


Стволовые клетки растений: единство и многообразие

И.Е. Додуева , В.Е. Творогова, М. Азарахш, М.А. Лебедева, Л.А. Лутова

Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологии, Санкт-Петербург, Россия

Стволовые клетки – недифференцированные клетки многоклеточных организмов, способные делиться, самообновляться и дифференцироваться. Несмотря на существующие различия свойств, у всех многоклеточных организмов можно выделить общие принципы существования стволовых клеток. У растений стволовые клетки находятся в меристемах – структурах, обеспечивающих непрерывный рост растения и предоставляющих материал для образования различных специализированных тканей. Выделяют разнообразие типов меристем: апикальные – побега и корня, латеральные (прокамбий, камбий, перицикл), а также так называемые нерегулярные, развивающиеся при определенных условиях (каллус, меристемы симбиотических клубеньков, спонтанные и патоген-индуцированные опухоли и т. д.). Для каждой из меристем выявлены специфические механизмы регуляции, для которых характерно взаимодействие фитогормонов и основных групп транскрипционных факторов. Активность меристем обусловлена двумя противоположными процессами: пролиферацией и самообновлением стволовых клеток в центральной части меристемы и дифференцировкой специализированных клеток на периферии. Системы WOX-CLAVATA – консервативный для разных меристем регуляторный компонент, который обеспечивает размер и постоянство состава меристемы, а также баланс пролиферации и дифференцировки стволовых клеток. В обзоре рассмотрены сходство и различие принципов организации ниш стволовых клеток у растений и животных, а также в разнообразных меристемах высших растений; особое внимание уделено роли систем WOX-CLAVATA в поддержании меристем и их взаимодействию с другими меристемными регуляторами.

Ключевые слова: стволовые клетки; меристемы; WOX; CLE-пептиды; LRR-киназы; апикальные меристемы; камбий; перицикл; каллус; опухоли; клубеньки.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Додуева И.Е., Творогова В.Е., Азарахш М., Лебедева М.А., Лутова Л.А. Стволовые клетки растений: единство и многообразие. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016;20(4):441-458. DOI 10.18699/VJ16.172

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Dodueva I.E., Tvorogova V.E., Azarakhsh M., Lebedeva M.A., Lutova L.A. Plant stem cells: unity and diversity. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016;20(4):441-458. DOI 10.18699/VJ16.172


УДК 581.1:575.1

Поступила в редакцию 31.05.2016 г.

Принята к публикации 19.07.2016 г.

© АВТОРЫ, 2016

Plant stem cells: unity and diversity

I.E. Dodueva , V.E. Tvorogova, M. Azarakhsh, M.A. Lebedeva, L.A. Lutova

Saint Petersburg State University, Department of Genetics and Biotechnology, Saint Petersburg, Russia

Stem cells are undifferentiated cells of multicellular organisms that can divide, self-renew and differentiate. Despite the differences of properties, general principles of the existence of stem cells can be distinguished in all multicellular organisms. In plants, stem cells are found in meristems – the structures that ensure the continuous growth of plant and provide material for the formation of various specialized tissues. There are numerous types of meristems: shoot and root apical meristems, lateral meristems (procambium, cambium, pericycle), as well as the so-called irregular meristems, developing under certain conditions (callus, meristems of symbiotic nodules, spontaneous and pathogen-induced tumors, etc.). For each of meristems, specific mechanisms of regulation, which are based on the interaction of plant hormones and the major groups of transcription factors, were identified. The activity of meristems is based on two opposite processes: proliferation and self-renewal of stem cells in the central part of the meristem and differentiation of specialized cells in the periphery. WOX-CLAVATA systems are a regulatory component conservative for different meristems and providing consistency of the composition of the meristem, as well as the balance of stem cell proliferation and differentiation. In this review, we will consider the similarities and differences between the principles of organization of stem cell niches in plants and animals, as well as in a variety of meristems of higher plants; special attention will be paid to the role of WOX-CLAVATA systems in maintaining meristems and their interaction with other meristem regulators.

Keywords: stem cells; meristems; WOX; CLE-peptides; LRR-kinases; apical meristems; cambium; pericycle; callus; tumors; nodules.

Стволовые клетки (СК) – недифференцированные клетки многоклеточных организмов, способные делиться посредством митоза, самообновляться, образуя новые СК, и дифференцироваться в специализированные клетки. Термин «стволовые клетки» был предложен в 1909 г. гистологом А. Максимовым, впервые описавшим гемопоэтические стволовые клетки. Помимо способности к самообновлению, СК обладают свойством потентности, т. е. способностью давать потомство в виде определенного количества типов специализированных клеток. В соответствии с этим СК животных делятся на тотипотентные (омнипотентные), способные дифференцироваться в клетки эмбриональных тканей; плюрипотентные – потомки тотипотентных, которые могут давать начало практически всем тканям, за исключением эмбриональных; олигопотентные, которые могут дифференцироваться лишь в некоторые близкие по свойствам типы клеток; и унипотентные, или клетки-предшественницы, дающие начало одному определенному типу клеток. У животных тотипотентны клетки, возникающие после первых делений дробления, клетки бластоциты уже не равноценны и плюрипотентны. Ключевое отличие СК растений от СК животных – тотипотентность всех без исключения СК растений. Более того, тотипотентны у растений практически все живые дифференцированные клетки, которые могут обретать свойства СК в процессе дедифференцировки – это свойство лежит в основе высокой способности растений к регенерации, соматическому эмбриогенезу (СЭ) и вегетативному размножению.

Несмотря на имеющиеся различия свойств, у всех многоклеточных организмов можно выделить общие принципы существования стволовых клеток:

1. Высокая потентность и отсутствие маркеров дифференцировки.

2. Большая продолжительность клеточного цикла. Стволовые клетки делятся очень медленно, длительность клеточного цикла у них порой в десятки раз превышает таковую в окружающих клетках. При нормальных условиях СК животных и растений находятся в основном на стадии G₀. Так, гемопоэтические СК в нормальных условиях делятся всего лишь каждые 145 дней (Trump et al., 2010), длительность клеточного цикла у клеток покоящегося центра корневой меристемы в 6–10 раз больше, чем у окружающих клеток (Иванов, 2007).

3. Способность к самоподдержанию и асимметричным делениям, при которых продуцируется одна СК и одна клетка, вступающая на путь активного деления и затем приступающая к дифференцировке.

4. Существование в специальных компартментах, поставляющих сигналы для поддержания СК, – нишах стволовых клеток. Термин «ниша стволовых клеток» впервые предложил для гемопоэтических СК R. Schofield в 1978 г. Ниша СК определена им как «ограниченное специализированное микроокружение, которое интегрирует и осуществляет межклеточные сигналы для регуляции и поддержания гомеостаза принадлежащих ей стволовых клеток».

Основные функции ниши СК следующие:

- Предотвращение дифференцировки СК путем предохранения их от сигналов дифференцировки, поступающих

из соседних тканей. У животных нишу для определенного типа СК может составлять определенный тип дифференцированных клеток, например, нишу гемопоэтических СК составляют остеобласты, остеокласты, мезенхимальные предшественники, ретикулярные клетки (Trump et al., 2010). У животных ниша СК может оставаться свободной и в дальнейшем ее могут занять новые клетки; пустые ниши могут существовать независимо от СК и при трансплантации в них СК обеспечивать их нормальное функционирование.

- Обеспечение самоподдержания СК и длительного пребывания в состоянии покоя. Эта задача ниши связана не только с поддержанием «запаса» СК, но и с необходимостью ограничения пролиферации СК до минимального уровня, нормально поддерживающего тканевой гомеостаз. Для самоподдержания СК должны получать от своего микроокружения (ниши) определенные сигналы.
- Создание условий для максимальной защищенности СК от неблагоприятных воздействий. Отчасти эти условия обеспечиваются изолирующими свойствами ниши, отчасти – свойствами самих СК: так, в покоящихся гемопоэтических СК высокая устойчивость к повреждениям ДНК достигается сильной индукцией белков p53 и p21 (Mohrin et al., 2010).

Для функционирования ниш СК необходимо множество взаимосвязанных механизмов: межклеточные взаимодействия СК друг с другом и соседними дифференцированными клетками, физико-химическое состояние окружающей среды и т. д. Важную роль играют также транскрипционные факторы (ТФ), регулирующие экспрессию генов в СК: так, функциональность гемопоэтических СК млекопитающих обеспечивают более 50 ТФ, образующих сложную регуляторную сеть (Kosan, Godman, 2016).

Клетка, покинувшая нишу СК, вступает на путь дифференцировки. Кроме того, СК не совсем однородны внутри самой ниши. У животных в результате деления СК дают начало дочерним клеткам с коротким клеточным циклом, которые первое время пребывают в пределах ниши. Эти дочерние клетки в результате нескольких последовательных делений создают популяцию транзиторных клеток, которые затем превращаются в дифференцированные клетки, выполняющие специфические функции в организме. Образование большого количества дифференцированных клеток обеспечивается именно за счет размножения транзиторных клеток при малом числе делений СК. Вместе с тем между СК и транзиторными клетками нет четкой границы, а скорее имеется постепенный переход: транзиторные клетки некоторое время могут сохранять свойства СК и при определенных условиях, например, гибели СК, могут заместить их (так называемые «потенциальные СК») (Wilson et al., 2008).

У растений ключевое значение для поддержания СК также имеют межклеточные взаимодействия, гормоны и ТФ. При этом ниши СК растений во многом отличаются от таковых у животных: они не изолируются от окружающих дифференцированных тканей и не могут существовать пустыми. Более того, если бы СК были изначально обнаружены на растениях – вряд ли первооткрывателем пришел в голову термин «ниша». Пулы СК растений находятся в окружении исключительно своих потом-

ков – дифференцированных клеток, которые поставляют сигналы, регулирующие размер пула СК и стимулирующие дифференцировку, сами же СК поставляют сигнал, предотвращающий дифференцировку клеток. Благодаря наличию градиентов концентрации этих сигналов имеет место самоподдержание СК в центре ниши и дифференцировка их потомков на периферии.

5. Наличие производимых самими СК внутриклеточных сигналов, которые важны для поддержания неограниченной пролиферации и подавления дифференцировки стволовых клеток. Так, для поддержания плюрипотентности эмбриональных СК необходима экспрессия гена, кодирующего ТФ Nanog, для поддержания олигопотентных гемопозитических СК – ТФ Scf/Tal1, Gfi1 и Gfi1b, Gata2 (Kosan, Godman, 2016). У растений поддержание «стволового статуса» клеток достигается экспрессией определенных генов семейства WOX (WUSCHEL-related Homeobox), продуктами которых являются гомеодомен-содержащие ТФ (van der Graaf et al., 2009), речь о них пойдет ниже.

Стволовые клетки растений локализируются в меристемах – структурах, содержащих ниши СК, на периферии которых имеет место дифференцировка специализированных типов клеток. В отличие от животных, тотипотентные СК в меристемах существуют длительное время, поддерживая органогенез в течение всего жизненного цикла. Наибольшее значение для развития растений имеют первичные меристемы, которые закладываются в ходе эмбрионального развития – апикальные меристемы (АМ) побега (ПАМ) и корня (КАМ) и латеральные меристемы (ЛМ) – прокамбий и перицикл. Кроме того, в течение постэмбрионального периода у растений могут возникать вторичные меристемы как из первичных меристем, например закладка КАМ боковых корней из клеток перицикла, камбия из прокамбия, так и из специализированных тканей в результате дедифференцировки, например, развитие придаточных корней из дифференцированных клеток гипокотыля, листа и т. д. К вторичным меристемам относят АМ вторичных побегов, боковых и придаточных корней, ЛМ камбий и феллоген, интеркалярные меристемы междоузлий, а также дополнительные меристемы, возникающие при определенных условиях: раневые меристемы, меристемы клубеньков у бобовых, меристемоподобные структуры, развивающиеся при взаимодействии с некоторыми патогенами, и т. д.

В основе активности меристем лежат два противоположных процесса – самообновление СК в центральной части меристемы и дифференцировка специализированных клеток на периферии. Интересно, что в меристеме количество СК остается, как правило, неизменным, что свидетельствует о существовании механизмов, обеспечивающих баланс их пролиферации и дифференцировки. Вероятно, эти механизмы могут быть как сходными, так и различными в разных меристемах (см. далее).

Как уже было отмечено, в меристемах растений источником сигналов, предотвращающих дифференцировку СК, служат не столько окружающие их дифференцированные ткани, сколько недифференцированные клетки самой меристемы. К числу внешних факторов, регулирующих поддержание меристем, относятся фитогормоны: ауксины, цитокинины (ЦК), гиббереллины, определенные

представители группы СLE-пептидов. При этом одни гормоны поддерживают СК в меристемах, а другие подавляют их активность (Galinha et al., 2009). Более того, один и тот же гормон может оказывать противоположное действие на разные меристемы, например, противоположное действие ауксинов и цитокининов на апикальные меристемы побега и корня.

Специфической особенностью АМ является наличие в центральной зоне меристемы так называемого организующего центра (ОЦ), который служит источником сигнала, подавляющего дифференцировку стволовых клеток. Латеральные меристемы (прокамбий, камбий, перицикл), по-видимому, лишены четко локализованного ОЦ; существование ОЦ в других меристемах остается вопросом дискуссионным. По мере деления дочерние клетки удаляются от ОЦ, оказываясь вне зоны действия сигналов, им продуцируемых, и претерпевают дифференцировку. Потеря функции ОЦ, например, в результате мутаций по ключевым генам-регуляторам его активности, приводит к утрате способности меристемы к самоподдержанию, дифференцировке всех СК и быстрому прекращению активности меристемы.

Организирующий центр представляет собой маленькую группу медленно делящихся клеток, максимально приближающихся по свойствам к СК животных. В числе этих свойств расположение ОЦ (сохранение их в неизменной позиции все время существования), медленное деление, отсутствие признаков дифференцировки (накопления вторичных метаболитов, экспрессии маркерных генов дифференцировки, характерных для окружающих клеток меристемы), способность к асимметричному делению (одна из дочерних клеток остается в ОЦ, вторая выходит за его пределы и приступает к активному делению) (Иванов, 2003, 2007).

В связи с этим возникает терминологический вопрос: какие именно клетки растений следует называть стволовыми? Как правило, в англоязычной литературе при описании структуры АМ рассматривают два самостоятельных понятия: ОЦ и пул СК, прилегающий к нему, т. е. термин «стволовые клетки» (stem cells) применяют в основном к находящимся в меристеме активно делящимся потомкам клеток ОЦ. В то же время гораздо более корректна позиция, при которой клетки ОЦ выделяют в особую категорию СК, сохраняющих «стволовой» статус в более полном, чем у других клеток, виде. По сути, если рассматривать их с точки зрения сходства СК всех многоклеточных организмов, то именно клетки ОЦ следует называть стволовыми в самом строгом значении этого термина, и все клетки корня и стебля, так или иначе, являются их потомками. Для клеток ОЦ даже был предложен термин «апикальные стволовые клетки» (apical stem cells), присутствующие только в АМ (Иванов, 2003, 2007), или «организующие клетки» (organizing cells) (Heidstra, Sabatini, 2014). В то же время потомки клеток ОЦ, составляющие основную часть меристемы, вероятно, можно считать аналогом транзиторных клеток животных.

