

УДК 581.392

ГЕОМЕТРИЯ И МЕХАНИКА МОРФОГЕНЕЗА АКТИВНЫХ ОБОЛОЧЕК НА ПРИМЕРЕ ВОЛОСКОВЫХ КЛЕТОК РАСТЕНИЙ РОДА *Draba* L.¹

© 2010 г. В. Г. Черданцев, О. В. Григорьева

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

119899 Москва, ГСП-2, Ленинские горы

E-mail: arnosnew@mail.ru

Поступила в редакцию 24.12.09 г.

Окончательный вариант получен 11.01.10 г.

По данным сканирующей электронной микроскопии изучены этапы раннего морфогенеза простых (неветвящихся) и сложных (ветвящихся) одноклеточных волосков у двух видов рода *Draba* — *D. sibirica* (Pall.) Thell. и *D. daurica* DC. Геометрию формообразования оценивали, анализируя внутрииндивидуальную изменчивость количественно-морфологических характеристик формирующихся волосков листовой пластинки и цветоноса. У всех типов волосков изученных видов поверхность волосковой клетки сначала принимает сферическую, а далее — U-образную форму с цилиндрической проксимальной и сферической дистальной зонами. При образовании сложных волосков рост площади дистальной зоны ускоряется, что ведет к расчленению ее объема на отдельные сферические участки, морфогенез которых повторяет начальные этапы морфогенеза всей волосковой клетки, образуя простые (неветвящиеся) или сложные (ветвящиеся) лучи волоска. Латеральная полярность волосковой клетки совпадает, как правило, с проксимодистальной полярностью листа.

Количественно-морфологические данные позволяют вывести единый для всех волосковых клеток алгоритм изменения формы — ростовой цикл с чередованием фаз увеличения и уменьшения кривизны наружной клеточной поверхности, которая является активной оболочкой, растягиваемой внутренним давлением, но при этом способной к активному увеличению своей площади за счет встраивания новых структурных элементов. Отличительной чертой предложенной модели является геометрическая неоднородность движения поверхности, ведущая к искривлению радиусов ее кривизны и возникновению в ней внутренних (активных) механических напряжений. При уменьшении отношения площади поверхности оболочки к ее объему пространственно однородная форма утрачивает устойчивость: энергетически более выгодным становится переход от упругого сопротивления внутреннему давлению к активному сопротивлению с помощью дифференцировки кривизны. В основе роста и морфогенеза активной оболочки лежит чередование фаз выравнивания локальной кривизны, “заряжающего” оболочку активными механическими напряжениями, и “разрядки” этих напряжений, что ведет к дифференцировке локальной кривизны оболочки.

Ключевые слова: морфогенез, количественная морфология, геометрия движения, ростовой цикл, одноклеточные волоски (трихомы), ветвление, род *Draba* L.

Изучению общих закономерностей морфогенеза больше всего мешает то, что его параметры насильственно стабилизированы на генетическом уровне из-за длительной эволюции в составе конкретных филогенетических линий. Видя, что воспроизводятся какие-то определенные формы, мы не можем сказать, является ли это закономерностью самого морфогенеза или же следствием генетической фиксации параметров и начальных условий развития — того, что условно называется его генетической программой.

Именно поэтому так важно изучение морфогенеза изменчивых структур, эволюция которых не привела к фиксации его параметров и не уничтожила

изменчивость. К таким структурам относятся одноклеточные волоски (трихомы) растений, развивающиеся из эпидермальных клеток листовой пластинки и других органов. Их морфогенез крайне прост и ограничивается образованием выростов поверхности клетки (лучей, или ветвей волоска), возникающих по мере увеличения ее объема. В то же время на уровне одной клетки в нем есть все, что свойственно вообще морфогенезу — образование модульной структуры с полярной и билатеральной организацией, зависящей как от геометрии самой клетки, так и от ее положения относительно главных осей симметрии органов растения (Uphof, 1962; Folkers et al., 1997; Hülskamp et al., 1998; Schwab et al., 2000). Вопрос о характере этой зависимости — зависит ли форма от положения клетки или же, наоборот, свое

¹ Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проект № 04-08-00057).

положение клетка ощущает только благодаря своей форме — один из наиболее острых в эмбриологии, и морфогенез волосковых клеток дает еще одну модель для его исследования.

Необходимым условием детерминации волосковой клетки является выход эпидермальной клетки из нормального пролиферативного цикла в момент перехода к очередному пролиферативному митозу. Начавший было формироваться митотический аппарат разрушается, и ядро переходит к эндомитозу, проходя как минимум четыре цикла эндоредупликации ДНК (Hülkamp et al., 1998).

Наиболее важный результат, полученный для *Arabidopsis*, состоит в том, что волосок может развиваться из любой эпидермальной клетки, выбор которой, по-видимому, случаен (Larkin et al., 1996). Продукт гена, от которого зависит детерминация, является транскрипционным фактором, способным, в частности, усилить транскрипцию самого этого гена (Larkin et al., 1996). В результате случайные положительные флуктуации его концентрации способны к автокаталитическому росту, и мы получаем аналог “локального активатора” в созданной Тьюрингом (Turing, 1952) базовой модели самоорганизации на основе реакционно-диффузионных взаимодействий. Теоретически “локальный активатор” должен стимулировать образование “дистантного ингибитора”, препятствующего образованию волосков из соседних клеток, но он пока не найден.

Реакционно-диффузионная модель не решает вопроса о морфологии волоска, однако тот факт, что у волосковых клеток нет детерминированных предшественников — клеток, которые бы с самого начала отличались от обычных эпидермальных клеток, очень важен для понимания их морфогенеза. Из него, а также из прямых наблюдений за перемещением меченых участков поверхности волосковых клеток *Arabidopsis* следует, что при образовании лучей волоска площадь клеточной поверхности увеличивается не в отдельных точках роста, а на всем ее протяжении, как это происходит в ходе обычного пролиферативного цикла эпидермальной клетки (Schwab et al., 2000). В морфогенетическом смысле волосковая клетка отличается от нее только размером и скоростью активного роста площади клеточной поверхности. Ее морфогенез — типичный пример морфогенеза “активной оболочки” — замкнутой или ограниченной по краям поверхности, обладающей стандартным набором свойств упругой оболочки, которая пассивно растягивается под действием сил внутреннего (тургорного) давления и в то же время способна к активному растяжению за счет образования и встраивания в нее новых структурных элементов — мицелл целлюлозы (Мартынов, 1982; Goodwin, 1994).

В отличие от факторов детерминации морфогенез волосковых клеток очень мало изучен даже у *Arabidopsis*. У этого модельного вида, несмотря на многолетние и в определенном смысле тщательные

исследования эффекта разнообразных мутаций (Oppenheimer, 1998; Luo, Oppenheimer, 1999), до сих пор не только не известна последовательность этапов раннего морфогенеза, но и неясно, существует ли вообще какая-либо закономерная последовательность изменений формы. В нашей работе мы попытаемся восполнить этот пробел и, основываясь на анализе геометрии морфогенеза, понять его механику. Основным инструментом будет анализ изменчивости морфогенеза на всех уровнях: от внутрииндивидуальных до межвидовых различий, именно поэтому в качестве объекта исследования мы выбрали не *Arabidopsis*, а волоски растений рода *Draba* (крупки).

Ранее было показано (Григорьева, 2006), что у крупок, даже в пределах листовой пластинки одного и того же растения, морфологическая изменчивость волосков так велика, что типичной для данного вида морфологии волоска может просто не существовать — типичными являются только направления ее нормальной изменчивости. Для эмбриолога это очень удобно, так как эти направления обычно совпадают с основными путями формообразования — при случайных флуктуациях форма предпочитает изменяться в тех же направлениях, в которых она изменяется в ходе своего нормального развития. Поэтому если при анализе изменчивости обнаруживаются геометрические архетипы, которые постоянно воспроизводятся во всем диапазоне изменчивости конкретных морфологических характеристик, то это означает, что сама геометрия содержит в себе всю необходимую информацию о возможных путях своего изменения (Черданцев, 2003).

Мы попытаемся с помощью количественного анализа геометрии морфогенеза волосковых клеток не только описать конкретный морфогенез, но и вывести некоторые общие закономерности морфогенеза активных оболочек, не зависящие от вариаций его начальных условий и параметров. Основания к этому дает принципиальное сходство внутрииндивидуальной изменчивости морфогенеза волосков с таксономическими различиями.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Морфогенез волосковых клеток изучен с помощью СЭМ у двух видов крупок — *D. sibirica* (Pall.) Thell. и *D. daurica* DC. Основное внимание было уделено волосковым клеткам молодых листовых пластинок и цветоносам. Молодые, еще не развернувшиеся листья фиксировали смесью 4%-ного глутаральдегида и 2%-ного раствора осмиевой кислоты (1 : 1) в течение 18–20 ч в холодильнике, после чего переносили в 4%-ный раствор глутаральдегида на однократном буфере PBS (“ICN”, США). Такой метод фиксации был предложен нам Н.Н. Лучинской (личн. сообщение). Фиксированный материал отмывали однократным буфером PBS и проводили через серию спиртов возрастающей концентрации и

ацетон. Сушку материала проводили с помощью метода “критической точки” после 100%-ной проводки ацетоном. Высушенный материал наклеивали на столики для электронной микроскопии, напыляли золотом и анализировали с помощью СЭМ (“Hitachi”, Япония; “CamScan”, Великобритания).

Метод количественно-морфологического анализа геометрии морфогенеза

Анализ геометрии морфогенеза проводили с помощью пакета программ AUXIOVISION. При этом мы анализировали только клетки, обращенные к наблюдателю либо своей боковой стороной, когда видимый контур клетки точно соответствует профилю ее продольного сечения, либо верхней (дистальной) стороной, когда видимый контур клетки соответствует ее окружности. Для обоих типов обычно получались сходные соотношения измеряемых геометрических характеристик, что позволяет считать площадь, ограниченную данным контуром, адекватной характеристикой объема, ограниченного данной площадью.

Морфогенез всех типов волосковых клеток у обоих изученных видов крупок проходит стадию, на которой форма поверхности очень близка к форме фрагмента сферы. Однако сферическая форма всегда оказывается неустойчивой: как только поверхность достигает наибольшего приближения к фрагменту сферы, она начинает дифференцироваться на зоны с различной геометрией. Из этого следует, что даже небольшие, пусть и случайные, отклонения от сферической формы могут иметь существенное и, возможно, решающее значение для направления дальнейшего морфогенеза. Для анализа таких отклонений мы использовали следующие геометрические параметры, изображенные на рис. 1.

Прежде всего мы измеряли площадь волосковой клетки S_r как площадь области, ограниченной видимым контуром ее наружной поверхности (рис. 1, а). После этого с помощью соответствующей опции пакета AUXIOVISION строили окружность радиуса R , максимально совпадающую с контуром наружной поверхности клетки, и измеряли площадь сегмента этой окружности S_c (рис. 1, а), основание которого совпадает с основанием контура наружной поверхности. При полном совпадении обоих контуров $S_r = S_c$, в противном же случае площадь, ограниченная наружным контуром, больше или меньше площади сегмента окружности.

Для оценки направления отклонений от сферической формы мы использовали пять параметров (рис. 1, б): величину радиуса реального контура поверхности в его центре (R_m) и в одной из краевых точек (R_l), максимальную высоту (кривизну) реального контура (H), максимальную величину расстояния между противоположными краями клетки (D_{\max}) и, наконец, угловую величину этого расстояния (A). В случае различия величин R_l и A у противоположных

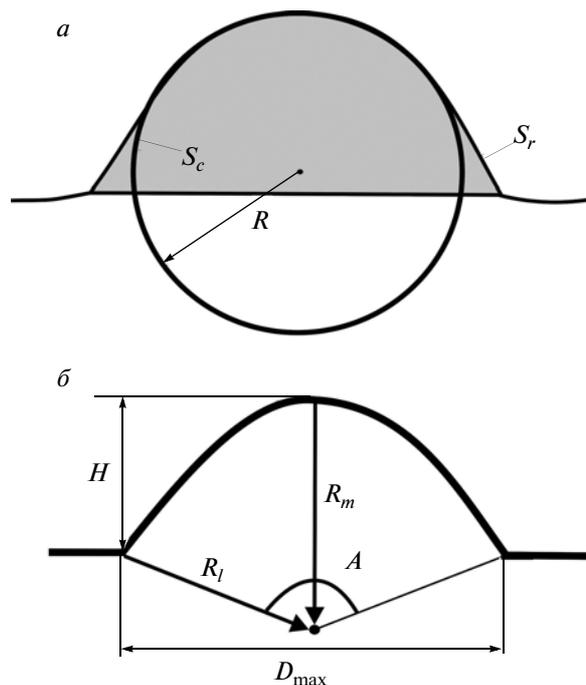


Рис. 1. Схема измерения волосковых клеток: а – площадь, б – линейных характеристик. S_c – площадь, R – радиус окружности, максимально приближенной к видимому контуру клеточной поверхности, S_r – реальная площадь этого контура, H – высота, D_{\max} – максимальный латеральный диаметр, R_l , R_m – латеральный и медианный радиусы, A – угловая ширина наружной клеточной поверхности.

