

---

**АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ  
БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ**

---

УДК 581.1

**СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ В КОРНЕ  
И ПРОБЛЕМА СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК У РАСТЕНИЙ<sup>1</sup>**

© 2007 г. В. Б. Иванов

*Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН  
117276 Москва, ул. Ботаническая, д.33*

*E-mail: ivanov@ippras.ru*

Поступила в редакцию 07.01.2007 г.

Окончательный вариант получен 04.04.2007 г.

Растительные клетки способны обратимо переходить из пролиферирующего в стволовое состояние и обратно. Этот переход определяется системой межклеточных отношений и взаимосвязями отдельных частей растения. Стволовые клетки, если под ними понимать клетки, сохраняющие длительное время способность к делениям и дифференцировке, возникают многократно при развитии примордиев корней и побегов, а не являются клонами популяции стволовых клеток, заложенной на определенной стадии эмбриогенеза. По признакам, характеризующим, по мнению Лоеффлера и Поттена, стволовые клетки, именно клетки покоящегося центра, а не окружающие его активно делящиеся клетки наиболее соответствуют характеристикам стволовых клеток. В статье проанализировано, какими факторами определяется образование и поддержание покоящегося центра в корне. Имеющиеся данные позволяют предполагать, что среди них особо важное значение имеют транспорт индолилуксусной кислоты и влияние чехлика, образование которого предшествует формированию покоящегося центра как при образовании корня при его развитии, так и при регенерации меристемы после декапитации корня. Способность меристемы образовывать стволовые клетки позволяет заключить, что не только меристема возникает из стволовых клеток, но и сами стволовые клетки образуются из активно делящихся клеток. Многократное образование стволовых клеток делает возможным длительное сохранение способности растений к открытому морфогенезу и вегетативному размножению.

*Ключевые слова:* стволовые клетки, корень, меристема, покоящийся центр, корневой чехлик, индолилуксусная кислота.

В последнее время интерес к изучению стволовых клеток в растениях резко возрос, хотя до сих пор в литературе нет единого мнения о том, какие клетки растений можно рассматривать как стволовые. Решение этого вопроса имеет принципиальное значение для понимания организации меристем и выяснения специфики стволовых клеток не только у растений, но и у животных.

Кончик корня – классический объект для изучения пролиферации клеток растений. Растущая часть корня состоит из двух зон – меристемы, где клетки делятся, и зоны растяжения, на протяжении которой они в короткое время достигают окончательной длины. Несмотря на большую длину, которой могут достигать корни, их растущая часть, за исключением воздушных корней, коротка и не превышает сантиметра. На протяжении определенного периода времени число клеток в меристеме мало меняется, так как подавляющее большинство клеток делится лишь несколько раз

и переходит к растяжению. Только самые апикальные клетки в меристеме сохраняют способность к делениям на протяжении всего периода роста. Однако они отличаются от остальных клеток меристемы более продолжительными митотическими циклами и замедленным метаболизмом, за что были названы Клаусом (Clowes, 1956, 1975) покоящимся центром. Таким образом, в меристеме есть две группы делящихся клеток – небольшое число редко делящихся клеток, часть из которых сохраняет способность к делениям в течение длительного периода, и основная масса клеток, делящихся только несколько раз и затем покидающих меристему. В этом отношении имеется определенное сходство в организации пролиферации клеток в корне и в тканях позвоночных, у которых пролиферация поддерживается длительное время на протяжении всей жизни животного. Оно выражается в том, что только немногие медленно пролиферирующие клетки делятся достаточно долго, тогда как основная масса быстро делящихся клеток делится лишь несколько раз. Возможно, что часть клеток, способных к длительным делениям,

<sup>1</sup> Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проект № 06-04-48861).

находится в состоянии покоя. Благодаря такой организации пролиферации существенно уменьшается максимальное число делений клеток в ходе онтогенеза, хотя скорость роста числа клеток меняется в меньшей степени, так как число медленно делящихся клеток невелико. Кроме того, клетки с более длительным митотическим циклом могут быть более устойчивы к повреждающим воздействиям, особенно если удлинение цикла обусловлено непропорциональным удлинением периода  $G_1$ . Часто медленно делящиеся клетки менее дифференцированы.

В апикальных меристемах побегов также есть апикальная группа клеток (меристема ожидания), которая похожа на покоящийся центр в корнях. Однако в интеркалярных меристемах стеблей или в растущих листьях аналогичных клеток нет, что может быть связано с ограниченной продолжительностью роста этих органов.

Инициальные клетки входят в состав покоящегося центра или меристемы ожидания, хотя, как правило, эти части меристем состоят не только из инициальных клеток.

В этой статье рассматривается вопрос о том, какие клетки корня наиболее похожи на стволовые клетки животных и в чем состоят различия между стволовыми клетками животных и растений.

### ОСНОВНЫЕ ПРИЗНАКИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

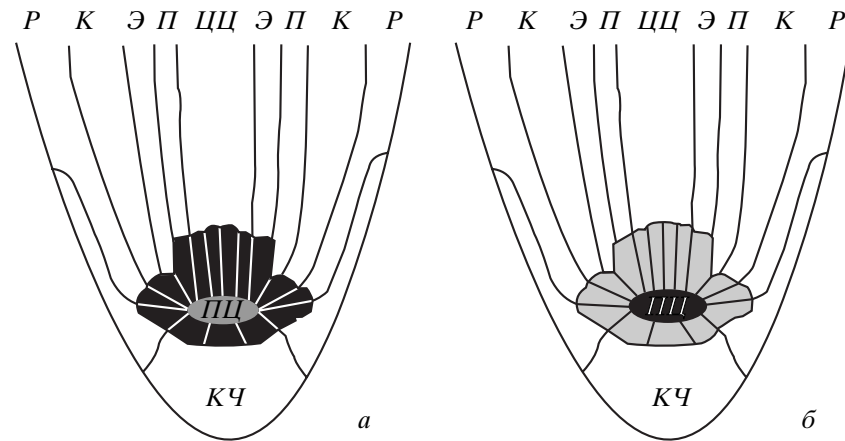
Давая определение понятию “стволовая клетка”, Поттен и Лоеффлер (Potten, Loeffler, 1997) отмечают следующие характерные признаки: 1) недифференцированное состояние, в котором клетки лишены тканевых маркеров; 2) способность к пролиферации; 3) способность к самоподдержанию популяции; 4) способность давать начало большому числу дифференцированных функционирующих потомков; 5) способность восстанавливать ткань после повреждения; 6) гибкое использование этих свойств.

Термин “стволовая клетка” (Stammzelle) был введен впервые в 1907 г. Х. Шридде (H. Schridde) для недифференцированных клеток передних отделов кишечной трубки позвоночных в эмбриогенезе. Эти клетки не остаются в недифференцированном состоянии достаточное время и дают начало многим дифференцированным клеткам, за что они были названы стволовыми. Однако в настоящее время термин “стволовая клетка” используется в другом смысле и им обозначают клетки, способные к самоподдержанию и сохранению пролиферации в течение долгого времени. Впервые наличие таких клеток было постулировано А.А. Максимовым, который так назвал клетки кровяной системы взрослого животного, со-

храняющие способность к делениям в течение всей жизни организма (история этой проблемы изложена в ряде работ: Михайлов, Катинас, 1977; Хрущов, 1991; Шубич, 2001; Деев, 2005 и др.). Термин “стволовая клетка” стал в дальнейшем общепринятым именно в этом смысле. Изучению стволовых клеток посвящено огромное количество публикаций, где и описаны их характерные признаки. Показано, что их число весьма мало и что они в отличие от большинства пролиферирующих клеток делятся очень редко.

Однако в последнее время появились противоречивые мнения о том, какие именно клетки можно рассматривать как стволовые. Причины этих противоречий заключаются, во-первых, как отмечает Хрущов (1991. С. 118), “в этимологии слова “ствол”, содержащем понятия как исходного начала, так и чего-то исчезающего, непрерывно воспроизводящегося”, а во-вторых, в использовании данных, полученных при непродолжительных наблюдениях, на чем мы подробнее остановимся ниже. Согласно этому определению, как отмечает Хрущов, “нельзя называть стволовыми, например, тотипотентные зародышевые клетки (бластомеры), закладочные клетки нейтральной дифференцировки, клоногенные (но длительно не самоподдерживающиеся) родоначальные клетки гранулоцитарной, эритроидной дифференцировки и т.п.” (Там же). Сложность этой проблемы красочно обрисовали Моррисон с соавт. (Morrison et al., 1997. P. 287): “Since different people define stem cells in different ways, formulating a generally acceptable definition can lead to a conclusion similar to that of U.S. Supreme Court Justice Byron White’s in regard to pornography “It’s hard to define, but I know it when I see it”.