Несмотря на чрезвычайную значимость ОЦ в морфогенезе растений, их размеры очень невелики: так, ОЦ КАМ, называемый также покоящимся центром, включает в себя не более 1 % клеток меристемы, которые, как и СК

животных, делятся с гораздо меньшей скоростью, чем окружающие их клетки меристемы. Вместе с тем, как и у животных, грань между СК и транзиторными клетками не очень четкая, и уникальные свойства клеток ОЦ зависят не столько от их функциональных особенностей, сколько от их расположения и межклеточных взаимодействий. Так, при разрушении ОЦ КАМ или декапитации корня возможно восстановление ОЦ из окружающих клеток меристемы, уже перешедших к активным делениям, или даже из клеток, недавно покинувших меристему (Feldman, 1976; Иванов, 2003). Более того, при определенных условиях: для обеспечения процессов регенерации, соматического эмбриогенеза (СЭ), вегетативного размножения – у растений могут закладываться новые АМ, содержащие ОЦ, не только из существующих меристем, но и из дифференцированных тканей разных органов (Ikeuchi et al., 2013; Jiang et al., 2015).

Согласно имеющимся данным, поддержание свойств ОЦ группой клеток обусловлено экспрессией определенных генов семейства *WOX*, которые кодируют гомеодоменсодержащие ТФ. Так, в ПАМ эти процессы регулирует ТФ WUS (Mayer et al., 1998), в КАМ – ТФ WOX5 (Sarkar et al., 2007). Экспрессия этих генов начинается при закладке ПАМ и КАМ в эмбриогенезе и строго приурочена к ОЦ в постэмбриональном развитии (Haescker et al., 2004). Возникновение ОЦ *de novo* из потомков дифференцированных клеток, например, при СЭ, также связано с возобновлением экспрессии генов *WUS* и *WOX5* в определенных группах клеток, дающих начало ПАМ и КАМ соматических эмбрионов (Su et al., 2015). Следует отметить, что, помимо КАМ, ТФ WOX5 регулирует также поддержание разных типов меристем, развивающихся из перичикла и являющихся модифицированными вариантами бокового корня (меристемы клубеньков, некоторые типы опухолей и каллуса) (Sugimoto et al., 2010; Виноградова и др., 2015; Lebedeva et al., 2015). Еще один ТФ этой группы – WOX4 – регулирует развитие ЛМ прокампбия и камбия (Ji et al., 2010). В контроле активности меристем первостепенное значение имеет взаимодействие ТФ WOX с системами типа CLAVATA, которые включают в себя короткие сигнальные пептиды, относящиеся к семейству пептидных фитогормонов CLE, и их рецепторы – киназы семейства LRR-RLK (Leucine-Rich Repeats Receptor-Like Kinase). Сравнительно недавно было показано, что в регуляции поддержания СК в меристемах участвует еще одна группа ТФ – HAM (Hairy Meristem), относящиеся к семейству GRAS. Транскрипционные факторы HAM связываются с ТФ WOX, будучи их кофакторами. Как и в случае WOX, для каждой из меристем характерен свой узкоспецифичный ТФ группы HAM: в ПАМ это HAM1, взаимодействующий с WUS, в КАМ – HAM2, специфично связывающийся с WOX5, в камбии – HAM4, взаимодействующий с WOX4 (Zhou et al., 2015).

Всего у арабидопсиса отмечено 15 ТФ WOX, которые можно разделить на три клады: древнюю, или WOX13-кладу (белки WOX10, 13 и 14), представители которой имеются у всех растений начиная с зеленых водорослей, промежуточную, или WOX9-кладу (WOX8, 9, 11 и 12), которая в эволюции растений впервые возникла у плаунов, и современную, или WUS-кладу (ТФ WUS и WOX1-7) –

особенность исключительно семенных растений (van der Graaf et al., 2009). Наиболее изучены ТФ WOX современной клады, представители которой играют центральную роль в контроле активности меристем (WUS, WOX4, WOX5) (Mayer et al., 1998; Sarkar et al., 2007; Ji et al., 2010), ранних этапов эмбриогенеза (WOX2) (Breuninger et al., 2008), развития листа (WOX1, 3) и органов цветка (WOX6) (Lin et al., 2013). Транскрипционные факторы промежуточной клады WOX8 и WOX9 являются регуляторами первичной разметки зародыша (Breuninger et al., 2008; Ueda et al., 2011), функция большинства белков древней клады WOX неизвестна, для некоторых из них показана функция в контроле активности ЛМ (WOX14) (Etchells et al., 2012). Транскрипционные факторы WOX, по крайней мере относящиеся к современной ветви, могут выполнять функции как транскрипционных активаторов, так и репрессоров (Leibfried et al., 2005; Yadav et al., 2011), для этого у ТФ WOX имеются соответствующие домены с разными функциями: WUS-бокс, который способен взаимодействовать с корепрессорами транскрипции группы TOPLESS (Zhang et al., 2014), EAR-домен, также работающий как транскрипционный репрессор, и кислый домен, который предположительно нужен для активации транскрипции (Dolzblasz et al., 2016). WUS-бокс, а также EAR и/или кислый домен присутствуют у всех представителей современной ветви ТФ WOX. Недавно было показано, что для поддержания ОЦ ПАМ посредством ТФ WUS необходим функционально активный WUS-бокс, тогда как другие домены белка WUS для этого не важны (Dolzblasz et al., 2016). Модифицированный WUS-бокс есть также у представителей промежуточной ветви ТФ WOX, тогда как у белков древней клады он отсутствует; вероятно, в связи с этим ТФ промежуточной и древней клады, поставленные под промотор гена *WUS*, не могут компенсировать дефекты развития у мутанта *wus*. Вместе с тем комплементировать мутацию *wus* не может также один из белков, относящихся к современной ветви ТФ WOX, – WOX4, который регулирует развитие камбия (Dolzblasz et al., 2016). Возможно, с таким функциональным отличием WOX4 от других ТФ WOX современной ветви связана «нестандартная» организация WOX-CLAVATA-зависимой регуляции активности камбия (см. об этом далее).

Помимо *WOX* генов, важное значение для закладки и поддержания ОЦ имеют экспрессия целого ряда других «меристем-специфичных» генов, кодирующих ТФ разных групп. В данном обзоре мы рассмотрим механизмы закладки и поддержания СК в разных типах меристем, уделив особое внимание вторичным меристемам, которые в настоящее время менее изучены, чем апикальные меристемы побега и корня.

Апикальные меристемы побега и корня: разные меристемы на едином фундаменте

Апикальные меристемы побега и корня обеспечивают рост осевых органов – побега и главного корня – и формирование надземной и подземной части растения. По своей организации ПАМ и КАМ характеризуются рядом сходных черт, в особенности по принципам регуляции. Апикальная меристема побега включает в себя корпус

и туники, которая состоит из трех слоев клеток: L1, L2 и L3. В ПАМ можно выделить две зоны: центральную, которая включает в себя ОЦ и небольшое количество лежащих над ним недифференцированных клеток трех слоев туники, и периферическую, которая состоит из быстро делящихся клеток, дающих начало разным типам тканей. На периферии ПАМ формируются зачатки латеральных органов – листьев или цветков, в зависимости от стадии развития. В ПАМ наиболее ярко видна более высокая потенция СК растений в сравнении с СК животных: у животных СК в постэмбриональном периоде дают начало определенному типу тканей, тогда как на периферии ПАМ СК образуют новые органы (листья и цветки), состоящие из разных типов тканей.

В отличие от ПАМ, судьба клеток КАМ более детерминирована. Апикальная меристема корня включает в себя организующий, или покоящийся центр (ПЦ) – очень небольшую группу медленно делящихся стволовых клеток (у арабидопсиса ПЦ состоит всего из четырех клеток) – и клетки проксимальной меристемы – инициалы, которые делятся с большей скоростью. В результате последовательных делений клеток-инициал образуются линейные ряды клеток, дающие начало основным тканям корня: эпидерме, проводящим тканям, первичной коре, эндодерме, а также колумелле. В отличие от ПАМ, инициация латеральных органов корня – боковых корней – у большинства видов растений происходит вне апикальной меристемы, в вышележащей дифференцированной зоне и включает в себя реинициацию деления клеток периклики (Dubrovsky et al., 2000).

Размеры ОЦ ПАМ и КАМ, а также размеры этих меристем в целом и количество клеток в них остаются, как правило, постоянными. Существуют механизмы, поддерживающие состав АМ в неизменном виде. Во-первых, это механизмы, связанные с контролем клеточного цикла. Так, известно, что в АМ поддерживается определенный уровень экспрессии гена *RETINOBLASTOMA RELATED (RBR)*; в КАМ белок RBR взаимодействует с ТФ SCR (*SCARECROW*), отвечающим за спецификацию ПЦ (Cruz-Ramirez et al., 2013). На примере ПЦ КАМ показано, что в репрессии деления СК также участвует убиквитин-лигазный комплекс APC/C (anaphase-promoting complex), который регулирует деградацию циклинов (Vanstraelen et al., 2009). Другую группу регуляторов размера и структуры меристем представляют системы CLAVATA, речь о которых пойдет далее.

Как было отмечено выше, поддержание ОЦ ПАМ и КАМ определяется экспрессией в их клетках генов, кодирующих ТФ семейства *WOX* – в ПАМ это ген *WUS (WUSCHEL)*, в КАМ – его паралог *WOX5*. В связи с этим предполагают, что функция ТФ *WUS* и *WOX5* связана с предотвращением дифференцировки клеток ОЦ и соседних СК. Гены *WUS* и *WOX5* активируются в зародыше на стадии 16 клеток (Haesker et al., 2004) и с самого начала имеют зеркальный характер экспрессии: экспрессия *WUS* – маркер апикального домена зародыша, тогда как экспрессия *WOX5* – маркер базального домена. В постэмбриональном развитии растений экспрессия генов *WUS* и *WOX5* ограничивается в ОЦ ПАМ (*WUS*) и КАМ (*WOX5*) (Haesker et al., 2004). Опыты по взаим-

ному замещению генов *WUS* и *WOX5*, когда экспрессию гена *WUS* индуцировали в корне мутантов *wox5* и наоборот, показали, что эти гены имеют идентичные функции в контроле пулов СК ПАМ и КАМ и могут замещать друг друга, восстанавливая нормальный фенотип у мутантов (Sarkar et al., 2007).

Экспрессия *WOX5* и *WUS* ограничена в пределах ОЦ благодаря действию систем CLAVATA. В ПАМ функцию ограничителей экспрессии *WUS* выполняют рецепторные протеинкиназы семейства LRR RLK (Leucin Reach Repeats containing Receptor-Like Kinases) CLAVATA1 и CLAVATA2/CORYNE и их лиганд – CLE-пептид CLAVATA3 (CLV3) (Schoof et al., 2000); в КАМ это рецепторная киназа из того же семейства ACR4 и ее лиганд – пептид CLE40 (Stahl et al., 2009). Связывая лиганд (CLE-пептид), рецепторы CLV1 и CLV2/CRN в ПАМ и ACR4 в КАМ запускают сигнальный путь, приводящий к репрессии транскрипции генов *WUS* и *WOX5* соответственно. К числу выявленных компонентов этого сигнального пути относятся малая ГТФаза ROP (Trotochaud et al., 1999), MAP-киназный каскад (Betsuyaku et al., 2011), а также протеинфосфатазы семейства 2C POLTERGEIST (POL) и POLTERGEIST-LIKE1 (PLL1) (Gagne, Clark, 2010). Структура и размеры АМ во многом обусловлены взаимной регуляцией ТФ *WOX* и компонентов систем CLAVATA, а также областями экспрессии кодирующих их генов. Гены *CLV3* в побегах и *CLE40* в корне экспрессируются непосредственно над и под клетками ОЦ соответственно: *CLV3* – в слоях L1–L3 центральной зоны ПАМ (Kondo et al., 2006), *CLE40* – в инициалах колумеллы (Hobe et al., 2003). Оттуда CLE-пептиды могут перемещаться в лежащие ближе к центру слои клеток, подавляя в них экспрессию *WUS* и *WOX5*. Зоны экспрессии генов, кодирующих рецепторы CLV1 и ACR4, частично перекрываясь с зонами экспрессии *CLE40* и *WOX* (Lenhard, Laux, 2003; Stahl et al., 2009), образуют барьер на пути перемещающихся пептидов CLV3 и CLE40: большая часть CLE-пептидов связывается рецепторами, не доходя до ОЦ, – таким образом, сохраняется свободная от CLE-пептидов область экспрессии генов *WOX*. В свою очередь ТФ *WUS* непосредственно активируют экспрессию гена *CLV3*, образуя негативную обратную связь в регуляции организующего центра. Для этого белок *WUS* перемещается в вышележащие слои клеток туники (Yadav et al., 2011); перемещения белка *WOX5* показаны не были, но, вероятно, он также может это продлевать.

Помимо гена *CLV3*, к прямым мишеням ТФ *WUS* относится ген, кодирующий рецептор CLV1, – *WUS* негативно регулирует его экспрессию (Busch et al., 2010), а также гены, участвующие в регуляции передачи сигнала цитокининов и ауксинов. Так, ТФ *WUS* напрямую подавляет экспрессию генов *ARR5* и *ARR7* – репрессоров ответа на цитокинин (Leibfried et al., 2005). Мишени ТФ *WOX5* в настоящий момент неизвестны.

Помимо консервативных механизмов регуляции АМ, устроенных по сходному принципу (*WOX-CLAVATA + АМ*), существуют также регуляторные механизмы, специфичные для каждой из АМ, они отвечают за закладку АМ и спецификацию их ОЦ. В ПАМ это ТФ *KNOX* класса I (*KNOX I*), представители которых важны для закладки

ПАМ в эмбриогенезе (STM), пролиферации клеток ПАМ (STM, KNAT1, KNAT2, KNAT6), формирования листовых примордиев (KNAT1) и границы между примордиями и ПАМ (KNAT6), развитии соцветия и органов цветка (KNAT1, KNAT2) (Chuck et al., 1996; Long et al., 1996; Rautot et al., 2001; Belles-Boix et al., 2006). В регуляции развития КАМ важную роль играют взаимодействующие ТФ SCR и SHR (SHORTROOT) из семейства GRAS, необходимые для спецификации ОЦ КАМ и правильного формирования радиальной структуры корня (Cruz-Ramírez et al., 2013), а также ТФ PLT (PLETHORA) из семейства AP2, создающие максимум концентрации ауксина в КАМ (Blilou et al., 2005), что также требуется для спецификации ОЦ апикальной меристемы корня.

Итак, ПАМ и КАМ обладают рядом сходных черт, главная из которых наличие организующего центра. Поддержание ОЦ и их размер регулируется системами WOX-CLAVATA, которые в ПАМ и КАМ также организованы аналогично и зависят от активности генов-паралогов *WUS* и *WOX5* (Sarkar et al., 2007). Известно, что у голосеменных *WUS* и *WOX5* представлены проортологом *WUS/WOX5*, который экспрессируется в ПАМ и КАМ и необходим для развития как корня, так и побега, а также закладки их латеральных органов. В опытах по сверхэкспрессии проортолога *WUS/WOX5* у покрытосеменных, например у гена *GgWUS/WOX5* из *Gnetum gnemon* у арабидопсиса, показано развитие *clv*-подобного фенотипа с увеличением размера ПАМ и количества латеральных органов побега, что позволяет предположить сходство функций *WUS/WOX5* и *WUS* (Nardmann et al., 2009). Окончательно *WUS* и *WOX5* разделились только у покрытосеменных, вероятно, в результате дубликации гена *WUS/WOX5* у их предков (Nardmann, Weig, 2013).

