

УДК 581.1

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ОБНОВЛЕНИЯ КЛЕТОК КОРНЕВОГО ЧЕХЛИКА У *Arabidopsis thaliana* L.

© 2024 г. В. А. Черенко^{a, b}, Н. А. Омелянчук^a, Е. В. Землянская^{a, b, *}^aФедеральное государственное бюджетное научное учреждение “Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук”, Новосибирск, Россия^bФедеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования “Новосибирский национальный исследовательский государственный университет”, Новосибирск, Россия

*e-mail: ezemlyanskaya@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 03.11.2023 г.

После доработки 24.11.2023 г.

Принята к публикации 24.11.2023 г.

Синхронизация пространственно разобщенных процессов деления и потери клеток играет первостепенную роль в обновлении и поддержании структуры органов и тканей, но о генетических механизмах ее регуляции на данный момент известно очень немного. У растений быстрому обновлению подвержен корневой чехлик, который располагается на кончике корня, защищая от механических повреждений нишу ствольных клеток и выполняя ряд других важных функций. Несмотря на непрерывное поступление и дифференцировку дочерних клеток от деления инициалей (ствольных клеток), корневой чехлик не увеличивается в размерах благодаря регулярному удалению дифференцированных клеток на внешнем его конце. Для строгого поддержания постоянства размера корневой чехлика важно, чтобы деления ствольных клеток были синхронизированы с удалением клеток внешнего слоя. У *Arabidopsis thaliana*, модельного объекта генетики растений, корневой чехлик имеет очень простую упорядоченную структуру, а слущивание старых клеток происходит единым слоем, что делает этот вид удобной моделью для исследования механизмов регуляции обновления клеток корневой чехлика. В обзоре рассмотрено поддержание гомеостаза структуры и размера корневой чехлика у *A. thaliana*, обсуждены данные по генетическому контролю этого процесса и возможные перспективные направления дальнейших исследований в этой области.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, дифференцировка клеток колумеллы, запрограммированная гибель клеток, инициалы колумеллы, транскрипционный фактор, фитогормоны.

DOI: 10.31857/S0015330324020024, EDN: OBXANC

ВВЕДЕНИЕ

Корни служат растениям для закрепления в почве и поглощения воды с растворенными в ней солями [1, 2]. В корне выделяют три зоны: на самом конце располагается меристематическая зона (также называемая зоной делений), за ней по направлению к побегу (проксимально) следует зона удлинения (зона роста), и далее — зона дифференцировки (зона созревания, или всасывания) (рис. 1). Область перехода между меристематической зоной и зоной удлинения часто выделяют в отдельную транзитную зону. У наземных растений, начиная с сосудистых спорых, на дистальном конце корня дополнительно присутствует специальный орган, называемый корневым чехликом (рис. 1а). Он защищает апикальную меристему от повреждений, способ-

ствует адаптации растений к различным почвам, а также участвует в формировании ответных реакций на целый ряд внешних стимулов: гравитацию, механические раздражители, патогены, доступность воды, минеральных веществ и другие условия [1, 2].

Корневой чехлик состоит из двух отдельных частей (рис. 1б): центрально расположенной колумеллы и окружающего ее и меристему корня бокового корневой чехлика (БКЧ) [3]. Анатомия корневой чехлика *Arabidopsis thaliana* имеет сходную, хотя и более простую клеточную организацию, чем та, которая описана для других представителей семейства Brassicaceae. Ниша ствольных клеток корня состоит из трех ярусов. Центральный ярус составляют клетки покоящегося (организационного) центра и инициалы коры. Верхний ярус занимают инициалы стелы. Корневой чехлик продуцируют инициалы нижнего яруса. Среди них выделяют 12 инициалей

Сокращения: БКЧ — боковой корневой чехлик; ТФ — транскрипционный фактор

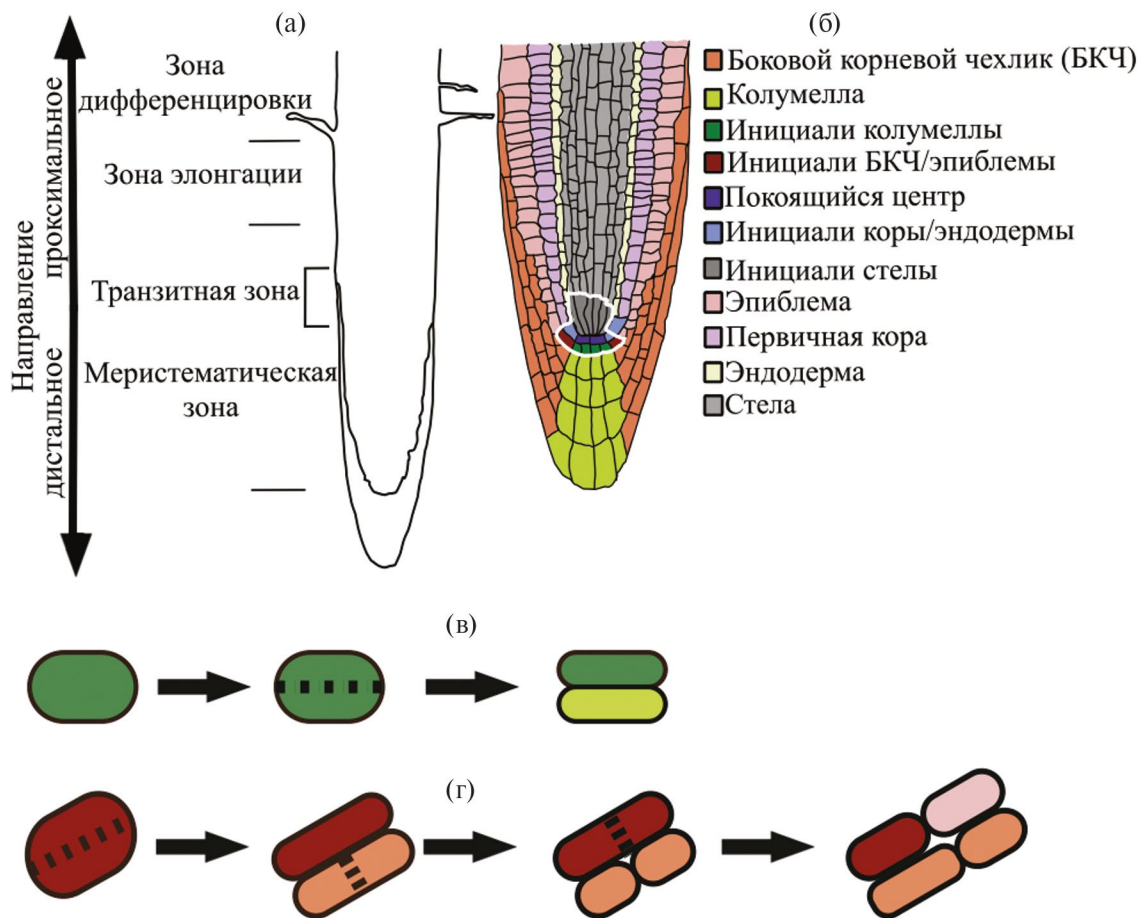


Рис. 1. Зоны корня и клеточная структура корневого чехлика: а — схематическое изображение строения корня *Arabidopsis thaliana* с указанием зон; б — клеточная организация кончика корня *A. thaliana*; белым цветом выделена ниша стволовых клеток, куда входит покоящийся центр и стволовые клетки (инициали); в — продукция клеток колумеллы путем асимметричных периклиальных делений инициалей колумеллы; г — продукция клеток бокового корневого чехлика (БКЧ) и эпиблемы в результате последовательных периклиального и антиклинального делений инициалей эпиблемы и БКЧ соответственно. Пунктирной линией на панелях (в) и (г) отмечена плоскость деления. Цветовая кодировка на этих панелях соответствует панели (б).

колумеллы, которые в поперечной проекции организованы в виде круга с четырьмя центральными клетками, окруженными оставшимися восемью. Клетки колумеллы формируются в результате периклиального (параллельного поверхности органа) деления этих инициалей. Потомки каждой инициали образуют вертикальный ряд, располагаясь строго друг под другом (рис. 1в). Благодаря такой простой организации с легко отслеживаемой клональностью колумелла *A. thaliana* широко используется как модель для изучения функционирования ниши стволовых клеток у растений. Инициали колумеллы окружены 16 инициалами, которые дают начало клеткам БКЧ и эпиблемы. Антиклинальное (перпендикулярное поверхности органа) деление этой инициали продуцирует две клетки, из которых внутренняя остается стволовой, а внешняя дает начало эпиблеме; периклиальное деление инициали продуцирует наружу клетки БКЧ (рис. 1г). У *A. thaliana* корневого чех-

лик содержит от 180 до 260 клеток [2]. У других видов его размер может быть существенно больше, например, у *Pisum sativum* корневого чехлик имеет от 4000 до 21000 клеток.

Поскольку корневого чехлик находится на поверхности растущего сквозь почву корня, его внешний слой испытывает постоянную механическую нагрузку с повышенным риском повреждений и регулярно сменяется [1, 2]. Это обстоятельство требует постоянного возобновления клеток корневого чехлика, которое обеспечивается регулярными делениями его инициалей. В то же время для функционирования корневого чехлика важно, чтобы не происходило его чрезмерного разрастания и строго поддерживалась его апикальная локализация. Показано, например, что увеличение размеров БКЧ, которое наблюдается у мутантных растений *A. thaliana* с нарушением функций гена *ANAC033/SOMBRERO (SMB)*, может приводить к замедлению роста корня в длину [4]. Таким образом, возникает не-

обходимость обеспечения баланса между продукцией клеток и их удалением. Далее в обзоре мы рассмотрим клеточные механизмы структурного гомеостаза корневого чехлика у *A. thaliana*, а также генетический контроль этих процессов.

КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ СТРУКТУРНОГО ГОМЕОСТАЗА КОРНЕВОГО ЧЕХЛИКА

Периклиналильные деления инициалей колумеллы и БКЧ скоординированы и приводят к формированию нового слоя корневого чехлика, сдвигая более старые слои ближе к периферии [1, 2]. Для большинства дочерних клеток инициалей колумеллы характерна быстрая дифференцировка без делений, тем не менее, деления клеток колумеллы наблюдаются, но достаточно редко [5]. Дочерние клетки инициалей колумеллы дифференцируются в статоциты — клетки, воспринимающие гравитационные сигналы [6, 7]. Они начинают накапливать крахмал внутри амилопластов, что приводит к формированию крахмальных зерен (статолигов), оседающих под действием силы тяжести. По мере своей дифференцировки клетки колумеллы осуществляют функциональный переход от гравитационно-чувствительных статоцитов к секреторным клеткам [2, 8]. Этот процесс сопровождается деградацией крахмальных зерен, объединением вакуолей и увеличением количества органелл, вовлеченных в секреторную функцию. В отличие от потомков инициалей колумеллы клетки БКЧ, продуцируемые в результате периклиналильного деления инициалей БКЧ и эпibleмы, в течение некоторого времени способны делиться в антиклиналильной плоскости, что наряду с растяжением клеток обеспечивает рост БКЧ вдоль оси корня [9, 10]. Клетки БКЧ не имеют статолигов и дифференцируются только в секреторные клетки [2, 11].

Сразу после прорастания семени в ювенильном корневом чехлике *A. thaliana* наблюдается четыре (реже — три) слоя клеток, включая инициали [12, 13]. К пятому дню после прорастания размер корневого чехлика обычно достигает пяти клеточных слоев, такой орган считается зрелым. На этом этапе запускается регулярное удаление внешнего слоя корневого чехлика, происходящие примерно каждые 36 ч [12, 14, 15].

В настоящее время описаны два механизма удаления старых клеток корневого чехлика: (1) их запрограммированная гибель в БКЧ и (2) слушивание живых клеток с поверхности корня в колумелле и БКЧ [1]. У *A. thaliana* механизмы запрограммированной гибели активируются в проксимальных клетках внешнего слоя БКЧ, которые находятся в транзитной зоне

корня, расположенной на границе между меристематической зоной и зоной удлинения [4, 16] (рис. 2). Эти клетки погибают, после чего подвергаются быстрому активному автолизу. Таким образом, запрограммированная гибель является заключительным этапом развития клеток БКЧ. В процессе роста корня механизмы гибели последовательно активируются в ряду клонально-родственных клеток наружного слоя БКЧ, которые приходят на смену погибшим клеткам. По мере удаления этих клеток “внешним” становится более молодой слой БКЧ, в проксимальных клетках которого в свою очередь аналогичным образом активируются механизмы запрограммированной гибели.

Удаление клеток внешнего слоя корневого чехлика в его апикальной части, в том числе секреторных клеток колумеллы путем их слушивания в почву синхронизировано с гибелью клеток в проксимальной области БКЧ [4, 17–18]. Отделившиеся от корня клетки носят название пограничных [19–21]. В течение некоторого времени они остаются живыми и выполняют секреторную функцию, преобразуя физические и химические свойства окружающей корень среды, тем самым облегчая движение корня сквозь почву, защищая его от патогенов и обеспечивая взаимодействие с симбиотическими организмами (обзоры в [1, 11, 19, 20]). В отличие от многих видов, у которых с поверхности корня слушиваются отдельные клетки, у *Brassicaceae*, включая *A. thaliana*, отделение клеток происходит единым слоем с сохранением контактов между ними [21] (рис. 2). На первом этапе слушивания появляется разрыв во внешнем клеточном слое в проксимальной области БКЧ на уровне чуть выше покоящегося центра и начинается отслойка клеток этого слоя сверху вниз [4, 14, 15]. Этому событию предшествует деление инициалей колумеллы, что обеспечивает скоординированность процессов генерации и элиминации клеточных слоев в корневом чехлике [12]. Через некоторое время детектируется отделение наружного слоя клеток БКЧ, окружающих колумеллу [4, 14, 15]. Последними отделяются клетки внешнего слоя колумеллы. Отслоение обеспечивается путем реорганизации клеточных стенок [12, 22, 23]. Отделившийся слой пограничных клеток “соскальзывает” с кончика растущего корня и остается сбоку от него [14]. Весь процесс от начала и до конца слушивания занимает в среднем 18 ч, и примерно 18 ч проходит до инициации следующего слушивания [14]. Несмотря на сопряженность процессов генерации и элиминации клеточных слоев корневого чехлика, есть данные, что его размер все-таки немного прогрессирует с возрастом. В частности, Wein с соавт. [13] к 10 дню после прорастания наблюдали шесть клеточных слоев в составе колумеллы *A. thaliana*.

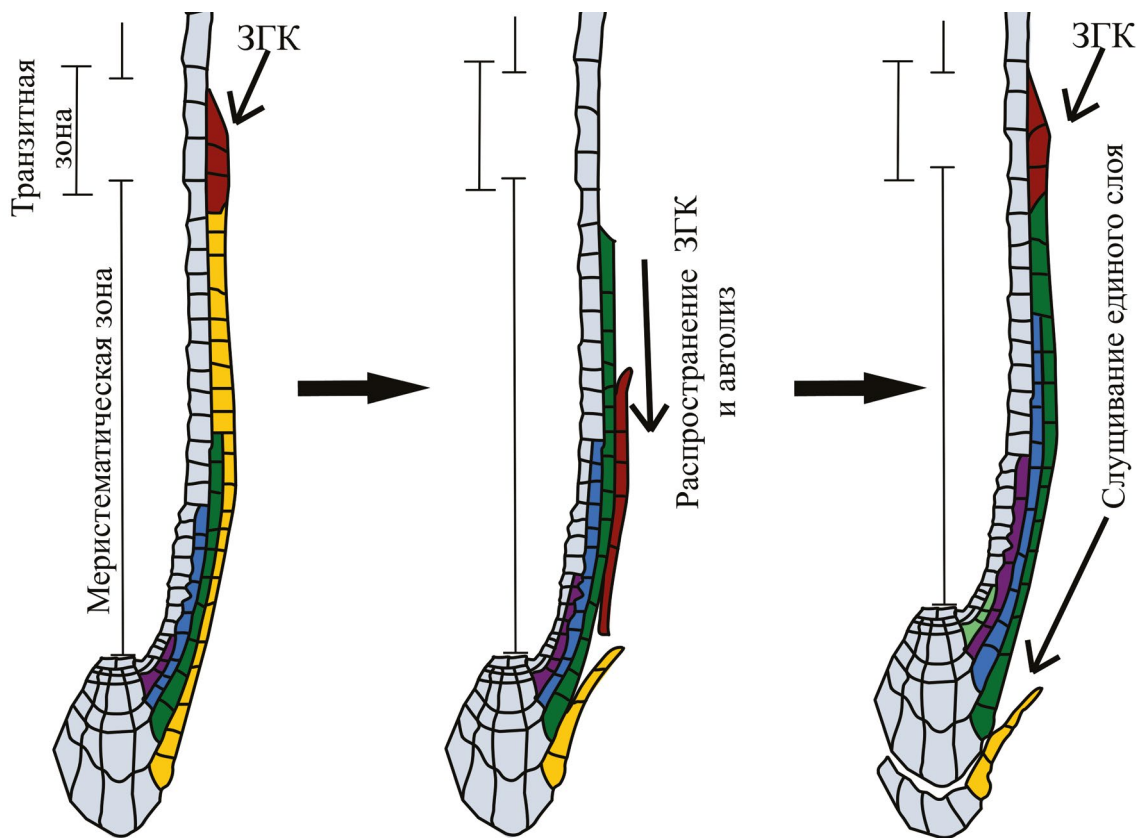


Рис. 2. Процесс удаления старых клеток корневого чехлика. Цветовая кодировка (желтый, светло- и темно-зеленый, синий, фиолетовый) указывает на отдельные слои бокового корневого чехлика. Красным цветом отмечена запрограммированная гибель клеток (ЗГК) во внешнем слое бокового корневого чехлика. Ключевые события удаления внешнего слоя клеток корневого чехлика указаны тонкими стрелками. К ним относятся запрограммированная гибель клеток бокового корневого чехлика, автолиз погибших клеток, а также слушивание единого слоя живых клеток колумеллы.

ГОРМОНАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ КЛЕТОЧНОЙ ДИНАМИКИ В КОРНЕВОМ ЧЕХЛИКЕ

Ауксин — основополагающий регулятор структуры корневого чехлика

Развитие корневого чехлика регулируется фитогормонами, из которых первостепенное значение имеет ауксин [24, 25]. В кончике корня *A. thaliana* максимум концентрации ауксина маркирует покоящийся центр, от которого вдоль центральной оси в проксимальном и дистальном направлениях снижается концентрация ауксина [26–29]. Ключевой вклад в формирование градиента ауксина в кончике корня вносит его активный транспорт, который обеспечивают белки-транспортёры семейства PINFORMED (PIN), а именно: PIN1, PIN2, PIN3, PIN4 и PIN7 [27]. Распределение этих белков на мембранах клеток корня (от равномерного до полярного) определяет направление потоков ауксина: акропетальный (по направлению кончику) — в стеле, базипетальный (по направлению к побегу) — в БКЧ и эпиблеме, разнонаправленный — в колумелле. Такая организация потоков ауксина обеспечивает форми-

рование и правильное позиционирование максимума концентрации фитогормона [28, 29]. В колумелле перераспределение ауксина осуществляют белки PIN3, PIN4 и PIN7, в БКЧ — PIN2 [27, 30, 31].