В ботанической литературе стволовыми клетками считали апикальные клетки меристемы, хотя, как мы подробно обсудим ниже, есть расхождения в том, относить ли к ним клетки покоящегося центра или нет. Однако в последние годы Батыгина пришла к выводу о том, что клетки меристемы ожидания в стебле и покоящегося центра в корне не относятся к стволовым, а ими являются особые клетки или группы клеток эпифизиса и гипофизиса (Batygina, 2005a). Интересно отметить, что, хотя возникновение клеток покоящегося центра из клеток гипофизиса ранее было показано и обсуждалось в литературе (см. например: Raghavan, 1990; Scheres et al., 1994), как отмечают Янг и Фельдман (Jiang, Feldman, 2005), покоящийся центр также возникает и у растений, не имеющих гипофизиса, например у гороха, кукурузы и других (Поддубная-Арнольди, 1964; von Gutenberg, 1968), у которых он образуется из неорганизованной массы эмбриональных клеток. Таким образом, наличие гипофизиса не является обязательным условием образования покоящегося центра в корнях. В предшествующих работах Батыгина и соавт. к стволовым клеткам относили широкий круг кле-



Соотношение между покоящимся центром и ствольными клетками в корне: *а* – покоящийся центр (ПЦ) – организуемый центр, окруженный ствольными клетками; *б* – клетки ПЦ – ствольные клетки корня.

*Р* – ризодермис, *К* – кора, *Э* – энтодерма, *П* – перицикл, *ЦЦ* – центральный цилиндр, *КЧ* – корневой чехлик.

ток, начиная со зрелой зиготы. Они отмечают, что “с позиции эмбриологических данных, можно полагать, что ствольными клетками (различных порядков) цветковых растений являются: зрелая зигота, гипофизарная и эпифизарная клетки полового зародыша; клетки меристемы ожидания в апексе побега и покоящегося центра в апексе корня, клетки камбия в стебле, клетки “меристемы покоя” в листьях, субэпидермальные клетки формирующегося примордия семязачатка и пыльника, клетки мужского и женского археспория, спорангной ткани, микро- и мегаспоры, клетки мужского и женского гаметофитов (незрелые яйцеклетки, синергиды, антиподы и клетки спермиев), а также инициальные клетки соматических зародышей различного происхождения – нуцеллуса, интегументов, полового зародыша и др.” (Батыгина и др., 2004. С. 25; см. также: Vatygina, 2005b). Эта точка зрения как раз отражает первоначальный подход к определению ствольных клеток, предложенный Шридде, когда ствольными называли клетки, являющиеся исходными для разных дифференцировок. Этот подход сейчас оставлен (см. выше), поскольку к ствольным относились бы тогда совершенно разные клетки, которые не сохраняются в ходе делений, а напротив, их потомство все время изменяется и дифференцируется. Такие клетки не отвечают тем критериям ствольных клеток, которые были указаны выше.

#### КЛЕТКИ ПОКОЯЩЕГОСЯ ЦЕНТРА КАК СТОЛЬНЫЕ КЛЕТКИ КОРНЯ

Как уже отмечалось, в литературе сейчас обсуждаются две точки зрения (рисунок). Большинство авторов в последнее время рассматривают клетки покоящегося центра как клетки ниши, определяющие поддержание ствольности прилега-

ющих к ним активно делящихся клеток разных тканей (Weigel, Jurgens, 2002; Laux, 2003; Sablowsky, 2004a; Scheres, 2005), и лишь немногие считают клетки покоящегося центра ствольными (Иванов, 1974, 1986, 2004; Barlow, 1978, 1997; Jiang, Feldman, 2005). Первая точка зрения базируется на результатах опытов с выжиганием отдельных клеток покоящегося центра с помощью лазера (van den Berg et al., 1995, 1997). Это приводило к дифференцировке прилегающих к ним снизу клеток чехлика и к изменению направления делений непосредственно расположенных над покоящимся центром клеток коры, что объясняли прекращением поступления в клетки неких химических сигналов из клеток покоящегося центра. Однако описанные эффекты могут быть следствием прерывания вертикального транспорта веществ как из меристемы в чехлик (Barlow, 2003; Иванов, 2004), так и из чехлика в меристему. В этом случае нельзя сделать вывод об особой регулирующей роли клеток покоящегося центра.

До сих пор неясно, задерживает ли покоящийся центр переход к дифференцировке прилегающих к нему клеток. Результаты опытов с декапитацией корня показывают, что сохранение клетки в меристематическом состоянии не зависит от наличия покоящегося центра. Если декапитацию провести не выше определенного предела, который составляет, например, для корней проростков кукурузы 300 мкм выше границы корня и покоящегося центра, меристема восстанавливается через несколько дней и в корне образуется новый покоящийся центр (Feldman, 1976; Иванов, Ларина, 1983; Быстрова и др., 2005). В этом случае корень будет продолжать расти в длину. Декапитацию корня можно повторять многократно и выращивать таким способом корень без покоящегося центра (Иванов, Ларина, 1983); следовательно, чтобы меристема-

тическая клетка выше покоящегося центра сохранилась в меристеме, нет необходимости в его наличии в корне.

В корнях с ограниченным периодом роста покоящийся центр может отсутствовать, как это было показано для боковых корней *Euphorbia esula* (Raju et al., 1964) и первичных корней некоторых кактусов (Rodriguez-Rodriguez et al., 2003). Из этих данных можно сделать вывод о необходимости наличия покоящегося центра для длительного роста корня. Однако ограниченный период роста может быть связан не с отсутствием покоящегося центра, а с неспособностью основной части клеток меристемы поддерживать рост и покоящийся центр. Так, при многократной декапитации корни продолжали расти, хотя через день их декапитировали и покоящийся центр не успевал за это время возникнуть. Поэтому остается неясным, как ограничивается длительность роста корня.

Для сравнения можно привести пример с образованием колоний в селезенке при прививке животным клеток костного мозга. В этом случае колонии, способные к длительному росту и последующим пересевам, возникают из небольшого числа стволовых клеток. Если их не будет, колонии не возникнут (Drize et al., 1996).

В связи с этим большой интерес представляет выяснение механизма остановки роста корней мутантов *Arabidopsis thaliana*, в которых не экспрессируется ген *SCR* в покоящемся центре (Sabatini et al., 2003).

Эти корни формируют в эмбриогенезе нормальную меристему, хотя меньшую по размеру, чем у нормальных. Такие корни растут медленнее контрольных, и в зависимости от экспрессии этого гена в других частях меристемы рост корней на 10-е или 18-е сут останавливается. При этом наблюдается отложение крахмала в верхних клетках коллумелы чехлика, как это происходит после выжигания клетки покоящегося центра лазером. Результаты этих опытов истолкованы авторами как доказательство роли покоящегося центра в поддержании стволового состояния прилегающих к нему клеток. Однако возможно, что к этим срокам уже происходят деления клеток покоящегося центра, как это было описано ранее (Baum et al., 2002). Возникающие клетки замещают таковые, прилегающие к покоящемуся центру, что необходимо для продолжения роста корня в том случае, если клетки на границе покоящегося центра имеют ограниченное время делений. Тогда нарушение делений клеток покоящегося центра также может быть причиной остановки роста корней. Изменение поведения клеток коллумелы может быть вызвано соответственно изменением притока индолилуксусной кислоты (ИУК) к замедляющим рост корням.

Обратим внимание на то, что присутствие мутантного покоящегося центра может лишать корень способности образовывать новый покоящийся центр, как это бывает после декапитации (Burne, 1973; Clowes, 1978).

Механизм влияния клеток покоящегося центра на прилежащие к нему клетки пока еще неясен в отличие от апикальной меристемы побега. В ней клетки меристемы ожидания, которые рассматриваются как стволовые, выделяют полипептид, кодируемый геном *CLV3*, который поступает в ниже расположенные клетки, экспрессирующие ген *WUS* (Clark et al., 1997; Mayer et al., 1998; Fletcher, Meyerowitz, 2000; Laux, 2003; Sablowski, 2004a). Продукт этого гена поступает в клетки меристемы ожидания и регулирует их активность. Возникающие таким образом взаимоотношения двух частей меристемы по типу обратных связей делают морфогенез более устойчивым. В эмбриогенезе ген *WUS* начинает экспрессироваться раньше, чем *CLV3* (Veit, 2006). В покоящемся центре корней риса найден ген, гомологичный гену *WUS*. Экспрессия гена *WUS* в меристеме побега определяет активность клеток меристемы ожидания, но его функциональная роль не установлена (Kamiya et al., 2003). Шерес (Scheres, 2005), анализируя материалы конференции по стволовым клеткам растений, считает на основании еще не опубликованной работы Т. Лаукса (Т. Laux), что покоящийся центр, в котором экспрессируется ген *WOX5*, гомолог гена *WUS*, выполняет роль организующего центра в апикальной меристеме корня. Обратим внимание, что клетки, экспрессирующие *WUS*, активно делятся, тогда как клетки покоящегося центра отличаются очень растянутыми митотическими циклами.

