

## ОСНОВНЫЕ РЕГУЛЯТОРЫ РАЗВИТИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КАМБИЯ У ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ

Н.А. Галибина, Л.Л. Новицкая, Ю.Л. Мощенская, К.М. Никерова,  
М.Н. Подгорная, И.Н. Софронова

Институт леса – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», Россия, [galibina@krc.karelia.ru](mailto:galibina@krc.karelia.ru)

**Аннотация.** Разные сценарии ксилогенеза у обычной березы повислой и карельской березы отличаются по уровню экспрессии генов, кодирующих TDIF-пептид и его рецептор TDR, играющих центральную роль в камбиальной деятельности. Формирование у карельской березы узорчатой древесины, для которой характерны включения клеток паренхимы и нарушение ориентации проводящих элементов, происходит на фоне увеличения уровня экспрессии гена *CLE41* во флоэме и гена *PXY* в камбиальной зоне, и эктопической экспрессии *CLE41* в ксилеме.

**Ключевые слова:** карельская береза, аномальный ксилогенез, TDIF/CLE-41-TDR/PXY  
**DOI:** 10.31255/978-5-94797-319-8-207-210

Центральную роль в судьбе стволовых клеток латеральной меристемы играют TDIF-пептид CLE-41 и его рецептор TDR, которые определяют направление дифференцировки клеток камбия [Додуева и др., 2012, 2014; Ito et al., 2006; Fisher, Turner, 2007; Hirakawa et al., 2008; Whitford et al., 2008; Du, Groover, 2010; Etchells, Turner, 2010; Etchells et al., 2012, 2013, 2015; Ye, Zhong, 2015; Nieminen et al., 2015]. Относительный уровень экспрессии гена, кодирующего CLE-пептиды (*CLE41*) у 46-летних растений обычной березы во флоэме в период активного формирования ранней тонкостенной древесины (15.06.2016) составил 0.04 усл. ед., повысился к началу июля в 3 раза и оставался на этом уровне до конца июля. В тканях ксилемы *B. pendula* var. *pendula* ген *CLE41* практически не экспрессировался. Эти данные согласуются с представлением о том, что для поддержания правильно ориентированных клеточных делений необходима локализованная экспрессия *CLE41* во флоэме [Etchells, Turner, 2010].

Количество транскриптов мРНК гена *PXY*, кодирующего рецептор для CLE-41, в тканях со стороны флоэмы в период активного формирования ранней тонкостенной древесины (15.06.2016) составило 0.04 усл. ед. и повышалось к 07.07.2016 г. в 2 раза. В тканях со стороны ксилемы уровень экспрессии генов *PXY* был в 2 раза выше, по сравнению с флоэмой. *PXY*-рецепторная киназа синтезируется в ксилемных производных камбия [Etchells, Turner, 2010]. Поскольку в период камбиального роста при снятии коры с древесины разрыв тканей происходит по активно делящейся зоне, то ксилемные инициалы оказываются как со стороны флоэмы, так и со стороны ксилемы, что и объясняет обнаружение нами в них транскрипты мРНК гена *PXY*.

У карельской березы мы обнаружили ряд существенных отличий. Во-первых, во флоэме был в 3 раза выше уровень экспрессии гена *CLE-41*. В камбиальной зоне, как со стороны флоэмы, так и со стороны ксилемы, в 4-10 раз было выше количество транскрипта мРНК гена *PXY*, кодирующего рецептор для лиганда CLE-41. У карельской березы в местах формирования аномальной древесины, на фоне большей экспрессии генов *CLE41* и *PXY* шире проводящая флоэма и камбиальная зона, и меньше размер зон формирования ксилемы, по сравнению с нормальной древесиной обычной березы. Полученные нами данные согласуются с известными функциями лиганд-рецепторной системы CLE41/PXY, а именно, подавление развития ксилемы, а также

регулирование числа и ориентации делений клеток в сосудистых меристемах [Додуева и др., 2012, 2014; Ito et al., 2006; Fisher, Turner, 2007; Hirakawa et al., 2008; Whitford et al., 2008; Du, Groover, 2010; Etchells, Turner, 2010; Etchells et al., 2012, 2013, 2015; Gancheva et al., 2016; Nieminen et al., 2015; Ye, Zhong, 2015].

