

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ
БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 573.2,57.017.6

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АУКСИНА
В КОРНЕ РАСТЕНИЯ¹

© 2007 г. В. А. Лихошвай*, **, Н. А. Омелянчук*, В. В. Миронова*,
С. И. Фадеев**, ***, Э. Д. Мелнесс****, Н. А. Колчанов*, **

*Институт цитологии и генетики СО РАН
630090 Новосибирск, пр-т Академика Лаврентьева, д. 10

**Новосибирский государственный университет
630090 Новосибирск, ул. Пирогова, д. 2

***Институт математики СО РАН
630090 Новосибирск, ул. Коптюга, д. 4

****Институт геномики и биоинформатики, Университет Калифорнии
Ирвайн, СА 92607, США
E-mail: likho@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 29.05.2007 г.

Регуляция ауксином процессов роста и развития растений опосредована контролируемым распределением гормона и дозозависимыми механизмами его действия. Предлагается математическая модель, описывающая распределение ауксина в клетках, лежащих вдоль центральной оси корня *Arabidopsis thaliana*. Она качественно воспроизводит как распределение ауксина в клетках центральной оси корня в норме и при уменьшении скорости активного транспорта, так и восстановление распределения ауксина и связанное с этим восстановление меристемы при регенерации корня после обрезания его кончика. Выявляются различные типы распределения концентрации ауксина вдоль вертикальной оси корня, предлагаются возможные варианты роста корня и формирования латеральных корней, а также дается биологическая интерпретация различным режимам поведения модели.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana*, развитие корня растения, транспорт ауксина, математическая модель.

Природный ауксин (индолилуксусная кислота, ИУК) является уникальным веществом, участвующим в регуляции различных биологических процессов. У *Escherichia coli* он активизирует различные защитные механизмы устойчивости к стрессам (Bianco et al., 2006). Некоторые виды почвенных бактерий синтезируют ауксин для взаимодействия с растением-симбиотом (Costacurta, Vanderleyden, 1995). У *Saccharomyces cerevisiae* ИУК регулирует рост и дифференцировку клеток (Prusty et al., 2004). Высокие ее концентрации ингибируют рост дрожжей, низкие вызывают их дифференцировку в инвазивную форму.

В растительном мире в ходе эволюции шло усложнение регуляторных механизмов с участием ауксина: от простых связей у низших растений

до сложнейших механизмов распределения ауксина и опосредованной ауксином регуляции – у высших (Cooke et al., 2002). В корне высших растений самая высокая концентрация ауксина отмечается в меристеме (Sabatini et al., 1999), в клетках инициалей корневого чехлика и покоящегося центра (ПЦ) (рис. 1, а). Такое положение максимума ауксина остается практически неизменным в процессе жизни растения, несмотря на постоянные деления клеток в меристеме.

Формирование распределения ауксина зависит от его биосинтеза, инактивации (конъюгации и прямого окисления), диффузии и активного транспорта (Woodward, Bartel, 2005). Тем не менее, до стадии образования латеральных корней (7–8 сут после прорастания) значительная часть содержащегося в корне ауксина синтезируется в надземной части растения и доставляется в корень через сосудистую систему (Ljung et al., 2005). До этого же времени основную роль в распределении ауксина в корне играет активный транспорт этого вещества из клетки (Friml et al., 2003; Petrasek et al., 2006). У *Arabidopsis thaliana* существуют три основных класса транспортеров ауксина – AUX, PGP, PIN, обеспечивающих направленный ввод и/или вывод

¹ Работа поддержана Федеральным агентством по науке и инновациям (Госконтракт № 02.467.11.1005), Российским фондом фундаментальных исследований (проекты № 05-07-98011, 05-07-98012), Программой Президиума РАН “Молекулярная и клеточная биология”, Российской академией наук (проект № 10104-34/П-18/155-270/1105-06-001/28/2006-1), СО РАН (интеграционный проект № 115) и Национальным научным фондом США (FIBR EF-0330786 “Моделирование развития и биоинформатика”).

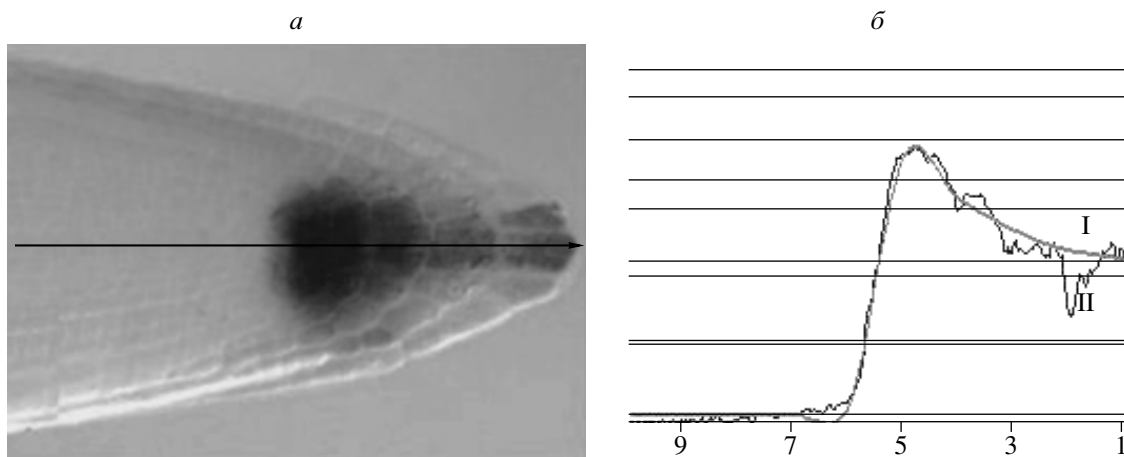


Рис. 1. Распределение ауксина в корне растения: *a* – в кончике корня, *б* – вдоль центральной осевой зоны клеток корня. *a*, I – по: Wang et al., 2005; II – рассчитано по модели (формула 1).

его из клетки (Kramer, Bennet, 2006). В сосудистой системе PGP1 и PIN1 локализируются на базальной стороне клеток (Blilou et al., 2005; Geisler, Murphy, 2006), а AUX1 обеспечивает ввод ауксина в клетку на апикальной стороне клеток флоэмы (Swarup et al., 2001).