Выяснение функциональной роли покоящегося центра является одной из наиболее актуальных проблем в изучении меристемы корня. До сих пор нет однозначных доказательств того, что клетки покоящегося центра влияют на прилегающие к ним клетки, выделяя какие-то вещества. При регенерации меристемы после декапитации типичная структура меристемы восстанавливается после формирования покоящегося центра (Feldman, 1976, 1979), что позволило сделать вывод об организующей роли покоящегося центра (Jiang, Feldman, 2005). Однако это можно объяснить и по-другому: покоящийся центр формируется после восстановления структуры меристемы, и его поддержание зависит от ее функционального состояния. В мутантах, у которых нет типичного покоящегося центра, нарушено функционирование инициальных клеток коллумелы чехлика, как это наблюдается при выжигании покоящегося центра лазером (Sabatini et al., 2003). Вполне вероятно, что покоящийся центр в корне влияет на окружающие клетки, как это показано для меристемы ожидания в апикальной меристеме побега, но пока механизм такой активности покоящегося центра остается неясным.

Сравнение клеток покоящегося центра и прилегающих к нему клеток по признакам, характерным для ствольных клеток (по: Potten, Loeffler, 1997)

Критерий	Клетки	
	покоящегося центра	о окружающие покоящийся центр
Наличие тканевых маркеров	Нет экспрессии тканеспецифичных генов	Есть экспрессия тканеспецифичных генов
Способность:		
– к пролиферации	Клетки редко делятся	Клетки часто делятся
– к самоподдержанию популяции	Сохраняются в течение всего периода роста оси	Замещаются в ходе нормального роста
– продуцировать большое число разных дифференцированных функционирующих клеток	Источник всех типов клеток при нормальном развитии	В норме источник одной или двух тканей (разные клетки возникают через каллус)
– восстанавливать ткань после повреждения	Могут быть источником для всех типов клеток	Легко повреждаются и иногда обладают гиперчувствительностью

На основании опытов с выжиганием покоящегося центра был сделан вывод о том, что его клетки являются не ствольными, а клетками ниши, определяющими поведение ствольных клеток, расположенных рядом с ним и делящихся в сторону чехлика или вверх; этот вывод был поддержан рядом авторов, как упоминалось выше. Однако факт выделения клеткой каких-то соединений, влияющих на поведение смежных клеток, не является доводом против ствольной природы данной клетки. Фриденштейн (1991) предполагал, что у животных не только клетки ниши влияют на ствольные клетки, но и ствольные клетки влияют на клетки ниши. Для того чтобы решить, какие клетки являются ствольными, более правильным является сравнение и тех и других клеток по признакам, используемым для выделения ствольных клеток при анализе их поведения при разных воздействиях. Такой анализ (Иванов, 2004) показал, что именно клетки покоящегося центра более похожи на ствольные, чем активно делящиеся клетки, примыкающие к покоящемуся центру (таблица). На основании этих фактов автор считает более правильным рассматривать клетки покоящегося центра как ствольные клетки корня.

#### ФОРМИРОВАНИЕ ПОКОЯЩЕГОСЯ ЦЕНТРА В ХОДЕ РОСТА И ЗАВИСИМОСТЬ ЕГО СОСТОЯНИЯ ОТ РАЗНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

Покоящийся центр как группа слабо базофильных, редко делящихся клеток появляется в корне после прорастания семени. Сначала его размеры увеличиваются за счет перехода апикально расположенных, активно делящихся клеток в покоящееся состояние, а затем уменьшаются в результате перехода клеток покоящегося центра к делениям

(Miksche, Greenwood, 1966; Byrne, Heimsch, 1970; Armstrong, Heimsch, 1976; Ларина, 1977; Ковалев, 1977). При формировании бокового корня покоящийся центр возникает после выхода из материнского корня и его размеры постепенно увеличиваются (Byrne, 1973; Clowes, 1978).

Покоящийся центр всегда занимает самое апикальное положение в меристеме. Только при такой локализации ствольные клетки могут оставаться в меристеме длительное время, а самые апикальные из них – на протяжении всего периода роста корня. Поэтому неверны имеющиеся в литературе выводы о наличии покоящихся ствольных клеток в основной части меристем, основанные на обнаружении клеток, не включавших <sup>3</sup>H-тимидин (Francis, 1997). Эти клетки не могут долго оставаться в меристеме, так как время их жизни в ней экспоненциально падает по мере удаления от кончика корня.

Число клеток в покоящемся центре и его размеры тем больше, чем больше толщина корня и длина меристемы (последние две величины также коррелируют) (Clowes, 1984; Barlow, Rathfelder, 1984). Можно предположить, что размеры меристемы малы, потому что в ней меньше ствольных клеток. Однако на самом деле более вероятно, что не размеры покоящегося центра определяют длину меристемы, а напротив, чем больше меристема, тем больше клеток входит в покоящийся центр. После декапитации меристема восстанавливает покоящийся центр в соответствии со своим размером. Однако при одной и той же толщине корня покоящийся центр больше в корнях с закрытым, чем с открытым типом меристемы (Clowes, 1984). Следовательно, размеры покоящегося центра определяются не только толщиной корня и размером меристемы.

Размеры покоящегося центра и число клеток в нем изменяются в зависимости от ряда факторов.

С возрастом они могут уменьшаться, и меристема может перестраиваться из закрытой в открытую. Это наблюдалось на корнях ряда сложноцветных (Armstrong, Heimsch, 1976), кукурузы (Clowes, Wadekar, 1989), *Arabidopsis* (Baum et al., 2002) и других растений (Chapman et al., 2003). При культивировании изолированных корней размер меристемы уменьшается при снижении концентрации сахарозы, и это коррелирует с уменьшением размеров покоящегося центра, приближением дифференцированных сосудов ксилемы к кончику и уменьшением числа рядов метаксилемы (Feldman, Torrey, 1975). При выдерживании изолированных корней в среде без сахарозы митозы прекращаются и клетки покоящегося центра не выявляются, так как они начинают синтезировать ДНК (Webster, Langenhauer, 1973). В наших опытах, результаты которых еще подробно не опубликованы, было показано, что в отрезанных кончиках корней проростков кукурузы, помещенных на смоченную водой фильтровальную бумагу, клетки покоящегося центра начинают делиться в сторону чехлика и меристема “открывается”. В корнях кукурузы, так же как и *Arabidopsis*, меристема закрытого типа, при этом чехлик имеет свои инициальные клетки.

После ионизирующего облучения корней в не слишком больших дозах клетки покоящегося центра начинают активно делиться. Это приводит к восстановлению меристемы, хотя деление основной части клеток меристемы резко тормозится (Clowes, 1963). Аналогичное явление наблюдается после переноса в нормальные условия корней, выдержанных при низких температурах (Clowe, Stewart, 1967; Barlow, Rathfelder, 1985). При инкубации корней в растворах солей тяжелых металлов деления клеток покоящегося центра активизируются и меристема корней кукурузы перестраивается из закрытой в открытую (Нестерова, 1989; Кожевникова и др., 2007). Деления клеток покоящегося центра активизируются также при воздействии на корни растворами колхицина или оризалина (Baluska, Barlow, 1993).

Размеры и число клеток в покоящемся центре изменяются при действии ингибиторов транспорта ИУК (Kerk, Feldman, 1994; Jiang, Feldman, 2003; Ponce et al., 2005) – гербицида 2,4-дихлорфеноксиксусной кислоты, которая близка по типу действия к ауксинам (Kaufman, 1955). В мутантах *Arabidopsis* (*BODENLOS*, *MONOPTEROS* и др.) с нарушенным транспортом ИУК не образуется эмбриональный корень (Hardtke, Berleth, 1998; Namann, 2001; Namann et al., 1999, 2002; Aida et al., 2002) и не формируется нормальный покоящийся центр (Benjamins et al., 2001; Friml et al., 2002). Использование мутантов для изучения синтеза гибберелина и его избирательного ингибитора паклобутразола на корнях томатов показало, что гибберелин также влияет на размер покоящегося центра и пролиферацию его клеток (Barlow, 1992; Na-

kielski, Barlow, 1995). Ингибитор синтеза этилена аминоксидовинилглицин вызывает исчезновение покоящегося центра (Ponce et al., 2005).

Все эти факты позволяют сделать вывод, что образование и поддержание покоящегося центра зависят от функционального состояния меристемы. Переход клеток покоящегося центра к активной пролиферации обратимо регулируется изменением соотношения фитогормонов. До сих пор неясно, как это происходит, однако имеющиеся данные позволяют предположить, что формирование и состояние клеток покоящегося центра зависят от транспорта и распределения ИУК в корне. В этом случае все факторы, влияющие на это распределение, будут влиять и на клетки покоящегося центра. Существенная роль ИУК доказывается рядом фактов: 1) высокой ее концентрацией в клетках покоящегося центра, что показано иммуногистохимическими методами (Kerk, Feldman, 1995) и изучением экспрессии генов раннего ответа на ИУК с помощью репортерного гена *GUS* (Sabatini et al., 1999); 2) переходом клеток покоящегося центра к активным делениям и открыванием меристемы при ингибировании транспорта ИУК триодбензойной (Kerk, Feldman, 1995) или N-нафтилфталамовой кислотами (Sabatini et al., 1999; Jiang, Feldman, 2003; Ponce et al., 2005); 3) отсутствием покоящегося центра в корнях мутантов с нарушенным транспортом ИУК (Friml et al., 2002); 4) изменением места экспрессии генов, специфичных для покоящегося центра, при подавлении транспорта ИУК (Sabatini et al., 1999); 5) зависимостью от ИУК экспрессии генов *PLT1* и *PLT2*, необходимых для поддержания покоящегося центра (Aida et al., 2002).

