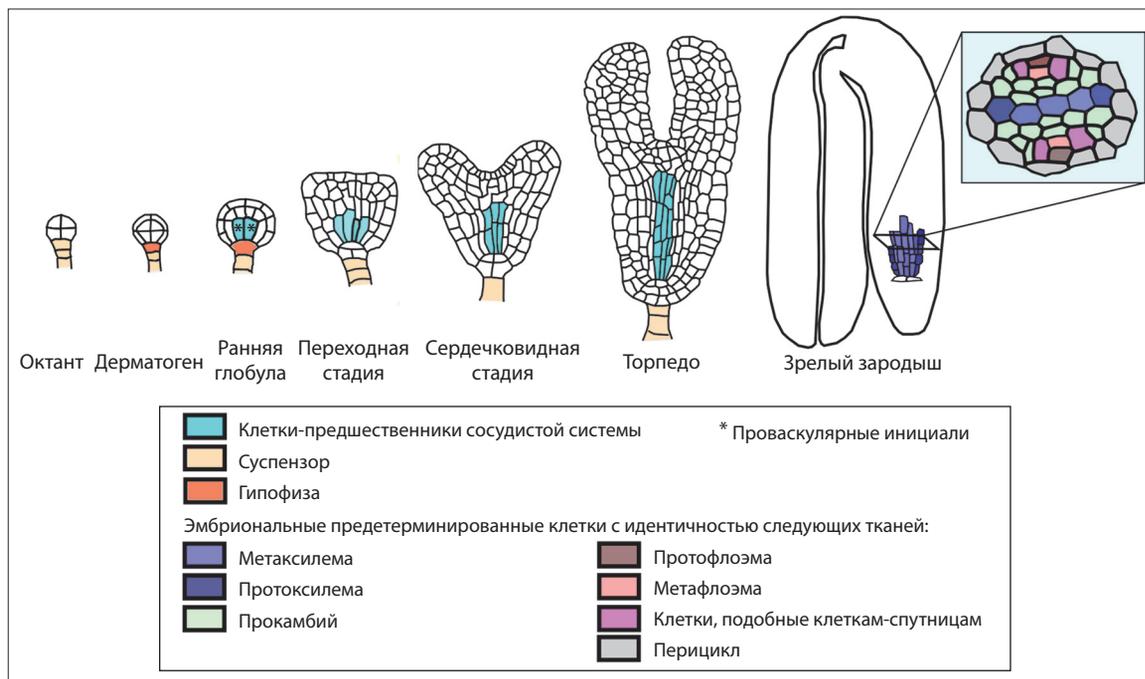
### Формирование камбия

В первичной сосудистой системе *A. thaliana* периклиальные деления клеток прокамбия немногочисленны, однако по мере развития корня после формирования первичной сосудистой сети эти клетки начинают активно делиться в периклиальной плоскости. Периклиальные деления происходят также в клетках перицикла, прилегающих к ксилемной пластинке. В результате формируется замкнутое кольцо клеток, окружающих ксилему, которое дает начало **сосудистому камбию** (см. рис. 3, в) (Baum et al., 2002; Nieminen et al., 2015; Růžička et al., 2015; Smetana et al., 2019). Только те клетки прокамбия и перицикла, которые имеют непосредственный контакт с первичными сосудами ксилемы, дают начало сосудистому камбию (т. е. обладают свойствами стволовых) (Smetana et al., 2019). Потомки других пролиферирующих клеток прокамбия дифференцируются в клетки флоэмы.

Таким образом, в процессе роста корня диархная организация первичной сосудистой системы заменяется **амфикибральной** организацией вторичной сосудистой системы, когда ксилема окружена флоэмой, а между ними располагается слой камбия (см. рис. 3, в). Путем **асимметричных делений** каждая стволовая клетка камбия способна продуцировать наружу клетки флоэмы, а внутрь – клетки ксилемы, обеспечивая рост корня в толщину (Smetana et al., 2019). У некоторых видов, например у большинства однодольных, камбий не образуется и вторичный рост отсутствует. В этом случае все клетки прокамбия в конечном итоге дифференцируются.

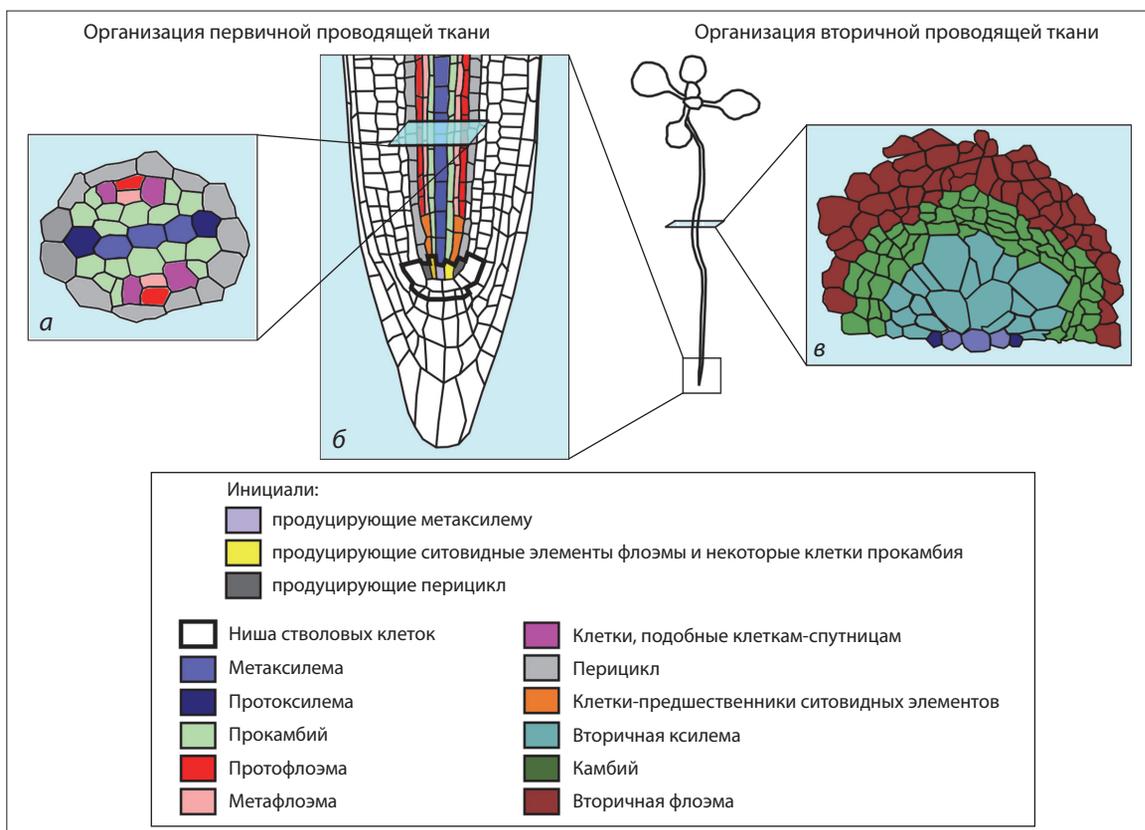
### Установление полярности зародыша и преддетерминация проваскулярных инициалей

Развитие многоклеточного организма сопровождается постепенным ростом ограничения клеточных потенциалов. Первый этап этого процесса – преддетерминация, или спецификация, т. е. определение судьбы тотипотентной клетки, установление, предшественником клеток какого типа она станет. При этом клетка остается недифференцированной, и ее спецификация при определенных условиях обратима. Детерминация клеточной идентичности задействи-



**Рис. 2.** Развитие проваскулярной меристемы *A. thaliana* в эмбриогенезе.

Зрелый зародыш содержит преддетерминированные, но не дифференцированные клетки-предшественники элементов сосудистой системы.