краев клетки мы выбирали край, находящийся на более ранней стадии морфогенеза, т.е. край с более высокой величиной R_l (меньшей кривизной). Измерения целых клеток мы проводили до начала зональной дифференцировки клеточной поверхности, так как на более поздних этапах морфогенеза сравнение реального контура с контуром сферы утрачивает смысл. Точно так же мы поступали с отдельными первичными зачатками, измеряя их геометрические характеристики только в начале морфогенеза.

Все линейные величины выражены в мкм, величина угла A – в угловых градусах, величины S_c и S_r – в мкм². Для линейных и угловых измерений погрешность принимали равной 0.01 мкм, а для измерений площади – 0.1 мкм². Для обработки количественно-морфологических данных использовали пакет статистических программ STATISTICA 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Морфология волосков

Сложные (ветвящиеся) одноклеточные волоски состоят из цилиндрической проксимальной части (ножки) и дистальной части, образующей лучи (ветви) волоска.

Сложные волоски *D. sibirica* имеют укороченную ножку, а лучи, вырастающие из клеточной поверхности, практически никогда не ветвятся. Из нее всегда вырастают два главных луча, находящихся на расстоянии 180° друг от друга, и часто к ним добавляются еще два луча поменьше, образующиеся посередине между главными лучами. Билатеральность морфологии волоска проявляется в различии размера лучей, а полярность ветвления — в том, что один из основной пары лучей всегда немного крупнее другого и обращен к дистальному краю листа (рис. 2, а).

У *D. daurica* сложные волоски обычно четырехлучевые и имеют более длинную ножку, однако основной их особенностью является ветвление лучей волоска (рис. 2, б). Несмотря на четырехлучевую симметрию, волоски тоже имеют как полярную, так и билатеральную организацию, так как один из них, также обращенный к дистальному краю листовой пластинки, почти всегда крупнее других лучей и чаще ветвится.

В ходе морфогенеза листовой пластинки ее проксимальная зона оформляется в последнюю очередь, т.е. в каждый данный момент времени это — самая молодая зона формирующегося листа. То же самое относится и к развитию волосков — чем ближе они находятся к дистальному краю листовой пластинки, тем дальше продвинулся их морфогенез (рис. 2), благодаря чему на одной листовой пластинке можно наблюдать всю последовательность этапов морфогенеза волосков.

Помимо сложных волосков у всех без исключения видов на поверхности листовой пластинки и стебля встречаются простые (рис. 2, в) и вильчатые (рис. 2, г) волоски. Простые (неветвящиеся) волоски являются морфологическими аналогами простых, а вильчатые (раздвоенные) — аналогами вильчатых лучей сложного волоска и отличаются от них только размером. Таким образом, один и тот же элемент может быть представлен как в единственном экземпляре, так и в виде модулей одной и той же структуры. В первом случае различия между наличием и отсутствием ветвления входят в состав внутрииндивидуальной изменчивости, во втором — в состав индивидуальной изменчивости и таксономических различий. Непрерывность перехода между внутрииндивидуальной и индивидуальной изменчивостью очевидна, хотя вопрос о его направлении пока что открыт.

Геометрия формообразования

Простые и вильчатые волоски. Анализ морфогенеза волосковых клеток естественно начать с самого простого случая — образования простых и вильчатых волосков. Такие волоски развиваются из эпидермальных клеток листовой пластинки, цветоноса, цветоножек и чашелистиков (Григорьева, 2006). На некоторых препаратах молодых цветоносов *D. sibirica*

есть только простые и вильчатые волоски (рис. 3, а), что дает возможность проследить последовательные этапы морфогенеза волосковой клетки, зная его результат.

На начальных этапах морфогенеза волосковые клетки легко отличить от обычных эпидермальных клеток, готовящихся к очередному митотическому делению, по легкому вздутию и уменьшению электронной плотности наружной поверхности, что прямо говорит о встраивании в нее новых мицелл целлюлозы (рис. 3, б). Наружная поверхность волосковой клетки продолжает раздуваться и принимает сначала сферическую форму (рис. 3, в), а затем начинает вытягиваться в трубку с цилиндрической проксимальной и сферической дистальной поверхностями (рис. 3, г; H_3). Внутрииндивидуальная изменчивость делает особенно явственным повторение в морфогенезе одних и тех же геометрических архетипов, которые мы рассмотрим на примере развития простых волосков у *D. sibirica*.

Формирование сферического фрагмента и возникновение U-образной трубки у D. sibirica. В начальной фазе морфогенеза наружная поверхность волосковой клетки увеличивает свою площадь и принимает форму, близкую к форме фрагмента сферы (рис. 4, а, б), но тут же превращается в U-образную трубку (рис. 4, в). Так, следуя более или менее общепринятой терминологии (Белоусов, 1987), мы будем называть участок цилиндрической поверхности клетки (проксимальная зона), сопряженный с ее сферическим участком (дистальная зона). Правильный цилиндр образуется редко, но по сравнению с меридианами сферической поверхности его образующие можно считать прямыми линиями. В этой фазе морфогенеза еще нельзя сказать, получится из клетки простой или же вильчатый волосок.

До образования U-образной трубки отличия от сферической формы на глаз далеко не очевидны и геометрию формообразования можно воссоздать только путем статистического анализа основных геометрических характеристик (рис. 1). Переход от сферической к U-образной форме удобнее всего характеризовать величиной угла A — чем ближе его величина к 180° , тем ближе меридианы проксимальной зоны сферы к образующим цилиндрической поверхности (ср. рис. 4, а и б). Исходя из этого, клетки, видимый контур которых хорошо соответствовал контуру их сагиттального сечения, мы разделили на две группы — с величиной угла $\geq 140^\circ$ и $< 140^\circ$ (таблица). Группы соответствуют двум последовательным стадиям морфогенеза клеточной поверхности. Из-за очень большой изменчивости более дробное разделение потребовало бы многократного увеличения объема выборки. Для более наглядного представления количественных данных на рис. 4, а, б точно соблюдены геометрические пропорции, вытекающие из средних значений геометрических характеристик, представленных в таблице.

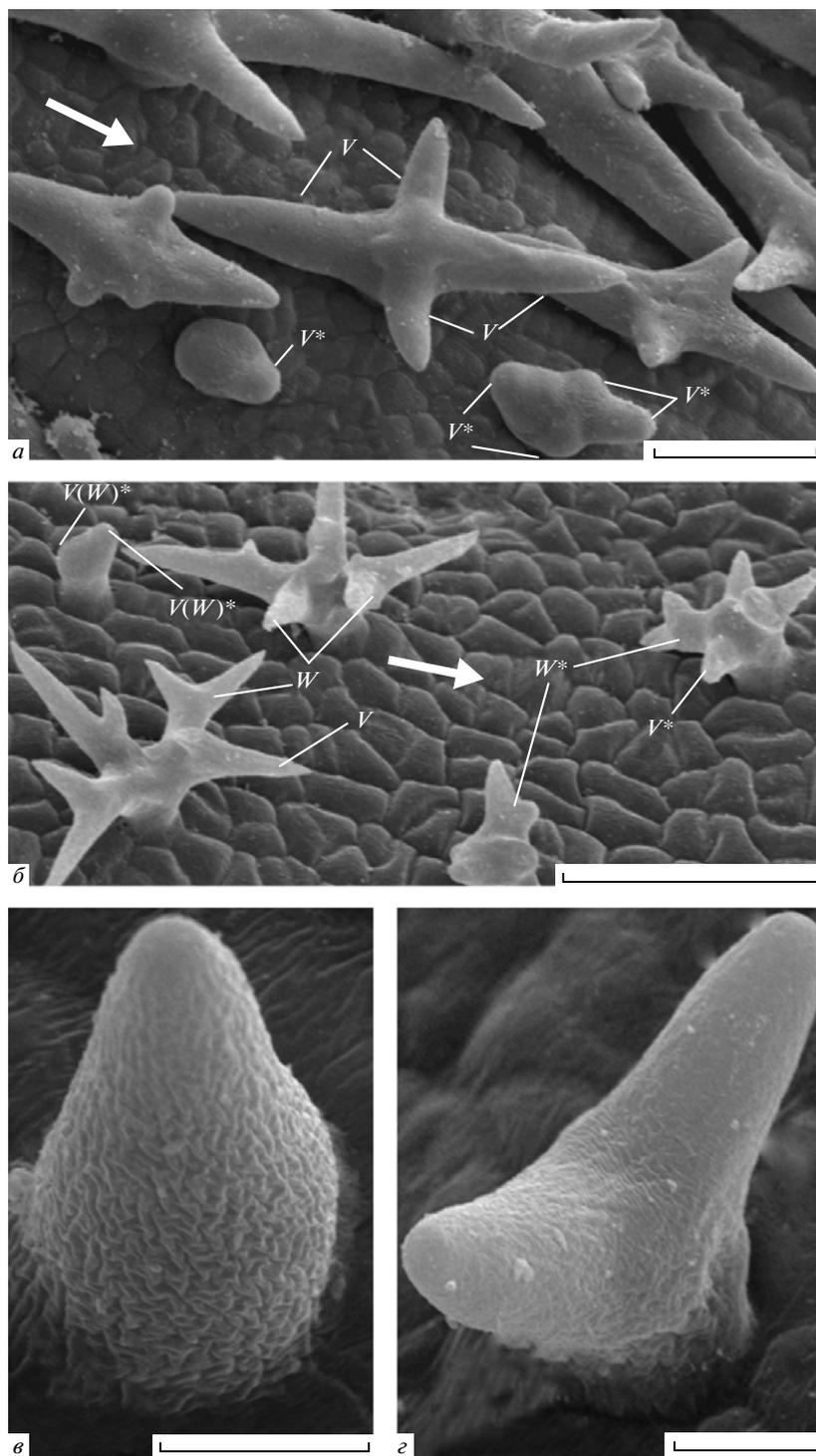


Рис. 2. Общий вид волосков: *a, б* – сложные волоски *D. sibirica* и *D. daurica*; *в, з* – простой и вильчатый волоски. *V, W* – простые и вильчатые лучи волоска; *V**, *W** – зачатки простых и вильчатых лучей; *V(W)** – зачатки, из которых с равной вероятностью могут развиваться как простые, так и вильчатые лучи; (**→**) – проксимальный край листовой пластинки. Масштаб: *a* – 30, *б* – 80, *в, з* – 10 мкм.