Возможные механизмы влияния ИУК на переход клеток в покоящееся состояние мы рассмотрим ниже. Действие разных фитогормонов взаимосвязано. Этилен, гибберелин и другие фитогормоны влияют на метаболизм и действие ИУК, поэтому они могут действовать на переход клеток в покоящееся состояние или поддержание их в этом состоянии как непосредственно, используя неизвестные пока механизмы, так и опосредованно, влияя на метаболизм ИУК. Кроме того, уровень снабжения корня углеводами и фосфором, повреждения при разных воздействиях, старение и другие факторы также влияют на аттрагирующую способность меристемы, определяя уровень притока к ней разных соединений сверху, в том числе и ИУК. Последние влияют также на интенсивность делений клеток основной части меристемы, которые в свою очередь могут влиять на состояние клеток покоящегося центра. Тяжелые металлы могут конкурировать с ионами кальция, которые принимают участие в транспорте ИУК, и таким образом влиять на ее транспорт, что может приводить к изменению состояния покоящегося центра.

Возможность перехода активно делящихся клеток в покоящееся состояние и образования из них нового покоящегося центра отчетливо проявляются после декапитации корня. Если ее провести не выше определенного предела, клетки, которые при нормальных условиях уже через время, необходимое для двух–трех митотических циклов (в корнях кукурузы примерно через сутки), переходят к растяжению, могут возвращаться в стволовое состояние. Длина участка корня, после удаления которого возможна регенерация меристемы, близка к месту созревания флоэмы. Возможно, что на его протяжении облегчено латеральное передвижение ИУК, что необходимо для регенерации меристемы. ИУК поступает в корень сверху по флоэме, а в самом кончике корня ее поток переориентируется, и она движется вверх по живым клеткам с помощью специальных переносчиков. При отрезании кончика корня в месте, где флоэма дифференцирована, ИУК, возможно, не поступает из нее в прилежащие клетки. Если приток ИУК остановить, регенерации не происходит и корень прекращает рост. Как, например, было показано в наших опытах с Е.С. Глаголевой (неопубл. данные), N-нафтилфталамовая кислота блокировала регенерацию декапитированных корней кукурузы.

Все описанное выше подтверждает, что образование и поддержание клеток покоящегося центра определяются физиологическим состоянием меристемы и всего растения. Клетки покоящегося центра не являются клоном стволовых клеток, возникающих в эмбриогенезе и обладающих свойством самоподдержания. Они возникают в определенном месте меристемы, которое определяется ее полярностью и организацией в ней притока соединений сверху. Таким образом не только стволовые клетки “делают” меристему, но и сама меристема “делает” стволовые клетки, причем многократно, если мы их удаляем.

Высказывалось мнение (Sanchez-Calderon et al., 2005), что клетки покоящегося центра обладают сенсорными функциями, и поэтому отвечают на воздействие: в обсуждаемом случае – на недостаток фосфора. Однако на основании всех вышеперечисленных фактов более вероятно, что сенсором являются не относительно покоящиеся клетки покоящегося центра с крайне замедленным метаболизмом, а активно делящиеся меристематические клетки, в зависимости от состояния которых меняется поведение клеток покоящегося центра.

Рассмотрим теперь наиболее обоснованную в настоящее время гипотезу, объясняющую, каким образом ИУК вызывает переход клеток в покоящееся состояние. Керк и Фельдман (Kerk, Feldman, 1994, 1995; Kerk et al., 2000) показали, что покоящийся центр отличается от выше расположенных клеток проксимальной меристемы резким снижением содержания восстановленной аскорбиновой

кислоты и глутатиона и повышенным содержанием окисленных форм этих соединений, что обусловлено повышенной активностью в этих клетках аскорбатоксидазы и является одним из следствий увеличения концентрации ИУК. Эти и ряд других данных показывают, что клетки покоящегося центра оказываются в условиях окислительного стресса, приводящего к замедлению пролиферации (Liso et al., 1988, 2004; Jiang et al., 2003, 2006; Jiang, Feldman, 2005). Распределение ИУК может приводить к созданию зоны с низким содержанием восстановленных соединений, что в свою очередь ведет к замедлению делений. Остается неясным, почему ИУК не вызывает такого эффекта в делящихся клетках чехлика, которые, несмотря на высокое содержание ИУК, являются самыми быстро делящимися клетками в меристеме.

Таким образом, формирование и положение покоящегося центра зависят от функционального состояния меристемы и притока соединений в корень сверху. Однако ряд фактов показывает, что образование и поддержание покоящегося центра зависят не только от этого, но и от особой роли чехлика, которая до сих пор еще далеко не ясна.

#### ЧЕХЛИК КАК НИША СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

На важную роль чехлика в поддержании покоящегося центра обращают внимание ряд исследователей (Jiang, Feldman, 2005). Чехлик есть у всех первичных корней (von Guttenberg, 1968) и отсутствует у боковых корней водных растений из семейства Podostemaceae (Suzuki et al., 2002), у которых покоящийся центр не изучен, хотя его особенности представляют большой интерес. У этих растений корни рудиментарны и очень коротки.

В эмбриогенезе или при образовании боковых корней формирование чехлика предшествует возникновению покоящегося центра. В некоторых случаях может происходить повторное исчезновение образовавшегося покоящегося центра и формирование нового, которому предшествует возникновение нового чехлика (MacLeod, 1972; Byrne, 1973; MacLeod, McLachlan, 1974; Clowes, 1978; Barlow et al., 2004). После отрезания чехлика (Kadej, 1970; Clowes, 1972) или его вымораживания (Barlow, Pilet, 1983) активизируются деления клеток покоящегося центра, что приводит к восстановлению чехлика. Аналогичное явление наблюдалось у трансгенных растений, в клетках чехлика которых происходило образование дифтерийного токсина, вызывавшего их разрушения (Tsugeki, Fedoroff, 1999). После удаления нижней половины чехлика описаны активация делений клеток покоящегося центра и открывание меристемы (Kadej, 1970; Clowes, 1972). В корнях подсолнечника и тыквы с открытым типом меристемы в периоды прекращения делений инициальными чехлика происходит активация делений клеток

покоящегося центра (Clowes, 1982). После облучения (Clowes, 1963) или охлаждения корней (Clowes, Stewart, 1967; Barlow, Rathfelder, 1985), подавляющих деления клеток чехлика, которые делятся (по крайней мере, в корнях кукурузы, с которыми проведены указанные выше исследования) быстрее других клеток меристемы, деления клеток покоящегося центра резко активизируются, что приводит к восстановлению структуры меристемы и чехлика. Аналогичные явления наблюдаются при выращивании корней в растворах солей тяжелых металлов (Нестерова, 1989; Быстрова и др., 2005; Кожевникова и др., 2007). Хотя нет точных доказательств того, что изменение поведения клеток покоящегося центра обусловлено повреждением клеток чехлика, а не прямым действием этих факторов на клетки покоящегося центра или выше расположенные клетки, вполне допустимо предположение о том, что именно повреждение клеток чехлика вызывает активацию делений клеток покоящегося центра.

Обратим внимание на то, что возникновение клеток разных тканей из клеток покоящегося центра противоречит представлению, что он является нишей для стловых клеток. У животных из клеток ниши стловые клетки не возникают.

Важная роль чехлика выявляется и в опытах с изучением регенерации декапитированных корней. При регенерации сначала происходит трансдифференцировка меристематических клеток, уже имеющих на этом расстоянии четкие признаки принадлежности к определенным тканям, в чехликоподобные (Lim et al., 2000; Ponce et al., 2000; Быстрова и др., 2005). Это может происходить и при отсутствии клеточных делений (Barlow, 1981). Затем после формирования чехлика образуется новый покоящийся центр, что совпадает по времени с формированием типичной структуры меристемы (Kadej, 1970; Feldman, 1976). При этом существенно, что клетками покоящегося центра становятся не самые нижние на поверхности среза, а всегда несколько выше расположенные клетки, так как из нижележащих клеток возникает чехлик. После выжигания лазером клеток покоящегося центра в корнях *Arabidopsis* новый покоящийся центр возникает выше первоначального. Ниже расположенные клетки между ним и первоначальным покоящимся центром экспрессируют маркерный ген, характерный для клеток чехлика (van den Berg et al., 1995).