**Рис. 3.** Организация первичной и вторичной проводящей ткани в корне *A. thaliana* в постэмбриональный период.

Стела кончика корня (*a*, *б*) имеет диархную организацию и состоит из прокамбия, первичной флоэмы и первичной ксилемы, окруженных перициклом. Первичная флоэма состоит из прото- и метафлоэмы, а также клеток, подобных клеткам-спутницам. Первичная ксилема состоит из прото- и метаксилемы. В нише стволовых клеток на продольном срезе (*б*) видны две инициали, продуцирующие прокамбий/прото-/метафлоэму, две инициали, продуцирующие перицикл, и одна инициаль, продуцирующая метаксилему. При переходе корня ко вторичному росту (*в*) камбий продуцирует наружу клетки флоэмы, а внутрь – клетки ксилемы, в результате диархная организация проводящего пучка заменяется амфикириальной.

ет локальное накопление сигнальных молекул, которые активируют или подавляют работу генных сетей, присущих конкретным клеточным типам. В данном процессе важную роль, как правило, играют мобильные факторы, способные перемещаться между клетками и формировать градиенты (Seo et al., 2020).

Спецификации проваскулярных инициалей на ранней глобулярной стадии эмбриогенеза предшествует серия клеточных делений и установление полярности зародыша (Lau et al., 2012; De Rybel et al., 2014b). Корректное прохождение этих процессов необходимо, чтобы развитие проводящей ткани началось с правильного количества клеток, занимающих правильную позицию. Ключевым регулятором эмбриогенеза служит фитогормон ауксин, неоднородное распределение которого предоставляет позиционную информацию, направляющую развитие зародыша (Weijers, Jürgens, 2005; Smit, Weijers, 2015; Mironova et al., 2017). Основным эффектором ауксина в эмбриогенезе является транскрипционный фактор (ТФ) AUXIN RESPONSE FACTOR 5 (ARF5)/MONOPTEROS (MP) (Smit, Weijers, 2015; Verma et al., 2021). Считается, что формирование паттерна распределения сигнала ауксина обеспечивается главным образом за счет обратных связей в регуляции биосинтеза фитогормона, его полярного межклеточного транспорта и сигнального пути (Sauer et al., 2006; Möller, Weijers, 2009; Lau et al., 2011; Robert et al., 2015). В результате на ранних стадиях эмбриогенеза ауксин накапливается в апикальных клетках, определяя таким образом полярность зародыша (Wabnik et al., 2013). Начиная с ранней глобулярной стадии (32 клетки) его максимум смещается в верхние клетки *суспензора*, включая *гипофизу*, которая в дальнейшем даст начало покоящемуся центру апикальной меристемы корня (Friml et al., 2003; Tanaka et al., 2006).

Хотя анатомически четыре проваскулярные инициали выделяются только на ранней глобулярной стадии (Scheres et al., 1994), клеточная идентичность предшественников проводящей ткани устанавливается в четырех внутренних клетках нижнего слоя проэмбриона уже на стадии дерматогена (рис. 4, а) (Smit et al., 2020). В результате периклиналиного деления при переходе на стадию 32 клеток они продуцируют наружу клетки-предшественники *первичной коры*, которые теряют сосудистую идентичность их материнских клеток (см. рис. 4, а, б) (Palovaara et al., 2017; Smit et al., 2020). Необходимым условием спецификации проваскулярных инициалей является ARF5/MP-зависимая активация сигнального пути ауксина, однако этого условия недостаточно (Möller et al., 2017; Smit et al., 2020). Конкретные участники, содействующие ауксину, достоверно неизвестны, хотя предполагается, что эту роль выполняет не один ключевой регулятор, а многокомпонентная регуляторная сеть, одним из участников которой может быть ТФ G-BOX BINDING FACTOR 2 (GBF2) (Smit et al., 2020) (см. рис. 4, а). Считается, что GBF2 модулирует связывание ARF5/MP с промотором генов-мишеней. Стоит отметить, что состояние, в котором единообразно специфицированы предшественники сосудистой системы, вероятнее всего, кратковременное, без устойчивой единообразной клеточной идентичности.

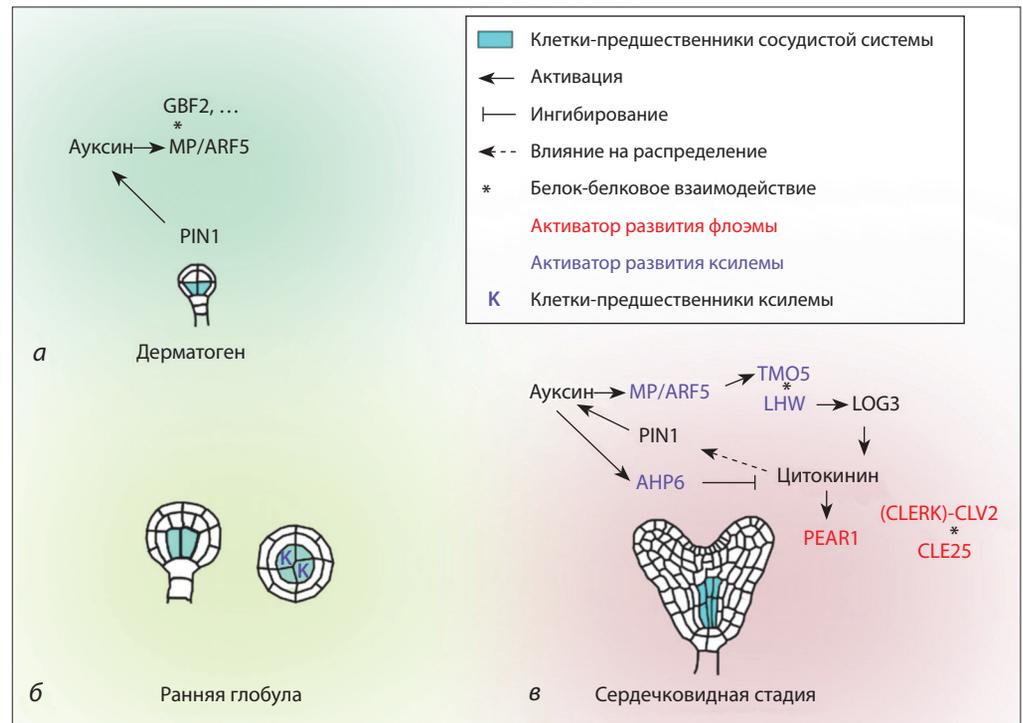
## Преддетерминация клеток сосудистой системы в проваскулярной меристеме

По мере контролируемых ориентированных делений проваскулярных инициалей и их потомков происходит разметка сосудистой системы гипокотыля и корня путем спецификации конкретных клеточных типов. На этом этапе важным аспектом является установление границ клеточных доменов, имеющих разную структурно-функциональную принадлежность. К концу эмбриогенеза в проваскулярной меристеме зародыша уже определена клеточная идентичность всех элементов сосудистой системы: протоксилемы, метаксилемы, протофлоэмы, метафлоэмы, клеток, подобных клеткам-спутницам, и прокампбия, о чем в совокупности свидетельствуют данные по морфологии клеток и экспрессии генов-маркеров (см. рис. 2) (Bonke et al., 2003; Bauby et al., 2007).

Считается, что уже на ранней глобулярной стадии эмбриогенеза бисимметрию будущего корня *A. thaliana* предопределяет наличие расширенного контакта между двумя расположенными по диагонали друг относительно друга проваскулярными инициалами (см. рис. 4, б). Такой контакт возникает, вероятно, в результате неточного совпадения плоскостей деления в проэмбрионе уже на стадии четырех клеток и в дальнейшем важен для формирования ксилемной пластинки (De Rybel et al., 2014a). Начиная с ранней сердечковидной стадии эмбриогенеза в такие контактирующие проваскулярные клетки активно транспортируется ауксин из расположенных над ними зачатков семядолей, тогда как в других клетках уровень гормона остается низким (Bishopp et al., 2011a; Help et al., 2011; De Rybel et al., 2014a). Локальное повышение концентрации ауксина необходимо для спецификации клеток-предшественников ксилемы (Bishopp et al., 2011a).