Прокамбий и камбий: наше дело – строить тело

Прокамбий и камбий, называемые также сосудистыми меристемами или меристемами проводящей системы (*vascular meristems*), относятся к латеральным меристемам. В зрелых осевых органах – стеблях и корнях – ЛМ располагаются цилиндрическими слоями и на поперечных срезах имеют вид колец. Помимо прокамбия и камбия, в ЛМ входят перицикл и пробковый камбий (феллоген). Основная функция сосудистых меристем – построение проводящей системы (ПС), которая обеспечивает транспорт воды и минералов из корня к вышележащим частям растений и органических соединений в обратном направлении. Кроме того, сосудистые меристемы обеспечивают формирование большого числа проводящих элементов и паренхимы, что составляет основу роста осевых органов растений в толщину (вторичного утолщения) (Додуева и др., 2014).

Прокамбий закладывается в эмбриогенезе на стадии сердечка и дает начало первичной флоэме, а несколько позже – первичной ксилеме (Scheres et al., 1994). В постэмбриональном развитии из него образуются ткани проводящих пучков стебля. Камбий, как вторичная ЛМ, закладывается из прокамбия и перицикла; он обеспечивает образование вторичных проводящих элементов и таким образом играет основную роль в интенсивном вторичном

утолщении при развитии стеблей древесных растений, а также при формировании запасяющих корней.

Центральная часть камбия содержит слой или несколько слоев недифференцированных стволовых клеток. Анализ транскрипционного профиля клеток камбия у тополя позволил установить, что на периферии камбий содержит материнские клетки флоэмы с наружной стороны и материнские клетки ксилемы с внутренней, которые претерпевают асимметричные деления в антиклинальном направлении (Schrader et al., 2004). На периферии камбия потомки этих клеток дифференцируются в двух направлениях: к центру откладывает клетки вторичной ксилемы, а к периферии – вторичной флоэмы.

В закладке зачатков проводящей системы в эмбриогенезе растений центральную роль играет взаимодействие ЦК и ауксинов. При этом ЦК необходимы для закладки прокамбия и флоэмы, тогда как ауксины необходимы для дифференцировки ксилемы, а также, вероятно, влияют на пространственную организацию прокамбия (Bishopp et al., 2011a, b). В дальнейшем асимметричное деление клеток камбия обеспечено, главным образом, CLE-пептидами группы В (у арабидопсиса – CLE41/44 и CLE42) и их рецептором TDR/PXY (TDIF RECEPTOR/PHLOEM INTERCALATED WITH XYLEM) (Hirakawa et al., 2008).

Расположение разных типов тканей в стеле корня определяют цитокинины и ауксины (Bishopp et al., 2011a). Тот факт, что к наиболее серьезным последствиям приводит не повышение концентрации фитогормонов, а нарушение их рецепции и передачи сигнала, свидетельствует о том, что для развития проводящей системы важно возникновение не столько максимумов концентрации гормонов, сколько зон чувствительности к ним. Так, в корне проростка арабидопсиса цитокинины сосредоточены во флоэме и прокамбии, у мутантов по рецепции и передаче сигнала ЦК сокращается количество клеток проводящей системы, а оставшиеся дифференцируются по пути протоксилемы. Например, к такому эффекту приводит мутация *wol* (*wooden leg*), затрагивающая один из цитокининовых рецепторов – АНК4/WOL (Mähönen et al., 2000). Максимальная интенсивность ответа на ЦК, определенная по активности промотора ЦК-регулируемого гена ARR5, в стеле корня у проростка арабидопсиса сосредоточена в клетках прокамбия, прилегающих к тяжу первичной ксилемы (Bishopp et al., 2011a). Мишенью действия ЦК в этой области служат PIN белки, определяющие направление полярного транспорта ауксинов, – PIN3 (в клетках перицикла, прилегающих к протоксилеме) и PIN7 (в прокамбии и флоэме) (Bishopp et al., 2011b). Предполагают, что такое расположение PIN белков может направлять ауксин в центральный тяж ксилемы. Там ауксин индуцирует экспрессию белка-репрессора цитокининового ответа AHP6 (ARABIDOPSIS HISTIDINE PHOSPHOTRANSFER PROTEIN 6), исключая ответ на цитокинины из зоны ксилемы (Mähönen et al., 2006). Другая группа регуляторов, которая определяет расположение тканей в стеле корня арабидопсиса, – ТФ HD-ZIPIII, ограничивающие размер прокамбия за счет стимуляции дифференцировки ксилемы (Pegems et al., 2010). Их экспрессия, в свою очередь, ограничена микроРНК 165/166, которые синтезируются

в эндодерме под влиянием взаимодействующих ТФ SCR и SHR (Carlsbecker et al., 2010).

Основную роль в поддержании камбия и правильной ориентации деления его клеток играет система CLAVATA и *WOX* гены. Первый CLE-пептид, участвующий в контроле активности камбия, – TDIF (Tracheary element Differentiation Inhibitory Factor) – был выделен из культуры *Zinnia elegans* как фактор, стимулирующий пролиферацию камбиальных клеток и ингибирующий дифференцировку сосудистых элементов. Впоследствии TDIF-пептид, состоящий из 12 аминокислот, оказался идентичен CLE-пептидам группы В арабидопсиса CLE41 и CLE44; сходной функцией обладает также близкий к ним пептид CLE42 (Ito et al., 2006). Синтезируясь во флоэме, пептиды CLE41 и CLE44 перемещаются в камбий, где связываются с рецептором – CLV1-подобной киназой TDR/PXY на поверхности его клеток и запускают сигнальный путь, приводящий к активации пролиферации клеток камбия и подавлению их дифференцировки по ксилемному пути (Hirakawa et al., 2010).

К идентифицированным мишеням этого сигнального пути относится ген *WOX4*. Основная функция ТФ *WOX4* – поддержание стволовых клеток прокамбия и камбия (Hirakawa et al., 2010; Ji et al., 2010a); описана также роль этого ТФ в развитии сложных листьев у томата (Ji et al., 2010b) и поддержании вегетативной ПАМ риса (Ohmori et al., 2013). Уровень экспрессии гена *WOX4* быстро повышается в ответ на обработку TDIF пептидами. Таким образом, пептиды TDIF, они же CLE-пептиды группы В, в отличие от CLE-пептидов группы А, могут быть позитивными регуляторами экспрессии *WOX* генов. Для этого необходимо наличие активного рецептора TDR/PXY, т. е. ген *WOX4* служит прямой мишенью действия CLAVATA-подобной системы TDIF-TDR (Hirakawa et al., 2010). В многочисленных опытах с мутантами было показано, что активность ТФ *WOX4* необходима для поддержания TDIF-зависимой пролиферации клеток камбия, тогда как для TDIF-зависимого подавления дифференцировки сосудов требуется только активность TDR/PXY, но не *WOX4*. Таким образом, функция ТФ *WOX4* в поддержании камбия связана с контролем деления СК, а подавление их дифференцировки по ксилемному пути обеспечивают другие, не идентифицированные регуляторы, также находящиеся под контролем TDIF-TDR (Hirakawa et al., 2010). Транскрипционный фактор *WOX14*, относящийся к древней ветви *WOX* белков, может частично перекрывать функции *WOX4* в контроле деления клеток камбия. Ген *WOX14* экспрессируется не только в клетках камбия, но и в молодых сосудах; его экспрессия усиливается в ответ на обработку пептидами TDIF и снижается у мутантов *tdr/pxy*, т. е., по-видимому, он служит мишенью той же системы TDIF-TDR (Etchells et al., 2013).

Для обеспечения нормальной ориентации деления клеток камбия важно создание градиента концентрации пептидов TDIF, в норме такой градиент создается при поступлении TDIF из флоэмы. Изменение градиента концентрации TDIF в камбии, например, при экспрессии генов *CLE41* или *CLE42* под конститутивным или ксилем-специфичным промотором, приводит к изменению ориентации клеточных делений и нарушению упорядо-

ченной структуры стелы («перемешиванию» зон ксилемы, флоэмы и камбия) (Etchells et al., 2010). Сходный эффект вызывает мутация *tdr/pxy* (phloem intercalated with xylem) с потерей функции рецептора TDIF пептидов (Fisher, Turner, 2007).

Помимо TDIF пептидов, в поддержании камбия и развитии ПС могут участвовать также некоторые CLE-пептиды группы А. Действительно, обработка растений CLE-пептидами группы А или сверхэкспрессия их генов усиливает влияние сверхэкспрессии гена *CLE41* или экзогенного добавления пептидов TDIF на пролиферацию клеток камбия. Интересно, что совместный стимулирующий эффект *CLE41* и *CLE6* на пролиферацию клеток камбия усиливается при повышении концентрации ауксинов (Whitford et al., 2008). С другой стороны, CLE-пептиды группы А сами могут влиять на развитие камбия и проводящей системы. Так, сверхэкспрессия гена *CLE19 Arabidopsis* и *Brassica* стимулирует дифференцировку ксилемы, что приводит к образованию ксилемных «островков», не связанных с сосудистой системой растения, в органах цветка (Fiers et al., 2004).

Помимо TDR/PXY, в контроле активности камбия и развитии ПС могут участвовать и другие рецепторы LRR-RLK. Так, рецепторная киназа ER (ERECTA), относящаяся к тому же семейству белков, что TDR/PXY и другие рецепторы CLE-пептидов: мутация *er* нарушает структуру стелы, а также резко усиливает эффект мутации *tdr/pxy* (Etchells et al., 2012). Для нормального развития ПС также важна активность рецепторных киназ MOL1 (MORE LATERAL GROWTH1) и RUL (REDUCED IN LATERAL GROWTH1), которая наблюдается в зоне, не совпадающей с областью активности *CLE41/PXY* – во флоэме и прилегающем к ней слое клеток камбия (Agusti et al., 2011). Предполагают, что киназа MOL1 выполняет функции, противоположные TDR/PXY: по крайней мере, экспрессия именно гена *MOL1*, но не гена *TDR* в ПАМ приводит к восстановлению нормального фенотипа у мутанта *chl1*. Мутация *moll* подавляет экспрессию генов, задействованных в ответе на этилен и жасмоновую кислоту, которые играют роль во вторичном росте осевых органов (Gursansky et al., 2016). Лиганды и мишени для киназ ER, RUL и MOL в камбии не обнаружены.

Итак, в развитии камбия и ПС также важна система *WOX-CLAVATA*, включающая в себя CLE-пептиды группы В (TDIF), определенные CLE-пептиды группы А, рецепторные киназы TDR/PXY, ER и MOL и ТФ *WOX4* и *WOX14*. Точные функции в развитии ПС выявлены не для всех перечисленных компонентов: в настоящее время последовательность действия определена только в цепочке TDIF/CLE-В – TDR/PXY – *WOX4*, роль прочих регуляторов в этой системе и их взаимодействие еще предстоит изучить. В камбии, как и в других латеральных меристемах, не было обнаружено никаких аналогов организующего центра, препятствующих дифференцировке окружающих стволовых клеток. Тем не менее, несмотря на активную дифференцировку элементов ПС на периферии камбия, эта меристема способна к длительному поддержанию активности в течение всего жизненного цикла растений, в отличие от прочих латеральных меристем. Возможно, причина этого заключается в «нетрадицион-

ной» организации системы *WOX-CLAVATA*: в отличие от АМ, в камбии восприятие *CLE*-пептидов рецептором *TDR/PXY* приводит не к репрессии, а к активации гена *WOX4*.

Перицикл: практически неограниченные возможности

Перицикл – латеральная меристема, представленная одним или несколькими слоями недифференцированных клеток, окружающими стелу корня и иногда – стебля. Как и любая другая меристема, перицикл может поддерживать себя за счет пролиферации недифференцированных клеток, а также давать начало другим типам тканей. В качестве ЛМ перицикл функционирует недолго – в молодых осевых органах; позже в стебле и в верхней части корня клетки перицикла утрачивают способность к делению и полностью дифференцируются (Veeskman et al., 2001). Уникальной особенностью перицикла является способность давать начало не только специализированным типам тканей, таким как склеренхимные волокна, но и разнообразным типам меристем: апикальным (меристемы боковых корней (БК) и клубеньков), латеральным (камбий, феллоген), а также различным меристемоподобным структурам (калусы, опухоли) (Додуева и др., 2014). Несмотря на морфологическое единообразие перицикла, его клетки не идентичны функционально и делятся на два типа: клетки, прилежащие к ксилеме (ксилемный перицикл), которые обладают высокой способностью к клеточным делениям и используются для закладки других типов меристем, и клетки, прилежащие к флоэме (флоэмный перицикл), которые, как правило, не имеют этой способности (Parizot et al., 2008; Atta et al., 2009). Среди многочисленных ТФ, активных в корне, участие в регуляции развития перицикла было установлено только для ТФ *SHR* и *SCR* (Parizot et al., 2012). Ген *SHR* экспрессируется в клетках стелы, затем белок *SHR* перемещается в перицикл и эндодерму, где образует гетеродимер с ТФ *SCR*. Мишенью димера *SHR/SCR* служит ряд генов, экспрессирующихся в эндодерме и перицикле, в частности, сам ген *SCR* (Cui et al., 2011); ген, кодирующий микроРНК 165/166, которые регулируют уровень транскриптов генов *HD-ZIP3* (Emery et al., 2003); а также гены, регулирующие баланс ауксинов и ЦК в стеле (Okushima et al., 2005; Cui et al., 2011).

Генетический контроль поддержания и развития перицикла изучен значительно хуже, чем контроль развития других первичных меристем. Тем не менее в контроле развития перицикла участвует ряд регуляторов, характерных для КАМ, например ТФ *SCR* и *SHR*. По всей видимости, в перицикле не экспрессируются *WOX* гены, по крайней мере, у этой меристемы не выявлено «своего» гена *WOX*, определяющего ее идентичность. В то же время на ранних стадиях индукции других типов меристем из перицикла имеет место активация экспрессии *WOX* генов, как правило, *WOX5* (в БК, клубеньках, каллусе, спонтанных и патоген-индуцированных опухолях) (Gonzali et al., 2005; Atta et al., 2009; Osipova et al., 2012; Виноградова и др., 2015; Lebedeva et al., 2015), но иногда и других: *WUS* при регенерации побегообразованием (Atta et al., 2009), *WOX4* при закладке межпучкового камбия (Suer et al., 2011).