Пока механизм взаимодействия чехлика и покоящегося центра неясен. Клаус (Clowes, 1972) предполагал, что при этом существенное значение играют механические силы, так как в его опытах нанесение гипса после удаления чехлика предотвращало активацию делений клеток покоящегося центра. Вполне возможно, что в чехлике синтезируются ингибиторы, которые влияют на прилегающие к нему клетки покоящегося центра.

Чехлик играет существенную роль в регуляции транспорта ИУК в корень, которая, как упоминалась выше, по-видимому, играет важную роль в поддержании покоящегося центра. Возможно, в этот процесс вовлечен также этилен, который синтезируется в чехлике (Jiang, Feldman, 2005; Ponce et al., 2005).

Влияние чехлика на развитие покоящегося центра подтверждается и сравнением его размеров в корнях разных видов (Clowes, 1984). В растениях с закрытой меристемой, где у чехлика свои инициальные клетки, покоящийся центр имеет больший размер, чем в корнях с открытыми меристемами, в которых у чехлика нет собственных инициалей.

Несомненно, что выяснение механизмов взаимодействия чехлика и основной части меристемы имеет исключительно важное значение для понижения организации меристемы.

### СПЕЦИФИКА СТОЛОВОСТИ У РАСТЕНИЙ

Морфогенез растений и позвоночных животных существенно различается, и эти отличия проявляются и в разном характере поддержания стловости клеток у растений и животных. В растениях морфогенез носит открытый характер, и новые органы (корни, побеги, листья) образуются в течение всей жизни. При этом в отличие от животных у растений подавляющее большинство клеток растет симпластно, и миграции клеток, происходящей в эмбриональном развитии и на более поздних стадиях у животных, в растениях нет.

Стловые клетки у животных закладываются на достаточно ранних стадиях эмбриогенеза и далее поддерживаются в определенных нишах. Если они мигрируют, то могут давать начало новой дифференцировке. При введении животным кроветворных стловых клеток они, попадая в селекцию, дают начало колониям, состоящим из разных типов кроветворных клеток. Сохранение кроветворения на протяжении всей жизни животного объясняют сменой клонов стловых клеток, заложенных на ранних стадиях развития (Drize et al., 1996). Каждый клон имеет ограниченный период жизни.

Корни также могут расти в течение очень долгого времени, например, изолированные могут расти в течение десятилетий. При этом, как это было показано в классических исследованиях Уайта (1949), длительное сохранение роста возможно только при смене кончика главного корня на кончик одного из боковых корней. Именно такая смена осей делает возможной многолетнюю культуру одного корня. Если отрезать от изолированного корня кончик и пересадить его в новую среду, то рост прекращается после нескольких пересадок. Механизм этого явления неясен. Однако суще-



ственно, что старение связано с изменением или клеток покоящегося центра, или всей меристемы как системы клеток, но не самих клеток, так как смена оси, основанная на переходе к пролиферации уже дифференцированных клеток перицикла, сбрасывает счет делений. Было бы очень интересно выяснить, не может ли рост продолжаться при периодической декапитации главного корня, после которой новый покоящийся центр возникает из клеток, перешедших к активным делениям. Однако провести такие опыты с тонкими изолированными корнями технически сложно.

Из-за симпластного роста и отсутствия миграции клеток в растениях популяция столовых клеток не может во всех случаях поддерживаться как клон клеток, остающийся на протяжении всего периода роста в столовом состоянии. Так, например, если покоящийся центр главного корня может сохраняться после его возникновения в эмбриогенезе на протяжении всего периода роста этого корня, который может быть равен длительности жизни растения, то в боковых корнях новые покоящиеся центры возникают из клеток, прошедших несколько циклов делений и в большинстве случаев закончивших растяжение. При образовании боковых корней они закладываются после перехода к активным делениям клеток перицикла, причем число этих клеток многократно превышает таковое в составе покоящегося центра главного корня. В растениях нет миграции клеток, и ветвление происходит в результате перехода к делениям дифференцированных клеток. В возникающем зачатке апикальная группа клеток переходит в покоящееся состояние. Таким образом, новые клетки с функциями столовых возникают из пролиферирующих, образующихся после перехода к делениям дифференцированных клеток. В растениях могут быть боковые корни нескольких порядков и число их может достигать многих миллионов. Это означает, что процесс образования новых столовых клеток может происходить в онтогенезе многократно. Аналогичное явление наблюдается при регенерации меристем корня или побега после удаления покоящегося центра или меристемы ожидания (Reinhardt et al., 2003). Они могут возникать вновь из уже активно делящихся клеток, если удален не слишком большой участок меристемы.

Таким образом, для растений характерно не поддержание определенного клона (или клонов) столовых клеток, а закономерное возникновение новых столовых из уже перешедших к активной пролиферации клеток. Поддержание клонов относительно покоящихся клеток невозможно при симпластном росте, который характерен для большинства тканей растения. В последнее время высказывается предположение, что у животных столовые клетки могут возникать в ходе онтогенеза и что это – определенное состояние клеток (Ferraris et al., 2000; Theise, Krause, 2002; Zi-

rog, 2004). Однако пока еще неясно, насколько широко распространено это явление.

Растения – прекрасная модель для изучения закономерностей перехода клеток из пролиферирующего в покоящееся состояние и обратно. Большинство клеток растений в культуре могут дать после мацерации ткани целое растение, т.е. являются тотипотентными. Так как они дают начало всем типам клеток, то могут рассматриваться как столовые, если последними считать клетки, способные к дифференцировкам. Тогда вообще понятие “столовой клетки” как специфической пропадает. Очевидно, что, хотя клетки дают начало разным типам, большинство их не соответствует тому описанию столовой клетки, которое дал А.А. Максимов. Он предложил понятие “столовая клетка”, чтобы устранить противоречие между нескончаемым числом делений кроветворных клеток и необходимостью сохранить способность к делениям и дифференцировкам в течение всей жизни животного. Эти клетки кроветворной системы сохраняются в недифференцированном состоянии в течение всей жизни и способны к самоподдержанию. Специфика растения состоит в том, что при снятии запретов, определяющихся системой межклеточных и межорганных взаимодействий, все или большинство клеток способны начать делиться. В возникающих комплексах клеток на определенных и не самых ранних стадиях развития возникают участки, состоящие из клеток, похожих на столовые животных по критериям, указанным Поттенем и Лоеффлером (Potten, Loeffler, 1997). Образованию этих клеток предшествуют становление поляризованности клеточной системы в отношении транспорта ИУК и активация экспрессии определенных генов.

В исследованиях было показано, что поддержание покоящегося центра и окружающих его клеток определяется активностью ряда генов – *SHR*, *SCR*, *PLT1*, *PLT2*, кодирующих транскрипционные факторы (Di Laurenzio et al., 1996; Helariutta et al., 2000; Aida et al., 2002; Sabatini et al., 2003; Billou et al., 2005; Wildwater et al., 2005; Xu et al., 2006). Активность ряда этих генов зависит от ИУК, транспорт которой определяется наличием специфических переносчиков (PIN), различающихся по локализации и активности (Friml et al., 2002). Сабловский (Sablowski, 2004b) обращает внимание на то, что гены, определяющие образование и поддержание покоящегося центра, ответственны за образование корня на ранних стадиях эмбрионального развития.

Существенно, что выделение групп клеток, аналогичных по своим свойствам столовым, происходит в осевых органах растений, способных к длительному росту. В латеральных органах, например в листьях, такие зоны не образуются – для них характерен ограниченный период ро-

ста. А, например, в листьях вельвичии, которые растут длительное время, меристематическая зона в этом отношении не изучена.

У некоторых растений в листьях есть особые клетки, из которых при вегетативном размножении может возникать целое растение (например, у бриофиллиумов). Однако они не являются стволовыми в том смысле, как это понимается в нашей работе, хотя некоторые авторы считают их стволовыми (Батыгина и др., 2004; Батыгина, Рудский, 2006). Эти клетки находятся в листе в покое состоянии и не пролиферируют. Когда индуцируется образование из них новых растений, они уже себя не сохраняют и развивающийся ансамбль клеток все время перестраивается.

В растениях клетки способны многократно переходить в разные состояния, причем образование стволовых клеток из дифференцированных происходит всегда после нескольких циклов делений (Иванов, 2003). Специфика растений состоит в том, что стволовые клетки в них возникают в результате специфического взаимодействия клеток в апексах и включения системы генов, регулируемых полярным транспортом ИУК и, возможно, других соединений, включая белки и РНК (Nakajima et al., 2001). В растениях стволовые клетки не являются клонами специфических клеток, возникшими как стволовые в эмбриогенезе и сохраняющимися в течение всей жизни. Они образуются в определенных местах, и положение их определяется в большинстве случаев не стохастически, а зависит от системы межклеточных отношений.