Экспериментально показано, что ауксин способен как активировать свой активный транспорт, так и ингибировать его. Под действием ауксина происходит деградация белков AUX/IAA, которые блокируют транскрипционные факторы семейства ARF (Dharmasiri, Estelle, 2004). Последние после снятия блокировки активируют экспрессию многих генов, включая ген транспортера PIN1 (Sauer et al., 2006). Белки семейства PIN постоянно циркулируют между плазматической мембраной и эндосомами (Geldner et al., 2001; Paciorek et al., 2005). Ауксин ингибирует эндоцитоз и тем самым увеличивает количество этих белков на мембране, а значит, и свой транспорт из клетки. При высоких концентрациях ауксина наблюдается деградация белков семейства PIN (Vieten et al., 2005) и в результате уменьшается отток ауксина из клетки (Sieberer et al., 2000).

Таким образом, в настоящее время идентифицированы ключевые участники регуляции транспорта ауксина в корне раннего проростка *A. thaliana* и определены их основные взаимосвязи и роли.

В нашей статье представлена одномерная математическая модель, описывающая динамику качественного распределения ауксина в клетках, которые лежат на центральной оси корня *A. thaliana*, распределение ауксина при уменьшении скорости активного транспорта (например, при обработке корня ингибитором полярного транспорта ауксина) и восстановление качественного распределения ауксина, а следовательно, восстановление ме-

ристымы корня при его регенерации после обрезания кончика.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Обработка экспериментальных данных. Экспериментальные данные представляют собой фотографии срезов корней растений, в которых паттерн распределения ауксина выявлен с помощью трансгенных конструкций DR5::GUS или DR5::GFP (Sabatini et al., 1999; Wang et al., 2005). Мы отсканировали эти фотографии при помощи программы ImageJ (http://www.rsmas.miami.edu/personal/cparis/ownfor/doc/imagej/using_ij.pdf) и таким образом осуществили перевод экспериментальных данных в относительные количественные.

Описание модели. Распределение ауксина рассматривается в ряде из n клеток вдоль центральной оси корня, где первой является наиболее дистальная, находящаяся на кончике корня клетка. Согласно анатомическим данным, такой ряд клеток последовательно будет включать в себя три клетки корневого чехлика (слущивающиеся клетки не рассматриваются), далее по одной клетке инициалей корневого чехлика, ПЦ и инициалей клеток сосудистой ткани, потом дифференцирующиеся клетки сосудистой ткани и дифференцированные клетки сосудистых пучков (Dolan et al., 1993; Benfey, Sheres, 2000). Последней в ряду может быть клетка, принадлежащая зоне перехода стебля в корень или клетка сосудистой системы. Рассматривается поток ауксина из клетки n по направлению к клетке 1. В модели рассчитывается концентрация ауксина в каждой из n клеток с учетом следующих процессов.

1. Ауксин может пассивно диффундировать от клетки к клетке.

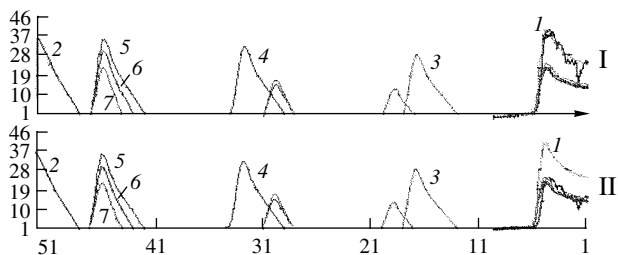


Рис. 2. Примеры (1–7) устойчивого распределения концентрации ауксина вдоль центральной оси корня по модели. I – результат расчета задачи Коши с нулевыми начальными данными; II – то же с начальными данными $a_{52} = 35, a_{51} = 25, a_{50} = 16, a_{49} = 8, a_{48} - a_6 = 1, a_5 = 13, a_4 = 12, a_3 = 11, a_2 = 10, a_1 = 9$. Расчеты проведены для длины корня вдоль центральной оси, $n = 52$. Здесь и на рис. 3, 4, 6–9: по оси абсцисс – № клетки (№ 1 соответствует концевой клетке корня); по оси ординат – концентрация ауксина в клетке, усл. ед.

2. Он может перемещаться при помощи переносчиков, причем скорость активного транспорта зависит от концентрации ауксина: она высокая при низких концентрациях и низкая – при высоких (Sieberer et al., 2000; Geldner et al., 2001; Paciorek et al., 2005; Vieten et al., 2005; Sauer et al., 2006).

3. Для первой клетки модели используется специальное граничное условие: ауксин может перемещаться из нее только во вторую клетку и только за счет пассивной диффузии.

4. Рассматривается также инактивация ауксина, которая объединяет процессы, приводящие к уменьшению его концентрации в клетке, например, конъюгация, прямое окисление или пассивный транспорт в горизонтальном направлении (в клетки, которые не рассматриваются в модели).

В модели не рассматривается биосинтез ауксина в корне, а также активный транспорт в других направлениях и специализация клеток. С учетом вышесказанного предлагается следующая модель для расчета распределения ауксина в корне:

$$\begin{aligned} \frac{da_n}{dt} &= \alpha + P_t a_{n-1} - P_t a_n - K_d a_n - K_0 a_n f(a_n) \\ \frac{da_i}{dt} &= P_t (a_{i+1} + a_{i-1}) + K_0 a_{i+1} f(a_{i+1}) - \\ &- 2P_t a_i - K_d a_i - K_0 a_i f(a_i), \quad i = \overline{n-1, 2} \\ \frac{da_1}{dt} &= -P_t a_1 - K_d a_1 + P_t a_2 + K_0 a_2 f(a_2), \end{aligned} \quad (1)$$

где n – количество клеток в модели; a_i – концентрация ауксина в клетке i ; K_d – коэффициент

инактивации; P_t – коэффициент пассивного транспорта (диффузия), одинаковый в обоих направлениях; $K_0 > 0$ имеет смысл константы скорости активного транспорта; α – константа интенсивности поступления ауксина в n -ю клетку. Для описания активного транспорта в формуле (1) используется обобщенная функция Хилла $f(a_i)$

$$f(a_i) = \left(\frac{\left(\frac{a_i}{q_{11}} \right)^{p_1}}{1 + \left(\frac{a_i}{q_{12}} \right)^{p_1}} \right) \times \left(\frac{1}{1 + \left(\frac{a_i}{q_2} \right)^{p_2}} \right), \quad (2)$$

где q_{11} – константа порога активации ауксинзависимого транспорта; q_{12} – константа порога насыщения процесса активации ауксинзависимого транспорта; q_2 – константа порога ингибирования ауксинзависимого транспорта; p_1 и p_2 – коэффициенты нелинейности механизмов активации и ингибирования соответственно. Первый множитель уравнения (2) описывает механизм активации транспорта ауксина из клетки, второй – механизм ингибирования транспорта ауксина большими концентрациями. Качественно функция ведет себя так: при малых значениях a_i она близка к нулю, при промежуточных – возрастает до некоторого максимума, а при больших убывает от максимума до нуля.