В то же время эти клетки благодаря высокому содержанию ауксина выступают в качестве организующего центра проваскулярной меристемы, который скоординированно регулирует ее рост за счет периклиналиных делений и установления бисимметричной организации (De Rybel et al., 2014a). Ауксин индуцирует ARF5/MP-зависимую экспрессию ТФ TARGET OF MONOPTEROS 5 (TMO5) и TMO5-LIKE1 (T5L1) (Schlereth et al., 2010; De Rybel et al., 2013, 2014b), которые, формируя гетеродимеры с ауксин-независимым ТФ LONESOME HIGHWAY (LHW) (De Rybel et al., 2013), активируют экспрессию генов биосинтеза цитокинина *LONELY GUY3 (LOG3)* и *LOG4* (Kuroha et al., 2009; De Rybel et al., 2014a) (см. рис. 4, в). Одновременно ауксин блокирует передачу цитокининового сигнала, повышая экспрессию гена *ARABIDOPSIS HISTIDINE PHOSPHOTRANSFER PROTEIN 6 (AHP6)*, кодирующего ингибитор сигнального пути цитокинина (Mähönen et al., 2006; Bishopp et al., 2011a). Таким образом, в клетках-предшественниках ксилемы формируется локальный источник цитокинина на фоне блокировки сигнального пути этого фитогормона.

Повышенный уровень цитокинина, с одной стороны, ограничивает утечку ауксина из клеток-предшественников ксилемы, контролируя локализацию транспортера ауксина PIN-FORMED 1 (PIN1) на клеточной мембране (Marhavý et al., 2011; De Rybel et al., 2014a). С другой стороны, цитокинин посредством диффузии мигрирует



**Рис. 4.** Генетическая регуляция развития проваскулярной меристемы в эмбриогенезе.

*a* – преддетерминация проваскулярных инициалей. Клеточная идентичность предшественников проводящей ткани устанавливается в четырех внутренних клетках нижнего слоя проэмбриона на стадии дерматогена, хотя анатомически четыре проваскулярные инициали выделяются только на ранней глобулярной стадии; *б* – преддетерминация клеток-предшественников ксилемы на ранней глобулярной стадии; *в* – формирование бисимметричного паттерна и преддетерминация клеток-предшественников ксилемы и флоэмы начиная с сердцевидной стадии.

в соседние клетки по градиенту концентрации. В этих клетках активация сигнального каскада цитокинина в отсутствие ингибитора (Cheng, Kieber, 2014) стимулирует периклинальные деления (Smit, Weijers, 2015). В то же время активация сигнального пути цитокинина подавляет спецификацию клеток по ксилемному пути развития (Mähönen et al., 2006). Этот механизм обеспечивает радиальный рост проваскулярной меристемы, который сопровождается пространственным разделением доменов повышенного сигнала ауксина (клетки приобретают идентичность ксилемы) и цитокинина (плюрипотентные клетки прокамбия). Его достаточность для самоорганизации бисимметричного паттерна в проваскулярной меристеме была подтверждена с помощью математической модели (De Rybel et al., 2014a).

В клетках-предшественниках проваскулярной меристемы в раннем эмбриогенезе начинают экспрессироваться гены, кодирующие пептидный гормон CLAVATA 3 (CLV3)/EMBRYO SURROUNDING REGION 25 (CLE25) и мобильные ТФ семейства DNA BINDING WITH ONE FINGER (DOF), объединенные в группу PHLOEM EARLY DOF (PEAR), которые в постэмбриональный период маркируют клетки-предшественники ситовидных элементов (Miyashima et al., 2019; Ren et al., 2019). CLE25 экспрессируется начиная со стадии 64-клеточного зародыша (Ren et al., 2019). Независимая от цитокинина активация PEAR1 детектируется уже на стадии 16 клеток, а с ранней сердцевидной стадии экспрессию этого гена активирует

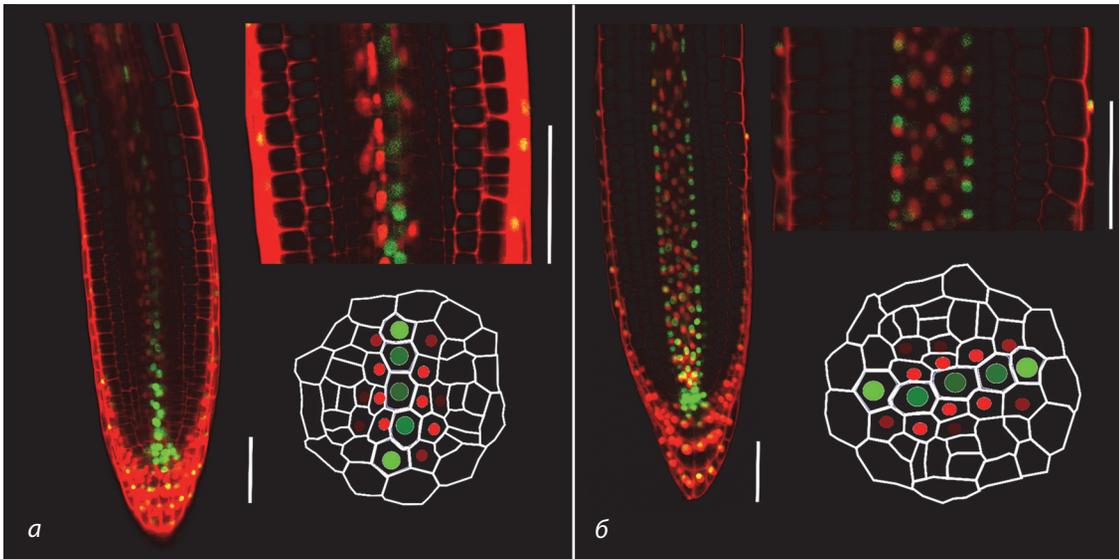
и поддерживает цитокинин (Miyashima et al., 2019). Предполагается, что пептид CLE25, связываясь с рецепторным комплексом CLE-RESISTANT RECEPTOR KINASE (CLERK)-CLV2, и параллельно ТФ PEAR1 вносят вклад в раннюю спецификацию клеток-предшественников флоэмы. Однако, в отличие от клеток ксилемы, механизм, инициирующий развитие флоэмы в эмбриогенезе, пока неизвестен.

### Поддержание клеточной идентичности предшественников ксилемы и флоэмы в апикальной меристеме корня

#### Бисимметричный паттерн в стеле

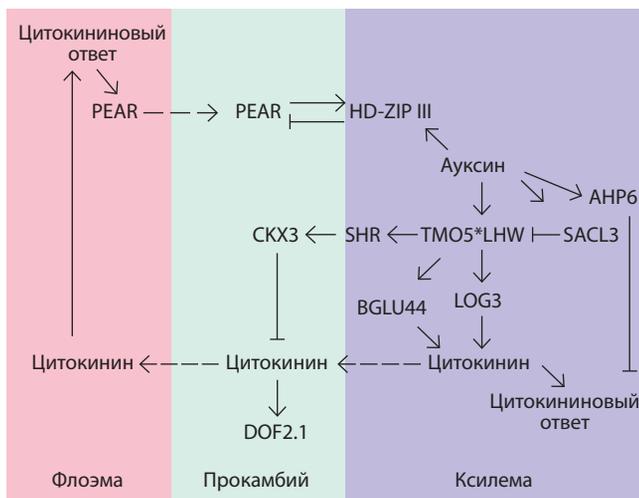
В постэмбриональный период в предшественниках клеток стелы у *A. thaliana* в апикальной меристеме поддерживается бисимметричный паттерн, установленный в эмбриогенезе. Некоторые механизмы, регулирующие клеточную динамику и преддетерминацию элементов сосудистой системы в проваскулярной меристеме, продолжают функционировать и после прорастания. Однако нельзя с полной уверенностью утверждать, что эти механизмы абсолютно идентичны.