Вейгель и Юргенс (Weigel, Jurgens, 2002) назвали свою статью "Stem cells that make stem". В этом названии пропадает очень важная особенность растения: стволовые клетки, если их понимать, как это предложил А.А. Максимов, возникают не сначала, а на определенном этапе развития зачатка корня или побега. В этом принципиальное отличие морфогенеза растений от образования, например, колонии кроветворных клеток в селезенке при трансплантации клеток костного мозга животному. Колония возникает из одной стволовой (а не любой) клетки, и число стволовых клеток очень мало по сравнению с общим числом клеток. В растениях боковые корни возникают из некоторого числа клеток перицикла (у цветковых растений не из одной клетки), и стволовые клетки обособляются уже после образования примордия. Если их удалить, то они возникают снова. Другими словами, стволовыми становятся клетки, занимающее апикальное положение в теле корня на границе с чехликом.

В настоящей статье клетки, наиболее отвечающие критериям, предложенным Поттенем и Лoeffлером (Potten, Loeffler, 1997), принимали за стволовые. Однако надо отметить, что в последнее время стволовые клетки рассматриваются в более

широком смысле (Батыгина, Рудский, 2006) и в таком понимании их особенности существенно отличаются от принятых в настоящей работе. Например, зигота считается стволовой клеткой первого порядка – "прародительницей" стволовых клеток всех других порядков". Однако зигота существует только до первого ее деления, поэтому ей нельзя приписать способность к пролиферации и сохранению в течении длительного времени, как это понимал Максимов, вводя понятие о стволовых клетках.

По мнению Батыгиной и Рудского, пластичность в развитии и репродукции растений связана в первую очередь с разносторонней деятельностью клеток тела растений, имеющих свойства стволовых и характеризующихся: 1) тотипотентностью, 2) самоподдержанием, 3) способностью к пролиферации и образованию клеток-предшественников разных типов тканей, 4) пульсирующим и многоступенчатым характером образования в ткани или органе и 5) способностью к переключению программы развития, что обеспечивается различными молекулярно-генетическими механизмами.

Согласно подходам, развиваемым в настоящей работе, набор этих признаков характеризует не определенные клетки, а систему поддержания стволовости в растениях. При этом образование новых органов или организмов является не свойством стволовых клеток, как это предлагается Батыгиной и Рудским (2006), а характеристикой системы межклеточных и межорганнх отношений в растении, что и было проиллюстрировано в нашей работе при анализе механизмов формирования и поддержания покоящегося центра. Именно система этих взаимосвязей определяет, будет ли данная клетка обладать свойствами стволовой, поэтому нельзя согласиться с утверждением указанных авторов о том, что "любая растительная клетка может находиться в различных морфофизиологических состояниях, характеристики одного из них наиболее соответствуют свойствам стволовой клетки, другие соответствуют активно делящейся меристематической клетке. Переходы между этими состояниями вероятностные...". Из представленных выше материалов ясно, что в корне клетки, обладающие признаками стволовых, находятся в определенном месте и совсем не всякая клетка может вернуться в стволовое состояние. Это процесс не вероятностный, а формируемый системой градиентов соединений, определяющих стволовой характер клетки, который возникает в результате межклеточных взаимоотношений.

Изучение стволовых клеток растений представляет большой общеприкладной интерес. Он определяется следующими причинами.

1. Растительные клетки тотипотентны и почти из любой клетки после мацерации можно получить целое растение. Кроме того, многие растения вегетативно размножаются, и в этих случаях широко распространены трансдифференцировка и возникновение корней на побегах, почках – на корнях, целых растений – из отдельных специализированных клеток, остающихся на растении и т.п.

2. Стволовые клетки в растениях (или, по крайней мере, те клетки, которые рассматривают как стволовые) могут быть выявлены морфологически, их можно указать на срезах, тогда как у животных их наличие зачастую доказывается косвенными методами на основе анализа кинетики пролиферации и дифференцировки клеток, а также в опытах с помощью трансплантации клеток в другие организмы и подсчета возникающих колоний.

3. В растениях найдены и в ряде случаев клонированы гены, экспрессируемые только в стволовых клетках.

4. Показано, что сами стволовые клетки не “молчат”, а влияют на прилегающие к ним клетки, которые в свою очередь воздействуют на стволовые. Возникающие таким образом системы отрицательных связей определяют устойчивость морфогенеза и дифференцировки.

Растительные клетки способны обратимо переходить из пролиферирующего в стволовое состояние и обратно, и этот переход определяется системой межклеточных отношений и взаимосвязями отдельных частей растения. Стволовые клетки, если под ними понимать такие, которые сохраняют длительное время способность к делениям и дифференцировке, возникают многократно при развитии примордиев корней и побегов, а не являются клонами популяции стволовых клеток, заложенной на определенной стадии эмбриогенеза. По признакам, характеризующим, по мнению Лоеффлера и Поттена, стволовые клетки, именно клетки покоящегося центра, а не окружающие его активно делящиеся наиболее соответствуют характеристикам стволовых (рисунок). В пользу этой точки зрения свидетельствует отсутствие в клетках покоящегося центра тканевых маркеров, резко замедленная пролиферация этих клеток и способность клеток покоящегося центра образовывать клетки разных тканей после различных повреждений корня, что обеспечивает восстановление меристемы (таблица). Возникновение и поддержание определяется, с одной стороны, поступлением соединений свеху, причем первостепенное значение имеет транспорт ИУК, и, с другой стороны, влиянием чехлика, механизм которого еще не выяснен.

*Автор благодарен В.Я. Бродскому, С.Г. Васецкому, Т.А. Ежовой, Н.В. Обручевой и И.В. Сергину за критические замечания.*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

*Батыгина Т.Б., Рудский И.В.* Роль стволовых клеток в морфогенезе растений // ДАН. 2006. Т. 410. С. 702–704.

*Батыгина Т.Б., Титова Г.Е., Шамров И.И. и др.* Проблема стволовых клеток у растений (с позиции эмбриологии) // Матер. X шк. по теорет. морфологии растений “Конструкционные единицы в морфологии растений”. Вятка, 2004. С. 20–30.

*Быстрова Е., Кожевникова А.Д., Месенко М.М. и др.* Система межклеточных взаимодействий, определяющая образование и поддержание стволовых клеток в меристеме корня // Тез. докл. конф. “Биология стволовых клеток: фундаментальные аспекты”. М., 2005. С. 19–20.

*Деев Р.В.* Научное наследие Александра Максимова и современность // Клеточ. трансплантология и тканевая инженерия. 2005. Т. 1. № 1. С. 4–8.

*Иванов В.Б.* Клеточные основы роста растений. М.: Наука, 1974. 223 с.

*Иванов В.Б.* Особенности организации пролиферации клеток в растениях в связи с проблемой стволовых клеток // Цитология. 1986. Т. 28. С. 295–302.

*Иванов В.Б.* Проблема стволовых клеток у растений // Онтогенез. 2003. Т. 34. № 4. С. 253–261.

*Иванов В.Б.* Меристема как самоорганизующаяся система: поддержание и ограничение пролиферации клеток // Физиология растений. 2004. Т. 51. С. 926–941.

*Иванов В.Б., Ларина Л.П.* Повторная регенерация апикальной меристемы корня и проблема стволовых клеток у растений // ДАН СССР. 1983. Т. 272. С. 1014–1017.

*Ковалев А.Г.* Динамика покоящегося центра в растущих корнях дуба и каштана // Там же. 1977. Т. 235. С. 980–983.

*Кожевникова А.Д., Серегин И.В., Быстрова Е.И. и др.* Влияние тяжелых металлов и стронция на деление клеток корневого чехлика и структурную организацию меристемы // Физиология растений. 2007. Т. 54. С. 290–299.

*Ларина Л.П.* Возрастные изменения покоящегося центра в корнях кукурузы // Цитология. 1977. Т. 19. С. 1048–1050.

*Михайлов В.П., Катинас Г.С.* Об основных понятиях гистологии // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. 1977. Т. 73. № 9. С. 11–26.

*Нестерова А.Н.* Воздействие ионов свинца, кадмия и цинка на клеточную организацию меристемы и рост проростков кукурузы: Дис. ... канд. биол. наук. М.: МГУ, 1989. 194 с.

*Поддубная-Арнольди В.А.* Общая эмбриология покрытосеменных растений. М.: Наука, 1964. 482 с.

*Уайт Ф.Р.* Культура растительных тканей. М.: Иностран. лит-ра, 1949. 150 с.

*Фриденштейн А.Я.* Стволовые остеогенные клетки костного мозга // Онтогенез. 1991. Т. 22. № 2. С. 189–196.

*Хрущов Н.Г.* Тканевые системы со стволовыми клетками // Там же. 1991. Т. 22. № 2. С. 118–124.