Градиент ауксина с максимумом в покоящемся центре играет принципиальную роль при определении состояния клеток в растущем корне, оказывая существенное влияние на их способности к делению, росту и дифференцировке [32–34]. Так, повышение уровня ауксина путем экзогенной обработки проростков этим фитогормоном или ингибитором его транспорта (нафтилфталомовой кислотой), а также в трансгенных линиях с повышенным уровнем биосинтеза ауксина приводит к потере слоя инициалей колумеллы из-за их преждевременной дифференцировки в статоциты [24, 25]. Снижение уровня ауксина в результате мутаций, нарушающих биосинтез ауксина, передачу его сигнала или транспорт ауксина в колумелле, наоборот, приводит к формированию нескольких слоев инициалей колумеллы [24]. В то же время специфическое подавление сигнального пути

ауксина в клетках покоящегося центра вызывает дифференцировку инициалей колумеллы [32]. Неоднозначность эффектов ауксина потенциально может объясняться комбинаторной моделью действия элементов сигнального пути ауксина [33, 35], а также взаимосвязью этого фитогормона с другими регуляторами поддержания ниши стволовых клеток, такими как транскрипционный фактор (ТФ) WUSCHEL HOMEODOMAIN 5 (WOX5) [36], PLETHORA (PLT) [37, 38], и регуляторным контуром SCARECROW (SCR)—SHORT ROOT (SHR)—RETINOBLASTOMA-RELATED (RBR) [39]. Таким образом, детали молекулярного механизма, опосредующего влияние ауксина на клетки корневого чехлика, еще только предстоит выяснить.

Взаимоотношения ауксина и цитокинина в регуляции клеточной динамики

Цитокинин известен как регулятор деления клеток [40, 41]. В корне концентрационный максимум цитокинина расположен в корневом чехлике, причем он характерен для всех трех наиболее активных цитокининов: изопентил-аденина, цис- и транс-зеатинов как в свободной, так и конъюгированной формах [42]. Высокий уровень цитокинина в корневом чехлике коррелирует с высоким уровнем экспрессии генов, кодирующих цитокинин-деактивирующие ферменты CKX (CYTOKININ OXIDASE/DEHYDROGENASE) и UGT (URIDINE DIPHOSPHATE GLUCOSYLTRANSFERASE). Все три рецептора цитокинина AHK2 (ARABIDOPSIS HISTIDINE KINASE 2), AHK3 и AHK4 экспрессируются также на самом высоком уровне в колумелле [43]. Сенсор цитокинина *TCS:GFP*, экспрессирующий GFP под контролем цитокинин-чувствительного синтетического промотора, выявляет цитокининовый сигнал в колумелле и БКЧ, начиная с четвертого дня после прорастания, и максимум сигнала приходится на периферические клетки колумеллы [44]. Высокий уровень сигнала цитокинина в колумелле не усиливается при обработке экзогенным цитокинином, что может говорить об его предельном уровне [45]. Определение содержания цитокинина и ауксина в одной и той же клеточной популяции с помощью сортировки флуоресцентно активированных клеток и жидкостной хроматографии с tandemной масс-спектрометрией показало, что в корневом чехлике уровень цитокинина выше, чем ауксина [42], при этом именно ауксин увеличивает здесь концентрацию цитокинина [44]. С другой стороны, в БКЧ цитокинин быстро снижает уровень свободного ауксина за счет фактора цитокининового ответа ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATOR 1 (ARR1), напрямую контролирующего транскрипцию внутриклеточного транс-

портера ауксина PIN5 и конъюгатора ауксина GRETCHEN HAGEN 3.17 (GH3.17) [46]. PIN5 перекачивает ауксин из цитоплазмы в эндоплазматический ретикулум, где GH3.17 инактивирует его связыванием с аминокислотами. Наряду с GH3.17 цитокинин в БКЧ также повышает через ARR1 уровень других конъюгаторов ауксина GH3.5 и GH3.6. Таким образом, цитокинин модулирует базипетальный поток ауксина через БКЧ и тем самым регулирует градиент ауксина в кончике корня.

Гормональная настройка клеточной динамики путем модуляции сигнала ауксина

Многие гормоны, например, салициловая кислота, осуществляют контроль дифференцировки клеток колумеллы через регуляцию распределения ауксина. У мутантов с повышенным эндогенным уровнем салициловой кислоты или при обработке низкими дозами этого гормона (10 мкМ) в течение 5 дней инициали колумеллы накапливают крахмал, т. е. преждевременно дифференцируются в клетки колумеллы, при этом у 40–70% растений слой инициалей колумеллы вообще исчезает [47]. Напротив, обработка в течение такого же срока салициловой кислотой с немного более высокой концентрацией (30 мкМ) приводит к образованию двух-четырех дополнительных слоев клеток, которые экспрессируют маркеры как покоящегося центра (WOX5), так и инициалей колумеллы (J2341), и в которых отсутствуют крахмальные гранулы [48]. Обработка еще более высокими концентрациями (150 мкМ) не меняет структуру колумеллы, но увеличивает размер ее клеток и ингибирует в них образование крахмала.

Различия в реакциях колумеллы на разные дозы салициловой кислоты можно объяснить различным влиянием этих доз на распределение ауксина [47–50]. При обработке низкой дозой салициловой кислоты (30 мкМ) концентрация ауксина в колумелле повышается за счет увеличения его биосинтеза и уровня PIN1, приносящего ауксин из стебля, а также за счет подавления PIN2 и PIN7, перераспределяющих ауксин в базипетальный поток [48]. Повышенный уровень ауксина приводит к преждевременной дифференцировке инициалей колумеллы. Более высокие концентрации салициловой кислоты снижают уровни ауксина в покоящемся центре и в инициалах колумеллы, главным образом за счет ингибирования PIN1, что приводит к приостановке дифференцировки. Длительная обработка низкими концентрациями салициловой кислоты также приводит к нарушению плоскостей и увеличению числа делений инициалей БКЧ и эпиблемы.

Повышение эндогенного уровня брассиностероидов или обработка этими гормонами в

концентрациях от 1 наномоля и выше вызывают появление крахмальных зерен в инициалах колумеллы, т. е. их дифференцировку [51]. Уже при 1 наномоле brassinosterоидов у 18% растений дифференцируется весь слой инициалей колумеллы [52]. Наряду с этим уменьшается уровень крахмала в клетках колумеллы, и в нескольких клетках в ее нижних рядах крахмальные зерна вообще не определяются. Снижение биосинтеза brassinosterоидов или обработка их низкими концентрациями (от фемто до 0.1 наномоля) имеют противоположный результат, т. е. ингибируют дифференцировку дочерних клеток инициалей колумеллы, что приводит к появлению двух слоев инициалей колумеллы и процент растений с этой аномалией растет вместе с концентрацией в вышеуказанных пределах. Одновременно с этим падает число слоев колумеллы и при обработке 0.1 наномолем brassinosterоида около 25%, 68% и 7% растений имеют, соответственно, четыре, три и два слоя. Сигнальный путь brassinosterоидов при переходе гормонального сигнала от рецепторов, киназ и фосфатаз к ТФ разделяется на BZR1 (BRASSINAZOLE-RESISTANT 1) и BES1 (BRI1-EMS-SUPPRESSOR 1) опосредованные сигнальные каскады [53], из которых BES1 активирует дифференцировку клеток колумеллы [51], в то время как BZR1 каскад ее подавляет [52]. BZR1 каскад частично действует через уменьшение стимуляции ауксином дифференцировки клеток колумеллы.

В корнях, обработанных жасмоновой кислотой, происходит комплексное нарушение дифференцировки колумеллы, так как маркер инициалей колумеллы регистрируется более чем в одном слое, но при этом часть инициалей колумеллы имеет крахмальные зерна [54]. Показано, что индуцируемый жасмонатами ТФ MYC2 подавляет экспрессию генов ТФ *PLT1* и *PLT2*, участвующих в ауксиновом контроле дифференцировки колумеллы.

В корне у 5-дневных проростков абсцизовая кислота (АБК) имеет наибольший уровень в покоящемся центре и колумелле, и этот уровень значительно снижается, начиная с 10-го дня после прорастания [13, 55]. Обработка АБК 5-дневных проростков дает наиболее высокий сигнал также в кончике корня с максимумом в колумелле, но при обработке 10–15 дневных проростков сигнал в корне гораздо слабее и примерно одинаков для всех типов клеток [13]. Блокирование биосинтеза АБК приводит к накоплению крахмала не только в инициалах колумеллы, но и в покоящемся центре [56]. Подавление АБК дифференцировки дочерних клеток инициалей колумеллы требует участия двух ауксин-индуцируемых генов, *WOX5* и *AUXIN RESPONSE FACTOR 5/MONOPTEROS (ARF5/MP)* [56–58].

В колумелле этилен увеличивает число слущенных слоев, а ингибитор биосинтеза этилена (2-aminoethoxyvinyl glycine, AVG) уменьшает их число [12]. Эндогенный этилен синтезируется во внешнем и подлежащем слоях БКЧ, где специфически экспрессируется ACS8 (1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase 8) катализирующая, как и остальные ACS лимитирующую стадию в биосинтезе этилена [59]. Обработка ауксином значительно повышает экспрессию ACS8 в этих слоях. Обработка этиленом увеличивает интенсивность сигнала ауксина в БКЧ и это увеличение зависит от AUX1 транспортера ауксина, т. е. связано с перераспределением этого гормона [60]. Гиббереллин усиливает ауксиновый сигнал в колумелле [61].