В апикальной меристеме клетки-предшественники ксилемы с высоким содержанием ауксина сохраняют функцию организующего центра, осуществляя TMO5/LHW-опосредованную регуляцию уровня цитокинина в клетках прокамбия (рис. 5) (Ohashi-Ito, Bergmann, 2007;



**Рис. 5.** Бисимметричный паттерн распределения ауксина и цитокинина в стеле кончика корня *A. thaliana*. Ксилемная пластинка располагается перпендикулярно (а) или параллельно (б) плоскости оптического среза.

Микроизображения для репортерной линии *TCSn::ntdTomato-DR5revV2::n3GFP* (Smet et al., 2019) получены нами с помощью конфокального микроскопа. Клеточные стенки окрашены пропидий йодидом. Ядерные сигналы GFP (зеленый) и Tomato (красный) отражают активность сигнальных путей ауксина и цитокинина соответственно. Ауксиновый ответ наблюдается в предшественниках ксилемы с максимумом в предшественниках протоксилемы, цитокининовый ответ – в клетках прокамбия, контактирующих с ксилемой, маркируя таким образом морфофункциональные домены стелы кончика корня. Шкала 50 мкм.



**Рис. 6.** Механизм поддержания бисимметричного паттерна распределения ауксина и цитокинина в стеле кончика корня *A. thaliana* в постэмбриональный период.

Звездочка обозначает физическое взаимодействие между белками с формированием димера, штриховая стрелка – перемещение мобильных регуляторов.

Bishopp et al., 2011a; De Rybel et al., 2013; Ohashi-Ito et al., 2013, 2014; Vera-Sirera et al., 2015; Yang et al., 2021). Высокое содержание активного цитокинина в клетках ксилемы поддерживается путем TMO5/LHW-зависимой активации не только генов биосинтеза цитокинина *LOG3* и *LOG4*, но и гена *BGLU44*, кодирующего фермент β-глюкозидазу (рис. 6). Цитокининовый ответ в ксилеме блокируется ауксином посредством индукции экспрессии гена *AHP6* (Bishopp et al., 2011a), а также ограничения активности

TMO5/LHW путем активации регуляторного модуля *ACAULIS 5 (ACL5)–SUPPRESSOR OF ACAULIS5 LIKE3 (SACL3)*, который блокирует формирование гетеродимера TMO5/LHW в результате конкуренции ТФ SACL3 за связывание с LHW (Katayama et al., 2015; Cai et al., 2016) (см. рис. 6). В прилегающих к ксилеме клетках прокамбия уровень цитокинина, диффундирующего из ксилемы, ограничивается TMO5/LHW-зависимой активацией гена цитокинин-оксидазы *CYTOKININ OXIDASE 3 (CKX3)*. Активация этого гена опосредуется мобильным ТФ *SHORT ROOT (SHR)* – продуктом гена-мишени гетеродимера TMO5/LHW. Сочетанное действие разнонаправленных регуляторных модулей обеспечивает устойчивость паттерна к кратковременным колебаниям концентраций ауксина в клетках ксилемы, сохраняя его чувствительность к более медленным/стабильным изменениям (Yang et al., 2021). Интересно, что ген *SHR* важен не только для организации радиальной симметрии корня, но и для функционирования покоящегося центра (Творогова и др., 2012).

TMO5/LHW-индуцированный цитокинин активирует транскрипцию ТФ *DOF2.1* в клетках прокамбия в районе ксилемного полюса, контролируя таким образом деление этих клеток (см. рис. 6) (Smet et al., 2019). Помимо клеток ксилемы, источником цитокинина в апикальной меристеме корня может служить дифференцированная флоэма, по которой транспортируется фитогормон (Bishopp et al., 2011b). Однако, согласно результатам математического моделирования, флоэмный цитокинин не является основополагающим источником позиционной информации для формирования бисимметричного паттерна (Murgaro et al., 2014). В то же время высокое содержание цитокинина на флоэмных полюсах организует периклинальные деления прокамбия путем активации генов мобильных ТФ семей-

ства DOF, объединяемых в группу PEAR, в том числе PEAR1, PEAR2, TMO6, DOF6 (Miyashima et al., 2019; Smet et al., 2019). Они создают концентрационный градиент и активируют периклиальные деления прокамбиальных клеток, окружающих флоэмный полус. Транскрипционные факторы класса III HOMEODOMAIN LEU-ZIPPER (HD-ZIP III), домен экспрессии которых располагается в центральной части стелы (см. далее), ограничивают активность ТФ группы PEAR (см. рис. 6). PEAR1 активирует транскрипцию генов семейства HD-ZIP III, формируя таким образом петлю отрицательной обратной связи.

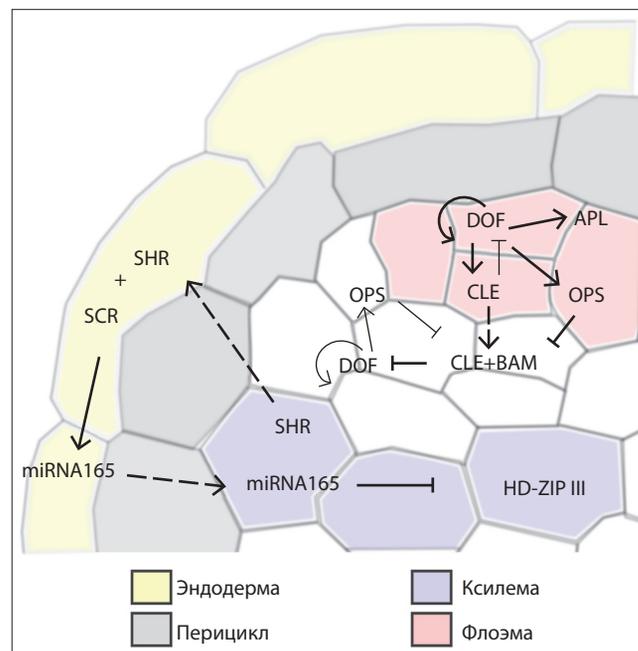
### Преддетерминация прото- и метаксилемы

Как и в эмбриогенезе, ауксин необходим для преддетерминации клеток ксилемы в апикальной меристеме корня. В разграничении прото- и метаксилемы ключевую роль играют мобильные регуляторы SHR и miRNA165/166 (рис. 7). Источником SHR являются клетки ксилемы, откуда ТФ распространяется по направлению к периферии и, достигнув *эндодермы*, активирует ТФ SCARECROW (SCR), в комплексе с которым индуцирует экспрессию miRNA165/166 (Carlsbecker et al., 2010; De Rybel et al., 2016). МикроРНК диффундируют в соседние клетки, формируя градиент концентрации по направлению к центру корня. В стеле miRNA165/166 подавляют экспрессию генов, кодирующих ТФ семейства HD-ZIP III, ограничивая ее центральной областью (см. рис. 7). Таким образом преддетерминируются клетки метаксилемы. Работает ли данный механизм в эмбриогенезе, неизвестно, однако это не исключено. В частности, ТФ PHABULOSA (PHB) семейства HD-ZIP III экспрессируется в корне зародыша (Grigg et al., 2009).