Способность перицикла к индукции БК и поддержанию меристематической активности в течение длительного времени после выхода из КАМ позволила выдвинуть предположение о функции перицикла как «расширенной апикальной меристеме корня» (De Smet et al., 2006). Гены, отвечающие за поддержание КАМ, такие как *WOX5* и *ACR4*, начинают экспрессироваться на самых ранних этапах развития примордия боковых корней, при первых асимметричных делениях клеток перицикла (Gonzali et al., 2005; Stahl et al., 2009). Закладка БК находится под сложным генетическим контролем, в основе которого лежит активация КАМ-специфичных ТФ под действием ауксина. Одной из мишеней действия индолилуксусной кислоты (ИУК) в клетках-основательницах БК служит ген *GATA23*, кодирующий ТФ: этот ген начинает экспрессироваться в клетках ксилемного перицикла перед их первым асимметричным антиклинальным делением – событием, с которым связывают момент инициации боковых корней. Снижение уровня транскрипта *GATA23* путем РНК-интерференции уменьшает число БК, что подтверждает необходимость этого ТФ для их закладки (De Rybel et al., 2010). В отличие от ауксинов, цитокинины подавляют образование БК, оказывая влияние на экспрессию генов *PIN*, кодирующих переносчики ауксинов. При этом ЦК регулируют расположение БК вдоль оси главного корня: показано, что в клетках перицикла, прилегающих к примордию БК, имеет место активация биосинтеза цитокининов, что не позволяет новым примордиям БК закладываться в непосредственной близости от «старого» (Chang et al., 2015).

Клетки ксилемного перицикла, компетентные к закладке БК, также играют первостепенную роль в процессах каллусогенеза и регенерации: во многом эти процессы сходны с процессом закладки БК, но отличаются по набором генов, экспрессия которых индуцируется в клетках перицикла при определенных условиях культивирования (Atta et al., 2009). Так, при культивировании корневых и гипокотильных эксплантов арабидопсиса на среде для индукции каллуса за счет деления клеток ксилемного перицикла на эксплантах формируются выросты, по своей морфологии сходные с примордиями БК. В этих структурах активируется ауксин-чувствительный промотор *DR5*, наблюдается экспрессия генов, характерных для БК: *WOX5*, *PLT1*, *SCR*, *SHR*, *GL2* и т.д. (Atta et al., 2009; Sugimoto et al., 2010). Перенос эксплантов на среду с ауксином вызывает завершение дифференцировки примордиев каллуса и превращение их в БК. При переносе же эксплантов на среду для индукции побегов (с повышенным содержанием ЦК) примордии каллуса превращаются в побеги – в них снижаются уровни экспрессии корнеспецифичных генов и начинают активироваться гены, характерные для ПАМ, такие как *WUS* и *STM*. Культивация корневых и гипокотильных эксплантов арабидопсиса на богатой ЦК среде для побегообразования (минуя среду для каллусогенеза) может приводить к прямой закладке побеговых меристем из клеток ксилемного перицикла (Atta et al., 2009).

Недавно показано, что сходные с каллусогенезом процессы происходят при образовании опухолей у растений, в частности опухолей на корнях инбредных линий

редиса (Lebedeva et al., 2015), корончатого галла, индуцированного *A. tumefaciens* (Виноградова и др., 2015), и корневых галлов, индуцированных паразитическими нематодами (De Almeida Engler, Gheysen, 2013). Так, при изучении механизмов агробактериальной трансформации растительных клеток установлено, что перенос и интеграция Т-ДНК в корневых эксплантах происходят преимущественно в клетки перидермы: частота успешной регенерации трансгенных растений при трансформации корневых эксплантов арабидопсиса *A. tumefaciens* составляет в среднем 0,5 %, тогда как доля трансформации и успешной регенерации трансгенных растений из клеток перидермы достигает 50 %, что свидетельствует о высокой компетенции клеток именно этой ЛМ к агробактериальной трансформации (De Buck et al., 2000). Ранние стадии развития спонтанных опухолей и корончатого галла морфологически и по распределению делящихся клеток сходны с ранними стадиями индукции БК и включают в себя формирование максимумов концентрации ауксинов и индукцию экспрессии гена *WOX5* (Виноградова и др., 2015; Lebedeva et al., 2015).

Кроме этого, перидерма участвует в формировании меристем симбиотических клубеньков при взаимодействии бобовых растений с ризобиями. Согласно наиболее распространенной гипотезе, клубеньки возникли в ходе эволюции на основе модификации программы развития боковых корней (Mathesius et al., 2000). Инициация клеточных делений при образовании примордиев клубеньков так же, как и при закладке примордиев БК, как правило, происходит в ксилемном перидерме. В системный контроль (авторегуляцию) развития клубеньков и БК могут быть вовлечены общие компоненты: у мутантов с повышенным количеством клубеньков (суперклубенькообразующих) также увеличено и число боковых корней (Searle et al., 2003). Другая особенность, сближающая клубеньки с БК, – наличие у него собственной меристемы. Показано, что важную роль в закладке и поддержании клубеньковых меристем играет ген *WOX5* – регулятор покоящегося центра КАМ (Осипова и др., 2011; Osipova et al., 2012), в меристеме клубеньков этот же ген служит мишенью системы авторегуляции клубенькообразования, включающей в себя определенные CLE-пептиды и их рецепторы (Mortier et al., 2010).

Каллусообразование и соматический эмбриогенез: творческий подход к размножению

Тотипотентность и высокая пластичность программ развития – давно известные особенности растительных клеток. Одним из следствий такой пластичности является способность растений продуцировать каллус – массу недифференцированных клеток, способных поэтому дать начало целому растению. Изначально каллусом называли растительную ткань, образующуюся на поверхности ран побегов или черенков в результате деления ближайших живых клеток, для такого раневого каллуса характерно накопление каллозы, откуда и пошло его название (Ikeuchi et al., 2013). В настоящее время этот термин применяют для обозначения любой недифференцированной массы растительных клеток, например, образование каллуса можно

индуцировать *in vitro* при культивировании эксплантов на среде, содержащей ауксины и цитокинины (Skoog, Miller, 1957). В соответствии с наличием или отсутствием признаков вторичной дифференцировки выделяют несколько типов каллуса: недифференцированный компактный; корнеобразующий (rooty callus, регенерирующий корни); побегообразующий (shooty callus, регенерирующий побеги); эмбрионный (embryonic callus, способный к СЭ) (Jiang et al., 2015).

Несмотря на длительное изучение, о молекулярных механизмах каллусообразования известно немного. Тем не менее исследователи сходятся во мнении, что каллус по сути представляет собой аномальную меристемоподобную ткань, способную давать начало нормальным меристемам (при регенерации побегов и корней из каллуса, при соматическом эмбриогенезе) (Ikeuchi et al., 2013; Jiang et al., 2015). В свою очередь, каллус часто индуцируется из существующих меристем, например, каллус на гипокотильных и корневых эксплантах арабидопсиса развивается из клеток ксилемного перидермы (Atta et al., 2009) или возникает за счет дедифференцировки клеток (Jiang et al., 2015).

В многочисленных исследованиях показано, что образование каллуса можно вызвать, манипулируя уровнями экспрессии генов-регуляторов клеточного цикла, таких как *E2F* (*E2 PROMOTER BINDING FACTOR*) и *DP* (*DIMERIZATION PARTNER*), которые кодируют взаимодействующие ТФ, необходимые для контроля репликации ДНК (Kosugi, Ohashi, 2003), *KRP* (*KIP-RELATED PROTEIN*), кодирующие ингибиторы циклин-зависимых киназ (Anzola et al., 2010). Усиленное каллусообразование характерно также для линий со сверхэкспрессией генов, кодирующих необходимые для развития листа ТФ LBD (*LATERAL ORGAN BOUNDARIES DOMAIN*) и ауксин-зависимые ТФ ARF7 и ARF19 (*AUXIN RESPONSE FACTOR7* и 19), мишенью действия которых служат вышеупомянутые гены E2F и DP (Okushima et al., 2007; Berckmans et al., 2011). В регуляции уровня белков KRP важную роль играет белок-транскрипционный адаптор PRZ1 (*PROPORZ1*); потеря его функции у мутанта арабидопсиса *prz1* вызывает спонтанное каллусообразование, сопровождающееся снижением уровней экспрессии генов KRP (Sieberer et al., 2003). В свою очередь, активация некоторых других ТФ вызывает спонтанный переход к соматическому эмбриогенезу и формирование эмбрионного каллуса (см. ниже).

Поимо нормального зиготического эмбриогенеза, для растений характерен соматический эмбриогенез – процесс, при котором незиготические клетки формируют эмбрионы, которые затем проходят через характерные стадии эмбрионального развития, в конечном итоге формируя новое растение (Chen et al., 2009). Многие виды растений хранят в себе потенциальную способность к СЭ, однако у большинства из них для образования соматических эмбрионов необходимы специфические условия *in vitro*, которые обычно включают в себя обработку гормонами и развитие эмбрионного каллуса. Соматический эмбриогенез имеет множество черт, присущих зиготическому эмбриогенезу (ЗЭ). В ходе развития соматического эмбриона обычно можно различить морфологические стадии, ха-

раактерные для развития эмбриона из зиготы (Zimmerman, 1993). В частности, важным этапом СЭ является закладка пулов стволовых клеток первичных меристем – ПАМ, КАМ и прокамбия. Необходимое условие нормального морфогенеза зародыша при ЗЭ и СЭ – создание локальных максимумов концентрации ауксина, которые возникают благодаря активности белков полярного транспорта ауксинов PIN; в частности, показано участие гена *PIN1* и его гомологов в СЭ у *A. thaliana* (Su et al., 2009) и *Picea abies* (Palovaara et al., 2010).

Установлено, что большое количество генов, работающих в ходе СЭ, функционирует и при зиготическом эмбриогенезе. Среди них, например, гены, кодирующие ТФ разных групп: LEC1 (LEAFY COTYLEDON1) (Lotan et al., 1998), LEC2 (LEAFY COTYLEDON2) и FUS3 (FUSCA3), BABY BOOM (Boutillier et al., 2002), AGAMOUS-LIKE15 (Zheng et al., 2013). В число регуляторов СЭ также входят рецепторная киназа SERK (Somatic Embryogenesis Receptor Kinase) из семейства LRR-RLK (Santiago et al., 2013); точные функции ее в СЭ не выяснены.

К числу общих регуляторов СЭ и ЗЭ можно также отнести ТФ семейства WOX. У арабидопсиса на самых ранних стадиях ЗЭ функционируют ТФ WOX2, WOX8 и WOX9, которые определяют первичную «разметку» зародыша; на более поздних стадиях в клетках, которые впоследствии дадут начало ПАМ и КАМ, экспрессируются гены *WUS* и *WOX5* (Haecker et al., 2004). Вполне вероятно, что в контроле СЭ участвуют те же транскрипционные факторы. Так, исследование СЭ у винограда показало, что практически все гены *WOX* у этого вида экспрессируются в ходе каллусообразования, при этом экспрессия некоторых из них ассоциирована с немэмбриогенными каллусами, а другие экспрессируются как раз в ходе соматического эмбриогенеза. У арабидопсиса экспрессия гена *WUS* служит маркером и стимулятором СЭ и участвует в закладке ПАМ у соматических зародышей (Chen et al., 2009; Su et al., 2015); ген *WOX5*, в свою очередь, участвует в закладке КАМ соматических зародышей (Su et al., 2015). На разных видах растений показано, что в соматических зародышах также экспрессируются гомологи генов *WOX2* (Gambino et al., 2011; Klimaszewska et al., 2011; Rupps et al., 2016) и *WOX9* (Kurdyukov et al., 2014). Гомологи генов *WOX1* и *WOX3*, функционирующих в ходе развития листа, активируются на поздних стадиях СЭ у *Vitis vinifera* (Gambino et al., 2011). Экспрессия в ходе каллусообразования и/или СЭ у разных видов растений отмечена также для генов *WOX11*, *12* и *13* (Gambino et al., 2011; Liu et al., 2014).

Галлы и опухоли: меристемы под ключ – заселение сегодня

Для образования опухолей у растений характерно повышение количества (гиперплазия) и размера (гипертрофия) клеток. Часто у растений выделяют собственно опухоли (каллусоподобные структуры с неограниченным ростом и слабо выраженными признаками вторичной дифференцировки, как правило, способные к гормон-независимому росту при изоляции от растения) и галлы (ограниченно растущие структуры, состоящие в основном из дифференцированных тканей, неспособных к самоподдержанию) (Dodueva et al., 2007). Встречаются спонтанные

опухоли, возникающие у растений с определенным генотипом, и патоген-индуцированные, развивающиеся под влиянием паразитов, как правило, за счет изменения гормонального баланса в тканях растения под влиянием паразита. Большая часть индуцированных опухолей – это структурированные, ограниченно растущие галлы; большая часть спонтанных – это типичные опухоли. Классический пример спонтанных опухолей представляют опухоли у мутантов арабидопсиса с нарушенной клеточной адгезией (*tsd*, *pas*, *prz*) (Frank et al., 2002; Sieberer et al., 2003; Krupková, Schmülling, 2009), у трансгенных растений со сверхэкспрессией CHRК-киназы, точные функции которой в контроле деления клеток неизвестны (Lee et al., 2004), а также у инбредных линий, в частности опухолевых линий редиса (Бузовкина, Лутова, 2007). Патоген-индуцированные опухоли могут быть вызваны бактериями, грибами, нематодами, простейшими, членистоногими. Промежуточное положение занимают опухолевые межвидовые гибриды табака: с одной стороны, это спонтанные опухоли, с другой – для их индукции нужна экспрессия последовательностей, полученных некоторыми из родительских видов от агробактерий в результате горизонтального переноса генов (Intrieri, Buiatti, 2001).

Индукция галлов и опухолей на растении-хозяине – один из оригинальных способов колонизации растений биотрофными патогенами, при котором аномальное разрастание растительных тканей создает для патогена хорошо защищенную среду обитания с доступным источником пищи. Все это достигается «репрограммированием» зараженных растительных клеток под действием сигналов, поступающих от патогена. Как правило, такими сигналами служат фитогормоны, способность к синтезу и секреции которых составляет характерную особенность опухоль-индуцирующих организмов. Результатом такого репрограммирования становится создание пула делящихся недифференцированных клеток (фактически – новой меристемы), который заселяется патогеном и затем в той или иной степени приобретает черты вторичной дифференцировки. Рядом исследователей показано сходство опухолей с нормальными меристемами на основе гистологического строения (Ullrich, Aloni, 2000; Виноградова и др., 2015; Lebedeva et al., 2015) и экспрессии генов меристемных регуляторов (Лутова и др., 2008; Testone et al., 2008; Виноградова и др., 2015; Lebedeva et al., 2015). Интересно, что некоторые изученные типы опухолей растений происходят из перицикла – плюрипотентной латеральной меристемы (De Buck et al., 2000; Lebedeva et al., 2015).

Наиболее изученный опухоль-индуцирующий фитопатоген – возбудитель корончатого галла *Agrobacterium tumefaciens* – вызывает встраивание в геном растений Т-ДНК, участка плазмиды, содержащего гены биосинтеза опинов и гены фитогормонального метаболизма. Экспрессия последних приводит к формированию опухоли, известной под названием «корончатый галл», у широкого круга видов растений (Garfinkel et al., 1981). Корончатый галл представляет собой типичную опухоль, которая характеризуется быстрой пролиферацией клеток, способностью к гормон-независимому росту и полной потерей способности к регенерации (Ahuja, 1998). Мо-

лодой корончатый галл возникает как недифференцированная масса клеток, в дальнейшем может происходить вторичная дифференцировка некоторых типов тканей, например покровных и флоэмы (Ullrich, Aloni, 2000; Veselov et al., 2003). Гистологический анализ опухолей, индуцированных *A. tumefaciens* на горохе, позволил выявить в них меристематические структуры, внешне напоминающие КАМ и содержащие мелкие клетки с плотной цитоплазмой. Анализ распределения пролиферирующих клеток в опухолях с помощью меченого аналога тимидина 5-этинил-2-дезоксинуридина, показал, что пролиферирующие клетки в опухолях сосредоточены в таких меристемоподобных структурах (Виноградова и др., 2015).