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПЕРЕХОДА ОТ ДЕЛЕНИЙ К ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ КЛЕТОК В КОРНЕВОМ ЧЕХЛИКЕ

Генетический анализ и локализация экспрессии генов в колумелле показали, что переход клеток от делений к дифференцировке находится под контролем нескольких независимых регуляторных путей [5]. Один из них включает ТФ FEZ и SMB семейства NAC (NAM, ATAF and CUC), а также WOX5 семейства WUSCHEL, домены экспрессии которых приведены на рис. 3. ТФ FEZ активирует клеточные деления в инициалах корневого чехлика и снижение его активности приводит к уменьшению числа слоев в колумелле и БКЧ [18]. Количество FEZ в клетке ограничивается по принципу отрицательной обратной связи путем активации гена *SMB*. ТФ SMB подавляет ген *FEZ* в дочерних клетках инициалей колумеллы, ограничивая таким образом их способность к делению и стимулируя дифференцировку. *WOX5* экспрессируется в покоящемся центре, где он препятствует делению клеток [57, 62]. С другой стороны, *WOX5* в покоящемся центре активирует неуставленные до настоящего времени сигнальные компоненты, которые, мигрируя в инициали колумеллы, подавляют экспрессию *SMB* и тем самым снимают ингибирование с *FEZ*, стимулируя деление инициалей [5, 63]. Помимо этого, *WOX5* поддерживает способность инициалей колумеллы к делению, подавляя ген ТФ *CYCLING DOF FACTOR 4 (CDF4)*, избыток которого приводит к преждевременной дифференцировке инициалей [64]. Соответственно, у мутантов *wox5* инициали колумеллы начинают дифференцироваться и накапливать крахмал, тогда как сверхэкспрессия *WOX5* приводит к остановке дифференцировки дочерних клеток инициалей не только колумеллы, но и БКЧ [57, 64].

Дифференцированные клетки колумеллы продуцируют пептидные гормоны CLAVATA3/

EMBRYO SURROUNDING REGION-RELATED 40 (CLE40), CLE16 и CLE17 [65, 66], сигналы которых воспринимаются протеинкиназным рецепторным комплексом CLAVATA1 (CLV1)-ARABIDOPSIS CRINKLY4 (ACR4), вызывая дифференцировку клеток колумеллы путем подавления WOX5 [65–67] (рис. 3). Посредником выступает фосфатаза PROTEIN PHOSPHATASE 2A (PP2A), на каталитическую субъединицу которой, PP2A-3, посттрансляционно воздействует ACR4 [68]. Еще одним участником сигнального пути CLE пептидов в поддержании дифференцированного состояния клеток колумеллы является E3 убиквитинлигаза PLANT U-BOX4 (PUB4) [69].

Регуляторный путь, связанный с ауксином, включает в себя ТФ AUXIN RESPONSE

FACTOR 10 (ARF10) и ARF16, опосредующих транскрипционный ответ генов на этот фитогормон, а также микроРНК *miR160*, для которой мРНК *ARF10* и *ARF16* являются прямыми мишенями [24, 70] (рис. 3). В то время как обработка ауксином стимулирует дифференцировку клеток колумеллы и снижает скорость деления инициалей [24, 25], *miR160* активирует деление инициалей, подавляя *ARF10* и *ARF16* [70]. Сверхэкспрессия *miR160* или мутации генов *ARF10* и *ARF16* приводят к неконтролируемым делениям клеток в колумелле и блокируют их дифференцировку, в результате чего формируется опухоль на кончике корня и утрачивается гравитропизм. В поддержании стволового состояния инициалей колумеллы участвует также ген *ULTRAPETALA1 (ULT1)* [71]. Мутация это-

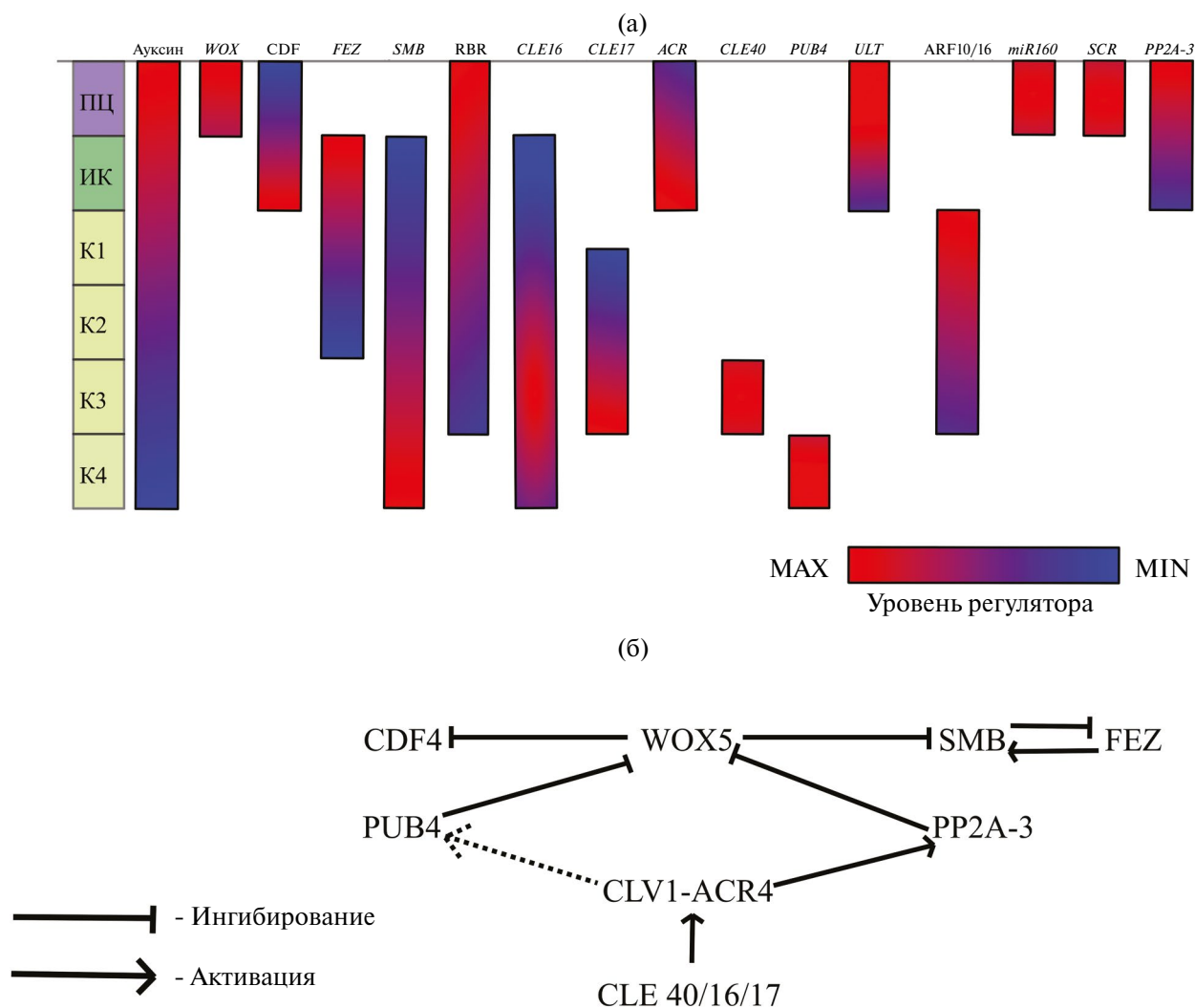


Рис. 3. Регуляция деления и дифференцировки клеток колумеллы: а — распределение регуляторов в корневом чехлике. Красный цвет шкалы соответствует максимальному уровню (MAX), синий — минимальному детектируемому уровню (MIN). Белый цвет отражает отсутствие регулятора в клетках. Каждый регулятор имеет свой максимальный и минимальный уровень. Белки указаны полужирным прямым текстом, транскрипты — курсивом. ПЦ — покоящийся центр, ИК — инициалы колумеллы, К1–К4 — дифференцированные клетки колумеллы; б — генетическое взаимодействие регуляторов делений и дифференцировки клеток. Пунктиром указано гипотетическое взаимодействие (требует дальнейшего изучения).

го гена приводит к преждевременной дифференцировке инициалей колумеллы. У мутантов снижен ауксиновый сигнал в колумелле, однако пока неясно, является ли именно это причиной наблюдаемого фенотипа.

ТФ RBR стимулирует завершение клеточного цикла и дифференцировку в дочерних клетках инициалей колумеллы, работая в рамках регуляторного контура SCR–SHR–RBR [39, 72]. Стоит отметить, что RBR и ARF10/ARF16 регулируют активность инициалей колумеллы независимо от FEZ [5].