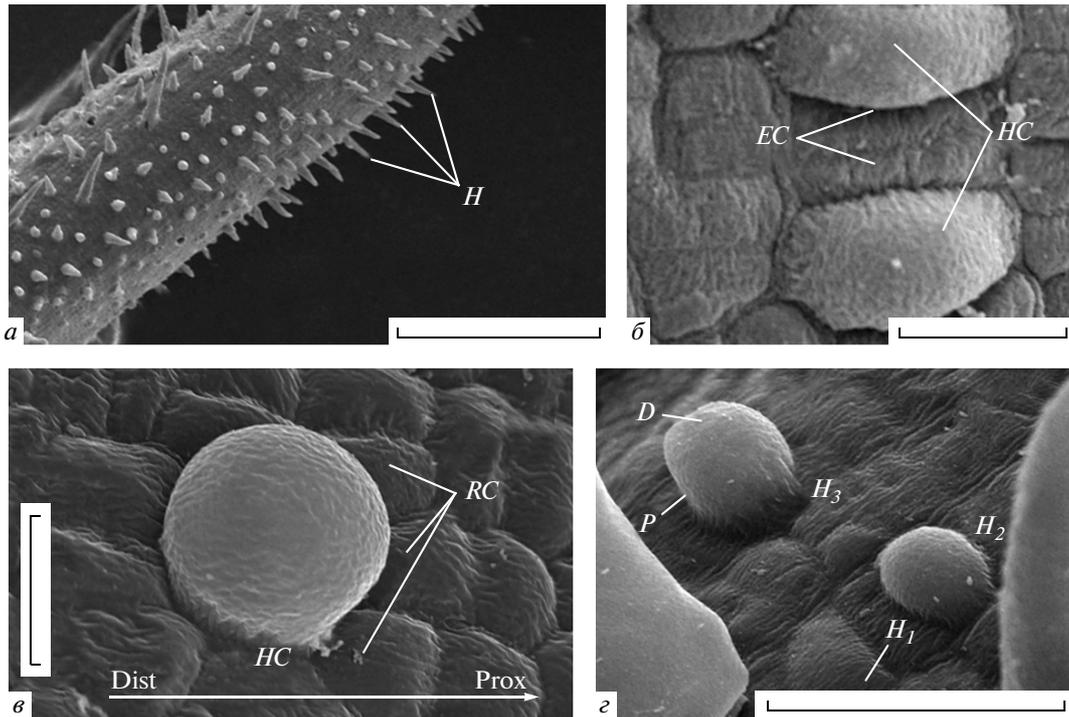


Рис. 3. Морфогенез простых волосков у *D. sibirica*: *a* – общий вид цветоноса (*H*); *б* – начало морфогенеза волосковых клеток; *в* – сферизация волосковой клетки; *г* – клетки ($H_1 - H_3$) на последовательных этапах раннего морфогенеза. Клетки: *HC* – волосковые, *EC* – эпидермальные, *RC* – образующие розетку вокруг будущего волоска; *P*, *D* – проксимальная и дистальная зоны клетки, образующей *U*-образную трубку. Масштаб: *a* – 300, *б*, *в* – 10, *г* – 30 мкм.

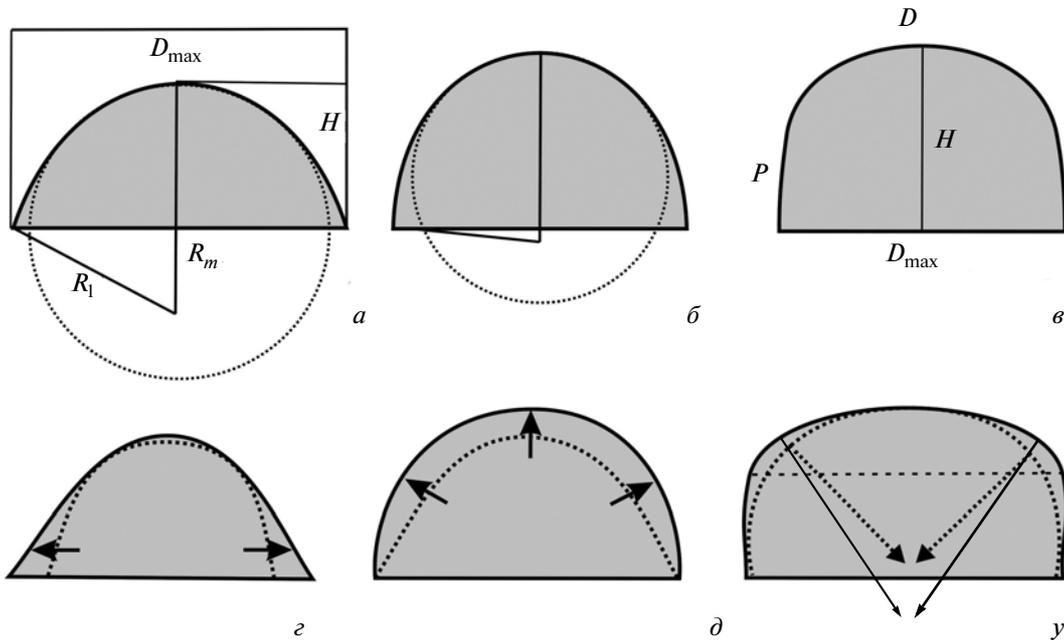


Рис. 4. Последовательные этапы морфогенеза простого волоска *D. sibirica*: *a* – клетка с максимумом кривизны наружной поверхности в медианной зоне; *б* – выравнивание кривизны клеточной поверхности в медианной и латеральных зонах; *в* – переход наружной поверхности к *U*-образной форме; *г*, *д* – “разгибающая” и “сгибающая” моды движения поверхности; *е* – уменьшение кривизны дистальной поверхности при образовании *U*-образной трубки.

(\odot) – аппроксимация кривизны наружной поверхности; (---) – исходный контур поверхности; (\rightarrow) – векторы ее движения; (--- \rightarrow , \rightarrow) – нормальные радиусы кривизны дистальной поверхности до и после перехода к *U*-образной форме; ост. обозначения см. на рис. 1, 3.

Количественно-геометрические характеристики раннего морфогенеза волосковых клеток *D. sibirica*

Признак [^]	Простой волосок (<i>N</i> = 60)		Сложный волосок (<i>N</i> = 100)	
	<i>A</i> < 140°	<i>A</i> ≥ 140°	<i>A</i> < 140°	<i>A</i> ≥ 140°
<i>R</i>	6.1 ± 0.2	5.3 ± 0.33*	6.4 ± 0.29	6.1 ± 0.31*
<i>R_m</i>	8.7 ± 0.41	6.9 ± 0.57	8.4 ± 0.4	7.1 ± 0.3
<i>R_l</i>	7.7 ± 0.39	5.4 ± 0.4*	7.6 ± 0.35	6.1 ± 0.31*
<i>D_{max}</i>	11.4 ± 0.43**	10.56 ± 0.69**	12.2 ± 0.56**	11.9 ± 0.48**
<i>H</i>	4.1 ± 0.28	6.4 ± 0.6	4.0 ± 0.23	6.1 ± 0.22
<i>S_r</i>	441 ± 78	596 ± 70	643 ± 98	770 ± 73
<i>S_r/S_c</i>	1.03 ± 0.006**	1.02 ± 0.006**	1.04 ± 0.005**	1.03 ± 0.005**
<i>R/S_r</i>	0.012 ± 0.002	0.008 ± 0.001	0.02 ± 0.001	0.001 ± 0.1

Примечание. *N* – объем выборки; [^] см. в “Материале и методике”; * **различия признаков недостоверны (*p* > 0.05) в пределах столбца или строки соответственно.

В начале морфогенеза (*A* < 140°) радиус вписанной в клетку окружности *R* достоверно меньше как медианного *R_m*, так и латерального *R_l* радиусов кривизны клеточной поверхности. На более поздней стадии (*A* ≥ 140°) величины *R* и *R_l* становятся равными друг другу, но не величине *R_m*, которая достоверно выше величины как усредненного, так и латерального радиуса клетки. Из этого следует (рис. 4, а, б), что рост локальной кривизны начинается в медианной зоне наружной поверхности, а затем распространяется в латеральные зоны. Кривизна поверхности выравнивается, но вместо полусферы (при *A* = 180°) образуется *U*-образная трубка (рис. 4, в).

Получается, что движущаяся поверхность никогда не имеет пространственно однородной формы, а геометрия ее движения имеет две моды, одна из которых связана с локальным ростом кривизны, а другая – с ее латеральным распространением.

Доказывается это с помощью факторного анализа геометрических характеристик для объединенной выборки, включающей клетки обеих групп так, чтобы величину угла *A* можно было использовать как одну из переменных. Оказалось, что в состав первой главной компоненты (ГК-1) с факторными нагрузками 0.9 входят величины *R_m*, *R_l* и *D* и в эту же компоненту входит величина угла *A* с факторной нагрузкой 0.7 и отрицательным знаком. Во вторую главную компоненту (ГК-2) входят с факторными нагрузками 0.8 и одинаковым знаком величины *S_r*, *H* и *A*.

ГК-1 и ГК-2 соответствуют двум модам движения, одну из которых можно назвать латеральной (ГК-1), а другую – медианной (ГК-2). Первая мода – это латеральное движение краевых точек контура, “разгибающее” краевую поверхность клетки (рис. 4, з). Величины *D*, *R_m* и *R_l* при этом возрастают, величина угла *A* – уменьшается, и форма медианной зоны контура остается практически неизменной. Естественно, что различие между кривизной медианной и латеральной зон при этом возрастает

(рис. 4, з). Вторая (медианная) мода – это увеличение кривизны наружной поверхности, “сгибающее” ее края. Оно связано с ростом величин *H* и *S_r*, уменьшением величины угла *A* и выравниванием медианной и латеральной зон (рис. 4, д). Вклад, который латеральная мода вносит в изменение площади, пренебрежимо мал по сравнению со вкладом медианной моды (ср. рис. 4, з и д).

По механике движения поверхности латеральная мода ближе всего к пассивному растяжению клеточной оболочки под действием внутриклеточного тургорного давления, поскольку увеличиваются оба ее радиуса. Медианная же мода гораздо ближе к изгибу упругой пластины под действием активных сил латерального (тангенциального) давления. При этом мало того, что форма клеточной поверхности пространственно неоднородна, но она периодически изменяется во времени, стремясь сгладить пространственные различия, но так и не достигая этого до конца. В ходе латерального распространения выпуклая краевая поверхность “разгибается”, когда раздвигаются ее края, и “сгибается”, когда разница между кривизной медианной зоны и латеральных краев поверхности становится слишком большой.

Переход к *U*-образной форме происходит в тот момент, когда поверхность “сгибается”, выравнивая кривизну всех своих зон, и ее площадь максимально приближается к площади полусферы (таблица: ср. величину отношения *S_r/S_c* на ранней и поздней стадиях морфогенеза). Отношение площади поверхности к ее объему, плоскостным аналогом которого является величина *R/S_r*, становится минимальным (таблица), а единственным (энергетически наиболее выгодным) способом уменьшить объем сферической поверхности является ее сопряжение с цилиндром. Медианная зона становится дистальной (сферической), а латеральная – проксимальной (цилиндрической) зоной *U*-образной трубки (рис. 4, в). Переход меридианов сферы в образующие цилиндра подразумевает уменьшение кривизны сфериче-

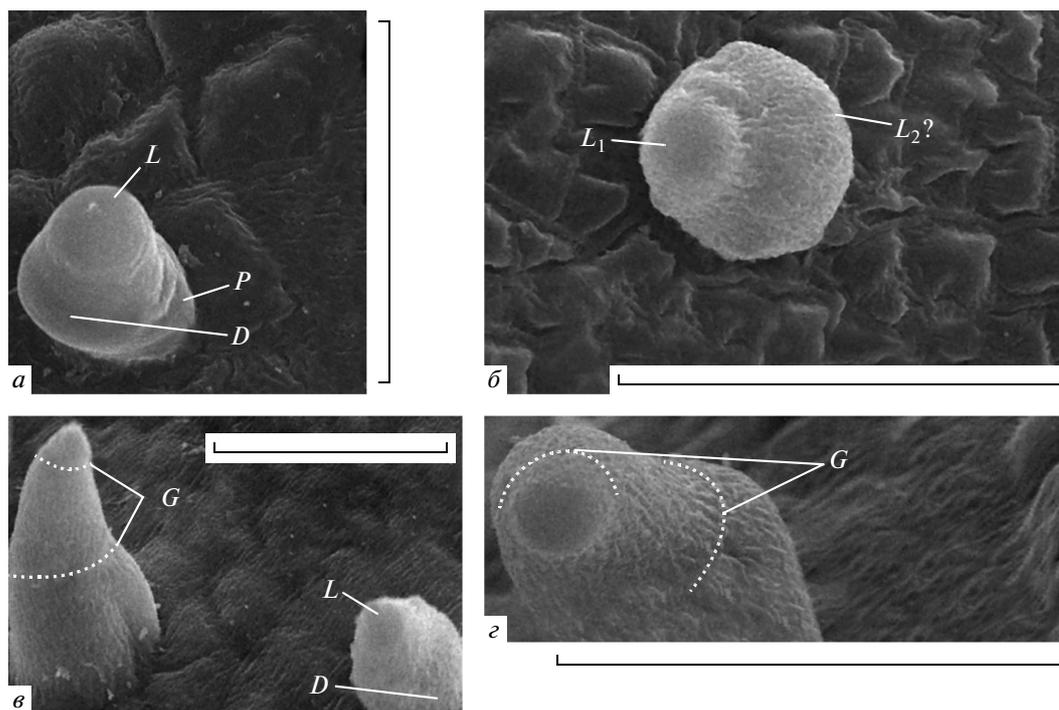


Рис. 5. Бифуркация морфогенеза простого волоска и морфогенетический цикл его роста; *a* – образование локального вздутия (*L*) в центральной части дистальной зоны; *b* – образование одного локального вздутия (*L*₁) у края дистальной зоны с возможным образованием второго локального вздутия (*L*₂) у противоположного края; *в, г* – морфогенетический цикл роста простого волоска. *G* – “геодезические линии” (линии одинаковой кривизны наружной поверхности), ост. обозначения см. на рис. 3, пояснения см. в тексте. Масштаб здесь и на рис. 7: 30 мкм.