### Преддетерминация элементов флоэмы

К маркерам флоэмы, которые экспрессируются в клетках-предшественниках и индуцируют развитие ткани, относят целый ряд ТФ семейства DOF (Miyashima et al., 2019; Roszak et al., 2021), супрессоры сигнального пути стригулактонов SUPPRESSOR OF MAX2 1-LIKE 3 (SMLX3), SMLX4 и SMLX5 (Wallner et al., 2017), мембранные белки BREVIS RADIX (BRX), OCTOPUS (OPS), OPS-LIKE 2 (OPL2) (Ruiz Sola et al., 2017), фосфатазу COTYLEDON VASCULAR PATTERN 2 (CVP2), ее гомолог CVP2-LIKE 1 (CVL1) (Rodriguez-Villalon et al., 2015) и ТФ ALTERED PHLOEM DEVELOPMENT (APL) (Bonke et al., 2003). Формирование элементов протофлоэмы контролируется путем смещения баланса в сторону индуцирующих или подавляющих механизмов.

Центральным звеном, связывающим противодействующие регуляторные модули, являются специфичные для флоэмы ТФ семейства DOF (Qian et al., 2022). С одной стороны, они индуцируют экспрессию активаторов развития флоэмы, таких как *APL*, а также собственных генов, формируя петлю положительной обратной связи. С другой стороны, DOF индуцируют экспрессию сигнальных пептидов CLE25, CLE26 и CLE45, которые мигрируют в соседние клетки, где запускают ингибирующий регуляторный модуль (см. рис. 7). Взаимодействуя с рецепторами класса BARELY ANY MERISTEM (BAM) и корцепторами CLAVATA3 INSENSITIVE RECEPTOR



**Рис. 7.** Генетический контур, регулирующий преддетерминацию клеток прото- и метаксилемы и флоэмы в корне *A. thaliana*.

Разделение доменов прото- и метаксилемы определяется концентрационным градиентом ТФ семейства HD-ZIP III. Активируемый ауксином мобильный ТФ SHR диффундирует из ксилемы в эндодерму, где, соединяясь с белком SCR, активирует экспрессию miRNA165. МикроРНК, которые разрушают мРНК ТФ семейства HD-ZIP III, образуют градиент концентрации по направлению к центру. В результате локализация ТФ HD-ZIP III ограничивается центральной областью, преддетерминируя клетки метаксилемы. Преддетерминация флоэмы начинается с цитокинин-активируемой экспрессии ТФ семейства DOF. Они индуцируют сигнальные CLE пептиды, которые мигрируют в соседние клетки, взаимодействуют с рецепторами BAM и индуцируют деградацию DOF. Таким образом создается граница между будущей флоэмой и соседними клетками. Штриховая стрелка обозначает перемещение мобильных регуляторов.

KINASE (CIK), CLE пептиды индуцируют деградацию ТФ семейства DOF, подавляя формирование элементов протофлоэмы. Активность рецепторов CLE пептидов может дополнительно регулироваться, например регуляторами MEMBRANE-ASSOCIATED KINASE REGULATOR 5 (MAKR5) (Kang, Hardtke, 2016) или CORYNE (CRN) (Hazak et al., 2017). Транскрипционные факторы семейства DOF активируют экспрессию генов, кодирующих мембранный белок OPS, который подавляет BAM-CIK модуль (Qian et al., 2022). Правильно позиционированные клетки-предшественники протофлоэмы преодолевают ингибиторный эффект CLE пептидов благодаря аккумуляции ТФ DOF, обусловленной функционированием положительной обратной связи. Такой балансирующий механизм позволяет осуществить репаттернинг флоэмы, если развитие протофлоэмы было нарушено (Gujas et al., 2020). Отметим, что развитие метафлоэмы у *A. thaliana*, вероятно, регулируется другими механизмами и не зависит от развития протофлоэмы (Graeff, Hardtke, 2021).

В процессе формирования флоэмы стволовая клетка флоэмы/прокамбия делится антиклинально, продуцируя дочернюю клетку-предшественник прокамбия и ситовидных элементов, которая делится периклиально с образованием клетки прокамбия и предшественника си-

товидных элементов флоэмы. Последняя в результате еще одного периклиального деления дает предшественники протофлоэмы и метафлоэмы (Rodriguez-Villalon, 2016). Клетки, подобные клеткам-спутницам, тоже формируются в результате асимметричного деления, но происходят от другой стволовой клетки. Эти асимметричные клеточные деления контролируются позиционным сигналом – градиентом белка SHR, миграция которого в эндодерму активирует микроРНК miRNA165/166 и вызывает асимметричные деления, продуцирующие клетки, подобные спутницам, тогда как продвижение SHR во флоэму необходимо для асимметричных делений, ведущих к образованию протоксилемы и метаксилемы (Kim et al., 2020).

## Заключение

Сосудистая система корня *A. thaliana* закладывается на самых ранних стадиях эмбриогенеза. При этом предтерминация проваскулярных инициалей подразумевает лабильную, неустойчивую и обратимую спецификацию, сформированную на основе физического расположения клеток в зародыше под воздействием комплексной регуляторной сети транскрипционных факторов. Интересно, что и маркеры ксилемы (например, TMO5, T5L1), и маркеры флоэмы (например, PEAR1, TMO6, DOF6) совместно экспрессируются в проваскулярных инициалах в раннем эмбриогенезе, но далее в проваскулярной меристеме и в проростке в процессе развития сосудистой системы разделяются по разным пространственным доменам.

Разметка сосудистой системы у *A. thaliana* заканчивается к моменту созревания зародыша. Частично генная сеть, контролирующая этот процесс в эмбриогенезе, продолжает поддерживать структуру сосудистой системы растущего корня в проростке и далее в онтогенезе растения. Эти механизмы ассоциированы с локальным накоплением молекулярных маркеров, устойчиво экспрессирующихся в клетках-предшественниках определенного типа. Тем не менее факторы, работающие и в эмбриогенезе, и в постэмбриональном развитии, могут действовать на данных этапах по-разному.

Несмотря на существенный прогресс в понимании молекулярно-генетических механизмов регуляции развития сосудистой системы, достигнутый в последнее время, остается много вопросов, в частности в связи с существованием параллельных путей регуляции и петель прямой связи. Это является хорошей основой для построения математических моделей, анализ которых поможет пролить свет на взаимоотношения между различными регуляторными контурами и их функциональную значимость.

## Список литературы / References

Творогова В.Е., Осипова М.А., Додуева И.Е., Лутова Л.А. Взаимодействие транскрипционных факторов и фитогормонов в регуляции активности меристем у растений. *Экол. генетика*. 2012; 10(3):28-40.  
[Tvorogova V.E., Osipova M.A., Doduyeva I.E., Lutova L.A. Interaction between transcriptional factors and phytohormones in regulation of plant meristems activity. *Ekologicheskaya Genetika = Ecological Genetics*. 2012;10(3):28-40. (in Russian)]  
Agustí J., Blázquez M.A. Plant vascular development: mechanisms and environmental regulation. *Cell. Mol. Life Sci.* 2020;77(19):3711-3728. DOI 10.1007/s00018-020-03496-w.