Известны еще несколько видов галлообразующих бактерий – *Pseudomonas savastanoi*, *Pantoea agglomerans*, *Rhodococcus fascians*, которые вызывают формирование галлов с ограниченным ростом. Индукция галлов этими бактериями также тесно связана с их способностью к биосинтезу ЦК и ауксинов, которая определяется плазмидными или хромосомными генами; гены биосинтеза фитогормонов у галлообразующих бактерий демонстрируют высокий уровень структурного и функционального сходства друг с другом и с генами *A. tumefaciens*, но не способны встраиваться в геном хозяина (Glass, Kosuge, 1988; Vandeputte et al., 2005; Chalupowicz et al., 2009).

К индукции опухолевого роста у растений также приводит заражение некоторыми видами фитопатогенных грибов, среди них наиболее изучены головневые грибы порядка Ustilaginales: например, *Ustilago maydis* вызывает образование опухолей на початках кукурузы, *U. esculenta* образует крупные «съедобные галлы» на злаке *Zizania latifolia* (Chung, Tzeng, 2004). Многие грибы, паразитирующие на растениях (не только галлообразующие), способны к биосинтезу и секреции фитогормонов (Chung, Tzeng, 2004). Так, у *U. maydis* были идентифицированы гены *iad1* и *iad2*, кодирующие ферменты биосинтеза ИУК (Reineke et al., 2008). У спорыньи (*Claviceps purpurea*) идентифицирован уникальный ген биосинтеза цитокининов *SpIPT-LOG*, который кодирует гибридный фермент, объединяющий в себе функциональные домены белков IPT и LOG, катализирующих два последовательных этапа биосинтеза цитокининов (Hinsch et al., 2015). Способностью к секреции ИУК и ЦК обладает также опухоль-индуцирующее простейшее *Plasmodiophora brassica* – возбудитель капустной килы (Devos et al., 2006), а также ряд галлоиндуцирующих членистоногих – клещей (De Lillo, Monfreda, 2004) и насекомых (Tooker, Helms, 2014). Тем не менее гены, регулирующие биосинтез ауксинов и ЦК, у этих фитопаразитов пока не обнаружены. Некоторые исследователи считают, что синтез фитогормонов у этих организмов осуществляется симбиотическими бактериями (Giron, Glevages, 2014). Повышение содержания эндогенных фитогормонов, в особенности ИУК и ЦК, было показано также для спонтанных опухолей разных типов (Ahuja, 1998; Matveeva et al., 2004; Lee et al., 2004).

Возможной мишенью действия ауксинов и ЦК при индукции опухолей становятся гены, кодирующие меристем-специфичные транскрипционные факторы. Так, при заражении растений паразитическим грибом *Taphrina deformans*, вызывающим болезнь курчавых листьев персика

и сливы, имеет место активация экспрессии гена *KNOPE1*, ортолога гена *KNAT1* арабидопсиса, причем зоны его экспрессии совпадают с участками пролиферации клеток палисадной паренхимы (Testone et al., 2008). Активация экспрессии гена *RsKNAT1* отмечена также при развитии спонтанных опухолей на корнях инбредных линий редиса (Лутова и др., 2008). Недавно было показано, что при росте корончатого галла на горохе имеет место активация экспрессии гена *WOX5* (Виноградова и др., 2015). В спонтанных опухолях у инбредных линий редиса также имеет место активация экспрессии *WOX5*, причем экспрессия этого гена сосредоточена в зонах пролиферации клеток и прилегает к максимумам концентрации ауксина (Lebedeva et al., 2015). Еще один меристем-специфичный ген, активирующийся при развитии опухолей, – *SHR*, активация экспрессии которого обнаружена в опухолях, индуцированных агробактерией (Виноградова и др., 2015).

Несколько иная стратегия индукции опухолей на растении-хозяине свойственна нематодам родов *Globodera*, *Heterodera* и *Meloidogyne*, паразитирующим на корнях. Образование таких опухолей индуцируется при впрыскивании в ткани корня секрета глоточных желез нематоды, который содержит белки, очень сходные с растительными CLE-пептидами (Wang et al., 2005; Huang et al., 2006). Некоторые CLE-пептиды нематод идеально «мимикрируют» под CLE-пептиды растений. Например, CLE-домен пептида HsCLE2 *Heterodera schachtii* идентичен таковому у корнеспецифичных пептидов AtCLE5 и AtCLE6 арабидопсиса (Wang et al., 2011). Установлено, что «нематодные» CLE-пептиды, наряду с «растительными», проходят пост-трансляционную модификацию в растительной клетке (Chen et al., 2015) и взаимодействуют с одним из растительных рецепторов CLE-пептидов – CLV2/CRN (Replogle et al., 2011). О высоком функциональном сходстве «нематодных» и «растительных» CLE-пептидов свидетельствует выявленная у ряда «нематодных» CLE способность комплементировать мутацию *clv3* у арабидопсиса (Lu et al., 2009). Вместе с тем CLE-пептиды могут участвовать в развитии других типов опухолей. Так, активация экспрессии гена *CLE41*, кодирующего CLE-пептид, необходимый для поддержания камбия, выявлена при изучении транскриптома опухолей, индуцированных агробактерией (А.А. Ткаченко, устное сообщение).

Меристемы клубеньков: совместное предприятие по разработке природных ресурсов

К вторичным меристемам, которые формируются *de novo* при определенных условиях, можно отнести меристемы специализированных органов, таких как азотфиксирующие клубеньки, образующиеся на корнях бобовых растений при симбиозе с бактериями-ризобиями. Клубеньки образуются в результате сигнального обмена между растением-хозяином, выделяющим флавоноиды, и ризобиями, секретирующими сигнальные молекулы липохитоолигосахаридной природы Nod-факторы. Восприятие бактериальных сигнальных молекул растением вызывает ряд морфологических и физиологических изменений в корневых волосках, за счет чего становится возможной бактериальная колонизация растения-хозяина.

Одновременно с этим Nod-факторы дистанционно стимулируют клетки перицикла, вызывая в них перестройку цитоскелета и пролиферацию клеток ксилемного перицикла и прилежащих к ним клеток коры (Timmers et al., 1999). У бобовых растений с недетерминированным типом клубеньков из клеток перицикла закладывается самоподдерживающаяся меристема, благодаря активности которой продолжается рост клубенька (Crespi, Frugier, 2008).

У бобовых растений существует так называемая система авторегуляции клубенькообразования (англ. autoregulation of nodulation, AON), осуществляющая системный контроль развития клубеньков на уровне целого организма. AON представляет собой механизм, посредством которого растение ингибирует дальнейшее формирование клубеньков на корнях после того, как уже образовались несколько первых клубеньков. В AON у всех изученных бобовых вовлечена CLV1-подобная рецепторная киназа (Ока-Кига, Kawaguchi, 2006); мутации в гене CLV1-подобной киназы (*MtSUNN Medicago truncatula/ LjHAR1 Lotus japonicus/ PsSYM29 Pisum sativum/ GmNARK Glicine max*), приводят к суперклубенькообразующему фенотипу (Searle et al., 2003; Schnabel et al., 2005; Okamoto et al., 2009). Как показали эксперименты с прививками, суперклубенькообразующий фенотип таких мутантов определяется побеговой частью растения, таким образом, CLV1-подобная киназа, вовлеченная в AON, функционирует в побеге. AON инициируется в ходе развития клубеньков синтезом сигнала, поступающего из корней (так называемый сигнал 'Q'), который представляет собой CLE-пептиды: у модельных бобовых растений (*M. truncatula, L. japonicus*) были выявлены CLE гены (*MtCLE13, LjCLE-RS1, LjCLE-RS2*), экспрессия которых специфично активируется при клубенькообразовании (Okamoto et al., 2009; Mortier et al., 2010). Сверхэкспрессия таких CLE генов приводила к системному подавлению клубенькообразования у растений дикого типа, но не у суперклубенькообразующих мутантов с потерей функции CLV1-подобного рецептора *LjHAR1/ MtSUNN/ PsSYM29* (Okamoto et al., 2009; Mortier et al., 2010; Osipova et al., 2012). На основании таких данных предполагают, что CLE пептиды *MtCLE13, LjCLE-RS1, LjCLE-RS2* являются лигандами LRR-RLK, вовлеченных в AON, однако к настоящему времени перемещение этих CLE-пептидов из корней в наземную часть растений не было подтверждено. Восприятие поступивших из клубенька CLE-пептидов локализованной в листьях CLV1-подобной киназой, по-видимому, приводит к формированию нового сигнала, поступающего из побега и подавляющего развитие клубеньков, однако его природа не идентифицирована.

Мишенью сигнального пути, индуцируемого CLE-пептидами в AON, служит ген *WOX5*. Экспрессия этого гена индуцируется при закладке клубенька и в дальнейшем сохраняется на ранних стадиях его развития в клубеньковой меристеме. У суперклубенькообразующего мутанта люцерны *sunn* с потерей функции CLV1-подобного рецептора, участвующего в AON, наблюдается повышенный уровень экспрессии *MtWOX5*, и зона экспрессии этого гена значительно расширена (Осипова и др., 2011; Osipova et al., 2012). Ген *WOX5* в меристеме клубенька, так же, как и в КАМ, активируется ауксином. По-видимому,

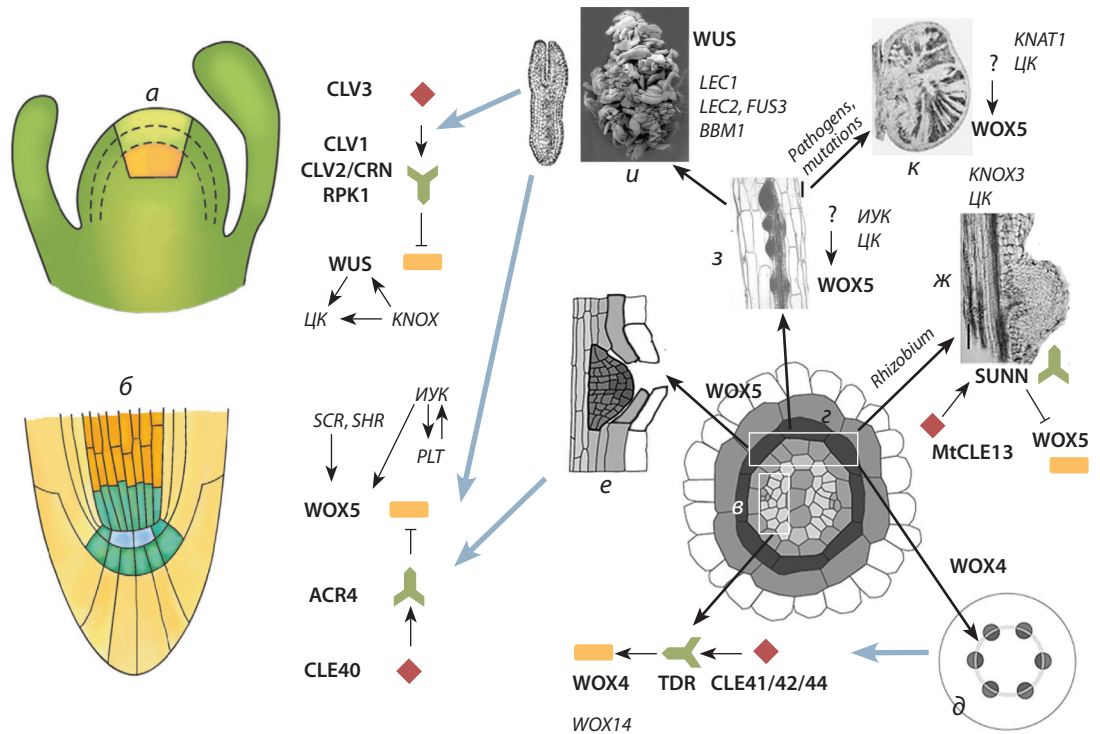
накопление ауксина в клубеньке также контролируется механизмами AON: так, у мутанта *har1* с нарушением в гене CLV1-подобного рецептора, вовлеченного в AON, расширена зона с повышенным содержанием ауксина в кортикальных клетках (Suzaki et al., 2012).

Другой важный регулятор развития меристемы клубенька, помимо взаимодействующей с ауксином системы WOX-CLAVATA, лежащей в основе AON, – цитокинины и взаимодействующие с ними ТФ KNOX. Потеря функции цитокининовых рецепторов у мутантов *L. japonicus* и *M. truncatula* приводит к подавлению клубенькообразования. В то же время при развитии клубеньков у разных видов бобовых выявлена активация транскрипции генов, кодирующих компоненты передачи сигнала цитокининов – регуляторов ответа (RR) А и В типов (Gonzalez-Rizzo et al., 2006; Plet et al., 2011; Azarakhsh et al., 2015). Была установлена роль белков *MtRR1* (RR В-типа) и *MtRR4* (RR А-типа) в качестве позитивного и негативного регуляторов клубенькообразования, соответственно (Op den Camp et al., 2011; Ariel et al., 2012), причем ТФ *MtRR1* непосредственно контролирует экспрессию гена *MtRR4*, образуя негативную обратную связь в этой системе (Ariel et al., 2012). Недавно показано, что в ответ на инокуляцию ризобиями в перицикле корня гороха и люцерны имеет место активация экспрессии определенных генов, регулирующих два последовательных этапа биосинтеза ЦК, – *IPT* и *LOG* (Azarakhsh et al., 2015). Сходная динамика экспрессии была отмечена для генов *MtKNOX3* и *PsKNOX3*, кодирующих гомеодомен-содержащие ТФ KNOX класса II. Более того, сверхэкспрессия генов *KNOX3* приводит к образованию спонтанных клубеньков без инокуляции ризобиями, что свидетельствует о роли ТФ KNOX3 как важнейшего регулятора развития клубеньков. Поскольку в ПАМ гены *IPT* и *LOG* служат прямыми мишенями ТФ семейства KNOX (Jasinski et al., 2005; Yanai et al., 2005), вероятно, что ТФ KNOX3 могут быть вовлечены в активацию цитокининового ответа в меристеме клубенька. Действительно, сверхэкспрессия *MtKNOX3* приводит к активации экспрессии генов *MtLOG2* и *MtIPT3* в «пустых» клубеньках, спонтанно развивающихся на корнях, а РНК-интерференция этого гена – к значительному снижению уровней их экспрессии (Azarakhsh et al., 2015).

Заключение

Итак, в настоящее время выявлены механизмы поддержания СК в разных типах меристем. Как легко убедиться, наиболее консервативны из них механизмы, которые зависят от систем WOX-CLAVATA. Их работа поддерживает определенное количество клеток в меристемах, а также баланс пролиферации и дифференцировки СК. Роль систем WOX-CLAVATA и других регуляторов развития в поддержании разных типов меристем представлена на рисунке.