ской части поверхности (рис. 4, *e*), что, как мы увидим, очень важно для образования первичных зачатков лучей.

Что же касается величины D_{\max} , то, по данным таблицы, она вообще не изменяется в ходе морфогенеза, хотя это не совсем так. На самом деле наклон линии регрессии D_{\max} по *H* достоверно отличается от нуля, но очень мал (коэффициент линейной регрессии равен 0.4), из чего следует, что латеральные границы клетки раздвигаются очень медленно по сравнению с динамикой кривизны ее наружной поверхности.

Бифуркация морфогенеза. После образования *U*-образной трубки ее дистальная поверхность образует локальное вздутие (новый фрагмент сферической поверхности), площадь которого меньше, а радиус кривизны – больше, чем у исходной сферической поверхности (рис. 5, *a, б*). В случае, если это вздутие происходит в центральной части дистальной поверхности и имеет относительно большой размер (рис. 5, *a*), развивается простой волосок. Если же оно возникает ближе к краю дистальной поверхности и имеет относительно меньший размер (рис. 5, *б*), то напротив него может возникнуть второе такое вздутие, и тогда волосок станет вильчатым. В обоих случаях из-за уменьшения площади дистальной поверхности цилиндрическая поверхность *U*-образной трубки постепенно сужается к своему

дистальному концу, т.е. постепенно принимает коническую форму (рис. 5, *в, г*).

Хотя в каждой из описанных фаз морфогенеза объем клетки непрерывно возрастает, легко заметить цикличность изменения ее формы, так как дистальная поверхность то увеличивает, то уменьшает свою кривизну. Ее кривизна увеличивается в конце первой фазы морфогенеза, когда формируется полусфера, уменьшается во второй фазе, когда полусфера превращается в *U*-образную трубку, и снова увеличивается в третьей фазе при образовании нового вздутия поверхности. Дальнейший рост простого волоска продолжает этот цикл, представляя собой последовательность локальных вздутий, площадь которых каждый раз уменьшается, а радиус кривизны возрастает. Именно поэтому образуется конический простой волосок с заостренным дистальным концом. Следы цикличности его формирования сохраняются на поверхности волоска в виде “геодезических линий” (рис. 5, *в, г*), каждая из которых представляет границу перехода между “сферическим” и “цилиндрическим” ростом.

Сложные волоски. У обоих видов сложные волоски образуются из эпидермальных клеток листовой пластинки и (иногда) цветоноса. Для сложных волосков следует различать первичный морфогенез волосковой клетки, определяющий число и распо-

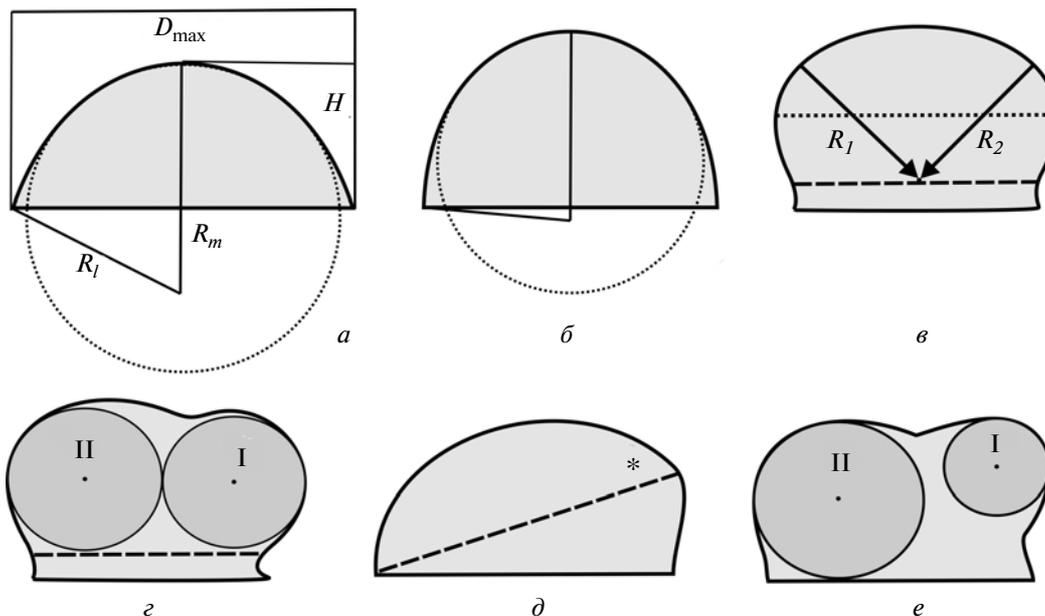


Рис. 6. Последовательные этапы морфогенеза сложного волоска *D. sibirica*: *a* – формирование медианного максимума кривизны; *б* – выравнивание медианной и латеральной кривизны клеточной поверхности; *в* – возникновение расширенной *U*-образной трубки; *г* – симметричная бифуркация; *д* – асимметрия *U*-образной трубки, предвещающая асимметричную бифуркацию; *е* – асимметричная бифуркация.

*R*₁, *R*₂ – нормальные радиусы кривизны дистальной поверхности; I, II – первичные зачатки лучей; (····) – максимальный экваториальный диаметр наружной поверхности; (---) – граница дистальной и проксимальной зон; (*) – область минимальной кривизны; ост. обозначения см. на рис. 2–4, пояснения см. в тексте.

ложение первичных зачатков лучей, и вторичный морфогенез, от которого зависит, получится ли из данного зачатка простой или же ветвящийся луч.

Начальные фазы первичного морфогенеза сложных волосков у D. sibirica. Точно так же, как для простых волосков, форму наружной поверхности волосковых клеток в начале морфогенеза (рис. 6, *a*, *б*) мы изобразили в соответствии со средними значениями геометрических характеристик, данных в таблице. Видно, что перед началом формирования *U*-образной трубки волосковые клетки, из которых формируются простые и сложные волоски, мало отличаются друг от друга, за одним исключением – отношение высоты клетки *H* к ее максимальному латеральному диаметру *D*_{max} ниже, чем при образовании простых волосков (ср. рис. 6, *a*, *б* и 4, *a*, *б*). В том, что из клетки получится сложный волосок, можно быть уверенным (и то не полностью) только потому, что она развивается в той области листовой пластинки, где нет простых волосков.

Динамика геометрических характеристик в раннем морфогенезе простых и сложных волосков практически одинакова (таблица). Единственное, но важное отличие заключается в том, что коэффициент уравнения линейной регрессии *D*_{max} по *H* равен 0.3, что достоверно (*p* < 0.05) ниже, чем в морфогенезе простого волоска. Клетка, образующая сложный волосок, сильнее растет “в ширину”, т.е. пер-

пендикулярно будущей проксимодистальной оси *U*-образной трубки.

Факторный анализ выделяет те же моды движения поверхности, что и для морфогенеза простых волосков – “сгибающую” медианную (блок признаков *H* и *S*_r в ГК-2) и “разгибающую” латеральную моду (блок признаков *D*, *R*_m и *R*_l в ГК-1). Отличие состоит только в более сильной положительной связи медианной моды с величиной угла *A*. Равновесие между “сгибанием” и “разгибанием” поверхности смещено в сторону “сгибания”, что позволяет клетке перейти к формированию *U*-образной трубки при меньшем отношении высоты *H* к латеральному диаметру *D*, т.е. при меньшей кривизне поверхности дистальной зоны.

Величина корреляции переменных *S*_r–*S*_c и *S*_r (*r* = 0.59) выше, чем при образовании простых волосков, и, главное, эта корреляция не исчезает для клеток с *A* > 140° (*r* = 0.56). При этом клетки с *A* > 140° так же неотличимы от полусфер (*D/H* = 1.86 ± 0.15), как и клетки, формирующие простые волоски. На пути к *U*-образной трубке клетки принимают полусферическую форму, но она перестает быть особой точкой их движения. Можно сказать, что клетка знает, что из нее должен получиться не простой, а сложный волосок, и не замечает, что на какое-то время становится полусферой – не замечает в том смысле, что средняя величина отклонения от сферической формы остается такой же, как и раньше. Все дело,

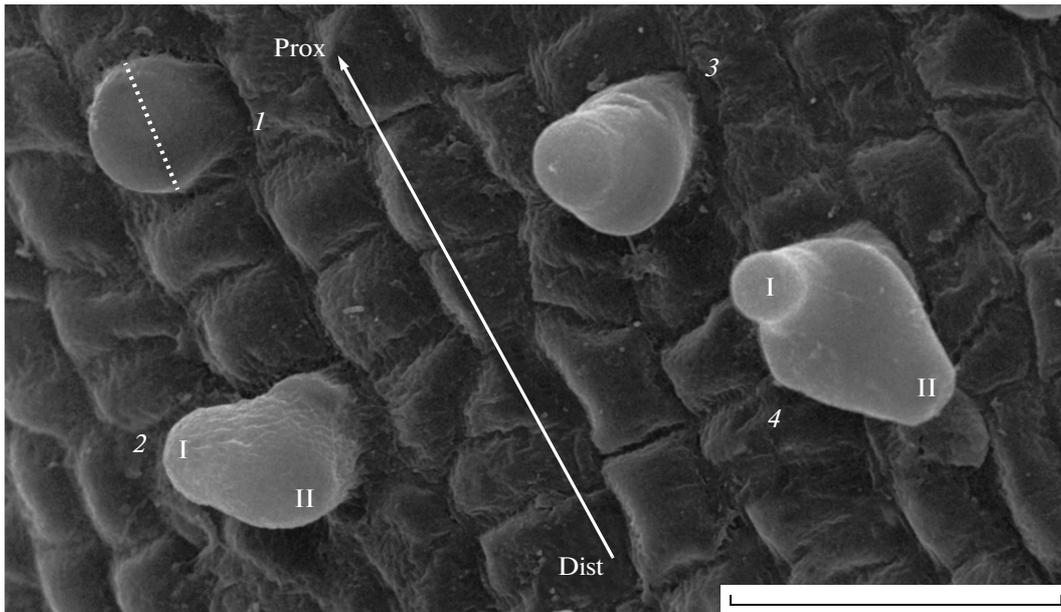


Рис. 7. Изменчивость первичного морфогенеза сложного волоска *D. sibirica* (при симметричной (клетки 1 и 2) и асимметричной (клетки 3 и 4) бифуркации; (---) — максимальный экваториальный диаметр; (→) — проксимальный край листовой пластинки; ост. обозначения см. на рис. 6.

конечно, в меньшем наклоне линии регрессии D по H , отчего клетка приходит к полусферической форме при большем размере и, соответственно, меньшем отношении площади поверхности к ее объему, чем клетка, образующая простой волосок. Именно поэтому дистальная зона U -образной трубки имеет меньшую кривизну.