Быстрая дифференцировка клеток колумеллы сразу после одного деления стволовой клетки сопровождается уникальным статусом хроматина в этих клетках [73]. У *A. thaliana* клетки колумеллы имеют наиболее метилированную ДНК по сравнению с другими тканями, преимущественно гиперметилированы мобильные элементы. Гиперметилирование осуществляется значимо повышенным количеством малых РНК длиной 24 нуклеотида и транскриптов, кодирующих других участников процесса РНК-направленного метилирования ДНК. При этом в клетках колумеллы не активен ген *DECREASED DNA METHYLATION 1 (DDM1)* и снижено количество транскриптов гистонов, что также указывает на особое состояние эпигенома. О важности эпигенетической регуляции в дифференцировке клеток колумеллы говорит также то, что потеря функции гистон ацетилтрансферазы *GENERAL CONTROL NONDEREPRESSIBLE 5 (GCN5)* или ассоциированного с ней фактора *ALTERATION/DEFICIENCY IN ACTIVATION 2B (ADA2b)* снижает число дифференцированных слоев в колумелле [74]. При этом у части мутантов *gcn5* крахмальные зерна, маркирующие дифференцировку, находили в инициалах колумеллы и даже в покоем центре, а у *ada2b* был снижен уровень ауксина в колумелле. Выявлена также роль метаболитов в регуляции дифференцировки клеток колумеллы. Нарушения метаболизма липидов, такие как снижение уровня неспецифических фосфолипаз С или фосфатидилглицерофосфатазы 1, приводят к делениям дифференцирующихся и дифференцированных клеток колумеллы [75; 76]. В случае мутантов по генам неспецифических фосфолипаз С аномальные деления прекращаются при добавлении фосфохолина, продукта активности этих ферментов [75].

Механизмы перехода клеток БКЧ от делений к дифференцировке исследованы в меньшей степени, чем для клеток колумеллы. В БКЧ, как и в колумелле, работает модуль FEZ–SMB [18]. У растений со сверхэкспрессией гена теплового шока *HsfB4 (class B-heat shock factor 4)* наблюдаются дополнительные деления в дочерних клет-

ках инициалей БКЧ и эпиблемы, что приводит к дополнительным слоям в БКЧ и его удлинению до зоны дифференцировки [77]. У мутантов по генам *TORNADO1 (TRN1)* и *TRN2* клетки инициалей БКЧ и эпиблемы делятся аномально, и во многих вертикальных рядах БКЧ развивается вместо эпиблемы [78]. Это подтверждено наличием молекулярного маркера БКЧ и более ранней вакуолизацией клеток в таких рядах по сравнению с клетками эпиблемы, их более толстыми стенками и их гибелью в начале зоны удлинения, что приводит к разрывам в эпиблеме [78]. Увеличение числа инициалей БКЧ и числа слоев БКЧ вызывается также эктопической экспрессией генов *PLT*, в то время как потеря их функции снижает число слоев БКЧ [79]. Активность гена *PLT1* подавляется связыванием с его промотором комплекса ТФ GROWTH-REGULATING FACTOR (GRF) с его кофакторами GRF-INTERACTING FACTORS (GIFs), которые не имеют ДНК связывающего домена [80]. Потеря функции одного из трех GIF кофакторов AN3 увеличивает число слоев в БКЧ.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ УДАЛЕНИЯ КЛЕТОК КОРНЕВОГО ЧЕХЛИКА

Запрограммированная гибель клеток корневого чехлика

Гибель клеток БКЧ в транзитной зоне корня является финальным этапом процесса их дифференцировки [4]. Инициация механизмов гибели клеток БКЧ сопровождается активацией генов аспарагиновой протеазы *PUTATIVE ASPARTIC PROTEINASE A3 (PASP A3)*, нуклеазы *BIFUNCTIONAL NUCLEASE 1 (BFN1)*, рибонуклеазы *RIBONUCLEASE3 (RNS3)*, а также ряда других известных маркеров запрограммированной клеточной гибели [4, 81, 82]. Активация *PASP A3* является первым признаком подготовки клеток БКЧ к гибели [4]. Непосредственно запуск гибели клеток сопровождается резким падением pH цитоплазмы, которое предшествует повышению проницаемости плазмалеммы и разрушению вакуоли. Ферментативная активность BFN1 в отношении нуклеиновых кислот реализуется уже в погибших клетках на стадии автолиза: фермент высвобождается в цитоплазму только после разрушения эндоплазматического ретикулума. Соответственно, у мутантов с потерей функции *bfn1-1* задерживается деградация ядер погибших клеток БКЧ. Примечательно, что в клетках БКЧ на стадии, предшествующей запрограммированной гибели клеток, специфически экспрессируется фосфолипаза *PLD ζ 2*, гидролизующая мембранные липиды [83]. Также в корневом чехлике перед запрограммированной гибелью клеток активируется ген *ATAO1*, кодирующий медно-аминную оксидазу,

окисляющую путресцин до альдегида, аммиака и пероксида водорода [84].

Запрограммированную гибель клеток БКЧ независимо регулируют ТФ SMB и ANAC087, специфичные для корневого чехлика (лишь небольшое количество ANAC087 обнаруживается также в эпиблеме и клетках сосудов ксилемы) [4, 82]. Эктопическая экспрессия генов, кодирующих эти ТФ, инициирует гибель клеток за пределами чехлика [82]. SMB и ANAC087 регулируют активность генов *BFN1* и *RNS3*. Соответственно, у мутантов *anac087*, как и у *bfn1-1*, нарушена деградация ядерной ДНК в погибших клетках БКЧ [82]. Мутация *smb* ведет к более кардинальным изменениям: гибель клеток задерживается, и БКЧ приобретает увеличенное число клеток и заходит в зону удлинения, что свидетельствует о основополагающей роли этого ТФ в инициации гибели клеток БКЧ [4]. Белок цинковых пальцев ZINC FINGER OF ARABIDOPSIS THALIANA 14 (ZAT14) функционирует как репрессор в генной сети, активируемой SMB и регулирующей запрограммированную гибель клеток в корневом чехлике [85].

Недавно было показано, что продолжительность жизни слушающихся клеток колумеллы *A. thaliana* также регулируется путем их программируемой гибели, запуск которой контролируют ТФ ANAC087 и ANAC046 [82].

Слушивание дистального слоя клеток корневого чехлика

Принципиальным событием в слушивании дистального слоя клеток корневого чехлика является реорганизация клеточных стенок [86]. ТФ SMB, BEARSKIN 1 (BRN1), BRN2 и NIN-LIKE PROTEIN 7 (NLP7) регулируют созревание клеток корневого чехлика и модификацию их клеточных стенок [17, 87, 88]. *BRN1* и *BRN2* активируются в клетках, расположенных на поверхности корневого чехлика; в БКЧ их экспрессия зависит от ТФ SMB [87]. BRN1 и BRN2 активируют ген пектиназы *ROOT CAP POLYGALACTURONASE (RCPG)*. Функционирование этого фермента способствует отделению клеток.

Как мы упоминали выше, характерной особенностью Brassicaceae, включая *A. thaliana*, является слушивание пограничных клеток корневого чехлика единым слоем с сохранением контактов между ними [21]. Такой характер отделения клеток обеспечивает ТФ NLP7, ключевой регулятор передачи нитратного сигнала [88]. Он инициируется низкими значениями pH и активен в пограничных клетках. У проростков *A. thaliana* с мутацией *npl7* слушиваются отдельные клетки, и мутантный фенотип зависит от экспрессии гена *CELLULOSE 5 (CEL5)*.

Помимо этого, у мутантов активируются гены других ферментов, активных в отношении полисахаридов клеточных стенок (в частности, ксиланоглюкан-специфичные гликозил-гидролазы и пектин-лиазы), а также ТФ SMB, BRN1 и BRN2.

Аутофагия как процесс деградации клеточных компонентов через формирование аутофагосом и аутофагического потока к лизосомам и вакуолям, где происходит их лизис, значительно усиливается перед запрограммированной гибелью клеток БКЧ и слушиванием клеток в колумелле [15, 89]. Этому способствует активация *AUTOPHAGY GENE 2 (ATG2)*, *ATG5* и *ATG7* [89]. В колумелле мутация *ATG5* приводит к слушиванию отдельных клеток вместо целого слоя и задержке их гибели [15, 89].

СИНХРОНИЗАЦИЯ ДЕЛЕНИЯ ИНИЦИАЛЕЙ И СЛУШИВАНИЯ ДИСТАЛЬНОГО СЛОЯ КЛЕТОК

В корневом чехлике деление инициалей компенсирует слушивание его последнего слоя, и координация этих процессов градиентом ауксина в значительной степени обеспечивает постоянный размер органа [12, 14]. Так, ТФ NLP7 оказывает влияние на ауксиновый сигнал в клетках внешнего слоя корневого чехлика в ответ на дефицит азота [80]. Мутация *nlp7* усиливает ауксиновый сигнал во внешнем слое клеток колумеллы за счет изменения транспорта ауксина, что сопровождается снижением митотической активности и дифференцировкой ствольных клеток колумеллы. Более того, у мутанта снижается экспрессия *WOX5*. Это подтверждает роль ауксина в синхронизации делений и слушивания.

Сигнальный пептид IDA-LIKE 1 (IDL1) и его рецептор HAESA-LIKE 2 (HSL2), по-видимому, координируют динамику слушивания и образования новых слоев дочерних клеток инициалей [14]. *IDL1* активен преимущественно в двух последних (периферических) слоях колумеллы, которые будут последовательно слушиваться друг за другом. *HSL2*, наоборот, экспрессируется в верхних слоях колумеллы и в молодых клетках БКЧ. Повышенная экспрессия *IDL1* увеличивает частоту слушивания слоев за счет сокращения интервала между слушиванием слоев вплоть до отделения двух слоев одновременно. При этом, если *IDL1* сверхэкспрессируется в *hsl2* мутанте, удаление клеток нарушается расщеплением слушающегося слоя на границе между колумеллой и БКЧ или, наоборот, отсутствием слушивания в районе БКЧ.