Bauby H., Divol F., Truernit E., Grandjean O., Palauqui J.C. Proto-phloem differentiation in early *Arabidopsis thaliana* development. *Plant Cell Physiol.* 2007;48(1):97-109. DOI 10.1093/pcp/pc1045.  
Baum S.F., Dubrovsky J.G., Rost T.L. Apical organization and maturation of the cortex and vascular cylinder in *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae) roots. *Am. J. Bot.* 2002;89(6):908-920. DOI 10.3732/ajb.89.6.908.  
Bishopp A., Help H., El-Showk S., Weijers D., Scheres B., Friml J., Benková E., Mähönen A.P., Helariutta Y. A mutually inhibitory interaction between auxin and cytokinin specifies vascular pattern in roots. *Curr. Biol.* 2011a;21(11):917-926. DOI 10.1016/j.cub.2011.04.017.  
Bishopp A., Lehesranta S., Vátén A., Help H., El-Showk S., Scheres B., Helariutta K., Mähönen A.P., Sakakibara H., Helariutta Y. Phloem-transported cytokinin regulates polar auxin transport and maintains vascular pattern in the root meristem. *Curr. Biol.* 2011b;21(11):927-932. DOI 10.1016/j.cub.2011.04.049.  
Bonke M., Thitamadee S., Mähönen A.P., Hauser M.T., Helariutta Y. APL regulates vascular tissue identity in *Arabidopsis*. *Nature.* 2003;426(6963):181-186. DOI 10.1038/nature02100.  
Busse J.S., Evert R.F. Pattern of differentiation of the first vascular elements in the embryo and seedling of *Arabidopsis thaliana*. *Int. J. Plant Sci.* 1999;160(1):1-13. DOI 10.1086/314098.  
Cai Q., Fukushima H., Yamamoto M., Ishii N., Sakamoto T., Kurata T., Motose H., Takahashi T. The SAC51 family plays a central role in thermospermine responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol.* 2016;57(8):1583-1592. DOI 10.1093/pcp/pcw113.  
Carlsbecker A., Lee J.Y., Roberts C.J., Dettmer J., Lehesranta S., Zhou J., Lindgren O., Moreno-Risueno M.A., Vátén A., Thitamadee S., Campilho A., Sebastian J., Bowman J.L., Helariutta Y., Benfey P.N. Cell signalling by microRNA165/6 directs gene dose-dependent root cell fate. *Nature.* 2010;465(7296):316-321. DOI 10.1038/nature08977.  
Cheng C.Y., Kieber J.J. Cytokinin signaling in plants. In: Howell S. (Ed.) *Molecular Biology. The Plant Sciences*. Vol. 2. New York: Springer, 2014;269-289. DOI 10.1007/978-1-4614-7570-5\_14.  
Courtois-Moreau C.L., Pesquet E., Sjödin A., Muñoz L., Bollhöner B., Kaneda M., Samuels L., Jansson S., Tuominen H. A unique program for cell death in xylem fibers of *Populus* stem. *Plant J.* 2009;58(2):260-274. DOI 10.1111/j.1365-313X.2008.03777.x.  
De Rybel B., Adibi M., Breda A.S., Wendrich J.R., Smit M.E., Novák O., Yamaguchi N., Yoshida S., Van Isterdael G., Palovaara J., Nijse B., Boeckschoten M.V., Hooiveld G., Beeckman T., Wagner D., Ljung K., Fleck C., Weijers D. Integration of growth and patterning during vascular tissue formation in *Arabidopsis*. *Science.* 2014a;345(6197):1255215. DOI 10.1126/science.1255215.  
De Rybel B., Breda A.S., Weijers D. Prenatal plumbing – vascular tissue formation in the plant embryo. *Physiol. Plant.* 2014b;151(2):126-133. DOI 10.1111/ppl.12091.  
De Rybel B., Mähönen A.P., Helariutta Y., Weijers D. Plant vascular development: from early specification to differentiation. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2016;17(1):30-40. DOI 10.1038/nrm.2015.6.  
De Rybel B., Möller B., Yoshida S., Grabowicz I., Barbier de Reuille P., Boeren S., Smith R.S., Borst J.W., Weijers D. A bHLH complex controls embryonic vascular tissue establishment and indeterminate growth in *Arabidopsis*. *Dev. Cell.* 2013;24(4):426-437. DOI 10.1016/j.devcel.2012.12.013.  
Desvoyes B., Echevarría C., Gutierrez C. A perspective on cell proliferation kinetics in the root apical meristem. *J. Exp. Bot.* 2021;72(19):6708-6715. DOI 10.1093/jxb/erab303.  
Dolan L., Janmaat K., Willemsen V., Linstead P., Poethig S., Roberts K., Scheres B. Cellular organisation of the *Arabidopsis thaliana* root. *Development.* 1993;119(1):71-84. DOI 10.1242/dev.119.1.71.  
Evert R.F., Eichhorn S.E. *Esau's Plant Anatomy. Meristems, Cells, and Tissues of the Plant Body: Their Structure, Function, and Development*. New Jersey: Wiley, 2006. DOI 10.1002/0470047380.  
Friml J., Vieten A., Sauer M., Weijers D., Schwarz H., Hamann T., Offringa R., Jürgens G. Efflux-dependent auxin gradients establish the