Бифуркация первичного морфогенеза и образование первичных зачатков лучей. Хотя очевидно, что клетки, образующие сложные волоски, имеют в момент перехода к U -образной форме больший размер, чем клетки простых волосков, различия средних значений величины S , статистически недостоверны из-за очень большой изменчивости. Достоверными (при $p < 0.05$) оказываются только различия величины радиуса окружности, максимально приближенной к видимому контуру волосковой клетки (рис. 1, a ; R): для клеток с $A > S$, его величина равна 5.3 ± 0.3 — для клеток простых и 6.1 ± 0.3 — для клеток сложных волосков *D. sibirica*.

Поскольку площадь поверхности растет быстрее, чем у клетки простого или вильчатого волоска, максимальный диаметр дистальной зоны становится больше диаметра проксимальной зоны: дистальная поверхность не уместается в пределах створа, очерченного границами клетки. Происходит бифуркация, ведущая к возникновению сразу нескольких эквивиальных путей формообразования. При всем их разнообразии у *D. sibirica* они укладываются в непрерывный ряд переходов между двумя типами, один из которых условно назовем “симметричной”, а другой — “асимметричной” бифуркацией (рис. 7).

Симметричная бифуркация. В момент бифуркации дистальная поверхность имеет полусферическую форму; бифуркация происходит в тот момент, когда граница с проксимальной зоной оказывается чуть ниже экватора. Такой вывод можно сделать на том основании, что мы ни разу не видели клеток, у которых дистальная поверхность была сферической, а ее края лежали бы ниже экватора сферы. После пересечения экватора дистальная поверхность утрачивает пространственно однородную форму и повторяет то же самое, что делала раньше, — принимает U -образную форму, но только новая U -образная трубка имеет расширенный дистальный конец, так как поверхность дистальной зоны не уместается в цилиндрическом створе проксимальной зоны (рис. 6, e). У дистальной зоны возникает новая экваториальная плоскость, радиус которой больше такового проксимальной зоны. Именно в этой зоне площадь поверхности начинает расти, и на противоположных полюсах сферической поверхности из нее выделяются сферические же фрагменты, имеющие собственную кривизну и соответствующие двум первичным зачаткам лучей, один из которых выделяется чуть раньше (рис. 6, z).

Поскольку до их появления экваториальное сечение дистальной зоны имеет форму окружности, то дифференцировку кривизны можно целиком отнести на счет самоорганизации. То же самое можно сказать и о выделении самой экваториальной зоны, так как она выделяется при любых малых флуктуациях, уменьшающих отношение площади поверхности к ее объему.

(*Важное замечание.* Строго говоря, мы пока не имеем права говорить об устойчивости или неустойчивости равновесия — для этого, хотя бы в самом общем виде, нужно знать механику движения поверхности, которую мы рассмотрим позже. Однако если представить себе, глядя на рис. 6, в, что из дистальной зоны выделяются два сферических фрагмента с равными радиусами R_1 и R_2 , то получится конфигурация, соответствующая “негрубому положению” (Арнольд, 1993). Две одинаковых сферических области имеют общий центр, поэтому при любом “малом шевелении” такой поверхности будет происходить бифуркация, т.е. расщепление единого центра на два центра двух разных сферических поверхностей (см. рис. 6, г; I, II). Это будет происходить совершенно независимо от выбора механической модели движения, важно только, чтобы поверхность в принципе была способна к активному изменению формы.)

Асимметричная бифуркация. В момент бифуркации поверхность дистальной зоны U -образной трубки имеет асимметричную форму, возникающую из-за того, что переход сферической поверхности в U -образную происходит раньше на одной из латеральных сторон клетки (рис. 6, д). В этом месте по очевидным геометрическим причинам сопряженная с цилиндром сферическая дистальная поверхность имеет наименьшую кривизну (рис. 6, д; *), и из нее выделяется новый сферический фрагмент, соответствующий первому первичному зачатку луча (рис. 6, е). Второй зачаток, естественно, гораздо более крупный, “выдувается” из оставшейся части дистальной зоны.

Асимметричную бифуркацию нельзя считать самоорганизацией в строгом смысле, так как образованию первого зачатка предшествует изменение формы экваториального сечения дистальной зоны (рис. 6, д), которое в свою очередь задано асимметрией граничных условий. Однако условия образования первого зачатка геометрически очень близки к условиям естественной потери устойчивости при симметричной бифуркации. В таких случаях принято говорить (см.: Белинцев, 1990), что внешняя асимметрия является триггером процесса, собственная динамика которого имеет те же закономерности, что и при симметричной бифуркации. Это позволяет объяснить практически одинаковый исход двух типов бифуркации, так как в обоих случаях “действующей причиной” (Аристотелевой *causa efficiens*) первичного морфогенеза зачатков является выделение области с минимальным отношением площади поверхности к ее объему.

Параллелизм внутрииндивидуальных и межвидовых различий. У *D. sibirica* и *D. daurica* изменчивость первичного морфогенеза практически одинакова и уместается в пределах внутрииндивидуальных различий морфогенеза клеток, развивающихся на одной и той же листовой пластинке (рис. 7; 8, а–в). У обоих видов можно наблю-

дать непрерывный переход между симметричной (рис. 7; 8, в; клетки 1, 2) и асимметричной (рис. 7; 8, а, б; клетки 3, 4) бифуркацией. У *D. daurica* при очень сильной асимметрии клетка выглядит так, как будто собирается формировать простой или вильчатый волосок (ср. рис. 5, а, б и 8, а), и единственное, но решающее отличие состоит в том, что на противоположном латеральном краю клетки, где еще отчетливо не видно локального вздутия, дистальная поверхность все же выступает за пределы створа проксимальной зоны. Налицо “тройной параллелизм” изменчивости морфогенеза — она повторяется при образовании сложных волосков у разных видов (ср. рис. 7 и 8, а–в), при образовании простых и сложных волосков у одного и того же вида и, наконец, при образовании волосков из клеток, входящих в состав одной и той же листовой пластинки.

Несмотря на одинаковый качественный состав изменчивости, между видами существуют четко выраженные количественные различия — асимметричная бифуркация встречается у *D. sibirica* с частотой, равной 14, а у *D. daurica* — 70% (данные по 50 клеткам *D. sibirica* и 40 клеткам *D. daurica*, различия частот достоверны при $p < 0.001$).

Сравнение двух видов можно считать аналогом мысленного опыта с изменением пропорций сферической и цилиндрической зон U -образной трубки. У *D. daurica* U -образная трубка образуется не из всей наружной поверхности клетки, как у *D. sibirica*, а только из ее центральной части, периферическая же часть (рис. 8, в; *Pr*) присоединяется к проксимальному цилиндру. Относительный размер дистальной зоны уменьшается, но оказывается, что это не ведет к упрощению ветвления (у *D. daurica* образуется больше первичных ветвей, чем у *D. sibirica*). Очевидно, недостаток начальной площади дистальной зоны полностью, и даже с избытком, компенсируется ускорением дальнейшего ее роста.

Полярность первичного морфогенеза и ее связь с полярностью роста органов. У сложных волосковых клеток *Arabidopsis*, морфогенез которых достаточно близок к асимметричной бифуркации, первый луч появляется на той стороне клетки, которая обращена к проксимальной зоне листовой пластинки, а в противоположную сторону смотрит второй, более мощный зачаток (Uphof, 1962; Schwab et al., 2000). Это, по-видимому, общая закономерность, так как такая же связь между полярностью волосковой клетки и листа наблюдается у *D. sibirica* и *D. daurica* (см. рис. 2, а, б).

По нашим наблюдениям, полярность волосковых клеток проявляется уже с самого начала их развития и в принципе не отличается от митотической полярности делящихся клеток эпидермиса, возникающей в препрофазе митоза, когда в плоскости будущего деления формируется кольцо из микротрубочек, определяющее положение этой плоскости (ср.: Hülskamp et al., 1998). В тот момент, когда волосковую клетку уже можно отличить от окружаю-

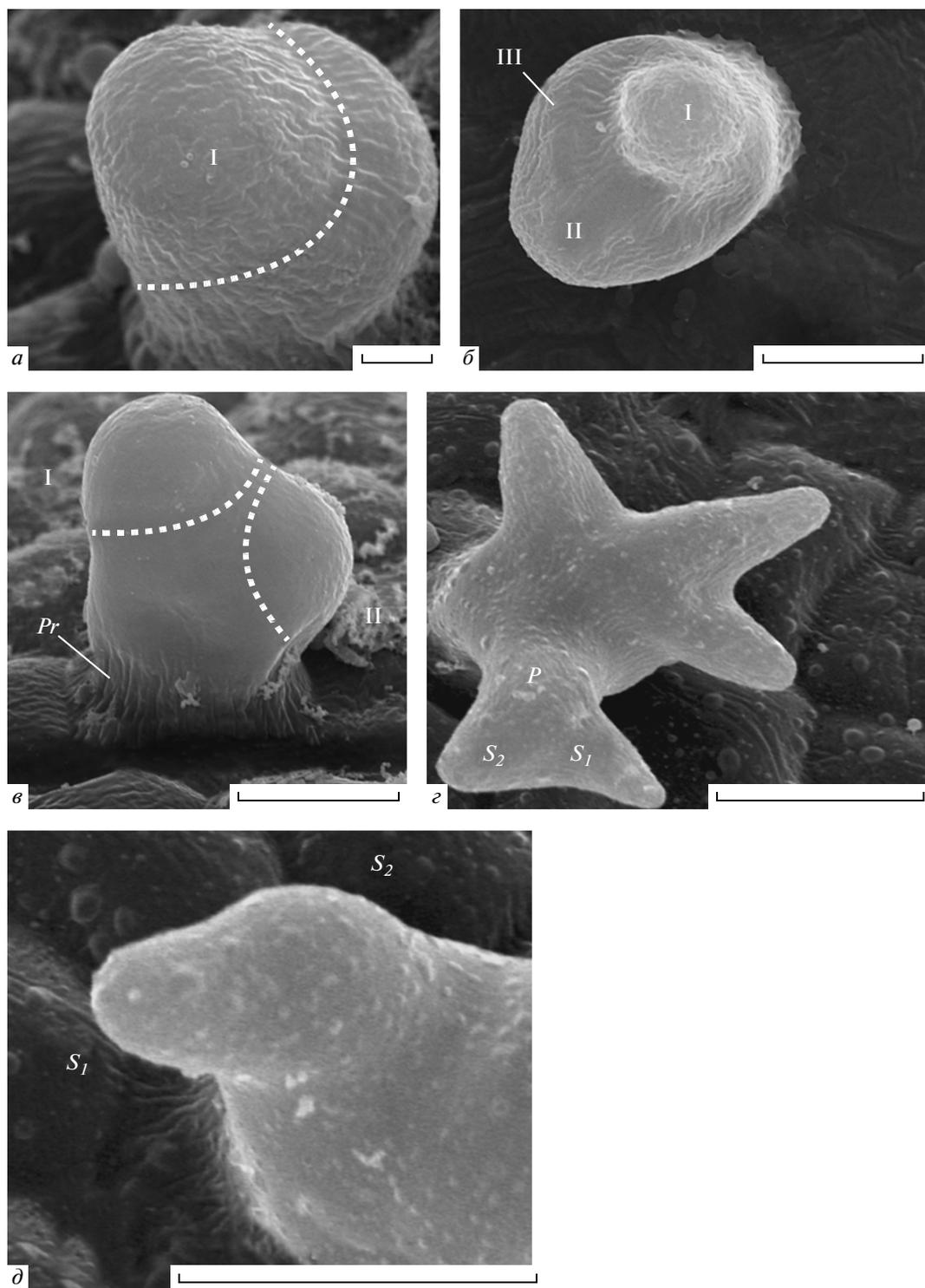


Рис. 8. Изменчивость первичного морфогенеза сложного волоска (*a–в*) и вторичный морфогенез лучей волоска (*г, д*) у *D. daurica*.

Pr – проксимальная часть ножки волоска, образовавшаяся из периферической части наружной поверхности волосковой клетки; *P* – первичный зачаток; *S₁, S₂* – вторичные лучи; (---) – контур зачатка, намечающегося после бифуркации, ост. обозначения см. на рис. 6. Масштаб: *a* – 3, *б, в* – 10, *г, д* – 15 мкм.