Обобщая все сказанное выше, обновление клеток корневого чехлика происходит путем регулярных делений инициалей, дочерние клетки

которых дифференцируются в клетки колумеллы и БКЧ, при этом старые дифференцированные клетки удаляются путем запрограммированной гибели (клетки БКЧ выше покоящегося центра) или слущивания в почву (клетки БКЧ ниже покоящегося центра и клетки колумеллы). У *A. thaliana* процессы поступления и удаления клеток достаточно строго синхронизированы, что позволяет поддерживать постоянный размер корневого чехлика. В настоящее время описаны гормональные регуляторы этих процессов, ключевым среди которых является ауксин. Определен ряд генетических регуляторов, некоторые из которых объединяются в регуляторные контуры. То, что одни и те же гены зачастую контролируют разные стадии обновления корневого чехлика (например, *SMB*), говорит об их прямой или косвенной вовлеченности в координацию процессов деления и удаления клеток. Градиент ауксина в колумелле, вероятнее всего, является основополагающим механизмом синхронизации этих двух процессов. Однако явные связи между ауксином и другими потенциальными координаторами на сегодняшний день не установлены. Таким образом, реконструкция целостной динамической сети регуляции обновления корневого чехлика — вопрос будущего.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант № 20-14-00140.

Авторы искренне благодарны В.В. Лавреxe за продуктивное обсуждение статьи.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Настоящая работа не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ganesh A., Shukla V., Mohapatra A., George A. P., Bhukya D.P.N., Das K.K., Kola V.S.R., Suresh A., Ramireddy E. Root cap to soil interface: a driving force toward plant adaptation and development // *Plant Cell Physiol.* 2022. V. 638. P. 1038. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcac078>
2. Arnaud C., Bonnot C., Desnos T., Nussaume L. The root cap at the forefront // *C. R. Biol.* 2010. V. 333. P. 335. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2010.01.011>
3. Dolan L., Janmaat K., Willemsen V., Linstead P., Poethig S., Roberts K., Scheres B. Cellular organisation of the *Arabidopsis thaliana* root // *Development.* 1993. V. 119. P. 71. <https://doi.org/10.1242/dev.119.1.71>
4. Fendrych M., Hautegeem T.V., Durme M.V., Oliveira-Carrillo Y., Huysmans M., Karimi M., Lippens S., Guérin C.J., Krebs M., Schumacher K., Nowack M.K. Programmed cell death controlled by ANAC033/SOMBRERO determines root cap organ size in *Arabidopsis* // *Curr. Biol.* 2014. V. 24. P. 931. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2014.03.025>
5. Bennett T., van den Toorn A., Willemsen V., Scheres B. Precise control of plant stem cell activity through parallel regulatory inputs // *Development.* 2014. V. 141. P. 4055. <https://doi.org/10.1242/DEV.110148>
6. Sack F.D., Kiss J.Z. Root cap structure in wild type and in a starchless mutant of *Arabidopsis* // *Am. J. Bot.* 1989. V. 76. P. 454. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1989.tb11334.x>
7. Iijima M., Morita S., Barlow P.W. Structure and function of the root cap // *Plant Prod. Sci.* 2008. V. 11. P. 17. <https://doi.org/10.1626/ppp.11.17>
8. Maeda K., Kunieda T., Tamura K., Hatano K., Hara-Nishimura I., Shimada T. Identification of periplasmic root-cap mucilage in developing columella cells of *Arabidopsis thaliana* // *Plant Cell Physiol.* 2019. V. 60. P. 1296. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcz047>
9. Wenzel C.L., Rost T.L. Cell division patterns of the protoderm and root cap in the “closed” root apical meristem of *Arabidopsis thaliana* // *Protoplasma.* 2001. V. 218. P. 203. <https://doi.org/10.1007/BF01306609>
10. Campilho A., Garcia B., Toorn H.V., Wijk H.V., Campilho A., Scheres B. Time-lapse analysis of stem-cell divisions in the *Arabidopsis thaliana* root meristem // *Plant J.* 2006. V. 48. P. 619. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02892.x>
11. Kumpf R.P., Nowack M.K. The root cap: a short story of life and death // *J. Exp. Bot.* 2015. V. 66. P. 5651. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERV295>
12. Dubreuil C., Jin X., Grönlund A., Fischer U. A Local auxin gradient regulates root cap self-renewal and size homeostasis // *Curr. Biol.* 2018. V. 28. P. 2581. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2018.05.090>
13. Wein A., Le Gac A.L., Laux T. Stem cell ageing of the root apical meristem of *Arabidopsis thaliana* // *Mech. Ageing Dev.* 2020. V. 190. P. 111313. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2020.111313>
14. Shi C.-L., von Wangenheim D., Herrmann U., Wildhagen M., Kulik I., Kopf A., Ishida T., Olsson V., Anker M.K., Albert M., Butenko M.A., Felix G., Sawa S., Claassen M., Friml J., Aalen R.B. The dynamics of root cap sloughing in *Arabidopsis* is regulated by peptide signalling // *Nat. Plants.* 2018. V. 4. P. 596. <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0212-z>
15. Goh T., Sakamoto K., Wang P., Kozono S., Ueno K., Miyashima S., Toyokura K., Fukaki H., Kang B.-H., Nakajima K. Autophagy promotes organelle clearance and organized cell separation of living root cap cells in *Arabidopsis thaliana* // *Development.* 2022. V. 149. <https://doi.org/10.1242/dev.200593>

16. Xuan W., Band L. R., Kumpf R.P., Van Damme D., Parizot B., De Rop G., Opdenacker D., Möller B. K., Skorzinski N., Njo M.F., De Rybel B., Audenaert D., Nowack M.K., Vanneste S., Beeckman T. Cyclic programmed cell death stimulates hormone signaling and root development in Arabidopsis // Science. 2016. V. 351. P. 384.
<https://doi.org/10.1126/science.aad2776>
17. Bennett T., van den Toorn A., Sanchez-Perez G.F., Campilho A., Willemsen V., Snel B., Scheres B. SOMBRERO, BEARSKIN1, and BEARSKIN2 regulate root cap maturation in Arabidopsis // The Plant Cell. 2010. V. 22. P. 640.
<https://doi.org/10.1105/tpc.109.072272>
18. Willemsen V., Bauch M., Bennett T., Campilho A., Wolkenfelt H., Xu J., Haseloff J., Scheres B. The NAC domain transcription factors FEZ and SOMBRERO control the orientation of cell division plane in Arabidopsis root stem cells // Dev. Cell. 2008. V. 15. P. 913.
<https://doi.org/10.1016/j.devcel.2008.09.019>
19. Hawes M.C., Brigham L.A., Wen F., Woo H.H., Zhu Y. Function of root border cells in plant health: pioneers in the rhizosphere // Annu. Rev. Phytopathol. 1998. V. 36. P. 311.
<https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.36.1.311>
20. Hawes M.C., Gunawardena U., Miyasaka S., Zhao X. The role of root border cells in plant defense // Trends Plant Sci. 2000. V. 5. P. 128.
[https://doi.org/10.1016/s1360-1385\(00\)01556-9](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(00)01556-9)
21. Vicré M., Santaella C., Blanchet S., Gateau A., Driouich, A. Root border-like cells of Arabidopsis. Microscopical characterization and role in the interaction with Rhizobacteria // Plant Physiol. 2005. V. 138. P. 998.
<https://doi.org/10.1104/pp.104.051813>
22. Hawes M. C. Bengough G., Cassab G., Ponce G. Root caps and Rhizosphere // J. Plant Growth Regul. 2003. V. 21. P. 352.
<https://doi.org/10.1007/s00344-002-0035-y>
23. Driouich A., Durand C., Vicré-Gibouin M. Formation and separation of root border cells // Trends Plant Sci. 2007. V. 12. P. 14.
24. Ding Z., Friml J. Auxin regulates distal stem cell differentiation in Arabidopsis roots // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010. V. 107. P. 12046.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1000672107>
25. Hong J.H., Chu H., Zhang C., Ghosh D., Gong X., Xu L. A quantitative analysis of stem cell homeostasis in the Arabidopsis columella root cap // Front. Plant Sci. 2015. V. 6. P. 206.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00206>
26. Zazimalová E., Krecek P., Skůpa P., Hoyerová K., Petrášek J. Polar transport of the plant hormone auxin – the role of PIN-FORMED (PIN) proteins // Cell. Mol. Life Sci. 2007. V. 64. P. 1621.
<https://doi.org/10.1007/s00018-007-6566-4>
27. Křeček P., Skůpa P., Libus J., Naramoto S., Tejos R., Friml J., Zazimalová E. The PIN-FORMED (PIN) protein family of auxin transporters // Genome Biol. 2009. V. 10. P. 249.
<https://doi.org/10.1186/gb-2009-10-12-249>
28. Grieneisen V.A., Xu J., Marée A.F., Hogeweg P., Scheres B. Auxin transport is sufficient to generate a maximum and gradient guiding root growth // Nature. 2007. V. 449. P. 1008.
<https://doi.org/10.1038/nature06215>
29. Mironova V.V., Omelyanchuk N.A., Yosiphon G., Fadeev S.I., Kolchanov N.A., Mjolsness E., Likhoshvai V.A. A plausible mechanism for auxin patterning along the developing root // BMC Syst. Biol. 2010. V. 4. P. 98.
<https://doi.org/10.1186/1752-0509-4-98>
30. Swarup R., Friml J., Marchant A., Ljung K., Sandberg G., Palme K., Bennett, M. Localization of the auxin permease AUX1 suggests two functionally distinct hormone transport pathways operate in the Arabidopsis root apex // Genes Dev. 2001. V. 15. P. 2648.
<https://doi.org/10.1101/gad.210501>
31. Band L.R., Wells D.M., Fozard J.A., Ghetiu T., French A.P., Pound M.P., Wilson M.H., Yu L., Li W., Hijazi H.I., Oh J., Pearce S.P., Perez-Amador M.A., Yun J., Kramer E. et al. Systems analysis of auxin transport in the Arabidopsis root apex // Plant Cell. 2014. V. 26. P. 862.
<https://doi.org/10.1105/tpc.113.119495>
32. Tian H., Niu T., Yu Q., Quan T., Ding Z. Auxin gradient is crucial for the maintenance of root distal stem cell identity in Arabidopsis // Plant Signal. Behav. 2013. V. 8: e26429.
<https://doi.org/10.4161/psb.26429>
33. Martin-Arevalillo R., Vernoux T. Decoding the auxin matrix: auxin biology through the eye of the computer // Annu. Rev. Plant Biol. 2023. V. 74. P. 387.
<https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-102720-033523>
34. Zhang Q., Gong M., Xu X., Li H., Deng W. Roles of auxin in the growth, development, and stress tolerance of horticultural plants // Cells. 2022. V. 11. P. 2761.
<https://doi.org/10.3390/cells11172761>
35. Caumon H., Vernoux T. A matter of time: auxin signaling dynamics and the regulation of auxin responses during plant development // J. Exp. Bot. 2023. V. 74. P. 3887.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erad132>
36. Tian H., Wabnik K., Niu T., Li H., Yu Q., Pollmann S., Vanneste S., Govaerts W., Rolcik J., Geisler M., Friml J., Ding Z. WOX5-IAA17 feedback circuit-mediated cellular auxin response is crucial for the patterning of root stem cell niches in Arabidopsis // Mol. Plant. 2014. V. 7. P. 277.
<https://doi.org/10.1093/mp/sst118>
37. Aida M., Beis D., Heidstra R., Willemsen V., Blilou I., Galinha C., Nussaume L., Noh Y. S., Amasino R., Scheres B. The PLETHORA genes mediate patterning of the Arabidopsis root stem cell niche // Cell. 2004. V. 119. P. 109.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.09.018>