- apical-basal axis of *Arabidopsis*. *Nature*. 2003;426(6963):147-153. DOI 10.1038/nature02085.
- Furuta K.M., Hellmann E., Helariutta Y. Molecular control of cell specification and cell differentiation during procambial development. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2014;65:607-638. DOI 10.1146/annurev-arplant-050213-040306.
- Graeff M., Hardtke C.S. Metaphloem development in the *Arabidopsis* root tip. *Development*. 2021;148(18):dev199766. DOI 10.1242/dev.199766.
- Grigg S.P., Galinha C., Kornet N., Canales C., Scheres B., Tsiantis M. Repression of apical homeobox genes is required for embryonic root development in *Arabidopsis*. *Curr. Biol.* 2009;19(17):1485-1490. DOI 10.1016/j.cub.2009.06.070.
- Gujas B., Kastanaki E., Sturchler A., Cruz T.M.D., Ruiz-Sola M.A., Dreos R., Eicke S., Truemit E., Rodriguez-Villalon A. A reservoir of pluripotent phloem cells safeguards the linear developmental trajectory of protophloem sieve elements. *Curr. Biol.* 2020;30(5):755-766. DOI 10.1016/j.cub.2019.12.043.
- Hazak O., Brandt B., Cattaneo P., Santiago J., Rodriguez-Villalon A., Hothorn M., Hardtke C.S. Perception of root-active CLE peptides requires CORYNE function in the phloem vasculature. *EMBO Rep.* 2017;18(8):1367-1381. DOI 10.15252/embr.201643535.
- Help H., Mähönen A.P., Helariutta Y., Bishopp A. Bisymmetry in the embryonic root is dependent on cotyledon number and position. *Plant Signal. Behav.* 2011;6(11):1837-1840. DOI 10.4161/psb.6.11.17600.
- Heo J.O., Roszak P., Furuta K.M., Helariutta Y. Phloem development: current knowledge and future perspectives. *Am. J. Bot.* 2014;101(9):1393-1402. DOI 10.3732/ajb.1400197.
- Kang Y.H., Hardtke C.S. *Arabidopsis* MAKR5 is a positive effector of BAM3-dependent CLE45 signaling. *EMBO Rep.* 2016;17(8):1145-1154. DOI 10.15252/embr.201642450.
- Katayama H., Iwamoto K., Kariya Y., Asakawa T., Kan T., Fukuda H., Ohashi-Ito K. A negative feedback loop controlling bHLH complexes is involved in vascular cell division and differentiation in the root apical meristem. *Curr. Biol.* 2015;25(23):3144-3150. DOI 10.1016/j.cub.2015.10.051.
- Kim H., Zhou J., Kumar D., Jang G., Ryu K.H., Sebastian J., Miyashima S., Helariutta Y., Lee J.Y. SHORTROOT-mediated intercellular signals coordinate phloem development in *Arabidopsis* roots. *Plant Cell*. 2020;32(5):1519-1535. DOI 10.1105/tpc.19.00455.
- Kuroha T., Tokunaga H., Kojima M., Ueda N., Ishida T., Nagawa S., Fukuda H., Sugimoto K., Sakakibara H. Functional analyses of *LONELY GUY* cytokinin-activating enzymes reveal the importance of the direct activation pathway in *Arabidopsis*. *Plant Cell*. 2009;21(10):3152-3169. DOI 10.1105/tpc.109.068676.
- Lau S., De Smet I., Kolb M., Meinhardt H., Jürgens G. Auxin triggers a genetic switch. *Nat. Cell Biol.* 2011;13(5):611-615. DOI 10.1038/ncb2212.
- Lau S., Slane D., Herud O., Kong J., Jürgens G. Early embryogenesis in flowering plants: setting up the basic body pattern. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2012;63:483-506. DOI 10.1146/annurev-arplant-042811-105507.
- Li X., Wu H.X., Southerton S.G. Comparative genomics reveals conservative evolution of the xylem transcriptome in vascular plants. *BMC Evol. Biol.* 2010;10:190. DOI 10.1186/1471-2148-10-190.
- Lucas W.J., Groover A., Lichtenberger R., Furuta K., Yadav S.R., Helariutta Y., He X.Q., Fukuda H., Kang J., Brady S.M., Patrick J.W., Sperry J., Yoshida A., López-Millán A.F., Grusak M.A., Kachroo P. The plant vascular system: evolution, development and functions. *J. Integr. Plant Biol.* 2013;55(4):294-388. DOI 10.1111/jipb.12041.
- Mähönen A.P., Bishopp A., Higuchi M., Nieminen K.M., Kinoshita K., Törmäkangas K., Ikeda Y., Oka A., Kakimoto T., Helariutta Y. Cytokinin signaling and its inhibitor AHP6 regulate cell fate during vascular development. *Science*. 2006;311(5757):94-98. DOI 10.1126/science.1118875.
- Mähönen A.P., Bonke M., Kauppinen L., Riikonen M., Benfey P.N., Helariutta Y. A novel two-component hybrid molecule regulates vascular morphogenesis of the *Arabidopsis* root. *Genes Dev.* 2000;14(23):2938-2943. DOI 10.1101/gad.189200.
- Marhavý P., Bielach A., Abas L., Abuzeineh A., Duclercq J., Tanaka H., Pařezová M., Petrášek J., Friml J., Kleine-Vehn J., Benková E. Cytokinin modulates endocytic trafficking of PIN1 auxin efflux carrier to control plant organogenesis. *Dev. Cell*. 2011;21(4):796-804. DOI 10.1016/j.devcel.2011.08.014.
- Ménard D., Pesquet E. Cellular interactions during tracheary elements formation and function. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2015;23:109-115. DOI 10.1016/j.pbi.2014.12.001.
- Mironova V., Teale W., Shahriari M., Dawson J., Palme K. The systems biology of auxin in developing embryos. *Trends Plant Sci.* 2017;22(3):225-235. DOI 10.1016/j.tplants.2016.11.010.
- Miyashima S., Roszak P., Sevilem I., Toyokura K., Blob B., Heo J.O., Mellor N., Help-Rinta-Rahko H., Otero S., Smet W., Boekschooten M., Hooiveld G., Hashimoto K., Smetana O., Siligato R., Wallner E.S., Mähönen A.P., Kondo Y., Melnyk C.W., Greb T., Nakajima K., Sozzani R., Bishopp A., De Rybel B., Helariutta Y. Mobile PEAR transcription factors integrate positional cues to prime cambial growth. *Nature*. 2019;565(7740):490-494. DOI 10.1038/s41586-018-0839-y.
- Miyashima S., Sebastian J., Lee J.Y., Helariutta Y. Stem cell function during plant vascular development. *EMBO J.* 2013;32(2):178-193. DOI 10.1038/emboj.2012.301.
- Möller B.K., ten Hove C.A., Xiang D., Williams N., López L.G., Yoshida S., Smit M., Datla R., Weijers D. Auxin response cell-autonomously controls ground tissue initiation in the early *Arabidopsis* embryo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2017;114(12):2533-2539. DOI 10.1073/pnas.1616493114.
- Möller B., Weijers D. Auxin control of embryo patterning. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2009;1(5):a001545. DOI 10.1101/cshperspect.a001545.
- Muraro D., Mellor N., Pound M.P., Help H., Lucas M., Chopard J., Byrne H.M., Godin C., Hodgman T.C., King J.R., Pridmore T.P., Helariutta Y., Bennett M.J., Bishopp A. Integration of hormonal signaling networks and mobile microRNAs is required for vascular patterning in *Arabidopsis* roots. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2014;111(2):857-862. DOI 10.1073/pnas.1221766111.
- Nieminen K., Blomster T., Helariutta Y., Mähönen A.P. Vascular cambium development. *Arabidopsis Book*. 2015;13:e0177. DOI 10.1199/tab.0177.
- Ohashi-Ito K., Bergmann D.C. Regulation of the *Arabidopsis* root vascular initial population by *LONESOME HIGHWAY*. *Development*. 2007;134(16):2959-2968. DOI 10.1242/dev.006296.
- Ohashi-Ito K., Matsukawa M., Fukuda H. An atypical bHLH transcription factor regulates early xylem development downstream of auxin. *Plant Cell Physiol.* 2013;54(3):398-405. DOI 10.1093/pcp/pct013.
- Ohashi-Ito K., Saegusa M., Iwamoto K., Oda Y., Katayama H., Kojima M., Sakakibara H., Fukuda H. A bHLH complex activates vascular cell division via cytokinin action in root apical meristem. *Curr. Biol.* 2014;24(17):2053-2058. DOI 10.1016/j.cub.2014.07.050.
- Palovaara J., Saiga S., Wendrich J.R., van't Wout Hofland N., van Schayck J.P., Hater F., Mutte S., Sjollem J., Boekschooten M., Hooiveld G.J., Weijers D. Transcriptome dynamics revealed by a gene expression atlas of the early *Arabidopsis* embryo. *Nat. Plants*. 2017;3(11):894-904. DOI 10.1038/s41477-017-0035-3.
- Qian P., Song W., Zaizen-Iida M., Kume S., Wang G., Zhang Y., Kinoshita-Tsujimura K., Chai J., Kakimoto T. A Dof-CLE circuit controls phloem organization. *Nat. Plants*. 2022;8(7):817-827. DOI 10.1038/s41477-022-01176-0.
- Ren S.C., Song X.F., Chen W.Q., Lu R., Lucas W.J., Liu C.M. CLE25 peptide regulates phloem initiation in *Arabidopsis* through a CLERK-CLV2 receptor complex. *J. Integr. Plant Biol.* 2019;61(10):1043-1061. DOI 10.1111/jipb.12846.
- Robert H.S., Crhak Khaitova L., Mroue S., Benková E. The importance of localized auxin production for morphogenesis of reproductive organs and embryos in *Arabidopsis*. *J. Exp. Bot.* 2015;66(16):5029-5042. DOI 10.1093/jxb/erv256.