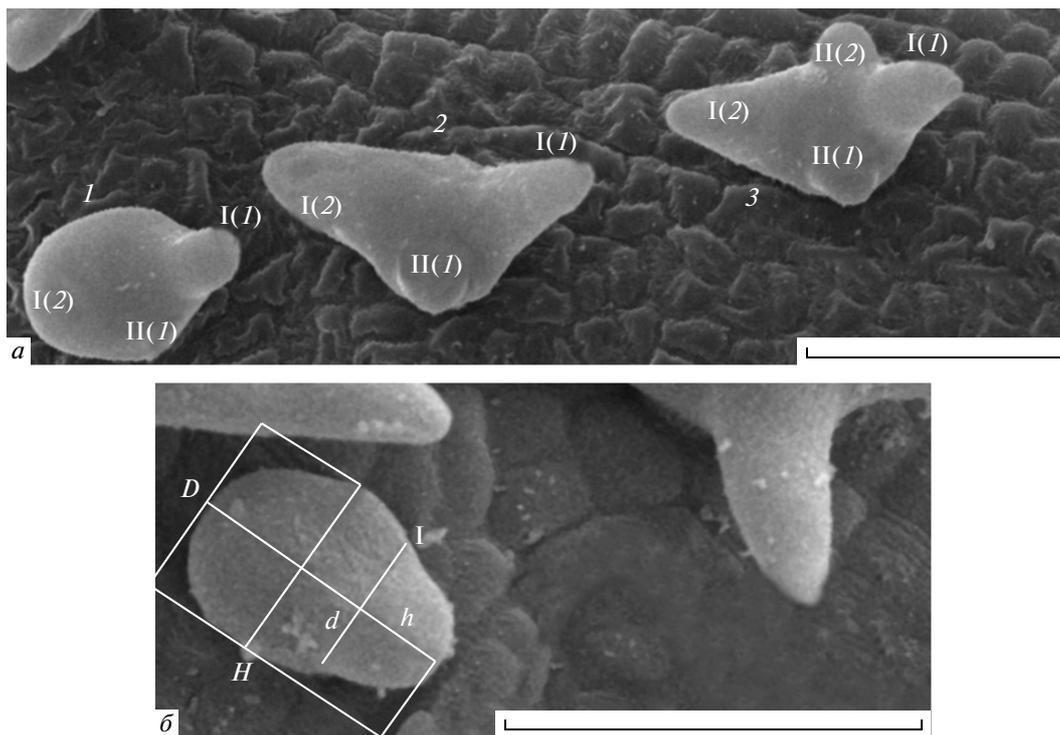


Рис. 9. Вторичный морфогенез лучей волоска у *D. sibirica* (а) и схема измерения волосковой клетки 1, изображенной на а (б). Клетки 1–3 находятся на последовательных стадиях морфогенеза первой (I(1) и I(2)) и второй (II(1) и II(2)) пары лучей; D, H – латеральная ширина и длина клетки; d, h – ширина и длина первого первичного зачатка луча. Масштаб: 30 мкм.

щих клеток, она имеет такую же удлинненную форму, как обычная эпидермальная клетка перед началом очередного митоза. В большинстве случаев ее длинная ось ориентируется поперек проксимодистальной оси листа так, что одна из широких поверхностей обращена к его дистальному, а другая – к его проксимальному краю (рис. 3, в).

При описанной выше асимметрии морфогенеза более высокая цилиндрическая стенка U-образной трубки обычно обращена к проксимальному краю листа, т.е. на этой стороне поверхность быстрее принимает U-образную форму и зачаток получается более мелким (рис. 6, д, е). Таким образом, различие во времени формирования проксимальной и дистальной зон листовой пластинки воспроизводится в масштабе одной клетки.

Это, разумеется, не более чем аналогия, однако важно, что латеральная ось клетки точно так же, как и главная ось листовой пластинки, является не пространственной, а временной осью. Ее определение не зависит от выбора системы координат, что делает традиционные представления о градиентах и позиционной информации просто ненужными.

К этому следует добавить, что связь между полярностью волосковой клетки и листа является все же вероятностной, а не строго детерминированной. На достаточно большом материале (порядка сотен формирующихся волосков) всегда обнаруживаются волоски, у которых плоскость билатеральной симмет-

рии сильно отклоняется от плоскости симметрии листа, вплоть до инверсии полярности волоска по отношению к полярности листовой пластинки.

Вторичный морфогенез. Начальная фаза вторичного морфогенеза первичных зачатков в основном повторяет начало морфогенеза всей волосковой клетки, которое, как мы видели, всегда одинаково, независимо от того, образуется ли из нее простой, вильчатый или же сложный волосок. Далее пути вторичного морфогенеза расходятся, так как у *D. sibirica* первичные зачатки лучей практически никогда не ветвятся, а у *D. daurica* – ветвятся, причем делать это, хотя и с разной вероятностью, может любой из первичных зачатков.

У *D. sibirica* после образования двух первичных зачатков один из них, развивающийся чуть быстрее, принимает форму полусферы, которая тотчас превращается в U-образную трубку, не имеющую дистального расширения (рис. 9, а; клетка 1). Точно так же, но с некоторым опозданием, изменяется контур второго зачатка (рис. 9, а; клетка 2). Вторая пара первичных зачатков образуется в тот момент, когда второй из зачатков первой пары приближается к полусфере и его кривизна оказывается больше кривизны поверхности, разделяющей первый и второй зачаток (рис. 9, а; клетка 2). Если сама эта поверхность еще сохраняет сферическую форму, то из-за относительного уменьшения ее кривизны из нее образуются за-

чатки второй пары лучей и получаются четыре первичных зачатка, расположенных на равном угловом расстоянии друг от друга (9, *a*; клетка 3).

Площадь видимого контура первого зачатка, измеренная, когда этот зачаток хорошо обособлен, но еще имеет полусферическую, а не *U*-образную форму (рис. 8, *b*; данные по 60 волосковым клеткам), составляет $25 \pm 1\%$, т.е. ровно четверть общей площади видимого контура клетки. Отношение длины (высоты) первого зачатка к его максимальной ширине (h/d) и отношение длины и максимальной ширины всей клетки (рис. 9, *b*; H/D) связаны высокой ($r = 0.57$) и статистически достоверной ($p < 0.001$) положительной корреляцией. Значит, новые первичные зачатки выделяются одновременно с дифференцировкой кривизны всей клеточной поверхности. Яйцевидная форма клетки соответствует ее разделению на зачатки первой пары лучей, а эллипсоидная форма — возникновению на боковых поверхностях эллипсоида еще двух зачатков, образующих лучи второй пары.

У *D. daurica* первые два зачатка образуются в принципе так же, как у *D. sibirica*, но площадь первого зачатка составляет $33 \pm 0.7\%$ площади всей клетки (данные по 55 волосковым клеткам). Статистическая корреляция между степенью вытяжения зачатка первого луча и всей клетки (между величинами h/d и H/D) гораздо ниже, чем у *D. sibirica*, и находится на грани достоверности ($r = 0.25$, $p = 0.01$).

В ходе вторичного морфогенеза сферические зачатки принимают форму не простой, а расширенной *U*-образной трубки, в дистальной зоне которой происходит симметричная или (чаще) асимметричная бифуркация. В этот момент форма зачатка практически полностью повторяет форму всей волосковой клетки при асимметричной бифуркации первичного морфогенеза. Так, первичный зачаток *P* (рис. 8, *z*, *d*) представляет собой ту же *U*-образную трубку, из которой вторичные зачатки S_1 и S_2 развиваются точно так же, как сам первичный зачаток развивался на стадию раньше. Наклон линии регрессии ширины зачатка d по его высоте h равен 0.38, что достоверно не отличается от наклона этой линии при образовании первичной *U*-образной трубки. Напротив, у *D. sibirica* наклон линии регрессии d по h ($b = 0.28$) не отличается от значения этой величины при образовании простого волоска.

Итак, несмотря на столь существенные межвидовые различия, как наличие или отсутствие вторичного ветвления первичных зачатков, изменчивость у разных видов в основном повторяется, образуя параллельные ряды одних и тех же различий, таких как между *U*-образной и расширенной *U*-образной формой зачатка или между симметричной и асимметричной бифуркацией *U*-образной трубки. Такие же отношения возникают между видовыми различиями вторичного морфогенеза лучей сложного волоска и внутрииндивидуальными различиями морфогенеза волосковых клеток, образующих простые,

вильчатые или сложные волоски в пределах одного и того же растения. Возникновение первичных зачатков сложного волоска является пределом изменчивости морфогенеза простых волосков (переход от периодических изменений формы *U*-образной трубки к бифуркации морфогенеза), а возникновение простых лучей — пределом изменчивости ветвления их первичных зачатков.

Геометрический алгоритм и механика морфогенеза

Воспроизведение одной и той же организации изменчивости на внутрииндивидуальном, индивидуальном и таксономическом уровнях говорит о том, что в основе морфогенеза должен лежать простой и универсальный алгоритм — такой, чтобы формирование модулей разного порядка (простых волосков, лучей сложного волоска и ветвей самого луча) было естественным следствием его повторного применения. У всех изученных видов морфогенез как всего волоска, так и любой его повторяющейся части сводится к выбору всего между двумя геометрическими преобразованиями: фрагмент сферической поверхности принимает *U*-образную форму или же путем симметричной или асимметричной бифуркации разделяется на два новых сферических фрагмента, также принимающих *U*-образную форму. Цикл полусфера \rightarrow *U*-образная трубка \rightarrow полусфера лежит в основе не только морфогенеза, но и роста волосков, так как рост площади и объема клеточной поверхности невозможен без периодического изменения ее кривизны.

Наружную поверхность волосковой клетки можно рассматривать как модельный пример активных оболочек, формообразование которых подробно изучено для одноклеточных (Мартынов, 1982; Goodwin, 1994) и многоклеточных (Green, 1996) моделей морфогенеза растений. Основная идея (Мартынов, 1982) состоит в том, что, так как активный рост площади оболочки при постоянном внутреннем давлении не компенсирует увеличения ее объема, оболочка начинает сопротивляться растяжению не пассивно, а активно, образуя рельеф, особые точки которого соответствуют геометрическим ребрам жесткости.

Эта идея, сама по себе замечательная, все же позволяет рассматривать усложнение формы оболочки как обычную механическую катастрофу (Мартынов, 1982; Белоусов, 1987). Активная компонента изменения площади поверхности считается более медленным процессом по сравнению с изменением ее кривизны, и связь между активной и пассивной компонентами формообразования оказывается не более чем параметрической. В любой механической модели первичные зачатки лучей считались бы складками, которые оболочка образует из-за того, что в экваториальной плоскости расширенной *U*-образной трубки экваториальное сжатие сильнее

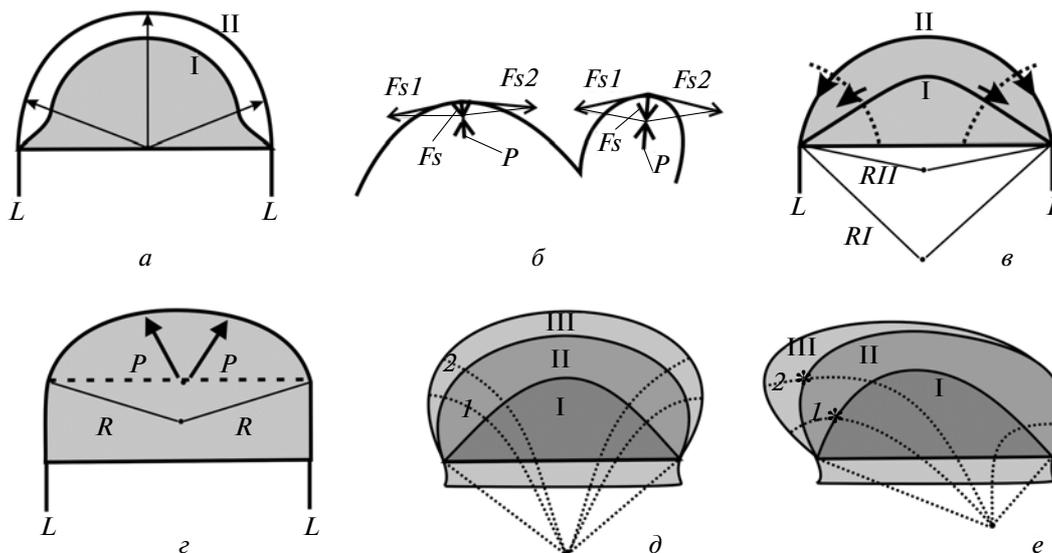


Рис. 10. Кинематика и динамика движения клеточной поверхности: *a* – движение (→) в отсутствие планарной компоненты; *б* – схема, показывающая связь между величиной силы внутреннего давления (*P*) и величиной сил (*F_{s1}*, *F_{s2}* и результирующей *F_s*), растягивающих клеточную оболочку при отсутствии в ней активных внутренних напряжений; *в* – возникновение планарной компоненты движения (→), когда наружная поверхность упирается в боковые стенки клетки; *г* – возникновение *U*-образной трубки; *д* – геометрический алгоритм движения поверхности при симметричной бифуркации; *е* – геометрический алгоритм асимметричной бифуркации.