- Шубич М.Г. На пути к открытию створовых клеток костного мозга // Морфология. 2001. Т. 119. № 1. С. 94–95.
- Aida M., Vernoux T., Furutani M. et al. Roles of *PINFORMED1* and *MONOPTEROS* in pattern formation of the apical region of the *Arabidopsis* embryo // Development. 2002. V. 129. P. 3965–3974.
- Armstrong J.E., Heimsch C. Ontogenetic reorganization of the root meristem in the Compositae // Am. J. Bot. 1976. V. 63. P. 212–219.
- Baluska F., Barlow P.W. The role of the microtubular cytoskeleton in determining nuclear chromatin structure and passage of maize root cells through the cycle // Eur. J. Cell Biol. 1993. V. 61. P. 160–167.
- Barlow P.W. The concept of the stem cell in the context of plant growth and development // Stem cells and tissue homeostasis / Eds. Lorel B.I. et al. Cambridge: Univer. Press, 1978. P. 87–113.
- Barlow P.W. Division and differentiation during regeneration of root apex // Structure and function of plant root / Eds Brouwer R. et al. L. et al.: Martinus Nijhoff / U. Junk Publ., 1981. P. 85–87.
- Barlow P.W. The meristem and quiescent centre in cultured root apices of the *gib-1* mutant of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) // Ann. Bot. 1992. V. 69. P. 533–543.
- Barlow P.W. Stem cells and founder zones in plants, particularly their roots // Stem cells / Ed. Potten C.S. L.: Acad. Press, 1997. P. 29–57.
- Barlow P.W. The root cap: cell dynamics, cell differentiation and cap function // J. Plant Growth Regul. 2003. V. 21. P. 261–286.
- Barlow P.W., Pilet P.-E. Mitotic activity in the maize root apex after freeze-decapping // Planta. 1983. V. 157. P. 286–288.
- Barlow P.W., Rathfelder E.L. Correlation between the dimensions of different zone of grass root apices, and their implications for morphogenesis and differentiation in roots // Ann. Bot. 1984. V. 53. P. 249–260.
- Barlow P.W., Rathfelder E.L. Cell division and regeneration in primary root meristems of *Zea mays* recovering from cold treatment // Environ. Exp. Bot. 1985. V. 25. P. 303–314.
- Barlow P.W., Volkmann D., Baluska F. Polarity in roots // Polarity in plants / Ed. Lindsey K. Oxford: Blackwell Publ. Co., 2004. P. 192–241.
- Batygina T.B. Stem cells in terms of embryology // I Междунар. шк. для молодых ученых “Эмбриология и биотехнология”. СПб., 2005а. С. 30–31.
- Batygina T.B. Sexual and asexual processes in reproductive systems of flowering plants // Acta Biol. Cracovensia. Ser. Botanica. 2005b. V. 47. P. 51–60.
- Baum S.F., Dubrovsky J.G., Rost T.L. Apical organization and maturation of the cortex and vascular cylinder in *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae) roots // Am. J. Bot. 2002. V. 89. P. 908–920.
- Benjamins R., Quint A., Weijers D. et al. The *PINOID* protein kinase regulates organ development in *Arabidopsis* by enhancing polar auxin transport // Development. 2001. V. 128. № 20. P. 4057–4067.
- Billou I., Xu J., Wildwater M. et al. The *PIN* auxin efflux facilitator network controls growth and patterning in *Arabidopsis* roots // Nature. 2005. V. 433. P. 39–44.
- Byrne J.M. The root apex of *Malva sylvestris*. III. Lateral root development and the quiescent center // Am. J. Bot. 1973. V. 60. P. 657–662.
- Byrne J.M., Heimsch C. II. The quiescent center // Ibid. 1970. V. 57. P. 1179–1184.
- Chapman K., Groot E.P., Nichol S.A. et al. Primary root growth and the pattern of root apical meristem organization are coupled // J. Plant Growth Regul. 2003. V. 21. P. 287–295.
- Clark S.E., Williams R.W., Meyerowitz E.M. The *CLAVATA1* gene encodes a putative receptor kinase that controls shoot and floral meristem size in *Arabidopsis* // Cell. 1997. V. 89. P. 575–585.
- Clowes F.A.L. Nucleic acid in root apical meristems of *Zea* // New Phytologist. 1956. V. 55. P. 29–35.
- Clowes F.A.L. The quiescent center in meristems and its behaviour after irradiation // Brookhaven Symp. Biol. “Meristems and differentiation”. 1963. V. 16. P. 46–58.
- Clowes F.A.L. Regulation of mitosis in root by their cap // Nature New Biol. 1972. V. 235. P. 143–144.
- Clowes F.A.L. The quiescent centre // The development and function of plants / Eds Torrey J. G., Clarkson D.T. L.: Acad. Press, 1975. P. 3–19.
- Clowes F.A.L. Origin the quiescent centre in *Zea mays* // New Phytol. 1978. V. 80. P. 409–419.
- Clowes F.A.L. Changes in cell population kinetics in an open meristem during root growth // Ibid. 1982. V. 91. P. 741–748.
- Clowes F.A.L. Size and activity of quiescent centres of roots // Ibid. 1984. V. 96. P. 13–21.
- Clowes F.A.L., Stewart H.E. Recovery from dormancy in roots // Ibid. 1967. V. 66. P. 115–125.
- Clowes F.A.L., Wadekar R. Instability in the root meristem of *Zea mays* during growth // Ibid. 1989. V. 111. P. 19–24.
- Di Laurenzio L., Wysocka-Diller J., Malamy J. E. et al. The *SCARECROW* gene regulates an asymmetric cell division that is essential for generating the radial organization of the root // Cell. 1996. V. 86. P. 423–433.
- Drize N.J., Keller J.R., Chertkov J.L. Local clonal analysis of the hematopoietic system shows that multiple small short-living clones maintain life-long hematopoiesis in reconstituted mice // Blood. 1996. V. 88. № 8. P. 2927–2938.
- Feldman L.J. The *de novo* origin of the quiescent center in regenerating root apices of *Zea mays* // Planta. 1976. V. 128. P. 207–212.
- Feldman L.J. Proximal meristem in the root apex of *Zea mays* // Ann. Bot. 1979. V. 43. P. 1–9.
- Feldman L.J., Torrey J.G. The quiescent center and primary vascular tissue pattern formation in cultured roots of *Zea* // Can. J. Bot. 1975. V. 53. P. 2796–2803.
- Ferraris C., Chevalier G., Favier B. et al. Adult corneal epithelium basal cells possess the capacity to activate epidermal, pilosebaceous and sweat gland genetic programs in response to embryonic dermal stimuli // Development. 2000. V. 127. P. 5487–5495.