Для расчета динамики временной эволюции переменных математической модели (расчет задачи Коши) использовали метод Гира (Gear, 1971). Исследование множественности стационарных решений проводили с помощью метода продолжения по параметру (Фадеев и др., 1998).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Качественное соответствие решения экспериментальным данным. Основной особенностью распределения ауксина в корне является наличие резкого концентрационного градиента и уменьшение его концентрации от точки максимума, переходящей на пятую-четвертую клетку, к кончику корня (рис. 1).

Стационарное распределение ауксина в кончике корня, рассчитанное по модели при $n = 52$ и заданных значениях параметров, качественно соответствует экспериментальным данным (рис. 1, б). Далее в тексте используются ссылки на следующие параметры модели, при которых достигается качественно адекватное распределение ауксина.

Параметры	α	P_t	K_d	K_0	q_{11}	q_{12}	q_2	p_1	p_2
Размерность	cu/tu	1/tu	1/tu	1/tu	cu	cu	cu	dl	dl
Значение*	1	0.08	0.0045	0.25	1	100	3	2	10

* Дается в условных единицах: cu – концентрации, tu – времени, dl – безразмерная величина.

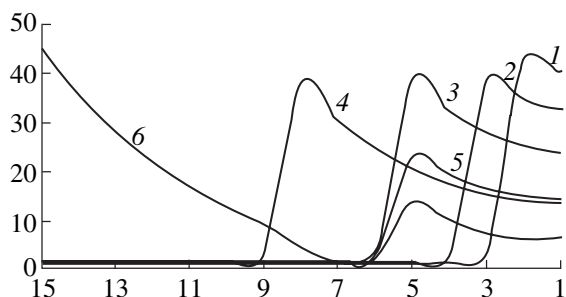


Рис. 3. Стационарное распределение ауксина, полученное с помощью модели и набора заданных параметров в результате расчета задачи Коши с нулевыми начальными данными. $n = 102$ (1), 82 (2), 52 (3), 37(4), 27(5), 15(6).

Множественность стационарных распределений модели. При наборе заданных параметров модель имеет значительное количество различных устойчивых распределений концентрации ауксина, примеры семи из них приведены на рис. 2. Все стационарные распределения ауксина на кончике корня качественно соответствуют экспериментальному (рис. 1, б). Введем классификацию типов распределений. Распределение будем обозначать вектором (i, j, k) . Компоненты i и k обозначают наличие (1) или отсутствие (0) максимума в начале (i) и в конце корня (k), j соответствует числу внутренних максимумов ауксина и принимает целые значения от 0 и выше. Мы выявили четыре типа распределений. Распределения $(0, 0, 1)$ имеют только один концевой пик концентрации ауксина и низкую его концентрацию в начале и середине корня. Этот тип распределений реализуется, если в модели (1) длина корня задается достаточно большой ($n > 37$), а концентрация ауксина в клетках – низкой. Второй тип распределения $(1, 0, 1)$ также имеет максимум концентрации ауксина на конце корня, но еще характеризуется дополнительным максимумом в виде ниспадающего градиента от соединения корня со стеблем в сторону его конца. Распределение реализуется из нулевых начальных данных, если длина корня достаточно мала. Если же n достаточно велико ($n \geq 37$ при заданных параметрах), то начальные данные для выхода на распределение $(1, 0, 1)$ также должны качественно соответствовать распределению $(1, 0, 1)$. Третий и четвертый типы распределений составляют $(0, j, 1)$ и $(1, j, 1)$. У них в середине корня имеется несколько пиков (один или больше) концентрации ауксина.

Анализ зависимости позиции максимума концентрации ауксина в кончике корня от длины корня n . В процессе роста положение ПЦ остается на одном и том же месте относительно кончика корня (Jiang, Feldman, 2005). В нашей модели этому положению при заданном наборе параметров соответствует последняя клетка перед максимумом

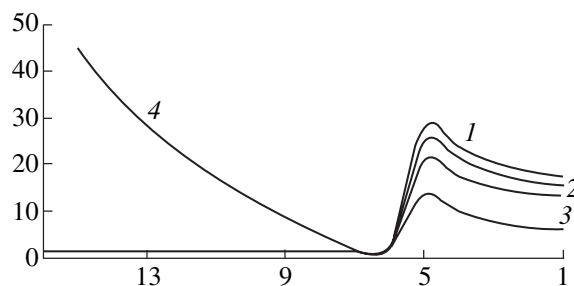


Рис. 4. Стационарное распределение ауксина, полученное с помощью модели и набора заданных параметров в результате расчета задачи Коши с начальными данными: $a_1 = 8, a_2 = 9, a_3 = 10, a_4 = 11, a_5 = 12, a_6 - a_{n-4} = 1, a_{n-3} = 8, a_{n-2} = 15, a_{n-1} = 25, a_n = 35; n = 52$ (1), 37 (2), 27 (3), 15 (4).

мом на кончике корня. Мы провели выборочную проверку зависимости позиции максимума концентрации ауксина в кончике корня от его длины n . На рис. 3 представлены конечные стационарные распределения концентрации ауксина в 15 концевых клетках корня, полученные для $n = 15, 27, 37, 52, 82, 102$. Видно, что положение максимума на кончике корня зависит от длины корня при $n \geq 37$ и устойчиво при $n \leq 27$. Объясняется это тем, что при малых длинах корня формируется распределение $(1, 0, 1)$, которое является более устойчивым к n по данному показателю (см. ниже). Напротив, при большой длине корня из нулевых начальных данных формируется распределение $(0, 0, 1)$. Именно оно и является зависимым от длины корня. Однако мы выявили, что получаемое из нулевой задачи Коши распределение принадлежит к целому семейству распределений $(0, 0, 1)$, среди членов которого есть и такие, в которых максимум содержания ауксина приходится на пятую клетку. Так как концентрации подвержены флуктуациям, то можно предположить, что при росте корня реализуется не единственное, а целое семейство распределений $(0, 0, 1)$, которое в целом более устойчиво к длине корня по сравнению с единичным.