Ранее считалось, что гены *WOX* обуславливают также идентичность меристем. Действительно, эктопическая экспрессия гена *WUS* в корнях трансгенных растений приводила к формированию на кончиках корней зеленых листоподобных структур, содержащих специфичные для листьев типы клеток (трихомы, клетки устьиц); у ряда растений происходило формирование на кончике корня



Системы WOX-CLAVATA и другие регуляторы разных типов меристем.

a – в побеговой апикальной меристеме (ПАМ) экспрессия гена *WUS* в организующем центре негативно регулируется пептидом *CLV3* при его связывании с рецепторными протеинкиназами *CLV1*, *CLV2/CRN* и *RPK1*; транскрипционные факторы *KNOX* и цитокинины необходимы для закладки ПАМ в эмбриогенезе и поддержания пролиферации ее клеток в постэмбриональном развитии; *б* – в корневой апикальной меристеме (КАМ) экспрессия гена *WOX5* в организующем центре негативно регулируется пептидом *CLE40* при его связывании с рецепторной протеинкиназой *ACR4*; для закладки организующего центра КАМ необходимы ауксины и активность транскрипционных факторов *SCR* и *SHR*, транскрипционные факторы *PLT* необходимы для создания локального максимума концентрации ауксинов; *в* – в прокамии (а затем в камбии) экспрессия гена *WOX4* позитивно регулируется пептидами *CLE41/42/44* при их связывании с рецепторной протеинкиназой *TDR*. *з* – в перицикле не экспрессируются «собственные» *WOX* гены, но при определенных условиях и при индукции экспрессии определенных генов *WOX* он может давать начало разным типам меристем: *д* – межпучковому камбию (в котором экспрессируется *WOX4*); *е* – боковым корням (которые регулируются системой *CLE40-ACR4-WOX5*); *ж* – меристемам симбиотических клубеньков (которые у люцерны регулируются специфичным для клубеньков пептидом *CLE13*, его рецептором *SUNN*, работающим в листьях, и геном *WOX5*); *з* – примордиям каллуса, в которых экспрессируется *WOX5* и которые могут дать начало соматическим эмбрионам, например, при экспрессии *WUS* (*u*), или опухолям, в которых также экспрессируется *WOX5* (*к*).

◆ – CLE-пептид; Y – Рецептор CLE-пептидов; □ – ТФ WOX; WOX5 – компоненты систем WOX-CLAVATA; KNOX – другие регуляторы.

зеленого каллуса, содержащего дифференцирующиеся эмбриониды (Gallois et al., 2004). Но в то же время «взаимозаменяемость» *WOX5* и *WUS*, продемонстрированная в опытах А.К. Sarkar с коллегами (2007), а также активность *WOX5* в разнообразных типах меристем «корневого» происхождения (КАМ, каллус, опухоли, клубеньки) не подтверждают эту точку зрения. Можно высказать спекулятивное предположение о том, что гены *WOX* определяют идентичность не каждого типа меристем, а целой их группы. Например, на три больших группы можно разделить все вышеперечисленные меристемы:

Апикальные меристемы (ПАМ, КАМ) и похожие на них (клубеньковые меристемы, опухоли, примордии каллуса). Характерная особенность АМ и близких к ним меристем – наличие либо четко организованных ОЦ, либо хотя бы локализованных компактных групп стволовых клеток. Регулируются они близкими генами

WUS и *WOX5*, которые в эволюции разделились сравнительно недавно (Nardmann et al., 2009). Наличие ОЦ или сходных с ними структур, в которых экспрессируются *WUS/WOX5*, обеспечивает АМ долгую жизнь, но, как только экспрессия *WUS/WOX5* прекращается, весь запас СК такой АМ дифференцируется в специализированные клетки, и она прекращает существование.

Латеральные меристемы (прокамбий, камбий). Их особенность – отсутствие ОЦ или чего-то на них похожего. Пул СК в ЛМ представляет собой очень протяженную и однородную группу (слой); долговременная жизнь таких меристем определяется не сохранением «ядра» (ОЦ), как в АМ, а другим принципом регуляции: система *CLAVATA*, работающая в ЛМ, не ограничивает, а поддерживает стволовые клетки. Регулятор ЛМ, *WOX4*, отличается от других *WOX* той же ветви и не может комплементировать потерю их функции (Dolzblass et al., 2016).

«Неопределенные» или временные меристемы – те, в которых отсутствует экспрессия генов *WOX*. Эти меристемы живут недолго (недифференцированный компактный каллус, раневой каллус, перидикл), затем они либо гибнут, либо тратят свой запас СК, либо в них начинается экспрессия *WOX*, и они превращаются в какой-либо из типов «долгоживущих» меристем. Яркий пример – перидикл, который может давать начало ПАМ регенерирующих побегов (при индукции экспрессии *WUS*); КАМ примордиев БК, меристемы клубеньков, опухоли (при активации *WOX5*), межпучковому камбию (для этого надо начать экспрессировать *WOX4*).

Разные варианты развития меристем в пределах группы могут определяться другими ТФ, фитогормонами, другими регуляторами, которые очень различаются в разных меристемах. Например, ПАМ регулируется цитокининами и *KNOX*, а КАМ – ауксинами, *PLT* и *SCR/SHR*, хотя принцип устройства систем *WOX-CLAVATA* у них почти одинаков.

Благодарности

Исследование механизмов поддержания стволовых клеток растений проводится при поддержке грантов РФФИ 15-34-20071, 15-29-02737, 14-04-00591 и РНФ 16-16-10011.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

Бузовкина И.С., Лутова Л.А. Генетическая коллекция инбредных линий редиса: история и перспективы. *Генетика*. 2007;4: 1411-1423.

Виноградова А.П., Лебедева М.А., Лутова Л.А. Меристематические характеристики опухолей, индуцированных *Agrobacterium tumefaciens* у гороха. *Генетика*. 2015;51(1):54-62.

Додуева И.Е., Ганчева М.С., Осипова М.А., Творогова В.Е., Лутова Л.А. Латеральные меристемы высших растений: фитогормональный и генетический контроль. *Физиология растений*. 2014; 61(5):611-631.

Иванов В.Б. Проблема стволовых клеток у растений. *Онтогенез*. 2003;34(4):243-261.

Иванов В.Б. Стволовые клетки в корне и проблема стволовых клеток у растений. *Онтогенез*. 2007;38(6):406-419.

Лутова Л.А., Долгих Е.А., Додуева И.Е., Осипова М.А., Ильина Е.Л. Изучение системного контроля деления и дифференцировки клеток растений на примере опухолевого роста у редиса. *Генетика*. 2008;44(8):1075-1083.

Осипова М.А., Долгих Е.А., Лутова Л.А. Особенности экспрессии меристем-специфичного гена *WOX5* при органогенезе клубеньков бобовых растений. *Онтогенез*. 2011;42(4):264-275.

Agusti J., Lichtenberger R., Schwarz M., Nehlin L., Greb T. Characterization of transcriptome remodeling during cambium formation identifies *MOL1* and *RUL1* as opposing regulators of secondary growth. *PLoS Genet*. 2011;7(2):e1001312. DOI 10.1371/journal.pgen.1001312.

Ahuja M.R. Genetic tumors in Nicotiana and other plants. *Quart. Rev. Biol.* 1998;73:439-459.

Anzola J.M., Sieberer T., Ortbauer M., Butt H., Korbei B., Weinhofer I., Müllner A.E., Luschnig C. Putative Arabidopsis transcriptional adaptor protein (*PROPORZ1*) is required to modulate histone acetylation in response to auxin. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2010; 107(22):10308-10313. DOI 10.1073/pnas.0913918107.

Ariel F., Brault-Hernandez M., Laffont C., Huault E., Brault M., Plet J., Moison M., Blanchet S., Ichanté J.L., Chabaud M., Carrere S., Cres-

pi M., Chan R.L., Frugier F. Two direct targets of cytokinin signaling regulate symbiotic nodulation in *Medicago truncatula*. *Plant Cell Online*. 2012;24(9):3838-3852. DOI 10.1105/tpc.112.103267.

Atta R., Laurens L., Boucheron-Dubuisson E., Guivarc'h A., Carneiro E., Giraudat-Pautot V., Rech P., Chriqui D. Pluripotency of Arabidopsis xylem pericycle underlies shootregeneration from root and hypocotyl explants grown *in vitro*. *Plant J*. 2009;57(4):626-644. DOI 10.1111/j.1365-313X.2008.03715.x.

Azaraksh M., Kirienko A.N., Zhukov V.A., Lebedeva M.A., Dolgikh E.A., Lutova L.A. *KNOTTED1-LIKE HOMEBOX 3*: a new regulator of symbiotic nodule development. *J. Exp. Bot.* 2015; 66(22):7181-7195. DOI 10.1093/jxb/erv414.

Beeckman T., Burssens S., Inzé D. The peri-cell-cycle in Arabidopsis. *J. Exp. Bot.* 2001;52:403-411.

Belles-Boix E., Hamant O., Witiak S.M., Morin H., Traas J., Pautot V. *KNAT6*: an Arabidopsis homeobox gene involved in meristem activity and organ separation. *Plant Cell*. 2006;18(8):1900-1907.

Berkmans B., Vassileva V., Schmid S.P., Maes S., Parizot B., Naramoto S., Magyar Z., Alvim Kamei C.L., Koncz C., Bögre L., Persiau G., De Jaeger G., Friml J., Simon R., Beeckman T., De Veylder L. Auxin-dependent cell cycle reactivation through transcriptional regulation of Arabidopsis *E2Fa* by lateral organ boundary proteins. *Plant Cell*. 2011;23(10):3671-3683. DOI 10.1105/tpc.111.088377.

Betsuyaku S., Takahashi F., Kinoshita A., Miwa H., Shinozaki K., Fukuda H., Sawa S. Mitogen-activated protein kinase regulated by the *CLAVATA* receptors contributes to shoot apical meristem homeostasis. *Plant Cell Physiol*. 2011;52:14-29. DOI 10.1093/pcp/pcq157.

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;21:917-926. DOI 10.1016/j.cub.2011.04.017.

Bishopp A., Lehesranta S., Vaten 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.

Blilou I., Xu J., Wildwater M., Willemsen V., Paponov I., Friml J., Heidstra R., Aida M., Palme K., Scheres B. The PIN auxin efflux facilitator network controls growth and patterning in Arabidopsis roots. *Nature*. 2005;433:39-44.

Boutillier K., Offringa R., Sharma V.K., Kieft H., Ouellet T., Zhang L., Hattori J., Liu C.-M., van Lammeren A.A.M., Miki B.L.A., Custers J.B., van Lookeren Campagne M.M. Ectopic expression of *BABY BOOM* triggers a conversion from vegetative to embryonic growth. *Plant Cell*. 2002;14:1737-1749.

Breuninger H., Rikirsch E., Hermann M., Ueda M., Laux T. Differential expression of *WOX* genes mediates apical-basal axis formation in the Arabidopsis embryo. *Dev. Cell*. 2008;14:867-876. DOI 10.1016/j.devcel.2008.03.008.

Busch W., Miotk A., Ariel F.D., Zhao Z., Forner J., Daum G., Suzuki T., Schuster C., Schultheiss S.J., Leibfried A., Haubeiss S., Ha N., Chan R.L., Lohmann J.U. Transcriptional control of a plant stem cell niche. *Dev. Cell*. 2010;18(5):849-61.

Carlsbecker A., Lee J.Y., Roberts C.J., Dettmer J., Lehesranta S., Zhou J., Lindgren O., Moreno-Risueno M.A., Vaten A., Thitamadee S. Cell signalling by microRNA165/6 directs gene dose-dependent root cell fate. *Nature*. 2010;465:316-321. DOI 10.1038/nature08977.

Chalupowicz L., Barash I., Panijel M., Sessa G., Manulis-Sasson S. Regulatory interactions between quorum-sensing, auxin, cytokinin, and the Hrp regulon in relation to gall formation and epiphytic fitness of *Pantoea agglomerans* pv. *gypsophilae*. *Mol. Plant Microbe Interaction*. 2009;22:849-856. DOI 10.1094/MPMI-22-7-0849.

Chang L., Ramireddy E., Schmülling T. Cytokinin as a positional cue regulating lateral root spacing in Arabidopsis. *J. Exp. Bot.* 2015; 66(15):4759-4768. DOI 10.1093/jxb/erv252.

Chen S.-K., Kurdyukov S., Kereszt A., Wang X.-D., Gresshoff P.M., Rose R.J. The association of homeobox gene expression with stem