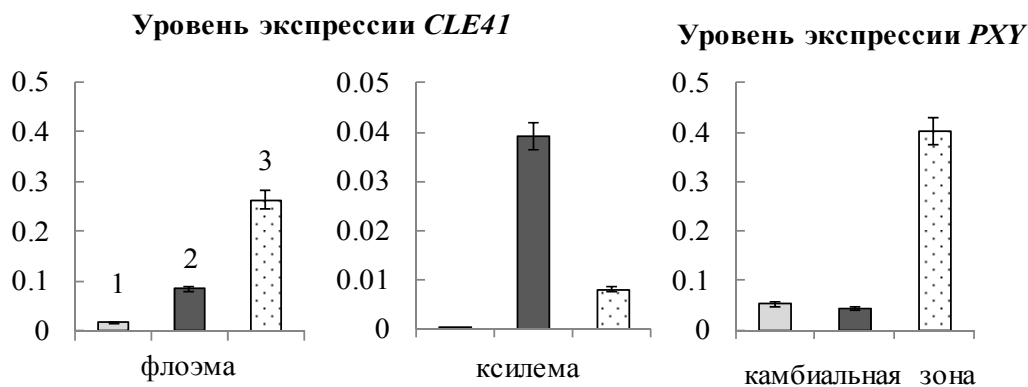
Если в ксилеме *B. pendula* var. *pendula* ген *CLE41* практически не экспрессировался, то в ксилеме узорчатых растений уже обнаруживаются транскрипты мРНК гена *CLE41*. Это еще одна особенность карельской березы. От локализации пептида *CLE41* зависит ориентация деления клеток. Для нормального развития сосудов ксилемы требуется градиент концентрации пептида *CLE41*, экспрессия его гена должна быть ограничена флоэмой и прилегающими к ней клетками камбия. В линиях *35S::CLE41* (повсеместная экспрессия *CLE41*) и *IRX3::CLE41* (экспрессия *CLE41* в ксилеме) присутствуют сосуды ксилемы с резко отличающимися ориентациями: клетки, имеющие нормальную ориентацию, расположены рядом с клетками в перпендикулярной ориентации [Fisher, Turner, 2007; Etchells, Turner, 2010]. Исходя из вышесказанного, мы выдвинули предположение, что обнаруженная нами эктопическая экспрессия гена *CLE41* в ксилеме узорчатых растений карельской березы может быть причиной нарушения ориентации деления камбиальных производных.

Представленные результаты, вместе с данными других исследователей [Ito et al., 2006; Hirakawa et al., 2008; Whitford et al., 2008; Etchells, Turner, 2010; Ye, Zhong, 2015; Etchells et al., 2015; Nieminen et al., 2015], показывают, что передача сигналов через *PXY/CLE* регулирует деление клеток в камбиальном регионе. Увеличение уровня экспрессии генов *CLE41* во флоэме и *PXY* в камбиальном регионе способствует увеличению числа делений в периклиальном направлении, и только изменение положения экспрессии *CLE41* приводит к нарушению плоскости деления стволовых клеток.

В связи с этим представляет интерес рассмотрение экспрессии генов, кодирующих пептид *CLE-41* и его рецептор *PXY*, у 11-летних растений обычной березы и карельской березы с разной степенью аномальности вторичных проводящих тканей (узорчатая и безузорчатая части ствола). У обычной березы уровень экспрессии гена *CLE41* во флоэме был в 15 раз, а уровень экспрессии гена *PXY* в камбиальной зоне в 7.8 раз ниже по сравнению с узорчатой частью карельской березы. Если в ксилеме обычной березы ген *CLE41* практически не экспрессировался, то в ксилеме узорчатой части растений карельской березы обнаруживаются транскрипты мРНК гена *CLE41* (рисунок). То есть, распределение экспрессии генов *CLE41* и *PXY* в камбиальной зоне у 11-летних растений было схоже с таковым у 46-летних растений. Неожиданный результат был получен для безузорчатой части ствола узорчатых растений карельской березы. Если уровень экспрессии генов *CLE41* во флоэме занимал промежуточное положение между обычной березой и узорчатой частью ствола карельской березы, то в ксилеме его значение было в 5 раз выше, по сравнению с узорчатым участком. При этом количество транскриптов мРНК гена *PXY* в камбиальном регионе было в 1.2. и 9 раз ниже, по сравнению с обычной березой и узорчатой частью карельской березы (рисунок).

Таким образом, формирование нормальной по строению древесины, в составе которой преобладают сосуды и волокна, у обычной березы происходит на фоне экспрессии во флоэме гена *CLE41* и в камбиальной зоне гена *PXY*. Формирование аномальной узорчатой древесины, для которой характерны крупные включения клеток паренхимы и нарушение ориентации проводящих элементов, происходит на фоне (1) существенного увеличения уровня экспрессии гена *CLE41* во флоэме и гена *PXY* в камбиальной зоне, и (2) эктопической экспрессией *CLE41* в ксилеме. В безузорчатых участках ствола узорчатых растений карельской березы, где формирование нормальной

по строению древесины происходит на фоне высокого содержания сахаров в тканях, функционирование камбиальных производных происходит на фоне (1) повышенной, по сравнению с обычной березой, но не так существенно, как в узорчатых участках, экспрессией *CLE41* во флоэме; (2) значительно увеличенной эктопической экспрессией *CLE41* в ксилеме и (3) пониженной экспрессией *PXY* в камбиальной зоне (рисунок).



**Рисунок.** Относительный уровень экспрессии (отн.ед.) генов *CLE41*, *PXY* в тканях ствола 11-ти летних растений обычной березы (1), безузорчатой (2) и узорчатой (3) частях ствола карельской березы. Представлены средние значения и их стандартные ошибки.