В отличие от стационаров типа $(0, 0, 1)$, $(1, 0, 1)$ распределение в численном эксперименте оказалось устойчивым к изменению длины корня при заданных значениях параметров: независимо от длины корня концевой максимум приходился на пятую клетку (рис. 4). Приняв во внимание полученные данные, можно заключить, что модель воспроизводит феномен динамического равновесия распределения ауксина на кончике растущего корня, который не зависит от типа стационарного распределения, но разные распределения демонстрируют различную чувствительность к позиции концентрационного максимума. Расположение пика наиболее устойчиво в распределениях $(1, 0, 1)$ и $(1, j, 1)$, в то время как в $(0, 0, 1)$ – менее устойчивы. Каждое из охарактеризованных семейств распределений име-

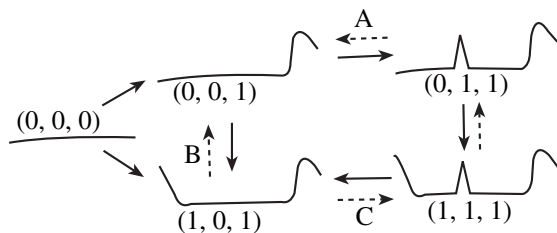


Рис. 5. Последовательная смена типов распределений ауксина в модели. Переходы: (—) – вероятные, (---) – с низкой вероятностью.

ет хотя бы одно решение, наиболее полно соответствующее экспериментальным данным.

Зависимость стационарных распределений от флуктуаций концентраций ауксина в клетках. Был проведен численный анализ устойчивости распределений различных типов от флуктуаций концентраций ауксина в клетках при $n = 52$ и заданных значениях параметров, в основе которого следующий типовой эксперимент. Мы изменяли концентрацию ауксина в стационарном распределении определенного типа в некоторой клетке (или в группе клеток), а затем решали задачу Коши, взяв в качестве начальных данных полученное возмущенное распределение концентрации ауксина. В результате устанавливали новое распределение. В одном расчете фиксировали тип начального распределения; характер флуктуации (номер клетки, в которой происходит флуктуация, и величина флуктуации, выражающаяся в значении установленной концентрации ауксина); тип конечного распределения.

Возмущение распределения (0, 0, 1). Расчеты показывают, что увеличение концентрации ауксина в некоторой выделенной клетке может привести к смене распределения (0, 0, 1) на (1, 0, 1) или (0, 1, 1). Существует переходный порог повышения концентрации ауксина a_i в выделенной клетке, который равен ~ 4 су. При концентрациях ниже пороговой исходное распределение не меняется, а при концентрациях выше пороговой устанавливается новый тип стационарного распределения. Единичная флуктуация с не очень большой величиной изменения концентрации вызывает формирование пика шириной в одну клетку. Повышение величины флуктуации более чем в 10 раз относительно порогового значения приводит к размыванию (расширению и снижению высоты) пика на несколько клеток.

Если флуктуация приходится на ближайшие к стеблю клетки (№ 52 при $a_i > 4$ су и № 51 при $a_i > 45$ су), устанавливается распределение (1, 0, 1), а если на внутренние клетки корня (№ 51–8) – (0, j, 1). Стоит заметить, что позиции максимумов концентрации ауксина в итоговых стационарных распределениях (0, 1, 1) и (1, 0, 1) приходились на те же клетки, в которых происходили начальные

флуктуации. Одновременно с этим наблюдалось изменение концентрации ауксина в максимуме до 11–17 су, независимо от величины начальной флуктуации.

Формирование распределения (0, 0, 1). Переход в распределение (0, 0, 1) из (1, 0, 1) или (0, j, 1) осуществляется при уменьшении концентрации ауксина в точках максимумов ниже порогового (< 4 су). Если учесть, что значения максимумов концентраций ауксина в стационарных распределениях устанавливаются на уровне 11–17 су, то такой переход менее вероятен, нежели обратный, так как требует большей величины флуктуации. *In vivo* такой переход может быть облегчен при перераспределении ауксина в боковые клетки, не рассматриваемые в модели.

Формирование распределения (1, j, 1). Переход из распределения (0, j, 1) в (1, j, 1) осуществляется аналогично переходу из (0, 0, 1) в (1, 0, 1); интересно, что переход из (1, 0, 1) в (1, j, 1) требует гораздо более сильных флуктуаций ($a_i > 25$ су). Поэтому вероятность такого перехода будет меньше таковой (1, 0, 1) в (0, 0, 1). По аналогии переход из (1, j, 1) в (0, 0, 1) предпочтительно осуществляется через (1, 0, 1), так как величина флуктуации для такого перехода будет минимальной. Помимо вышесказанного в численном эксперименте невозможны прямые и обратные переходы из распределения (0, j, 1) в (1, 0, 1) без промежуточных переходов в (0, 0, 1) или (1, j, 1). Сводные данные о вероятностях переходов между разными типами распределений, полученные в численных экспериментах, позволяют построить некоторую схему смены очередности типов распределения ауксина в корне (рис. 5).

Формирование внутренних пиков в распределении (0, j, 1). В связи с предположением о механизме закладки латеральных корней в зонах максимума ауксина проведено исследование влияния флуктуаций на формирование внутренних пиков в распределении (0, j, 1). Мы оценили количество максимумов и характеристики формирующихся распределений при наличии многочисленных флуктуаций ауксина по всей длине корня. Оказалось, что количество внутренних пиков стационарного распределения ограничено и зависит от величин флуктуаций. Если формирование одного пика на всем отрезке клеток № 51–8 равновероятно при небольших флуктуациях, то для формирования последующих пиков необходима большая величина флуктуации, приложенная на определенном расстоянии от первого пика. Иначе если в распределении (0, 1, 1) произвести флуктуацию между началом корня и внутренним максимумом, то исходный максимум исчезнет и вместо него в точке приложения флуктуации появится новый, а если флуктуация будет приложена в клетке между внутренним максимумом и кончиком корня, то это

не приведет к изменению исходного распределения. Максимальное количество пиков, наблюдаемое в численном эксперименте при $n = 52$, равнялось шести при флуктуациях в 14 см и расстояниями между позициями флуктуаций не менее семи клеток. При этом клетки с максимумом ауксина, расположенные ближе к стеблю, имели большую концентрацию ауксина по сравнению с расположенными ближе к кончику корня, что соответствует экспериментальным данным о закладке латеральных корней в базальной части корня. Модель также показывает, что способность к формированию внутренних максимумов ауксина в клетках корня в большей степени определяется общим распределением ауксина, нежели локальной концентрацией ауксина в клетке.

Влияние флуктуаций на распределение ауксина, изученное при других наборах параметров. Варьирование заданных параметров, как правило, приводило к сходным результатам. Основным условием адекватности набора параметров в таких исследованиях являлось требование качественного соответствия решения экспериментальным данным. Однако при изменении параметра p_2 , который определяет степень нелинейности репрессии активного транспорта, была получена качественно другая картина. Исследование модели при $p_2 = 5$ показало ее большую устойчивость к локальному изменению концентрации ауксина в корне. Так, увеличение концентраций ауксина, в десятки раз превышающих стационарные значения в клетках с 11-й по 52-ю, не вызывает каких-либо видимых изменений в стационарном распределении ауксина. Лишь флуктуации величиной более 60 см приводят к незначительному сдвигу концевой максимума влево, который, однако, не удаляется от кончика корня более чем на 12 клеток, какими бы большими не были флуктуации. Таким образом, в модели (1) при $p_2 = 5$ не наблюдаются распределения (1, 0, 1) и (0, j, 1), а распределение (0, 0, 1) является доминирующим.