I–III – последовательность контуров наружной поверхности; *L* – боковые стенки волосковой клетки; (····) – траектории движения; *R*, *RI*, *RII* – латеральные радиусы кривизны дистальной зоны и наружной поверхности соответственно; (---) – граница дистальной и проксимальной зон; *1*, *2* – искривляющиеся из-за планарной компоненты движения радиусы кривизны, соответствующие траекториям движения точек поверхности; (*) – точка изменения знака кривой, по которой движется точка поверхности, ост. пояснения см. в тексте.

меридионального растяжения. Однако мы видели, что первичные зачатки являются вовсе не складками, а активно движущимися участками оболочки, причем их активное движение развивается не в ответ на пассивное изменение формы клетки, а наоборот, перераспределение внутреннего давления, вызывающее упругую реакцию, развивается в ответ на активное движение элементов оболочки.

Между активным увеличением площади и кривизны оболочки в каждый момент времени существует как отрицательная, так и положительная обратная связь, меняющая свой знак в зависимости от геометрии движения. Именно из-за этого диапазон условий, в котором сферическая форма сохраняет устойчивость, оказывается гораздо более узким, чем для обычных упругих оболочек.

Движение сферической формы активной оболочки устойчиво в том и только в том случае, если при увеличении объема элементы ее поверхности движутся по нормальным радиусам ее кривизны, а геометрический центр оболочки находится в центре окружности, образуемой ее наружной поверхностью (рис. 10, *a*). Для этого, разумеется, максимальный диаметр сферической поверхности должен расти вместе с увеличением ее радиуса, что мы и наблюдаем в начальной фазе морфогенеза волосковой клетки. В этой фазе увеличение объема оболочки связано с уменьшением ее кривизны, а чем меньше кри-

визна поверхности, тем легче ее растягивать (рис. 10, *б*). Этим объясняется то, почему любой новый зачаток, образование которого всегда подразумевает увеличение локальной кривизны, возникает в области с наименьшей локальной кривизной.

Ситуация резко меняется, когда наружная поверхность волосковой клетки упирается в зоны контакта клетки со своими соседями или же просто скорость увеличения ее латерального диаметра (рис. 1, *б*; D_{max}) начинает отставать от скорости роста площади. Начиная с этого момента при дальнейшем росте объема оболочки ее кривизна не уменьшается, а наоборот, увеличивается, так как при встраивании в любой участок поверхности новых структурных элементов возрастают силы латерального давления, с которыми этот участок действует на соседние с ним участки. Это ведет к искривлению радиусов кривизны поверхности, по которой он движется (рис. 10, *в*, пунктирные линии), а следовательно, к росту активных напряжений в клеточной оболочке. Сферическая форма оболочки становится энергетически невыгодной, и при малых и случайных флуктуациях сферические меридианы проксимальной зоны превращаются в образующие цилиндрической поверхности (рис. 10, *г*).

Для цилиндра и вообще любой поверхности с прямыми образующими линиями окружные (кольцевые) упругие напряжения намного выше про-

дольных напряжений (Тимошенко, Войновский-Кригер, 1966). Можно считать, что при переходе к цилиндрической форме поверхность проксимальной зоны перестает растягиваться в поперечной плоскости и тогда новым геометрическим центром клетки, откуда направлено внутреннее давление, растягивающее сферическую поверхность дистальной зоны, становится центр ее новой краевой окружности (рис. 10, *з*). Кривизна сферической части поверхности уменьшается, и это позволяет начать новый цикл изменений формы.

Как легко заметить, такая последовательность событий точно соответствует описанному в нашей работе чередованию латеральной “разгибающей” и медианной “сгибающей” мод движения оболочки. Принципиальный момент, объясняющий разницу между пассивными и активными механическими напряжениями, заключается в том, что отклонение от пространственно однородной (сферической) формы является обязательной компонентой движения поверхности. В каждый момент движения кривизна медианной зоны либо выше, либо ниже кривизны латеральной зоны, и движение продолжается до тех пор, пока это различие не станет пренебрежимо малым, но как раз в этот момент форма утрачивает устойчивость. В морфогенезе простого волоска или же луча сложного волоска амплитуда колебаний постепенно уменьшается из-за уменьшения размера зоны роста, отчего кончик волоска (или луча) постепенно заостряется и прекращает свой рост.

Основным контрольным параметром, переключающим развитие в сторону образования сложного волоска, является просто увеличение скорости роста (увеличения площади) клеточной поверхности. Сам по себе этот параметр может быть очень сложным, так как его величина зависит, по-видимому, не столько от скорости образования мицелл целлюлозы, сколько от организации цитоскелета (Kropf et al., 1998). Он прост только как “параметр порядка” (Ландау, Лившиц, 1976) — как темполимитирующее звено в цепи событий, связывающей молекулярную динамику с динамикой формы. Когда его величина достигает критического значения, дистальная зона *U*-образной трубки расширяется за пределы цилиндрического створа проксимальной зоны и ее объем начинает расчленяться на сферические фрагменты, в каждом из которых отношение площади поверхности к ее объему выше, чем в исходной дистальной зоне. У *D. sibirica* и *D. daurica* образуется два таких фрагмента, соответствующих зачаткам первой пары лучей, — симметричных или асимметричных в зависимости от типа бифуркации.

Их образование можно описать с помощью геометрического алгоритма, выведенного в свое время для движения (изменения формы) эмбриональных клеточных пластов многоклеточных животных (Черданцев, 2003). Подобно клеткам в составе клеточного пласта, планарное движение элементов поверхности “заряжает” ее активными механически-

ми напряжениями, которые “разряжаются” путем изменения ее формы. Рост активных напряжений выражается в искривлении нормальных радиусов кривизны клеточной поверхности (рис. 10, *д*, пунктирные линии), а поверхность, двигаясь вдоль этих радиусов, изменяет свою форму таким образом, чтобы восстановить их нормальную (энергетически наиболее выгодную) ориентацию (рис. 10, *д*; I—III).

При равенстве условий на границах дистальной зоны мы получаем новую форму поверхности, хорошо соответствующую таковой при симметричной бифуркации. В случае, если на одной стороне клетки (напомним, что это сторона, обращенная к проксимальному краю листа) поверхность растет быстрее, получается форма, хорошо соответствующая форме поверхности при асимметричной бифуркации (рис. 10, *е*).

(Уточняющее замечание. Может показаться парадоксальным, что потеря устойчивости сферической формы ведет ко вполне детерминированному движению. Применяя алгоритм, мы исходим из того, что в каждый момент времени движение элементов поверхности вдоль кривых 1 и 2 (рис. 11, *д*) представляет серию отображений контуров I—III друг в друга (принцип пространственной развертки морфогенетического движения, см.: Черданцев, 2003). Это позволяет, зная форму поверхности в данный момент времени, предсказывать характер изменения траекторий движения ее элементов даже при потере устойчивости, так как бифуркация всегда связана с изменением знака наклона этих траекторий (рис. 10, *е*; *).)

Описанный алгоритм точно так же применяется к движению (изменению формы) поверхности самих первичных зачатков: образование и ветвление лучей сложного волоска подчиняются одним и тем же правилам, различаясь только масштабом и, как следствие, порядком формирования. Контрольным параметром, определяющим выбор между образованием простого и сложного луча, по-прежнему является величина отношения площади поверхности к ее объему, так как у *D. sibirica* — вида с неветвящимися лучами волоска — относительный размер первого зачатка меньше, чем у *D. daurica*, — вида с ветвящимися лучами. Вытекающая из модели зависимость потери устойчивости не от абсолютных размеров дистальной зоны, а от ее геометрии (планарная компонента движения возникает тогда, когда оболочка становится полусферой), объясняет масштабную инвариантность морфогенеза (Белоусов, 1987), т.е. его независимость от размера проксимальной зоны и от доли начальной площади поверхности волосковой клетки, участвующей в образовании лучей волоска.

Особый интерес представляет возможность применения одного и того же геометрического алгоритма к морфогенезу клеточной оболочки и многоклеточного эпителиального пласта. Очевиднее всего сходство между морфогенезом волосковых клеток и морфогенезом гидроидных полипов, основными

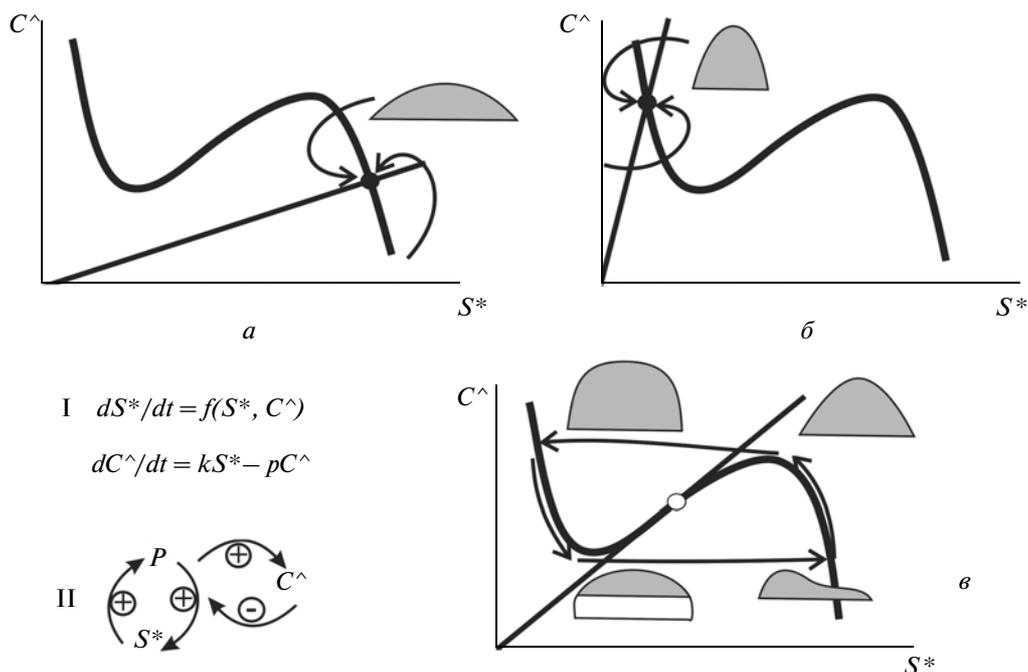


Рис. 11. Фазовый портрет морфогенетического цикла движения клеточной поверхности: *a*, *б* – устойчивое равновесие (●) при малой (*a*) и большой (*б*) кривизне; *в* – автоколебательный режим (○ – точка неустойчивого равновесия); геометрические архетипы поверхности, соответствующие основным ветвям движения по фазовой кривой. \hat{C} – усредненная кривизна, S^* – удельная площадь, P – внутреннее давление; I, II – обобщенные уравнения движения и блок-схема плюс–минус-взаимодействия переменных, ост. пояснения см. в тексте.

мотивами которого являются совершенно такие же, как у волосковых клеток, переходы между сферической, *U*-образной и расширенной *U*-образной формами клеточного пласта в ходе морфогенеза и чередование фаз увеличения и уменьшения кривизны дистальной поверхности в ходе роста-морфогенеза эпителиального пласта (Белуосов, 1987; Velousov, 1998). Для многоклеточных систем автоколебательный режим роста считается следствием биохимических автоколебаний (см. например: Белинцев, 1990), но морфогенез волосковых клеток доказывает, что автоколебания являются естественным и потому неизбежным следствием самой геометрии движения оболочки, независимо от ее внутренней структуры и биохимической подоплеки макроскопического движения системы.