Получено, что уже на начальных этапах онтогенеза, когда еще отсутствуют видимые признаки аномального строения, сеянцы двух форм березы повислой отличаются между собой по уровню экспрессия генов, кодирующих систему TDIF-TDR. Было выявлено, что если у 2-недельных сеянцев экспрессия генов *CLE41*, *PXY* была выше у растений обычной березы, то уже у 5-недельных растений картина кардинально меняется: количество транскриптов мРНК генов *CLE41*, *PXY* существенно выше у растений карельской березы, остается таким до 10-недельного возраста и сохраняется у взрослых растений.

Механизмы, объясняющие нарушение работы CLAVATA-подобной системы TDIF-TDR, остаются до сих пор не изученными. Эксперименты по созданию зон избыточного содержания сахарозы в стволе обычной березы (эксперименты по двойному кольцеванию ствола, наши неопубликованные данные) показали, что эндогенное повышение сахаров не только приводит к увеличению уровня экспрессии генов, кодирующих пептид CLE-41 и его рецептор PXY, способствуя возрастанию числа делений в камбиальной зоне, но также изменяет положение экспрессии *CLE41*. Можно предположить, что наличие избытка сахаров в камбиальной зоне изменяет пути развития камбиальных производных.

Дальнейшее исследование функционального состояния камбиальной зоны, ее субстратной обеспеченности в период активного камбиального роста и уровня экспрессии генов, контролирующих процессы дифференцировки камбиальных производных, позволит дать дополнительную информацию о механизмах аномального ксилогенеза у древесных растений.

*Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (Институт леса КарНЦ РАН) и при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 16-04-01191 и 16-04-100639\_p\_a).*

#### Литература

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. – Т. 61, № 5. – С. 611–631.

Додуева И.Е., Юрлова Е.В., Осипова М.А., Лутова Л.А. CLE-пептиды – универсальные регуляторы развития меристем // Физиология растений. – 2012. – Т. 59. – С. 17–31.

Du J., Groover A. Transcriptional regulation of secondary growth and wood formation // JIPB. – 2010. – V. 52. – P. 17–27.

Etchells J.P., Mishra L.S., Kumar M., Campbell L., Turner S.R. Wood formation in trees is increased by manipulating PXY-regulated cell division // Current Biology. – 2015. – V. 25. – P. 1050–1055.

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. – V. 140. – P. 2224–2234.

Etchells J.P., Provost C.M., Turner S.R. Plant vascular cell division is maintained by an interaction between PXY and ethylene signaling // PLoS Genet. – 2012. – V. 8. 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. – V. 137. – P. 767–774.

Fisher K., Turner S. PXY, a receptor-like kinase essential for maintaining polarity during plant vascular-tissue development // Curr. Biol. – 2007. – Vol. 17. – P. 1061–1066.

Gancheva M.S., Dodueva M.A., Lebedeva M.A., Tvorogova V.E., Tkachenko A.A., Lytova L.A. Identification, expression, and functional analysis of CLE genes in radish (*Raphanus sativus* L.) storage root // BMC Plant biology. – 2016. – V. 16. – P. 23–33

Hirakawa Y., Shinohara H., Kondo Y., Inoue A., Nakanomyo I., Ogawa M., Sawa S., Ohashi-Ito K., Matsubayashi Y., Fukuda H. Non-cell-autonomous control of vascular stem cell fate by a CLE peptide/receptor system // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2008. – V. 105. – P. 15208–15213.

Ito 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. – V. 313. – P. 842–845.

Nieminen K., Blomster T., Helariutta Y. and Mähönen A.P. Vascular cambium development // The Arabidopsis Book. – 2015. – Vol. 13. e0177.

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. – V. 105. – P. 18625–18630.

Ye Z.H., Zhong R. Molecular control of wood formation in trees // J. Exp. Bot. – 2015. – V. 66. – P. 4119–4131.

## KEY REGULATORS OF CAMBIUM STEM CELLS DEVELOPMENT IN WOODY PLANTS

N.A. Galibina, L.L. Novitskaya, Ya.L. Moschenskaya, K.M. Nikerova, M.N. Podgornaya, I.N. Sofronova

Forest Research Institute of Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia, [galibina@krc.karelia.ru](mailto:galibina@krc.karelia.ru)

**Abstract.** Different xylogenesis scenarios in silver birch and Karelian birch differ in the level of genes expression encoding TDIF-peptide and its TDR receptor, which play a central role in cambial activity. The figured wood formation in Karelian birch, characterized by parenchyma cell inclusions and disturbance of the conducting elements orientation, occurs against the background of an increase in the expression level of the *CLE41* gene in phloem and the *PXY* gene in the cambial zone and ectopic expression of *CLE41* in xylem.

**Keywords:** Karelian birch, abnormal xylogenesis, TDIF/CLE-41-TDR/PXY