Зависимость модели от варьирования параметров. Набор параметров, качественно соответствующий экспериментальным данным, не является единственным. Варьирование в достаточно широких пределах также дает решения, качественно соответствующие кривым распределения ауксина в корне *in vivo*. Так как имеющиеся экспериментальные данные не позволяют нам более точно определить значения параметров модели, необходимо было провести анализ влияния параметров на характер распределения ауксина в корне. Это актуально еще и потому, что мы не ограничены в изучении свойств системы в силу консервативности изучаемого процесса у разных видов растений.

Влияние интенсивности потока ауксина из побега в корень (α) на распределение ауксина. Интенсивность потока ауксина из побега в корень в

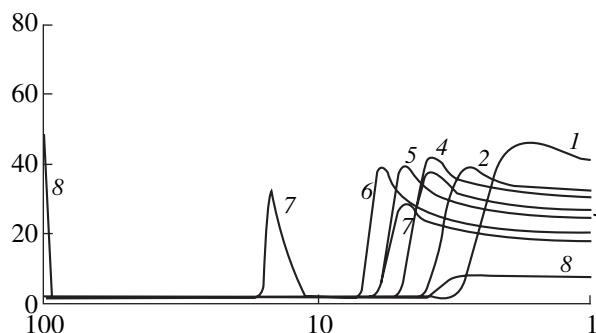


Рис. 6. Стационарные распределения ауксина, реализующиеся в модели при заданных параметрах и различных значениях α . Распределения получены в результате расчета задачи Коши с нулевыми начальными данными (1) и со стационарными распределениями из предыдущих расчетов (2–8). $\alpha = 1$ (1), 1.1 (2), 1.2 (3), 1.3 (4), 1.35 (5), 1.4 (6), 1.5 (7), 1.6 (8).

нашей модели является параметром, значение которого во времени может очень сильно меняться, поэтому его влияние на стационарное распределение ауксина изучено в численных экспериментах с моделью. Расчеты проведены для $\alpha = 1-1.6$ с шагом 0.1, расчет для следующего по порядку возрастания значения параметра α проводили на основе решений задачи Коши, в которых в качестве начальных значений выступало стационарное распределение из предыдущего расчета. Для первого расчета брали нулевые начальные данные. Такая серия стационарных распределений позволяет получить представление о динамике распределения ауксина в корне по мере возрастания интенсивности его потока из побега в корень (рис. 6).

Из расчетов видно, что возрастание скорости потока ауксина от 1 до 1.4 не изменяет тип распределения (0, 0, 1) на другой, однако наблюдается смещение позиции максимума в глубь корня, но не дальше шестой клетки от кончика корня, во время как увеличение интенсивности потока от 1.4 до 1.5 приводит к появлению внутреннего пика на 15-й клетке. При этом концевой пик возвращается в пятую клетку (рис. 6; 6, 7); следующий уровень интенсивности $\alpha = 1.6$ уже формирует распределение (1, 0, 1).

Влияние коэффициентов скорости активного транспорта на распределение ауксина в корне. Активный транспорт ауксина в модели выписан в виде обобщенной функции Хилла, его величина определяется несколькими параметрами. В первую очередь это константа скорости активного транспорта k_0 , которая определяет линейное изменение скорости активного транспорта в модели, и константа порога ингибирования ауксинзависимого транспорта q_2 .

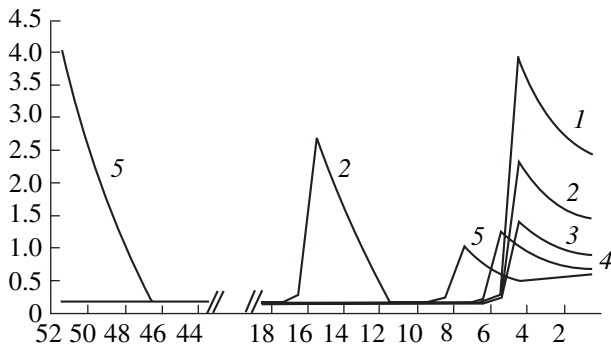


Рис. 7. Изменение распределения ауксина при уменьшении параметра k_0 , равном: 1 – 0.25, 2 – 0.2, 3 – 0.15, 4 – 0.13, 5 – 0.1.

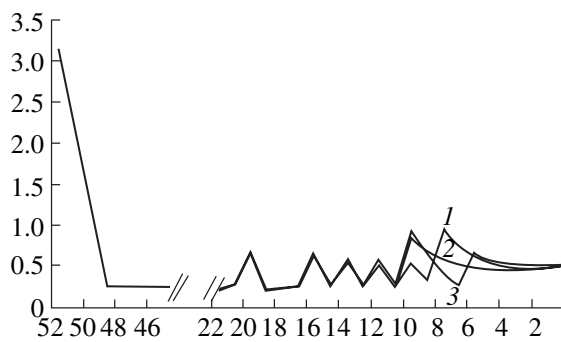


Рис. 8. Неустойчивые колебания концентраций ауксина при $k_0 = 0.08$. Распределения 1–3 получены с разницей в 1000 т.

При указанном наборе параметров, нулевых начальных данных и $n = 52$ уменьшение значения параметра k_0 от 0.25 до 0.10 не изменяет позицию максимума ауксина на кончике корня, но уменьшает его концентрацию. В области значений k_0 от 0.25 до 0.2 наблюдается распределение типа (0, 0, 1). При значении $k_0 = 0.2$ формируется дополнительный внутренний максимум концентрации ауксина, в результате чего вместо распределения (0, 0, 1) образуется (0, 1, 1), которое сохраняется до $k_0 = 0.15$, а затем снова происходит восстановление распределения (0, 0, 1). При $k_0 = 0.10$ формируется распределение (1, 0, 1) (рис. 7), которое, однако, довольно быстро, уже при $k_0 \leq 0.08$, сменяется на качественно новый тип нестационарного распределения в виде незатухающих осцилляций. При этом значительные амплитуды колебаний наблюдаются в достаточно узкой области клеток (3–10-я) на кончике корня, в остальных же клетках колебания концентраций настолько малы, что выглядят как устойчивые распределения, имеющие несколько максимумов в середине корня (10–20-е клетки) (рис. 8).