- Rodriguez-Villalon A. Wiring a plant: genetic networks for phloem formation in *Arabidopsis thaliana* roots. *New Phytol.* 2016;210(1): 45-50. DOI 10.1111/nph.13527.
- Rodriguez-Villalon A., Gujas B., van Wijk R., Munnik T., Hardtke C.S. Primary root protophloem differentiation requires balanced phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate levels and systemically affects root branching. *Development.* 2015;142(8):1437-1446. DOI 10.1242/dev.118364.
- Ross-Elliott T.J., Jensen K.H., Haaning K.S., Wager B.M., Knoblauch J., Howell A.H., Mullendore D.L., Monteith A.G., Paultre D., Yan D., Otero S., Bourdon M., Sager R., Lee J.Y., Helariutta Y., Knoblauch M., Oparka K.J. Phloem unloading in *Arabidopsis* roots is convective and regulated by the phloem-pole pericycle. *eLife.* 2017;6:e24125. DOI 10.7554/eLife.24125.
- Roszak P., Heo J.O., Blob B., Toyokura K., Sugiyama Y., de Luis Balaguer M.A., Lau W.W.Y., Hamey F., Cirrone J., Madej E., Bouatta A.M., Wang X., Guichard M., Ursache R., Tavares H., Verstaen K., Wendrich J., Melnyk C.W., Oda Y., Shasha D., Ahnert S.E., Saeys Y., De Rybel B., Heidstra R., Scheres B., Grossmann G., Mähönen A.P., Denninger P., Göttgens B., Sozzani R., Birnbaum K.D., Helariutta Y. Cell-by-cell dissection of phloem development links a maturation gradient to cell specialization. *Science.* 2021;374(6575):eaba5531. DOI 10.1126/science.aba5531.
- Ruiz Sola M.A., Coiro M., Crivelli S., Zeeman S.C., Hansen S.S.K., Truernit E. *OCTOPUS-LIKE 2*, a novel player in *Arabidopsis* root and vascular development, reveals a key role for *OCTOPUS* family genes in root metaphloem sieve tube differentiation. *New Phytol.* 2017;216(4):1191-1204. DOI 10.1111/nph.14751.
- Růžička K., Ursache R., Hejátko J., Helariutta Y. Xylem development – from the cradle to the grave. *New Phytol.* 2015;207(3):519-535. DOI 10.1111/nph.13383.
- Sauer M., Balla J., Luschnig C., Wisniewska J., Reinöhl V., Friml J., Benková E. Canalization of auxin flow by Aux/IAA-ARF-dependent feedback regulation of PIN polarity. *Genes Dev.* 2006;20(20):2902-2911. DOI 10.1101/gad.390806.
- Scarpella E., Meijer A.H. Pattern formation in the vascular system of monocot and dicot plant species. *New Phytol.* 2004;164(2):209-242. DOI 10.1111/j.1469-8137.2004.01191.x.
- Scheres B., Wolkenfelt H., Willemsen V., Terlouw M., Lawson E., Dean C., Weisbeek P. Embryonic origin of the *Arabidopsis* primary root and root meristem initials. *Development.* 1994;120(9):2475-2487. DOI 10.1242/dev.120.9.2475.
- Schlereth A., Möller B., Liu W., Kientz M., Flipse J., Rademacher E.H., Schmid M., Jürgens G., Weijers D. MONOPTEROS controls embryonic root initiation by regulating a mobile transcription factor. *Nature.* 2010;464(7290):913-916. DOI 10.1038/nature08836.
- Seo M., Kim H., Lee J.Y. Information on the move: vascular tissue development in space and time during postembryonic root growth. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2020;57:110-117. DOI 10.1016/j.pbi.2020.08.002.
- Sjolund R.D. The phloem sieve element: a river runs through it. *Plant Cell.* 1997;9(7):1137-1146. DOI 10.1105/tpc.9.7.1137.
- Smet W., Sevilem I., de Luis Balaguer M.A., Wybouw B., Mor E., Miyashima S., Blob B., Roszak P., Jacobs T.B., Boeckschoten M., Hooiveld G., Sozzani R., Helariutta Y., De Rybel B. DOF2.1 controls cytokinin-dependent vascular cell proliferation downstream of TMO5/LHW. *Curr. Biol.* 2019;29(3):520-529.e6. DOI 10.1016/j.cub.2018.12.041.
- Smetana O., Mäkilä R., Lyu M., Amiryousefi A., Sánchez Rodríguez F., Wu M.-F., Solé-Gil A., Leal Gavarrón M., Siligato R., Miyashima S., Roszak P., Blomster T., Reed J.W., Broholm S., Mähönen A.P. High levels of auxin signalling define the stem-cell organizer of the vascular cambium. *Nature.* 2019;565(7740):485-489. DOI 10.1038/s41586-018-0837-0.
- Smit M.E., Llavata-Peris C.I., Roosjen M., van Beijnum H., Novikova D., Levitsky V., Sevilem I., Roszak P., Slane D., Jürgens G., Mironova V., Brady S.M., Weijers D. Specification and regulation of vascular tissue identity in the *Arabidopsis* embryo. *Development.* 2020;147(8):dev186130. DOI 10.1242/dev.186130.
- Smit M.E., Weijers D. The role of auxin signaling in early embryo pattern formation. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2015;28:99-105. DOI 10.1016/j.pbi.2015.10.001.
- Smith R.A., Schuetz M., Roach M., Mansfield S.D., Ellis B., Samuels L. Neighboring parenchyma cells contribute to *Arabidopsis* xylem lignification, while lignification of interfascicular fibers is cell autonomous. *Plant Cell.* 2013;25(10):3988-3999. DOI 10.1105/tpc.113.117176.
- Stadler R., Wright K.M., Lauterbach C., Amon G., Gahrz M., Feuerstein A., Oparka K.J., Sauer N. Expression of GFP-fusions in *Arabidopsis* companion cells reveals non-specific protein trafficking into sieve elements and identifies a novel post-phloem domain in roots. *Plant J.* 2005;41(2):319-331. DOI 10.1111/j.1365-313X.2004.02298.x.
- Tanaka H., Dhonukshe P., Brewer P.B., Friml J. Spatiotemporal asymmetric auxin distribution: a means to coordinate plant development. *Cell. Mol. Life Sci.* 2006;63(23):2738-2754. DOI 10.1007/s00018-006-6116-5.
- Truernit E. Sieve elements and their cell neighbours in the *Arabidopsis* root – roles and relationships. *J. Plant Physiol.* 2022;268:153569. DOI 10.1016/j.jplph.2021.153569.
- Vera-Sirera F., De Rybel B., Úrbez C., Kouklas E., Pesquera M., Álvarez-Mahecha J.C., Minguet E.G., Tuominen H., Carbonell J., Borst J.W., Weijers D., Blázquez M.A. A bHLH-based feedback loop restricts vascular cell proliferation in plants. *Dev. Cell.* 2015;35(4):432-443. DOI 10.1016/j.devcel.2015.10.022.
- Verma S., Attuluri V.P.S., Robert H.S. An essential function for auxin in embryo development. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2021;13(4):a039966. DOI 10.1101/cshperspect.a039966.
- Wabnik K., Robert H.S., Smith R.S., Friml J. Modeling framework for the establishment of the apical-basal embryonic axis in plants. *Curr. Biol.* 2013;23(24):2513-2518. DOI 10.1016/j.cub.2013.10.038.
- Wallner E.S., López-Salmerón V., Belevich I., Poschet G., Jung I., Grünwald K., Sevilem I., Jokitalo E., Hell R., Helariutta Y., Agustí J., Lebovka I., Greb T. Strigolactone- and karrikin-independent SMXL proteins are central regulators of phloem formation. *Curr. Biol.* 2017;27(8):1241-1247. DOI 10.1016/j.cub.2017.03.014.
- Weijers D., Jürgens G. Auxin and embryo axis formation: the ends in sight? *Curr. Opin. Plant Biol.* 2005;8(1):32-37. DOI 10.1016/j.pbi.2004.11.001.
- Yang B., Minne M., Brunoni F., Plačková L., Petřík I., Sun Y., Nolf J., Smet W., Verstaen K., Wendrich J.R., Eekhout T., Hoyerová K., van Isterdael G., Haustraete J., Bishopp A., Farcot E., Novák O., Saeys Y., de Rybel B. Non-cell autonomous and spatiotemporal signalling from a tissue organizer orchestrates root vascular development. *Nat. Plants.* 2021;7(11):1485-1494. DOI 10.1038/s41477-021-01017-6.

**Благодарности.** Работа выполнена при поддержке бюджетного проекта FWNR-2022-0020. Микроскопический анализ осуществлен в рамках проекта, поддержанного Российским научным фондом, грант № 20-14-00140. Авторы благодарны Центру коллективного пользования микроскопического анализа биологических объектов СО РАН (<http://www.bionet.nsc.ru/microscopu/>) за предоставленное оборудование. Авторы выражают глубокую признательность профессору Дольфу Вейерсу за любезно предоставленные репортерные линии *Arabidopsis thaliana*.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 16.09.2022. После доработки 08.11.2022. Принята к публикации 10.11.2022.