38. 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. V. 433. P. 39.
<https://doi.org/10.1038/nature03184>
39. Cruz-Ramírez A., Díaz-Triviño S., Blilou I., Grieneisen V.A., Sozzani R., Zamioudis C., Miskolczi P., Nieuwland J., Benjamins R., Dhonukshe P., Caballero-Pérez J., Horvath B., Long Y., Mähönen A.P., Zhang H. et al. A bistable circuit involving SCARECROW-RETINOBLASTOMA integrates cues to inform asymmetric stem cell division // *Cell*. 2012. V. 150. P. 1002.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.07.017>
40. Yang W., Cortijo S., Korsbo N., Roszak P., Schiessl K., Gurzadyan A., Wightman R., Jönsson H., Meyerowitz E. Molecular mechanism of cytokinin-activated cell division in *Arabidopsis* // *Science*. 2021. V. 371. P. 1350. <https://doi.org/10.1126/science.abe2305>
41. Svolacchia N., Sabatini S. Cytokinins // *Curr. Biol*. 2023. V. 33. P. 10.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.11.022>
42. Antoniadis I., Plačková L., Simonovik B., Doležal K., Turnbull C., Ljung K., Novák O. Cell-type-specific cytokinin distribution within the *Arabidopsis* primary root apex // *Plant Cell*. 2015. V. 27. P. 1955.
<https://doi.org/10.1105/tpc.15.00176>
43. Stolz A., Riefler M., Lomin S. N., Achazi K., Romanov G.A., Schmülling, T. The specificity of cytokinin signalling in *Arabidopsis thaliana* is mediated by differing ligand affinities and expression profiles of the receptors // *Plant J*. 2011. V. 67. P. 157.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04584.x>
44. Tsilimigka F., Poullos S., Mallioura A., Vlachonasiou K. ADA2b and GCN5 affect cytokinin signaling by modulating histone acetylation and gene expression during root growth of *Arabidopsis thaliana* // *Plants*. 2022. V. 11. P. 1335.
<https://doi.org/10.3390/plants11101335>
45. Antoniadis I., Novák O., Gelová Z., Johnson A., Plíhal ., Simerský R., Mik V., Vain T., Mateo-Bonmatí E., Karady M., Pernisova M., Plačková L., Opasathian K., Hejrátko J., Friml J. et al. Cell-surface receptors enable perception of extracellular cytokinins // *Nat. Commun*. 2020. V. 11. P. 4284.
<https://doi.org/10.1101/726125>
46. Di Mambro R., Svolacchia N., Ioio R. D., Pierdonati E., Salvi E., Pedrazzini E., Vitale A., Perilli S., Sozzani R., Benfey P. N., Busch W., Costantino P., Sabatini S. The lateral root cap acts as an auxin sink that controls meristem size // *Curr. Biol*. 2019. V. 29. P. 1199.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.02.022>
47. Wang Z., Rong D., Chen D., Xiao Y., Liu R., Wu S., Yamamuro C. Salicylic acid promotes quiescent center cell division through ROS accumulation and down-regulation of PLT1, PLT2, and WOX5 // *J. Integr. Plant Biol*. 2021. V. 63. P. 583.
<https://doi.org/10.1111/jipb.13020>
48. Pasternak T., Groot E.P., Kazantsev F.V., Teale W., Omelyanchuk N., Kovrizhnykh V., Palme K., Mironova V.V. Salicylic acid affects root meristem patterning via auxin distribution in a concentration-dependent manner // *Plant Physiol*. 2019. V. 180. P. 1725.
<https://doi.org/10.1104/pp.19.00130>
49. Ke M., Ma Z., Wang D., Sun Y., Wen C., Huang D., Chen Z., Yang L., Tan S., Li R., Friml J., Miao Y., Chen X. Salicylic acid regulates PIN2 auxin transporter hyperclustering and root gravitropic growth via Remorin-dependent lipid nanodomain organisation in *Arabidopsis thaliana* // *New Phytol*. 2021. V. 229. P. 963.
<https://doi.org/10.1111/nph.16915>
50. Armengot L., Marqués-Bueno M.M., Soria-García A., Müller M., Munné-Bosch S., Martínez M.C. Functional interplay between protein kinase CK 2 and salicylic acid sustains PIN transcriptional expression and root development // *Plant J*. 2014. V. 78. P. 411.
<https://doi.org/10.1111/tpj.12481>
51. Gonzalez-García M.P., Vilarrasa-Blasi J., Zhiponova M., Divol F., Mora-García S., Russinova E., Caño-Delgado A.I. Brassinosteroids control meristem size by promoting cell cycle progression in *Arabidopsis* roots // *Development*. 2011. V. 138. P. 849.
<https://doi.org/10.1242/dev.057331>
52. Lee H.S., Kim Y., Pham G., Kim J.W., Song J.H., Lee Y., Hwang Y.-S., Roux S.J., Kim S.H. Brassinazole resistant 1 (BZR1)-dependent brassinosteroid signalling pathway leads to ectopic activation of quiescent cell division and suppresses columella stem cell differentiation // *J. Exp. Bot*. 2015. V. 66. P. 4835.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erv316>
53. Wei Z., Li J. Brassinosteroids regulate root growth, development, and symbiosis // *Mol. Plant*. 2016. V. 9. P. 86.
<https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.12.00>
54. Chen Q., Sun J., Zhai Q., Zhou W., Qi L., Xu L., Wang B., Chen R., Jiang H., Qi J., Li X., Palme K., Li C. The basic helix-loop-helix transcription factor MYC2 directly represses PLETHORA expression during jasmonate-mediated modulation of the root stem cell niche in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. 2011. V. 23. P. 3335.
<https://doi.org/10.1105/tpc.111.089870>
55. Christmann A., Hoffmann T., Teplova I., Grill E., Muller A. Generation of active pools of abscisic acid revealed by in vivo imaging of water-stressed *Arabidopsis* // *Plant Physiol*. 2005. V. 137. P. 209.
<https://doi.org/10.1104/pp.104.053082>
56. Zhang H., Han W., De Smet I., Talboys P., Loya R., Hassan A., Rong H., Jürgens G., Knox J.P., Wang M.H. ABA promotes quiescence of the quiescent centre and suppresses stem cell differentiation in the *Arabidopsis* primary root meristem // *Plant J*. 2010. V. 64. P. 764.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2010.04367.x>
57. Sarkar A.K., Luijten M., Miyashima S., Lenhard M., Hashimoto T., Nakajima K., Scheres B., Heidstra R., Laux T. Conserved factors regulate signalling in *Ara-*