Несколько иной характер изменений наблюдали при уменьшении параметра k_0 , если в качестве начальных данных использовали распределения

(0, 0, 1) или (1, 0, 1). Такие условия позволяют моделировать эффект распределения ауксина в норме: не наблюдается формирования промежуточного распределения (0, 1, 1), а максимум на конце корня локализуется в одной и той же седьмой клетке.

Интересно, что при $p_2 = 5$ или $k_d = 0.45$ (остальные параметры заданные) наблюдался эффект размывания концевой максимума концентрации ауксина: он сдвигался влево, и относительная величина концентрации уменьшалась. Таким образом при таких параметрах численный эксперимент воспроизводит экспериментальные данные по ингибированию с помощью 1-N-нафтилфталатамной кислоты активного транспорта: уменьшение активного транспорта в два раза приводит к эффекту размывания максимума концентрации ауксина (Sabatini et al., 1999; Wang et al., 2005).

Анализ распределения ауксина при уменьшении значения параметра q_2 показал картину, подобную той, что мы наблюдали при изменении k_0 . Также наблюдалось последовательное формирование распределений (0, 0, 1), (0, 1, 1), (0, 0, 1) и (1, 0, 1) из начальных нулевых данных. Однако на достаточно большом отрезке варьирования параметра ($1.35 < q_2 < 2.75$) наблюдали распределение (1, 0, 1), что говорит о нем как о предпочтительном при низком пороге ингибирования транспорта ауксина. При уменьшении $q_2 < 1.35$ наблюдали незатухающие хаотические колебания концентрации с небольшой амплитудой в клетках № 3–12. Подобие поведения системы от параметров k_0 и q_2 экспериментальным данным становится понятным из формулы (2): в обоих численных экспериментах проводилось уменьшение скорости активного транспорта ауксина, что и обусловило качественно одинаковый результат.

Влияние степени нелинейности механизма активного транспорта на поведение модели. Помимо коэффициентов, определяющих скорость активного транспорта, не менее важными являются также параметры нелинейности механизма активации/репрессии транспорта ауксина из формулы (2) $p_1 = 2$ и $p_2 = 10$. Значение p_1 зафиксировано на основе биологических данных о том, что активация осуществляется путем увеличения эффективности транскрипции. Показано, что транскрипционные факторы семейства ARF, обеспечивающие первичный ответ на ауксин, формируют димеры на консервативном сайте связывания AuxRE, широко представленном в геноме *A. thaliana* (Ulmasov et al., 1999). Регуляция транскрипции белков семейства PIN осуществляется именно через этот регуляторный механизм (Sauer et al., 2006). Для параметра p_2 мы не имеем соответствующих данных – репрессия осуществляется через протеасомозависимую деградацию белков-транспортёров семейства PIN с большим количеством промежуточных стадий и вовлеченных веществ. Очевидно, что выключе-

ние активного транспорта должно быть эффективным при достижении порога ингибирования, поэтому мы задали для p_2 большое значение.

Более подробно исследовали влияние степени нелинейности механизма активного транспорта на распределение ауксина. Численные расчеты показывают, что при уменьшении значения параметра p_1 от 2 до 1 происходит самовозбуждение колебаний концентраций ауксина в клетках, которое при $p_1 = 1$ (соответствует мономерным транскрипционным факторам) сохраняется даже при очень высоких значениях параметра p_2 (>50) и заданных значениях других параметров. Распределения ауксина адекватны экспериментальным при $p_1 = 2$ и 3. Увеличение степени нелинейности до $p_1 = 4$ приводит к стационарному распределению ауксина с максимумом в третьей, а при $p_1 \geq 5$ – в последней клетке. Одновременное увеличение p_2 мало сказывается на виде распределения при заданном наборе параметров. Качественно адекватное распределение ауксина при измененном значении параметра p_1 в модели удается получить, если одновременно изменить параметр q_{11} . Например, хорошее соответствие экспериментальным данным получено при ($p_1 = 1, q_{11} = 0.1$), ($p_1 = 5, q_{11} = 1.5$) и остальных заданных значениях параметров. Мы рассмотрели также влияние значения параметра p_2 на поведение нашей модели.

Очевидно, что увеличение значения этого параметра ведет к усилению автоингибирования активного транспорта при достижении порогового значения концентрации ауксина. Расчеты (неопубл. данные) показывают, что поведение модели слабо изменяется при последовательных значениях $p_2 = 10, 20, 50$. Таким образом, нелинейность действительно является фактором формирования адекватного поведения модели (формула 1). Выяснение нижней границы значения параметра p_2 , при котором еще возможно соответствие модели (формула 1) экспериментальным данным, представляет реальный интерес. Уменьшение степени нелинейности связано в том числе с требованием дальнейшей биологической интерпретации процессов, лежащих в основе механизма автоингибирования и описанных в настоящей модели обобщенной функцией Хилла.

ОБСУЖДЕНИЕ

Рассмотренная простейшая модель показывает, что однонаправленный активный транспорт ауксина, а также наличие терминальной клетки достаточны для формирования экспериментально наблюдаемого распределения ауксина в корне. Выделим основные критические моменты в модели, которые ответственны за формирование необходимого профиля распределения концентрации ауксина:

1) автоактивация транспорта ауксина малыми дозами из текущей клетки по направлению к кончику корня;

2) автоингибирование собственного активного транспорта высокими дозами ауксина;

3) наличие акропетального потока ауксина из побега в корень;

4) наличие граничного условия – последней клетки корня, из которой ауксин может перемещаться только в предыдущую клетку и только за счет диффузии.

В результате взаимодействия данных факторов при определенных соотношениях параметров, задающих скорости процессов протекания пассивного и активного транспорта, а также скорости деградации и интенсивности потока ауксина из побега в корень, формируется необходимое распределение ауксина вдоль центральной оси корня. Для получения качественного совпадения расчетов модели экспериментальным данным (рис. 1) привлекать другие механизмы нет необходимости, не требуется учитывать и специализацию клеток.