- cell formation and morphogenesis in cultured *Medicago truncatula*. *Planta*. 2009;230:827-840. DOI 10.1007/s00425-009-0988-1.
- Chen S., Lang P., Chronis D., Zhang S., De Jong W.S., Mitchum M.G., Wang X. In planta processing and glycosylation of a nematode CLAVATA3/ENDOSPERM SURROUNDING REGION-like effector and its interaction with a host CLAVATA2-like receptor to promote parasitism. *Plant Physiol*. 2015;167(1):262-272. DOI 10.1104/pp.114.251637.
- Chuck C., Lincoln C., Hake S. KNAT1 induces lobed leaves with ectopic meristems when overexpressed in Arabidopsis. *Plant Cell*. 1996; 8:1277-1289.
- Chung K.R., Tzeng D.D. Biosynthesis of indole-3-acetic acid by the gall-inducing fungus *Ustilago esculenta*. *J. Biol. Sci.* 2004;4:744-750. DOI 10.3923/jbs.2004.744.750.
- Crespi M., Frugier F. *De novo* organ formation from differentiated cells: root nodule organogenesis. *Sci. Signal*. 2008;1(49). DOI 10.1126/scisignal.149re11.
- Cruz-Ramírez A., Díaz-Triviño S., Wachsman G., Du Y., Arteaga-Vázquez M., Zhang H., Benjamins R., Blilou I., Neef A.B., Chandler V., Scheres B. A SCARECROW-RETINOBLASTOMA protein network controls protective quiescence in the Arabidopsis root stem cell organizer. *PLoS Biol*. 2013;11(11):e1001724. DOI 10.1371/journal.pbio.1001724. DOI 10.1371/journal.pbio.1001724.
- Cui H., Hao Y., Kovtun M., Stolz V., Deng X.W., Sakakibara H., Kojima M. Genome-wide direct target analysis reveals a role for SHORT-ROOT in root vascular patterning through cytokinin homeostasis. *Plant Physiol*. 2011;157:1221-1231. DOI 10.1104/pp.111.183178.
- De Almeida Engler J., Gheysen G. Nematode-induced endoreduplication in plant host cells: why and how? *Mol. Plant Microbe Interact*. 2013;6:17-24. DOI 10.1094/MPMI-05-12-0128-CR.
- De Buck S., De Wilde C., Van Montagu M., Depicker A. Determination of the T-DNA transfer and the T-DNA integration frequencies upon cocultivation of *Arabidopsis thaliana* root explants. *Mol. Plant Microbe Interact*. 2000;13:658-665.
- De Lillo E., Monfreda R. Salivary secretions' of eriophyoids (Acari: Eriophyoidea): first results of an experimental model. *Exp. Appl. Acarol*. 2004;34(3-4):291-306.
- De Rybel B., Vassileva V., Parizot B., Demeulenaere M., Grunewald W., Audenaert D., Van Campenhout J., Overvoorde P., Jansen L., Vanneeste S., Möller B., Wilson M., Holman T., Van Isterdael G., Brunoud G., Vuylsteke M., Vernoux T., De Veylder L., Inzé D., Weijers D., Bennett M.J., Beeckman T. A novel Aux/IAA28 signaling cascade activates GATA23-dependent specification of lateral root founder cell identity. *Curr. Biol*. 2010;20:1697-1706. DOI 10.1016/j.cub.2010.09.007.
- De Smet I., Vanneste S., Inzé D., Beeckman T. Lateral root initiation or the birth of a new meristem. *Plant Mol. Biol*. 2006;60:871-887.
- Devos S., Laukens K., Deckers P., Van Der Straeten D., Beeckman T., Inzé D., Van Onckelen H., Witters E., Prinsen E. A hormone and proteome approach to picturing the initial metabolic events during *Plasmiodiophora brassicae* infection on Arabidopsis. *Mol. Plant Microbe Interact*. 2006;19:1431-1443.
- Dodueva I.E., Frolova N.V., Lutova L.A. Plant tumorigenesis: different ways for shifting systemic control of plant cell division and differentiation. *Transgen. Plant J*. 2007;1:3-24.
- Dolzblasz A., Nardmann J., Clerici E., Causier B., van der Graaff E., Chen J., Davies B., Werr W., Laux T. *Mol. Plant*. 2016; pii: S1674-2052(16)30029-6. DOI 10.1016/j.molp.2016.04.007.
- Dubrovsky J.G., Doerner P.W., Colón-Carmona A., Rost T.L. Pericycle cell proliferation and lateral root initiation in Arabidopsis. *Plant Physiol*. 2000;124:1648-1657.
- Emery J.F., Floyd S.K., Alvarez J., Eshed Y., Hawker N.P., Izhaki A., Baum S.F., Bowman J.L. Radial patterning of Arabidopsis shoots by class III HD-ZIP and KANADI genes. *Curr. Biol*. 2003;13:1768-1774.
- Etchells J.P., Provost C.M., Mishra L., Turner S.R. WOX4 and WOX14 act downstream of the PXY receptor kinase to regulate plant vascular proliferation independently of any role in vascular organization. *Development*. 2013;140:2224-2234. DOI 10.1242/dev.091314.
- Etchells J.P., Provost C.M., Turner S.R. Plant vascular cell division is maintained by an interaction between PXY and ethylene signalling. *PLoS Gen*. 2012;8(11):e1002997.
- Etchells J.P., Turner S.R. The PXY-CLE41 receptor ligand pair defines a multifunctional pathway that controls the rate and orientation of vascular cell division. *Development*. 2010;137:767-774. DOI 10.1242/dev.044941.
- Feldman L.J. The de novo Origin of the Quiescent Center Regenerating Root Apices in Zea mays. *Planta*. 1976;128(3):207-212. DOI 10.1007/BF00393230.
- Fiers M., Hause G., Boutilier K., Casamitjana-Martinez E., Weijers D., Offringa R., van der Geest L., van Lookeren Campagne M., Liu C.M. Mis-expression of the CLV3/ESR-like gene CLE19 in Arabidopsis leads to a consumption of root meristem. *Gene*. 2004;327(1): 37-49.
- Fisher K., Turner S. PXY, a receptor-like kinase essential for maintaining polarity during plant vascular-tissue development. *Curr. Biol*. 2007;17:1061-1066.
- Frank M., Guiv'Arch A., Krupkova E., Lorenz-Meyer I., Chriqui D., Schmulling T. TUMOROUS SHOOT DEVELOPMENT (TSD) genes are required for co-ordinated plant shoot development. *Plant J*. 2002;29:73-85.
- Gagne J.M., Clark S.E. The Arabidopsis stem cell factor POLTERGEIST is membrane localized and phospholipid stimulated. *Plant Cell*. 2010;22:729-743. DOI 10.1105/tpc.109.068734.
- Gallois J.-L., Nora F.R., Mizukami Y., Sablowski R. WUSCHEL induces shoot stem cell activity and developmental plasticity in the root meristem. *Gen. Dev*. 2004;18:375-380.
- Gambino G., Minuto M., Boccacci P., Perrone I., Vallania R., Grubaud I. Characterization of expression dynamics of WOX homeodomain transcription factors during somatic embryogenesis in *Vitis vinifera*. *J. Exp. Bot*. 2011;62:1089-1101. DOI 10.1093/jxb/erq349.
- Garfinkel D.J., Simpson R.B., Ream L.W., White F.F., Gordon M.P., Nester E.W. Genetic analysis of crown gall: fine structure map of the T-DNA by site-directed mutagenesis. *Cell*. 1981;27(1 Pt 2): 143-153.
- Giron D., Glevarec G. Cytokinin-induced phenotypes in plant-insect interactions: learning from the bacterial world. *J. Chem. Ecol*. 2014;40(7):826-835. DOI 10.1007/s10886-014-0466-5.
- Glass N.L., Kosuge T. Role of indoleacetic acid-lysine synthetase in regulation of indoleacetic acid pool size and virulence of *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi*. *J. Bacteriol*. 1988;170(5): 2367-2373.
- Gonzalez-Rizzo S., Crespi M., Frugier F. The *Medicago truncatula* CRE1 cytokinin receptor regulates lateral root development and early symbiotic interaction with *Sinorhizobium meliloti*. *Plant Cell Online*. 2006;18(10):2680-2693.
- Gonzali S., Novi G., Loreti E., Paolicchi F., Poggi A., Alpi A., Perata P. A turanose-insensitive mutant suggests a role for WOX5 in auxin homeostasis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*. 2005;44:633-645.
- Gursansky N.R., Jouannet V., Grünwald K., Sanchez P., Laaber-Schwarz M., Greb T. MOL1 is required for cambium homeostasis in Arabidopsis. *Plant J*. 2016;17. DOI 10.1111/tpj.13169.
- Haecker A., Gross-Hardt R., Geiges B., Sarkar A., Breuning H., Herrmann M., Laux T. Expression dynamics of WOX genes mark cell fate decisions during early embryonic patterning in *Arabidopsis thaliana*. *Development*. 2004;131(3):657-668.
- Heidstra R., Sabatini S. Plant and animal stem cells: similar et different. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. 2014;15(5):301-312. DOI 10.1038/nrm3790.
- Hinsch J., Vrabka J., Oeser B., Novák O., Galuszka P., Tudzynski P. *De novo* biosynthesis of cytokinins in the biotrophic fungus *Claviceps purpurea*. *Environ. Microbiol*. 2015;17(8):2935-2951. DOI 10.1111/1462-2920.12838.
- Hirakawa Y., Kondo Y., Fukuda H. TDIF peptide signaling regulates vascular stem cell proliferation via the WOX4 homeobox gene in Arabidopsis. *Plant Cell*. 2010;22:2618-2629. DOI 10.1105/tpc.110.076083.

- Hirakawa Y., Shinohara H., Kondo Y., Inoue A., Nakanomyo I., Oga-
wa M., Sakagami Y. Non-cell-autonomous control of vascular stem
cell fate by a CLE peptide/receptor system. *Proc. Natl Acad. Sci.
USA.* 2008;105:15208-15213. DOI 10.1073/pnas.0808444105.
- Hobe M., Muller R., Grunewald M., Brand U., Simon R. Loss of
CLE40, a protein functionally equivalent to the stem cell restrict-
ing signal CLV3, enhances root waving in Arabidopsis. *Dev. Genes
Evol.* 2003;213:371-381.
- Huang G.Z., Dong R.H., Allen R., Davis E.L., Baum T.J., Hussey R.S.
A root-knot nematode secretory peptide functions as a ligand for a plant
transcription factor. *Mol. Plant Microbe Interact.* 2006;19:463-470.
- Ikeuchi M., Sugimoto K., Iwase A. Plantcallus: mechanisms of in-
duction and repression. *Plant Cell.* 2013;25(9):3159-3173. DOI
10.1105/tpc.113.116053.
- Ilegems M., Douet V., Meylan-Bettex M., Uyttewaal M., Brand L.,
Bowman J.L., Stieger P.A. Interplay of auxin, KANADI and
Class III HD-ZIP transcription factors in vascular tissue formation.
Development. 2010;137(6):975-984. DOI 10.1242/dev.047662.
- Intrieri M.C., Buiatti M. The horizontal transfer of *Agrobacterium* rhi-
zogenes genes and the evolution of the genus *Nicotiana*. *Mol. Phylo-
gen. Evol.* 2001;20:100-110.
- Itô Y., Nakanomyo I., Motose H., Iwamoto K., Sawa S., Dohmae N.,
Fukuda H. Dodeca-CLE peptides as suppressors of plant stem cell
differentiation. *Science.* 2006;313:842-845.
- Jasinski S., Piazza P., Craft J., Hay A., Woolley L., Rieu I., Phillips A.,
Hedden P., Tsiantis M. KNOX action in Arabidopsis is mediated by
coordinate regulation of cytokinin and gibberellin activities. *Curr.
Biol.* 2005;15:1560-1565.
- Ji J., Shimizu R., Sinha N., Scanlon M.J. Analyses of WOX4 transgen-
ics provide further evidence for the evolution of the WOX gene fam-
ily during the regulation of diverse stem cell functions. *Plant Signal
Behav.* 2010b;5(7):916-920. DOI 10.1104/pp.109.149641.
- Ji J., Strable J., Shimizu R., Koenig D., Sinha N., Scanlon M.J. WOX4
promotes procambial development. *Plant Physiol.* 2010a;152(3):
1346-1356. DOI 10.1104/pp.109.149641.
- Jiang F., Feng Z., Liu H., Zhu J. Involvement of plant stem cells or stem
cell-like cells in dedifferentiation. *Front. Plant Sci.* 2015;6:1028.
DOI 10.3389/fpls.2015.01028.
- Klimaszewska K., Overton C., Stewart D., Rutledge R.G. Initiation
of somatic embryos and regeneration of plants from primordial
shoots of 10-year-old somatic white spruce and expression pro-
files of 11 genes followed during the tissue culture process. *Planta.*
2011;233:635-647. DOI 10.1007/s00425-010-1325-4.
- Kondo T., Sawa S., Kinoshita A., Mizuno S., Kakimoto T., Fukuda H.,
Sakagami Y. A plant peptide encoded by CLV3 identified by in situ
MALDI-TOF MS analysis. *Science.* 2006;313:845-848.
- Kosan C., Godmann M. Genetic and epigenetic mechanisms that main-
tain hematopoietic stem cell function. *Stem Cells Int.* 2016;2016:
5178965. DOI 10.1155/2016/5178965.
- Kosugi S., Ohashi Y. Constitutive E2F expression in tobacco plants ex-
hibits altered cell cycle control and morphological change in a cell
type-specific manner. *Plant Physiol.* 2003;132(4):2012-2022.
- Krupková E., Schmölling T. Developmental consequences of the tu-
morous shoot development1 mutation, a novel allele of the cellu-
lose-synthesizing KORRIGAN1 gene. *Plant Mol. Biol.* 2009;71(6):
641-655. DOI 10.1007/s11103-009-9546-2.
- Kurdyukov S., Song Y., Sheahan M.B., Rose R.J. Transcriptional regu-
lation of early embryo development in the model legume *Medicago
truncatula*. *Plant Cell Rep.* 2014;33:349-362. DOI 10.1007/s00299-
013-1535-x.
- Lebedeva (Osipova) M.A., Tvorogova V.E., Vinogradova A.P., Ganche-
va M.S., Azarakhsh M., Ilina E.L., Demchenko K.N., Dodueva I.E.,
Lutova L.A. Initiation of spontaneous tumors in radish (*Raphanus
sativus*): cellular, molecular and physiological events. *J. Plant Physi-
ol.* 2015;173:97-104. DOI 10.1016/j.jplph.2014.07.030.
- Lee J.H., Kim D.M., Lim Y.P., Pai H.S. The shooty callus induced by
suppression of tobacco CHRK1 receptor-like kinase is a phenocopy
of the tobacco genetic tumor. *Plant Cell Rep.* 2004;23(6):397-403.
- Leibfried A., To J.P., Busch W., Stehling S., Kehle A., Demar M.,
Kieber J.J., Lohmann J.U. WUSCHEL controls meristem function
by direct regulation of cytokinin-inducible response regulators. *Nature.*
2005;438:1172-1175.
- Lenhard M., Laux T. Stem cell homeostasis in the Arabidopsis shoot
meristem is regulated by intercellular movement of CLAVATA3 and
its sequestration by CLAVATA1. *Development.* 2003;130:3163-
3173.
- Lin H., Niu L., McHale N.A., Ohme-Takagi M., Mysore K.S., Tadege
M. Evolutionarily conserved repressive activity of WOX proteins
mediates leaf blade outgrowth and floral organ development in
plants. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2013;110(1):366-371.
- Liu J., Sheng L., Xu Y., Li J., Yang Z., Huang H., Xu L. WOX11 and 12
are involved in the first-step cell fate transition during *de novo* root
organogenesis in Arabidopsis. *Plant Cell.* 2014;26:1081-1093. DOI
10.1105/tpc.114.122887.
- Long J.A., Moan E.I., Medford J.J., Barton M.K. A member of the
KNOTTED class of homeodomain proteins encoded by the SHOOT-
MERISTEMLESS gene of Arabidopsis. *Nature.* 1996;379:66-69.
- Lotan T., Ohto M., Yee K.M., West M.A.L., Lo R., Kwong R.W., Ya-
magishi K., Fischer R.L., Goldberg R.B., Harada J.J. Arabidopsis
LEAFY COTYLEDON1 is sufficient to induce embryo develop-
ment in vegetative cells. *Cell.* 1998;93:1195-1205.
- Lu S.W., Chen S., Wang J., Yu H., Chronis D., Mitchum M.G., Wang X.
Structural and functional diversity of CLAVATA3/ESR (CLE)-like
genes from the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*.
Mol. Plant Microbe Interact. 2009;22(9):1128-1142. DOI 10.1094/
MPMI-22-9-1128.
- Mähönen A.P., Bonke M., Kauppinen L., Riikonen M., Benfey P.N.,
Helariutta Y. A novel two-component hybrid molecule regulates vas-
cular morphogenesis of the Arabidopsis root. *Gen. Dev.* 2000;14(23):
2938-2943.
- Mähönen A.P., Higuchi M., Törmäkangas K., Miyawaki K., Pische-
ke M.S., Sussman M.R., Helariutta Y., Kakimoto T. Cytokinins
regulate a bidirectional phosphorelay network in Arabidopsis. *Curr.
Biol.* 2006;16:1116-1122.
- Mathesius U., Weinman J.J., Rolfe B.J., Djordjevic M.A. Rhizobia can
induce nodules in white clover by "hijacking" mature cortical cells
activated during lateral root development. *Mol. Plant Microbe Inter-
act.* 2000;13:170-182.
- Matveeva T.V., Frolova N.V., Smets R., Dodueva I.E., Buzovkina I.S.,
Van Onckelen H., Lutova L.A. Hormonal control of tumor formation
in radish. *J. Plant Growth Regul.* 2004;23:37-43.
- Mayer K.F., Schoof H., Haecker A., Lenhard M., Jurgens G., Laux T.
Role of WUSCHEL in regulating stem cell fate in the Arabidopsis
shoot meristem. *Cell.* 1998;95(6):805-815.
- Mohrin M., Bourke E., Alexander D., Warr M.R., Barry-Holson K., Le
Beau M.M., Morrison C.G., Passequé E. Hematopoietic stem cell
quiescence promotes error-prone DNA repair and mutagenesis. *Cell
Stem Cell.* 2010;7(2):174-185. DOI 10.1016/j.stem.2010.06.014.
- Mortier V., Den Herder G., Whitford R., Van de Velde W., Rombauts S.,
D'Haeseleer K., Holsters M., Goormachtig S. CLE peptides control
Medicago truncatula nodulation locally and systemically. *Plant
Physiol.* 2010;153:222-237. DOI 10.1104/pp.110.153718.
- Nardmann J., Reisewitz P., Werr W. Discrete shoot and root stem cell-
promoting WUS/WOX5 functions are an evolutionary innovation of
angiosperms. *Mol. Biol. Evol.* 2009;26:1745-1755. DOI 10.1093/
molbev/msp084.
- Nardmann J., Werr W. Symplesiomorphies in the WUSCHEL clade
suggest that the last common ancestor of seed plants contained at
least four independent stem cell niches. *New Phytologist.* 2013;199:
1081-1092. DOI 10.1111/nph.12343.
- Ohmori Y., Tanaka W., Kojima M., Sakakibara H., Hirano H.Y. WUS-
CHEL-RELATED HOMEODOMAIN4 is involved in meristem mainte-
nance and is negatively regulated by the CLE gene FCP1 in rice.
Plant Cell. 2013;25(1):229-241.
- Oka-Kira E., Kawaguchi M. Long-distance signaling to control root
nodule number. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2006;9:496-502.