- bidopsis thaliana* shoot and root stem cell organizers // *Nature*. 2007. V. 446. P. 811.
<https://doi.org/10.1038/nature05703>
58. Hardtke C.S., Berleth T. The Arabidopsis gene MONOPTEROS encodes a transcription factor mediating embryo axis formation and vascular development // *EMBO J*. 1998. V. 17. P. 1405.
<https://doi.org/10.1093/emboj/17.5.1405>
 59. Tsuchisaka A., Theologis A. Unique and overlapping expression patterns among the Arabidopsis 1-amino-cyclopropane-1-carboxylate synthase gene family members // *Plant Physiol*. 2004. V. 136. P. 2982.
<https://doi.org/10.1104/pp.104.049999>
 60. Swarup R., Perry P., Hagenbeek D., Van Der Straeten D., Beemster G.T., Sandberg G., Bhalerao R., Ljung K., Bennett M. J. Ethylene upregulates auxin biosynthesis in Arabidopsis seedlings to enhance inhibition of root cell elongation // *Plant Cell*. 2007. V. 19. P. 2186.
<https://doi.org/10.1105/tpc.107.052100>
 61. Li G., Zhu C., Gan L., Ng D., Xia K. GA 3 enhances root responsiveness to exogenous IAA by modulating auxin transport and signalling in Arabidopsis // *Plant Cell Rep*. 2015. V. 34. P. 483.
<https://doi.org/10.1007/s00299-014-1728-y>
 62. Forzani C., Aichinger E., Sornay E., Willemsen V., Laux T., Dewitte W., Murray J.A. WOX5 suppresses CYCLIN D activity to establish quiescence at the center of the root stem cell niche // *Curr. Biol*. 2014. V. 24. P. 1939.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.07.019>
 63. Berckmans B., Kirschner G., Gerlitz N., Stadler R., Simon R. CLE40 signaling regulates root stem cell fate // *Plant Physiol*. 2020 V. 182. P. 1776.
<https://doi.org/10.1104/pp.19.00914>
 64. Pi L., Aichinger E., van der Graaff E., Llavata-Peris C.I., Weijers D., Hennig L., Groot E., Laux T. Organizer-derived WOX5 signal maintains root columella stem cells through chromatin-mediated repression of CDF4 expression // *Dev. Cell*. 2015. V. 33. P. 576.
<https://doi.org/10.1016/j.devcel.2015.04.024>
 65. 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. V. 19. P. 909.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.03.060>
 66. Zhang L., Yang Y., Mu C., Liu M., Ishida T., Sawa S., Zhu Y., Pi L. Control of root stem cell differentiation and lateral root emergence by CLE16/17 peptides in Arabidopsis // *Front. Plant Sci*. 2022. V. 13. P. 869888.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2022.869888>
 67. Stahl Y., Grabowski S., Bleckmann A., Kühnemuth R., Weidtkamp-Peters S., Pinto K.G., Kirschner G.K., Schmid J.B., Wink R.H., Hülsewede A., Felekyan S., Seidel C.A., Simon R. Moderation of Arabidopsis root stemness by CLAVATA1 and ARABIDOPSIS CRINKLY4 receptor kinase complexes // *Curr. Biol*. 2013. V. 23. P. 362.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.01.045>
 68. Yue K., Sandal P., Williams E. L., Murphy E., Stes E., Nikonorova N., Ramakrishna P., Czyzewicz N., Montero-Morales L., Kumpf R., Lin Z., van de Cotte B., Iqbal M., Van Bel M., Van De Slijke E. et al. PP2A-3 interacts with ACR4 and regulates formative cell division in the Arabidopsis root // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2016. V. 113. P. 1447.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1525122113>
 69. Kinoshita A., ten Hove C. A., Tabata R., Yamada M., Shimizu N., Ishida T., Yamaguchi K., Shigenobu S., Takebayashi Y., Iuchi S., Kobayashi M., Kurata T., Wada T., Seo M., Hasebe M. A plant U-box protein, PUB4, regulates asymmetric cell division and cell proliferation in the root meristem // *Development*. 2015. V. 142. P. 444.
<https://doi.org/10.1242/dev.113167>
 70. Wang J.W., Wang L.J., Mao Y.B., Cai W.J., Xue H.W., Chen X.Y. Control of root cap formation by microRNA-targeted auxin response factors in Arabidopsis // *Plant Cell*. 2005. V. 17. P. 2204.
<https://doi.org/10.1105/TPC.105.033076>
 71. Ornelas-Ayala D., Vega-León R., Petrone-Mendoza E., Garay-Arroyo A., García-Ponce B., Álvarez-Buylla E.R., Sanchez M.D.L.P. ULTRAPETALA1 maintains Arabidopsis root stem cell niche independently of ARABIDOPSIS TRITHORAX1 // *New Phytol*. 2020. V. 225. P. 1261.
<https://doi.org/10.1111/nph.16213>
 72. Wildwater M., Campilho A., Perez-Perez J.M., Heidsstra R., Blilou I., Korthout H., Chatterjee J., Mariconiti L., Gruissem W., Scheres B. The RETINOBLASTOMA-RELATED gene regulates stem cell maintenance in Arabidopsis roots // *Cell*. 2005. V. 123. P. 1337.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.09.042>
 73. Kawakatsu T., Stuart T., Valdes M., Breakfield N., Schmitz R.J., Nery J.R., Mark A.U. Han X. Benfey P.N., Ecker J.R. Unique cell-type-specific patterns of DNA methylation in the root meristem // *Nat. Plants*. 2016. V. 2. P. 16058.
<https://doi.org/10.1038/nplants.2016.58>
 74. Kornet N., Scheres B. Members of the GCN5 histone acetyltransferase complex regulate PLETHORA-mediated root stem cell niche maintenance and transit amplifying cell proliferation in Arabidopsis // *Plant Cell*. 2009. V. 21. P. 1070.
<https://doi.org/10.1105/tpc.108.065300>
 75. Ngo A.H., Kanehara K., Nakamura Y. Non-specific phospholipases C, NPC2 and NPC6, are required for root growth in Arabidopsis // *Plant J*. 2019. V. 100. P. 825.
<https://doi.org/10.1111/tpj.14494>
 76. Lin Y.C., Kobayashi K., Wada H., Nakamura Y. Phosphatidylglycerophosphate phosphatase is required for root growth in Arabidopsis // *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Cell Biol. Lipids*. 2018. V. 1863. P. 563.
<https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.02.007>
 77. Begum T., Reuter R., Schöffl F. Overexpression of AtHsfB4 induces specific effects on root development of Arabidopsis // *Mech. Dev*. 2013. V. 130. P. 54.
<https://doi.org/10.1016/j.mod.2012.05.008>

78. *Cnops G., Wang X., Linstead P., Montagu M.V., Lijsebettens M.V., Dolan L.* Tornado1 and tornado2 are required for the specification of radial and circumferential pattern in the Arabidopsis root // *Development*. 2000. V. 127. P. 3385.
<https://doi.org/10.1242/dev.127.15.3385>
79. *Galinha C., Hofhuis H., Luijten M., Willemsen V., Blilou I., Heidstra R., Scheres B.* PLETHORA proteins as dose-dependent master regulators of Arabidopsis root development // *Nature*. 2007. V. 449. P. 1053.
<https://doi.org/10.1038/nature06206>
80. *Ercoli M.F., Ferela A., Debernardi J.M., Perrone A.P., Rodriguez R.E., Palatnik J.F.* GIF transcriptional co-regulators control root meristem homeostasis // *Plant Cell*. 2018. V. 30. P. 347.
<https://doi.org/10.1105/tpc.17.00856>
81. *Olvera-Carrillo Y., Van Bel M., Van Hautegeem T., Fendrych M., Huysmans M., Simaskova M., van Durme M., Buscaill P., Rivas S., Coll N.S., Coppens F., Maere S., Nowack M.K.* A Conserved core of programmed cell death indicator genes discriminates developmentally and environmentally induced programmed cell death in plants // *Plant Physiol.* 2015. V. 169. P. 2684.
<https://doi.org/10.1104/pp.15.00769>
82. *Huysmans M., Buono R.A., Skorzinski N., Radio M.C., De Winter F., Parizot B., Mertens J., Karimi M., Fendrych M., Nowack M.K.* NAC transcription factors ANAC087 and ANAC046 control distinct aspects of programmed cell death in the Arabidopsis columella and lateral root cap // *Plant Cell*. 2018. V. 30. P. 2197.
<https://doi.org/10.1105/tpc.18.00293>
83. *Shimamura R., Ohashi Y., Taniguchi Y.Y., Kato M., Tsuge T., Aoyama T.* Arabidopsis PLD ζ 1 and PLD ζ 2 localize to post-Golgi membrane compartments in a partially overlapping manner // *Plant Mol. Biol.* 2022. V. 108. P. 31.
<https://doi.org/10.1007/s11103-021-01205-0>
84. *Møller S.G., McPherson M.J.* Developmental expression and biochemical analysis of the Arabidopsis *atao1* gene encoding an H₂O₂-generating diamine oxidase // *Plant J.* 1998. V. 13. P. 781.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-3113.1998.00080.x>
85. *Feng Q., Cubría-Radio M., Vavrdová T., De Winter F., Schilling N., Huysmans M., Nanda A.K., Melnyk C.W., Nowack M.K.* Repressive ZINC FINGER OF ARABIDOPSIS THALIANA proteins promote programmed cell death in the Arabidopsis columella root cap // *Plant Physiol.* 2023. V. 192. P. 1151.
<https://doi.org/10.1093/plphys/kiad130>
86. *Durand C., Vitré-Gibouin M., Follet-Gueye M.L., Duponchel L., Moreau M., Lerouge P., Driouich A.* The organization pattern of root border-like cells of Arabidopsis is dependent on cell wall homogalacturonan // *Plant Physiol.* 2009. V. 150. P. 1411.
<https://doi.org/10.1104/pp.109.136382>
87. *Kamiya M., Higashio S.-Y., Isomoto A., Kim J.-M., Seki M., Miyashima S., Nakajima K.* Control of root cap maturation and cell detachment by BEARSKIN transcription factors in Arabidopsis // *Development*. 2016. V. 143. P. 4063.
<https://doi.org/10.1242/dev.142331>
88. *Karve R., Suárez-Román F., Iyer-Pascuzzi A.S.* The transcription factor NIN-LIKE PROTEIN7 controls border-like cell release // *Plant Physiol.* 2016. V. 171. P. 2101.
<https://doi.org/10.1104/pp.16.00453>
89. *Feng Q., Rycke R. D., Dagdas Y., Nowack M.K.* Autophagy promotes programmed cell death and corpse clearance in specific cell types of the Arabidopsis root cap // *Curr. Biol.* 2022. V. 32. P. 4548.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.03.053>