Из модели следует, что активная однонаправленная транспортная система имеет достаточно узкий коридор активности, который приходится на низкие концентрации ауксина. Такая транспортная система реализуется в сосудистой ткани корня, в которой осуществляется активная перекачка ауксина из побега в клетки кончика корня (акропетальный транспорт). В результате в клетках кончика корня ауксин накапливается, его концентрация повышается, поэтому здесь система однонаправленного активного транспорта отключается и происходит пассивный отток ауксина из клеток в обратном направлении (из кончика корня в сторону его основания). Итоговое положение максимума ауксина в модели определяется балансом встречных потоков между зонами активного и пассивного транспорта. Следует напомнить, что в нашей модели рассматривается только PIN1-регулируемый транспорт ауксина, который вносит главный вклад в акропетальный перенос ауксина из побега в корень у раннего проростка (Friml et al., 2003; Ljung et al., 2005). PIN1 экспрессируется в сосудистой ткани корня, иногда наблюдается также его слабая экспрессия в ПЦ (Blilou et al., 2005; Geisler, Murphy, 2006). Домен экспрессии PIN1 в корне и асимметричная локализация этого белка в клетке полностью соответствуют постановке задачи и расчетам модели.

Разработанная модель воспроизводит некоторые важные особенности ауксинзависимого развития корня. Максимум концентрации ауксина в кончике корня в модели может формироваться из любого начального распределения, а значит, имитирует опыты по регенерации меристемы, а вместе с ней и по восстановлению максимума концентрации ауксина после обрезания корня (Xu et al., 2006). После

механического повреждения корневой меристемы ауксин продолжает поступать в дистальные клетки корня, где происходит естественное увеличение его концентрации до тех пор, пока не начнется ингибирование активного транспорта, экспериментально подтвержденное отсутствием экспрессии PIN1 в кончике корня (Xu et al., 2006). Результатом этих процессов является распределение ауксина, максимум концентрации которого фиксируется в слое, отстоящем на несколько клеток от кончика корня. Именно этот механизм может быть основой для регенерации ПЦ и его позиционирования в корневой меристеме.

Нашей модели присуще также экспериментально наблюдаемое свойство размывания области высоких концентраций ауксина в случае подавления скорости активного транспорта. Этот эффект наблюдался в экспериментах по обработке корня *A. thaliana* 1-N-нафтилфталамовой кислотой, ингибитором полярного активного транспорта ауксина (Sabatini et al., 1999; Wang et al., 2005). В модели это свойство реализуется при определенных наборах параметров, например если степень нелинейности подавления активного транспорта невысока ($p_2 = 5$) или значение скорости диффузии достаточно высоко.

По результатам анализа модели можно также предложить несколько механизмов формирования латеральных корней. Эти механизмы базируются на наблюдаемых в расчетах модели дополнительных максимумах концентрации ауксина вдоль корня. Перераспределяясь, ауксин может поступать и накапливаться в клетках перицикла, где экспериментально показана закладка латеральных корней (Casimiro et al., 2003). Подтверждением того, что ауксин из сосудистой ткани влияет на формирование латеральных корней, могут служить эксперименты (De Smet et al., 2007), в которых фиксировалось локальное увеличение концентрации ауксина в клетках протофлоэмы в местах будущей закладки примордиев латеральных корней. В модели такой эффект наблюдался в следующих экспериментах.

1. Флуктуации начальных концентраций ауксина в клетках. Этот механизм вероятен в случае, когда надземная часть растения развивается активнее корневой системы. При этом концентрация ауксина в некоторых клетках корня, близких к надземной части растения, может превышать пороговое значение. Активный транспорт в них отключается и, в то время как корень продолжает расти, в этих клетках поддерживается максимум концентрации ауксина. Перераспределяясь, ауксин из этих клеток может попасть в клетки перицикла и привести к закладке латерального корня.

2. Незатухающие колебания концентраций ауксина в клетках корня в текущие моменты времени. При определенных наборах значений параметров, например при низком коэффициенте активного

транспорта, в модели наблюдаются такие незатухающие колебания. Можно предположить, что этот механизм лежит в основе формирования латеральных корней у некоторых видов растений. В этом случае в результате нестационарных процессов перераспределения ауксина закладка латеральных корней происходит интенсивно и нерегулярно.

Анализ модели позволяет предположить, что разные типы распределений концентрации ауксина в клетках могут реализоваться по-разному и на разных этапах роста корня. При этом можно предположить, что локальные максимумы концентраций ауксина с различной локализацией ответственны за разные события: в начале корня – за процессы его утолщения, а также, возможно, за инициацию роста латеральных корней в основании корня; в конце корня – за нормальное функционирование меристемы корня. Внутренние максимумы могут быть ответственны за возникновение примордиев латеральных корней.

Можно предложить один из возможных вариантов роста корня. Пусть корень имеет небольшую длину, тогда в нем формируется распределение (1, 0, 1). Оно контролирует два процесса: удлинение корня и его утолщение. Утолщение будет происходить в начальной части корня, где высокая концентрация ауксина, и приведет к снижению интенсивности потока (по аналогии с уменьшением скорости течения реки в широкой части). В результате максимум переместится на границу стыковки широкой и тонкой частей корня, где продолжают процессы его утолщения. В результате последовательного передвижения пика концентрации ауксина вдоль корня произойдет его утолщение по всей длине, в итоге интенсивность потока упадет, и распределение (1, 0, 1) перейдет в (0, 0, 1). На этой стадии доминирующим будет являться процесс удлинения корня. Параллельно в результате локальных флуктуаций концентраций ауксина в клетках из распределений (0, 0, 1) могут спонтанно формироваться (0, j, 1), которые будут приводить к росту латеральных корешков. Однако по мере роста растения интенсивность потока в корень, пребывающего на стадии преимущественного удлинения, а не утолщения, будет нарастать. Это приведет к тому, что на определенном этапе наступит закономерная фаза инициации новых латеральных корней. А если интенсивность потока ауксина будет нарастать и далее, то наступит фаза преимущественного утолщения корня. Повторяясь циклически, описанные стадии приведут к такой динамике роста корня и преобладанию таких процессов, которые будут наиболее адекватно отвечать потребностям организма на каждом этапе развития растения.

Предложенная нами модель построена по принципу максимального упрощения, что позволило выдвинуть наиболее общий механизм, воспроизво-

дящий экспериментально наблюдаемое распределение ауксина. Мы не исключаем, что некоторые свойства модели могут быть следствием ее простоты, однако надеемся, что будущие эксперименты позволят выявить, какие наблюдаемые в модели альтернативные точки покоя и осцилляции имеют биологический смысл.