- Okamoto S., Ohnishi E., Sato S., Takahashi H., Nakazono M., Tabata S., Kawaguchi M. Nod factor/nitrate-induced CLE genes that drive HAR1-mediated systemic regulation of nodulation. *Plant Cell Physiol.* 2009;50(1):67-77. DOI 10.1093/pcp/pcn194.
- Okushima Y., Fukaki H., Onoda M., Theologis A., Tasaka M. ARF7 and ARF19 regulate lateral root formation via direct activation of LBD/ASL genes in *Arabidopsis*. *Plant Cell.* 2007;19(1):118-130.
- Okushima Y., Mitina I., Quach H.L., Theologis A. AUXIN RESPONSE FACTOR 2 (ARF2): a pleiotropic developmental regulator. *Plant J.* 2005;43:29-46.
- Op den Camp R.H., De Mita S., Lillo A., Cao Q., Limpens E., Bisseling T., Geurts R. A phylogenetic strategy based on a legume-specific whole genome duplication yields symbiotic cytokinin type-A response regulators. *Plant Physiol.* 2011;157(4):2013-2022. DOI 10.1104/pp.111.187526.
- Osipova M.A., Mortier V., Demchenko K.N., Tsyganov V.E., Tikhonovich I.A., Lutova L.A., Dolgikh E.A., Goormachtig S. WUSCHEL-RELATED HOMEBOX5 gene expression and interaction of CLE peptides with components of the systemic control add two pieces to the puzzle of autoregulation of nodulation. *Plant Physiol.* 2012;158:1329-1341. DOI 10.1104/pp.111.188078.
- Palovaara J., Hallberg H., Stasolla C., Luit B., Hakman I. Expression of a gymnosperm PIN homologous gene correlates with auxin immunolocalization pattern at cotyledon formation and in demarcation of the procambium during *Picea abies* somatic embryo development and in seedling tissues. *Tree Physiol.* 2010;30:479-489. DOI 10.1093/treephys/tpp126.
- Parizot B., Laplaze L., Ricaud L., Boucheron-Dubuisson E., Bayle V., Bonke M., De Smet I., Poethig S.R., Helariutta Y., Haseloff J., Chriqui D., Beeckman T., Nussaume L. Diarch symmetry of the vascular bundle in *Arabidopsis* root encompasses the pericycle and is reflected in distich lateral root initiation. *Plant Physiol.* 2008;146:140-148.
- Parizot B., Roberts I., Raes J., Beeckman T., De Smet I. *In silico* analyses of pericycle cell populations reinforce their relation with associated vasculature in *Arabidopsis*. *Philos. Trans. Royal Soc. B. Biol. Sci.* 2012;367:1479-1488. DOI 10.1098/rstb.2011.0227.
- Pautot V., Dockx J., Hamant O., Kronenberger J., Grandjean O., Jublot D., Traas J. KNAT2: evidence for a link between knotted-like genes and carpel development. *Plant Cell.* 2001;13(8):1719-1734.
- Plet J., Wasson A., Ariel F., Le Signor C., Baker D., Mathesius U., Crespi M., Frugier F. MtCRE1-dependent cytokinin signaling integrates bacterial and plant cues to coordinate symbiotic nodule organogenesis in *Medicago truncatula*. *Plant J.* 2011;65(4):622-633. DOI 10.1111/j.1365-313X.2010.04447.x.
- Reineke G., Heinze B., Schirawski J., Buettner H., Kahmann R., Basse C.W. Indole-3-acetic acid (IAA) biosynthesis in the smut fungus *Ustilagomaydis* and its relevance for increased IAA levels in infected tissue and host tumour formation. *Mol. Plant Pathol.* 2008;9:339-355.
- Replogle A., Wang J., Bleckmann A., Hussey R.S., Baum T.J., Sawa S., Davis E.L., Wang X., Simon R., Mitchum M.G. Nematode CLE signaling in *Arabidopsis* requires CLAVATA2 and CORYNE. *Plant J.* 2011;65:430-440. DOI 10.1111/j.1365-313X.2010.04433.x.
- Santiago J., Henzler C., Hothorn M. Molecular mechanism for plant steroid receptor activation by somatic embryogenesis co-receptor kinases. *Science.* 2013;341:889-892. DOI 10.1126/science.1242468.
- Sarkar A.K., Luijten M., Miyashima S., Lenhard M., Hashimoto T., Nakajima K., Scheres B., Heidstra R., Laux T. Conserved factors regulate signalling in *Arabidopsis thaliana* shoot and root stem cell organizers. *Nature.* 2007;446(7137):811-814.
- 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;120:2475-2487.
- Schnabel E., Journet E.P., de Carvalho-Niebel F., Duc G., Frugoli J. The *Medicago truncatula* SUNN gene encodes a CLV1-like leucine-rich repeat receptor kinase that regulates nodule number and root length. *Plant Mol. Biol.* 2005;58(6):809-822.
- Schofield R. The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell. *Blood Cells.* 1978;4:7-25.
- Schoof H., Lenhard M., Haecker A., Mayer K.F., Jürgens G., Laux T. The stem cell population of *Arabidopsis* shoot meristems is maintained by a regulatory loop between the CLAVATA and WUSCHEL genes. *Cell.* 2000;100:635-644.
- Schrader J., Nilsson J., Mellerowicz E., Berglund A., Nilsson P., Hertzberg M., Sandberg G. A high-resolution transcript profile across the wood-forming meristem of poplar identifies potential regulators of cambial stem cell identity. *Plant Cell.* 2004;16:2278-2292.
- Searle I.R., Men A.E., Laniya T.S., Buzas D.M., Iturbe-Ormaetxe I., Carroll B.J., Gresshoff P.M. Long-distance signaling in nodulation directed by a CLAVATA1-like receptor kinase. *Science.* 2003;299:109-112.
- Sieberer T., Hauser M.T., Seifert G.J., Luschnig C. PROPORZI, a putative *Arabidopsis* transcriptional adaptor protein, mediates auxin and cytokinin signals in the control of cell proliferation. *Curr. Biol.* 2003;13:837-842.
- Skoog F., Miller C.O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 1957;11:118-130.
- Stahl Y., Wink R.H., Ingram G.C., Simon R. A signaling module controlling the stem cell niche in *Arabidopsis* root meristems. *Curr. Biol.* 2009;19:909-914. DOI 10.1016/j.cub.2009.03.060.
- Su Y.H., Liu Y.B., Bai B., Zhang X.S. Establishment of embryonic shoot-root axis is involved in auxin and cytokinin response during *Arabidopsis* somatic embryogenesis. *Front. Plant Sci.* 2015;14(5):792.
- Su Y.H., Zhao X.Y., Liu Y.B., Zhang C.L., O'Neill S.D., Zhang X.S. Auxin-induced WUS expression is essential for embryonic stem cell renewal during somatic embryogenesis in *Arabidopsis*. *Plant J.* 2009;59(3):448-460. DOI 10.1111/j.1365-313X.2009.03880.x.
- Suer S., Agusti J., Sanchez P., Schwarz M., Greb T. WOX4 imparts auxin responsiveness to cambium cells in *Arabidopsis*. *Plant Cell.* 2011;23:3247-3259. DOI 10.1105/tpc.111.087874.
- Sugimoto K., Jiao Y., Meyerowitz E.M. *Arabidopsis* regeneration from multiple tissues occurs via a root development pathway. *Dev. Cell.* 2010;18(3):463-471. DOI 10.1016/j.devcel.2010.02.004.
- Suzaki T., Yano K., Ito M., Umehara Y., Suganuma N., Kawaguchi M. Positive and negative regulation of cortical cell division during root nodule development in *Lotus japonicus* is accompanied by auxin response. *Development.* 2012;139(21):3997-4006. DOI 10.1242/dev.084079.
- Testone G., Bruno L., Condello E., Chiappetta A., Bruno A., Mele G., Tartarini A., Spanò L., Innocenti A.M., Mariotti D., Bitonti M.B., Giannino D. Peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] KNOPE1, a class I KNOX orthologue to *Arabidopsis* BREVIPEDICELLUS/KNAT1, is misexpressed during hyperplasia of leaf curl disease. *J. Exp. Bot.* 2008;59:389-402.
- Timmers A., Auriac M.-C., Truchet G. Refined analysis of early symbiotic steps of the *Rhizobium-Medicago* interaction in relationship with microtubular cytoskeleton rearrangements. *Development.* 1999;126(16):3617-3628.
- Tooker J.F., Helms A.M. Phytohormone dynamics associated with gall insects, and their potential role in the evolution of the gall-inducing habit. *J. Chem. Ecol.* 2014;40(7):742-753. DOI 10.1007/s10886-014-0457-6.
- Trotochaud A.E., Hao T., Wu G., Yang Z., Clark S.E. The CLAVATA1 receptor-like kinase requires CLAVATA3 for its assembly into a signaling complex that includes KAPP and a Rho-related protein. *Plant Cell.* 1999;11:393-406.
- Trumpp A., Essers M., Wilson A. Awakening dormant haematopoietic stem cells. *Nat. Rev. Immunol.* 2010;10(3):201-209. DOI 10.1038/nri2726.
- Ueda M., Zhang Z., Laux T. Transcriptional activation of *Arabidopsis* axis patterning genes WOX8/9 links zygote polarity to embryo development. *Dev. Cell.* 2011;15:264-270. DOI 10.1016/j.devcel.2011.01.009.

- Ullrich C.I., Aloni R. Vascularization is a general requirement for growth of plant and animal tumours. *J. Exp. Bot.* 2000;51(353):1951-1960.
- Van der Graaff E., Laux T., Rensing S.A. The WUS homeobox-containing (WOX) protein family. *Gen. Biol.* 2009;10(12):248. DOI 10.1186/gb-2009-10-12-248.
- Vandeputte O., Oden S., Mol A., Vereecke D., Goethals K., El Jaziri M., Prinsen E. Biosynthesis of auxin by the gram-positive phytopathogen *Rhodococcus fascians* is controlled by compounds specific to infected plant tissues. *Appl. Environ. Microbiol.* 2005;71:1169-1177.
- Vanstraelen M., Baloban M., Da Ines O., Cultrone A., Lammens T., Boudolf V., Brown S.C., De Veylder L., Mergaert P., Kondorosi E. APC/C-CCS52A complexes control meristem maintenance in the *Arabidopsis* root. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2009;106(28):11806-11811. DOI 10.1073/pnas.0901193106.
- Veselov D., Langhans M., Hartung W., Aloni R., Feussner I., Götz C., Veselova S., Schlomski S., Dickler C., Bächmann K., Ullrich C.I. Development of *Agrobacterium tumefaciens* C58-induced plant tumors and impact on host shoots are controlled by a cascade of jasmonic acid, auxin, cytokinin, ethylene and abscisic acid. *Planta.* 2003;216(3):512-522.
- Wang J., Replogle A., Hussey R., Baum T., Wang X., Davis E.L., Mitchum M.G. Identification of potential host plant mimics of CLAVATA3/ESR (CLE)-like peptides from the plant-parasitic nematode *Heterodera schachtii*. *Mol. Plant Pathol.* 2011;12(2):177-186.
- Wang X., Mitchum M.G., Gao B., Li C., Diab H., Baum T.J., Hussey R.S., Davis E.L. A parasitism gene from a plant-parasitic nematode with function similar to *CLAVATA3/ESR (CLE)* of *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Plant Pathol.* 2005;6:187-191.
- Whitford R., Fernandez A., De Groot R., Ortega E., Hilson P. Plant CLE peptides from two distinct functional classes synergistically induce division of vascular cells. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2008;105:18625-18630.
- Wilson A., Laurenti E., Oser G., van der Wath R.C., Blanco-Bose W., Jaworski M., Offner S., Dunant C.F., Eshkind L., Bockamp E., Lió P., Macdonald H.R., Trumpp A. Hematopoietic stem cells reversibly switch from dormancy to self-renewal during homeostasis and repair. *Cell.* 2008;135(6):1118-1129.
- Yadav R.K., Perales M., Gruel J., Girke T., Jönsson H., Reddy G.V. WUSCHEL protein movement mediates stem cell homeostasis in the *Arabidopsis* shoot apex. *Gen. Dev.* 2011;25:2025-2030. DOI 10.1101/gad.17258511.
- Yanai O., Shani E., Dolezal K., Tarkowski P., Sablowski R., Sandberg G., Samach A., Ori N. *Arabidopsis* KNOXI proteins activate cytokinin biosynthesis. *Curr. Biol.* 2005;15:1566-1571.
- Zhang F., Wang Y., Li G., Tang Y., Kramer E.M., Tadege M. STENOFO-LIA recruits TOPLESS to repress ASYMMETRIC LEAVES2 at the leaf margin and promote leaf blade outgrowth in *Medicago truncatula*. *Plant Cell.* 2014;26(2):650-664. DOI 10.1105/tpc.113.121947.
- Zheng Q., Zheng Y., Perry S.E. AGAMOUS-Like15 promotes somatic embryogenesis in *Arabidopsis* and soybean in part by the control of ethylene biosynthesis and response. *Plant Physiol.* 2013;161:2113-2127. DOI 10.1104/pp.113.216275.
- Zhou Y., Liu X., Engstrom E.M., Nimchuk Z.L., Pruneda-Paz J.L., Tarr P.T., Yan A., Kay S.A., Meyerowitz E.M. Control of plant stem cell function by conserved interacting transcriptional regulators. *Nature.* 2015;517(7534):377-380. DOI 10.1038/nature13853.
- Zimmerman J.L. Somatic Embryogenesis: A model for early development in higher plants. *Plant Cell.* 1993;5(10):1411-1423.