- Fletcher J.C., Meyerowitz E.M.* Cell signaling within shoot meristem // *Curr. Opin. Plant Biol.* 2000. V. 3. P. 23–30.
- Francis D.* The stem cell concept applied to shoot meristems of higher plants // *Stem cells* / Ed. Potten C. S. L.: Acad. Press, 1997. P. 59–73.
- Friml J., Benkova E., Blilou I. et al.* AtPIN4 mediates sink-driven auxin gradients and root patterning in *Arabidopsis* // *Cell.* 2002. V. 108. P. 661–673.
- Hamann T.* The role of auxin in apical-basal pattern formation during *Arabidopsis* embryogenesis // *J. Plant Growth Regul.* 2001. V. 20. P. 292–299.
- Hamann T., Mayer U., Jurgens G.* The auxin-insensitive *bodenlos* mutation affects primary root formation and apical-basal patterning in the *Arabidopsis* embryo // *Development.* 1999. V. 126. P. 1387–1395.
- Hamann T., Benkova E., Baurle I. et al.* The *Arabidopsis* *BODENLOS* gene encodes an auxin response protein inhibiting *MONOPTEROS*-mediated embryo patterning // *Genes Dev.* 2002. V. 16. P. 1610–1615.
- 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. 1405–1411.
- Helariutta Y., Fukaki H., Wysocka-Diller J. et al.* The *SHORT-ROOT* gene controls radial patterning of the *Arabidopsis* root through radial signaling // *Cell.* 2000. V. 101. P. 555–567.
- Jiang K., Feldman L.J.* Root meristem establishment and maintenance: the role of auxin // *J. Plant Growth Regul.* 2003. V. 21. P. 432–440.
- Jiang K., Feldman L.J.* Regulation of root apical meristem development // *Ann. Rev. Cell Dev. Biol.* 2005. V. 21. P. 485–509.
- Jiang K., Meng Y.L., Feldman L.J.* Quiescent center formation in maize roots is associated with an auxin-regulated oxidizing environment // *Development.* 2003. V. 130. P. 1429–1438.
- Jiang K., Ballinger T., Li D. et al.* A role for mitochondria in the establishment and maintenance of the maize root quiescent center // *Plant Physiol.* 2006. V. 140. P. 1118–1125.
- Kadej F.* Regeneracja merystemu wierzchołkowego korzenia // *Acta Soc. Bot. Pol.* 1970. V. 39. № 2. P. 373–381.
- Kamiya N., Nagasaki H., Morikami A. et al.* Isolation and characterization of a rice *WUSCHEL*-type homeobox gene that is specifically expressed in the central cells of a quiescent center in the root apical meristems // *Plant J.* 2003. V. 35. P. 429–441.
- Kaufman P.B.* Histological responses of the rice plant (*Oryza sativa*) to 2,4-D // *Am. J. Bot.* 1955. V. 42. P. 649–659.
- Kerk N., Feldman L.* The quiescent center in roots of maize: initiation, maintenance and role in organization of the root apical meristem // *Protoplasma.* 1994. V. 183. P. 100–106.
- Kerk N., Feldman L.* A Biochemical model for the initiation and maintenance of the quiescent center: implications for organization of root meristem // *Development.* 1995. V. 121. P. 2825–2833.
- Kerk N., Jian K., Feldman L.* Auxin metabolism in the root apical meristem // *Plant Physiol.* 2000. V. 122. P. 925–932.
- Laux T.* The stem cells concept in plants: a matter of debate // *Cell.* 2003. V. 113. P. 261–263.
- Lim J., Helariutta Y., Specht C.D. et al.* Molecular analysis of the *SCAGEROW* gene in maize reveals a common basis for radial patterning in diverse meristems // *Plant Cell.* 2000. V. 12. P. 1307–1318.
- Liso R., Innocenti A.M., Bitonti B.M. et al.* Ascorbic acid induced progression of quiescent centre cells from  $G_1$  to S phase // *New Phytol.* 1988. V. 110. P. 469–471.
- Liso R., De Tullio M.C., Ciraci S. et al.* Localization of ascorbic acid oxidase, and glutathione in roots of *Cucurbita maxima* L. // *J. Exp. Bot.* 2004. V. 55. № 408. P. 2589–2597.
- MacLeod R.D.* Lateral root formation in *Vicia faba* L. I. The development of large primordia // *Chromosoma.* 1972. V. 39. P. 341–350.
- MacLeod R.D., McLachlan S.M.* The development of the quiescent center in lateral roots of *Vicia faba* // *Ann. Bot.* 1974. V. 38. P. 535–544.
- Mayer K.F., Schoof H., Haecker A. et al.* Role of *WUSCHEL* in regulating stem cell fate in the *Arabidopsis* shoot meristem // *Cell.* 1998. V. 95. P. 805–815.
- Miksche J.P., Greenwood M.* Quiescent center of the primary root of *Glycine max* // *New Phytol.* 1966. V. 65. P. 1–4.
- Morrison S.J., Shah N.M., Anderson D.J.* Regulatory mechanisms in stem biology // *Cell.* 1997. V. 88. P. 287–298.
- Nakajima K., Sena G., Nawy T., Benfey P.N.* Intercellular movement of the putative transcription factor SHR in root patterning // *Nature.* 2001. V. 413. P. 307–311.
- Nakielski J., Barlow P.W.* Principal directions of growth and the generation of cell patterns in wild-type and *gib-1* mutant roots of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) grown *in vitro* // *Planta.* 1995. V. 196. P. 30–39.
- Ponce G., Lujan R., Campos M.E. et al.* Three maize root-specific genes are not correctly expressed in regenerated caps in the absence of the quiescent center // *Ibid.* 2000. V. 211. P. 23–33.
- Ponce G., Barlow P.W., Feldman L.J. et al.* Auxin and ethylene control mitotic activity of the quiescent center, root cap size, and pattern of cap cell differentiation in maize // *Plant Cell Environ.* 2005. V. 28. P. 719–732.
- Potten C.S., Loeffler M.* Stem cells and cellular pedigrees—conceptual introduction // *Stem cells* / Ed. Potten C. S. L.: Acad. Press, 1997. P. 1–27.
- Raghavan V.* Origin of the quiescent center in the root of *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik // *Planta.* 1990. V. 181. P. 62–70.
- Raju M.V.S., Steeves T.A., Naylor J.M.* Developmental studies on *Euphorbia esula* L.: apices of long and short roots // *Can. J. Bot.* 1964. V. 42. P. 1615–1628.
- Reinhardt D., Frenz M., Mandel T. et al.* Microsurgical and laser ablation analysis of interactions between the zones and layers of the tomato shoot apical meristem // *Development.* 2003. V. 130. P. 4073–4083.
- Rodriguez-Rodriguez J.F., Shishkova S., Napsucialy-Mendivil S., Dubrovsky J.* Apical meristem organization and lack of establishment of the quiescent center in Cactaceae roots with determinate growth // *Planta.* 2003. V. 217. P. 849–857.

- Sabatini S., Beis D., Wolkenfelt H. et al.* An auxin-dependent distal organizer of pattern and polarity in the *Arabidopsis* root // *Cell*. 1999. V. 99. P. 463–472.
- Sabatini S., Heidstra R., Wildwater M., Scheres B.* SCARE-CROW is involved in positioning the stem cell niche in the *Arabidopsis* root meristem // *Genes Devel.* 2003. V. 17. P. 354–358.
- Sablowski R.* Plant and animal stem cells: conceptually similar, molecularly distinct? // *Trends Cell Biol.* 2004a. V. 14. № 11. P. 605–611.
- Sablowski R.* Root development: the embryo within? // *Curr. Biol.* 2004b. V. 14. P. R1054–R1055.
- Sanchez-Calderon L., Lopez-Bucio J., Chacon-Lopez A. et al.* Phosphate starvation induces a determinate program in the roots of *Arabidopsis thaliana* // *Plant Cell Physiol.* 2005. V. 46. P. 174–184.
- Scheres B.* Stem cells: a plant biologie perspective // *Cell*. 2005. V. 122. P. 499–504.
- Scheres B., Wolkenfelt H., Willemsen V. et al.* Embryonic origin of the *Arabidopsis* primary root and root meristem initials // *Development*. 1994. V. 120. P. 2475–2487.
- Suzuki K., Yoko K., Masahiro K.* Comparative developmental anatomy of seedlings in nine species of Podostemaceae (Subfamily Podostemoideae) // *Ann. Bot.* 2002. V. 89. P. 755–765.
- Theise N. D., Krause D.S.* Toward a new paradigm of cell plasticity // *Leukemia*. 2002. V. 16. P. 542–548.
- Tsugeki R., Fedoroff N.V.* Genetic ablation of root cap cells in *Arabidopsis* // *PNAS*. 1999. V. 96. № 22. P. 12941–12946.
- van den Berg C., Willemsen V., Hage W. et al.* Cell fate in the *Arabidopsis* root meristem determined by directional signaling // *Nature*. 1995. V. 378. P. 62–65.
- van den Berg C., Willemsen V., Hendricks G. et al.* Short-range control of cell differentiation in the *Arabidopsis* root meristem // *Ibid.* 1997. V. 390. P. 287–289.
- Veit B.* Stem cell signaling networks in plants // *Plant Mol. Biol.* 2006. V. 60. P. 793–810.
- von Guttenberg H.* Die primare Bau der Angiospermenwurzel. Berlin: Gebruder Borntraeger, 1968. 472 S.
- Webster P.L., Langenhauer H.D.* Experimental control of the activity of the quiescent centre in excised root tips of *Zea mays* // *Planta*. 1973. V. 112. P. 91–110.
- Weigel D., Jurgens G.* Stem cells that make stems // *Nature*. 2002. V. 145. P. 751–754.
- Wildwater M., Campilho A., Perez-Perez J.M. et al.* The retinoblastoma related gene regulates stem cell maintenance in *Arabidopsis* roots // *Cell*. 2005. V. 123. P. 1337–1349.
- Xu J., Hofhuis H., Heidstra R. et al.* A molecular framework for plant regeneration // *Science*. 2006. V. 311. P. 385–388.
- Zipori D.* The nature of stem cells: state rather than entity // *Nature Rev. Genet.* 2004. V. 5. P. 873–878.

## Stem Cells in the Root and the Problem of Stem Cells in Plants

© 2007 г. V. B. Ivanov

*Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, ul. Botanicheskaya 33, Moscow, 117276 Russia*

*E-mail: ivanov@ippras.ru*

Received January 7, 2007; in final form, April 4, 2007

**Abstract**—Plant cells are capable of reversible transition from the proliferating to the stem state. This transition is determined by a system of cell-cell interactions and interrelationships between plant parts. Stem cells defined as the cells preserving the capacity to divisions and differentiation for a long time arise repeatedly during development of the root and shoot primordial, rather than are clones of a population of stem cells laid down at a certain stage of embryogenesis. The quiescent center cells, rather than the surrounding actively dividing cells, best correspond to the characteristics of stem cells according to Loeffler and Potten. The factors that determine the quiescent center formation and maintenance in the root have been analyzed. The available data suggest that among these factors, indoleacetic acid transport and cap influence are of paramount significance. The cap formation precedes the quiescent center formation both during the root development and in the course of meristem regeneration after the root decapitation. The capacity of stem cell formation by the meristem suggests that not only meristem arises from the stem cells, but also that stem cells are formed from actively dividing cells. Repeated formation of stem cells allows long-term preservation of the capacity of plants for open morphogenesis and vegetative propagation.

*Key words:* stem cells, root, meristem, quiescent center, root cap, indoleacetic acid.