На данный момент мы не имеем достаточных количественных данных, по которым можно было бы отдать предпочтение тем или иным значениям параметров модели, что помогло бы сузить комбинаторное разнообразие возможных решений. Поэтому мы проанализировали основные свойства модели и типы распределений ауксина при разных наборах значений параметров. При каких наборах параметров модель лучше отражает действительность, предстоит еще узнать. Возможно, разные наборы значений параметров будут соответствовать разным видам растений, так как рассматриваемые процессы являются консервативными для всего царства растений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Фадеев С. И., Покровская С. А., Березин А. Ю. и др. Пакет программ STEP для численного исследования систем нелинейных уравнений и автономных систем общего вида. Новосибирск: Изд-во НГУ, 1998. 188 с.
- Benfey P.N., Scheres B. Root development // *Curr. Biol.* 2000. V. 10. № 22. P. 813–815.
- Bianco C., Imperlini E., Calogero R. et al. Indole-3-acetic acid regulates the central metabolic pathways in *Escherichia coli* // *Microbiology*. 2006. V. 152. № 8. P. 2421–2431.
- Blilou 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.
- Casimiro I., Beeckman T., Graham N. et al. Dissecting *Arabidopsis* lateral root development // *Trends Plant Sci.* 2003. V. 8. № 4. P. 165–171.
- Cooke T.J., Poli D., Sztein A.E. et al. Evolutionary patterns in auxin action // *Plant Mol. Biol.* 2002. V. 49. P. 319–338.
- Costacurta A., Vanderleyden J. Synthesis of phytohormones by plant-associated bacteria // *Crit. Rev. Microbiol.* 1995. V. 21. № 1. P. 1–18.
- De Smet I., Tetsumura T., De Rybel B. et al. Auxin-dependent regulation of lateral root positioning in the basal meristem of *Arabidopsis* // *Development*. 2007. V. 134. № 4. P. 681–690.
- Dharmasiri N., Estelle M. Auxin signaling and regulated protein degradation // *Trends Plant Sci.* 2004. V. 9. № 6. P. 302–308.
- Dolan L., Janmaat K., Willemsen V. et al. Cellular organisation of the *Arabidopsis thaliana* root // *Development*. 1993. V. 119. № 1. P. 71–84.
- Friml J., Vieten A., Sauer M. et al. Efflux-dependent auxin gradients establish the apical–basal axis of *Arabidopsis* // *Nature*. 2003. V. 426. P. 147–153.
- Gear C.W. The automatic integration of ordinary differential equations // *Comm. Ass. Comput. Mach.* 1971. V. 14. № 1. P. 176–190.
- Geisler M., Murphy A.S. The ABC of auxin transport: the role of p-glycoproteins in plant development // *FEBS Lett.* 2006. V. 580. № 4. P. 1094–1102.
- Geldner N., Friml J., Stierhof Y.-D. et al. Auxin transport inhibitors block PIN1 cycling and vesicle trafficking // *Nature*. 2001. V. 413. P. 425–428.
- Jiang K., Feldman J.L. Regulation of root apical meristem development // *Annu. Rev. Cell Devel. Biol.* 2005. V. 21. P. 485–509.
- Kramer E.M., Bennett M.J. Auxin transport: a field in flux // *Trends Plant Sci.* 2006. V. 11. № 8. P. 382–386.
- Ljung K., Hull A.K., Celenza J. et al. Sites and regulation of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* roots // *Plant Cell*. 2005. V. 17. № 4. P. 1090–1104.
- Paciorek T., Zazimalova E., Ruthardt N. et al. Auxin inhibits endocytosis and promotes its own efflux from cells // *Nature*. 2005. V. 435. P. 1251–1256.
- Petrasek J., Mravec J., Bouchard R. et al. PIN proteins perform a rate-limiting function in cellular auxin efflux // *Science*. 2006. V. 312. № 5775. P. 914–918.
- Prusty R., Grisafi P., Fink G.R. The plant hormone indoleacetic acid induces invasive growth in *Saccharomyces cerevisiae* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004. V. 101. № 12. P. 4153–4157.
- 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. № 5. P. 463–472.
- Sauer M., Balla J., Luschnig C. et al. Canalization of auxin flow by Aux/IAA-ARF-dependent feedback regulation of PIN polarity // *Genes Devel.* 2006. V. 20. № 20. P. 2902–2911.
- Sieberer T., Seifert G.J., Hauser M.T. et al. Post-transcriptional control of the *Arabidopsis* auxin efflux carrier EIR1 requires AXR1 // *Curr. Biol.* 2000. V. 10. № 24. P. 1595–1598.
- Swarup R., Friml J., Marchant A. et al. Localization of the auxin permease AUX1 suggests two functionally distinct hormone transport pathways operate in the *Arabidopsis* root apex // *Genes Devel.* 2001. V. 15. № 20. P. 2648–2653.
- Ulmasov T., Hagen G., Guilfoyle T.J. Dimerization and DNA binding of auxin response factors // *Plant J.* 1999. V. 19. № 3. P. 309–319.
- Vieten A., Vanneste S., Wisniewska J. et al. Functional redundancy of PIN proteins is accompanied by auxin-independent cross-regulation of PIN expression // *Development*. 2005. V. 132. № 20. P. 4521–4531.
- Wang J.W., Wang L.J., Mao Y.B. et al. Control of root cap formation by MicroRNA-targeted auxin response factors in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. 2005. V. 17. № 8. P. 2204–2216.
- Woodward A.W., Bartel B. Auxin: regulation, action, and interaction // *Ann. Bot.* 2005. V. 95. № 5. P. 707–735.
- Xu J., Hofhuis H., Heidstra R. et al. A molecular framework for plant regeneration // *Science*. 2006. V. 311. № 5759. P. 385–388.

Mathematical Model of Auxin Distribution in the Plant Root

© 2007 г. V. A. Likhoshvai*, **, N. A. Omel'yanchuk*, V. V. Mironova*, S. I. Fadeev***, ***,
E. D. Melsness****, and N. A. Kolchanov*, **

* *Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,
prosp. Lavrent'eva 10, Novosibirsk, 630090 Russia*

** *Novosibirsk State University, ul. Pirogova 2, Novosibirsk, 630090 Russia*

*** *Institute of Mathematics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,
ul. Koptyuga 4, Novosibirsk, 630090 Russia*

**** *Institute of Genomics and Bioinformatics, University of California, Irvine, CA 92607 USA*

E-mail: likho@bionet.nsc.ru

Received May 29, 2007

Abstract—Regulation of plant growth and development by auxin is mediated by the hormone controlled distribution and dose-dependent mechanisms of its action. A mathematical model is proposed, which described the distribution of auxin in the cells extending along the central axis of the *Arabidopsis thaliana* root. This model reproduces qualitatively both auxin distribution in cells of the root central axis under the normal conditions and under the conditions of decreased active transport and the recovery of auxin distribution and related meristem restoration during root regeneration after ablation of its tip. Different types of distribution of the auxin concentration over the vertical root axis are described, possible variants of root growth and lateral roots formation are proposed, and biological interpretation is given to different regimes of model behavior.

Key words: *Arabidopsis thaliana*, development of root plant, auxin transport, mathematical model.