Для активной оболочки принцип механического равновесия требует, чтобы при увеличении кривизны ее участков действующее на них внутреннее давление возрастало и, наоборот, падало при уменьшении кривизны. В фазовом пространстве $\{\hat{C}, S^*\}$, где \hat{C} – усредненная кривизна, а S^* – удельная (на единицу объема) площадь участка, кривая зависимости $\hat{C}(S^*)$ имеет две нисходящие и одну восходящую ветвь (рис. 11). Обе нисходящие ветви подразумевают отрицательную обратную связь между площадью поверхности и ее кривизной, возникающую в случае, когда движение элементов поверхности не имеет планарной компоненты. Наибольший интерес представляет восходящая ветвь, где между кривиз-

ной поверхности и ростом ее удельной площади действует положительная обратная связь из-за возникновения в клеточной оболочке активных механических напряжений, растущих вместе с увеличением кривизны оболочки и площади ее поверхности. Далее остается применить обычное для исследования автоколебаний построение, которое мы заимствовали у Белинцева (1990), часто применявшего его к морфогенетическим моделям.

Прямая линия $\hat{C} = kS^*$ при очень малой и при очень большой величине коэффициента k пересекает нисходящие ветви кривой $\hat{C}(S^*)$, что соответствует отсутствию автоколебаний – угасанию роста оболочки, имеющей слишком большую площадь при относительно небольшой величине внутреннего давления (рис. 11, *a*) или же слишком малую площадь при большой кривизне (рис. 11, *б*). Автоколебательный режим возникает при промежуточных значениях коэффициента k в любой точке пересечения прямой линии с восходящей ветвью (рис. 11, *в*).

Допустим, что морфогенетический цикл начинается с верхней горизонтальной ветви (рис. 11, *в*; *). Удельная площадь поверхности уменьшается при неизменной величине усредненной кривизны \hat{C} – это означает, что кривизна разных участков клеточной оболочки выравнивается, практически не изменяя своего среднего значения. С этого момента оболочка “упирается” в собственные края, и дальнейший рост площади поверхности ведет к увеличению сил латерального (тангенциального) давления, “рас-

талкивающего” ее участки. Пространственно однородная форма утрачивает устойчивость, поэтому следующая (нисходящая) ветвь фазового потока соответствует уменьшению кривизны и удельной площади дистальной зоны оболочки в результате перехода клетки к U -образной форме. Далее система переходит на нижнюю горизонтальную ветвь фазового потока: удельная площадь поверхности возрастает из-за возникновения одного (рис. 11, ϵ) или нескольких локальных вздутий, “выдавливаемых” из нее теми же силами латерального давления. Кривизна соседних с ними участков при этом уменьшается, поэтому величина C^{\wedge} остается практически неизменной. Наконец кривизна (восходящая ветвь фазового потока) начинает расти для всей дистальной поверхности одновременно с уменьшением ее удельной площади, и цикл замыкается.

Замена локальных характеристик кривизны ее усредненной по всей поверхности величиной C^{\wedge} нужна потому, что активные напряжения, без которых не было бы автоколебаний, возникают только при геометрически неоднородном движении. Для восходящих и нисходящих фазовых потоков еще можно было бы обойтись без такой замены, но этого нельзя сделать для горизонтальных ветвей. Для них настоящей динамической переменной является пространственная дисперсия кривизны, возрастающая на нижней ветви, т.е. при малой величине усредненной кривизны, и падающая на верхней ветви фазовой кривой.

Поэтому величину S^* следовало бы, конечно, заменить величиной дисперсии локальной кривизны клеточной поверхности, но при упрощенном описании морфогенетического цикла можно считать, что он описывается системой уравнений точечной (локальной) динамики (рис. 11, I), где переменная S^* является математическим аналогом “активатора”, а переменная C^{\wedge} — аналогом “ингибитора”. Функция $f(S^*, C^{\wedge})$ имеет S -образную форму, и единственное требование к ней — наличие восходящей ветви, где между активатором и ингибитором действует положительная связь и любая точка фазовой кривой является точкой неустойчивого равновесия (Белинцев, 1990).

Положительная связь получается потому, что оболочка не только растягивается под действием внутреннего давления P , но и изгибается, как упругая пластина, а изгиб увеличивает ее кривизну. Одновременный рост площади и кривизны оболочки ведет к увеличению под ней внутреннего давления, а значит, к еще большему ее растяжению. В то же время рост кривизны оболочки увеличивает ее сопротивление внутреннему давлению, действуя как ингибитор роста ее площади (рис. 11, II). Таким образом, сама геометрия движения содержит в себе необходимые и достаточные условия для возникновения автоколебаний. В автоколебаниях обычно различают действие и подготовку к нему: в описанной модели “действием” следует считать из-

менение (сглаживание или возникновение) пространственного рельефа оболочки, а “подготовкой к действию” — увеличение или уменьшение усредненной кривизны, ведущее к потере устойчивости исходной формы.

Принципиальное отличие цикла, изображенного на рис. 11, ϵ , от обычного автоколебательного режима состоит в чередовании локальной (восходящая и нисходящая ветвь) и нелокальной (горизонтальные ветви) динамики. “Действие” происходит либо при исчерпании пространственной дисперсии, либо, наоборот, при ее возникновении. *Положительная обратная связь фактически возникает между ростом удельной площади поверхности и дисперсией ее кривизны, а отрицательная — между дисперсией кривизны и величиной ее среднего значения.* Тем самым автоколебательный режим становится потенциальным режимом пространственной дифференцировки — для этого достаточно, чтобы разность между локальной и усредненной кривизной клеточной поверхности была достаточно велика.

В описанной модели активатор и ингибитор являются переменными “одного темпа”, хотя считается, что в режиме пространственной дифференцировки ингибитор должен быть “быстрой”, а активатор — “медленной” переменной локальной динамики (Белинцев, 1990; Turing, 1952). Это, однако, верно лишь в том случае, когда обе переменные являются локальными характеристиками системы, например локальными концентрациями каких-нибудь веществ. В нашем случае дело обстоит иначе, так как связь между активными напряжениями и геометрией движения оболочки зависит не от локальной кривизны, а от величины ее пространственного разброса. Кривизна является не более быстрой, а более дальнедействующей переменной, чем удельная площадь, поскольку сила, действующая на данный участок, зависит от разности между его собственной кривизной и ее значением, усредненным для всей поверхности. Математически доказано (Белинцев, 1990; см. также: Ландау, Лившиц, 1976), что различие между близкодействующим активатором и дальнедействующим ингибитором является необходимым и достаточным условием возникновения пространственной самоорганизации.

В заключение заметим, что само по себе возникновение первичного зачатка луча является потенциальным источником пространственно-временной разметки дальнейшего морфогенеза волосковой клетки. Такой зачаток (U -образная трубка) является для клетки естественным геометрическим ребром жесткости (ср.: Мартынов, 1982), что заставляет второй зачаток развиваться как можно дальше от первого. В принципе это дает ключ к пониманию того, каким образом в ходе эволюции волосков возникает их онтогенез и, как следствие, видовые различия, что станет предметом следующего сообщения, где мы попытаемся дать общую картину эволюции морфогенеза волосковых клеток в пределах рода *Draba*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Арнольд В.И. Теория катастроф. М.: МГУ, 1993. 240 с.
- Белинцев Б.Н. Физические основы формообразования. М.: Наука, 1990. 251 с.
- Белоусов Л.В. Биологический морфогенез. М.: Наука, 1987. 239 с.
- Григорьева О.В. Изменчивость развития морфологических структур у *Draba daurica* L. (Brassicaceae) и определяющие ее факторы // Ботан. журн. 2006. Т. 91. № 9. С. 1341–1353.
- Ландау Л.Д., Лившиц Е.М. Статистическая физика. М.: Наука, 1976. 320 с.
- Мартынов Л.А. Роль макроскопических процессов в формообразовании (физические и математические модели). Математическая биология развития. М.: Наука, 1982. С. 135–155.
- Тимошенко С.П., Войнаровский-Кригер С. Пластины и оболочки. М.: Наука, 1966. 300 с.
- Черданцев В.Г. Морфогенез и эволюция. М.: Изд-во КМК, 2003. 360 с.
- Belousov L.V. The dynamic architecture of a developing organism. N.Y.: Cluwer Acad. Publ., 1998. 390 p.
- Folkers U., Berger J., Hulskamp M. Cell morphogenesis of trichomes in *Arabidopsis*: differential regulation of primary and secondary branching by branch initiation regulators and cell size // Development. 1997. V. 124. P. 3779–3786.
- Goodwin B.C. How the leopard changed its spots. The evolution of complexity. L.: Weidenfeld and Nicolson, 1994. 420 p.
- Green P. Transductions to generate plant form and pattern: an essay on cause and effect // Ann. Bot. 1996. V. 79. P. 269–281.
- Hulskamp M., Folkers U., Schnittger A. Trichome development in *Arabidopsis thaliana* // Int. Rev. Cytol. 1998, V. 186. P. 147–178.
- Kropf D.L., Bisgrove S.R., Hable W.E. Cytoskeletal control of polar growth in plant cells // Curr. Opin. Cell Biol. 1998. V. 10. P. 117–122.
- Larkin J.C., Young N., Prigge M., Marks M.D. The control of trichome spacing and number in *Arabidopsis* // Development. 1996. V. 122. P. 997–1005.
- Luo D., Oppenheimer D.G. Genetic control of trichome branch number in *Arabidopsis*: the roles of the *FURCA* loci // Ibid. 1999. V. 126. P. 5547–5557.
- Oppenheimer D. Genetics of plant cell shape // Curr. Opin. Plant Biol. 1998. V. 1. P. 520–524.
- Schwab B., Folkers U., Ilgenfritz H., Hulskamp M. Trichome morphogenesis in *Arabidopsis* // Proc. Roy. Soc. L. B. 2000. V. 355. P. 879–883.
- Turing A.M. The chemical basis of morphogenesis // Ibid. 1952. V. 237. P. 37–72.
- Uphof J.C.T. Plant hairs / Eds. Zimmermann W., Ozenda P.G. V. 5. Berlin: Gerb. Bornträger, 1962. 205 p.

Geometry and Mechanics of the Morphogenesis of Active Membranes on the Example of Plant Trichome Cells of the Genus *Draba* L.

V. G. Cherdantsev and O. V. Grigor'eva

Moscow State University, Vorob'evy gory, Moscow, 119899 Russia
e-mail: arnosnew@mail.ru

Received December 24, 2009; in final form, January 11, 2010

Abstract—The stages of the early morphogenesis of simple (unbranched) and complex (branched) unicellular trichomes are studied in two species of the genus *Draba*—*D. sibirica* (Pall.) Thell. and *D. daurica* DC. The geometry of morphogenesis is estimated by analyzing intraindividual variation of quantitative morphological characteristics of the developing leaf blade and peduncle trichomes. The surface of all types of trichome cells first acquires a spherical shape, followed by a *U*-shaped configuration with cylindrical proximal and spherical distal regions. In the development of complex trichomes, the area of the distal zone grows at a higher rate, which leads to separation of its volume into individual spherical regions, the morphogenesis of which repeats the early morphogenetic stages of the overall trichome cell, forming simple (unbranched) or complex (branched) trichome rays. As a rule, the lateral polarity of a trichome cell coincides with the proximodistal polarity of the leaf. Quantitative morphological data make it possible to infer an algorithm of the changes in shape common for all trichome cells, namely, the growth cycle comprising alternation of the phases of increase and decrease in the curvature of the outer cell surface. This surface is an active membrane expanded by the internal pressure and concurrently capable of actively increasing its area by incorporation of new structural elements. A distinctive feature of the proposed model is the geometrical inhomogeneity of the surface movement, changing the radius of curvature and creating internal (active) mechanical stresses in this membrane. A decrease in the ratio of the membrane surface area to the volume deprives the spatially homogeneous shape of its stability; correspondingly, the transition from elastic resistance to internal pressure to active resistance with the help of curvature differentiation becomes more energetically favorable. The source for growth and morphogenesis of the active membrane is alternation of the phases of local curvature leveling, which “charges” the membrane with active mechanical stresses and “discharge” of these stresses, leading to differentiation of the membrane’s local curvatures.

Key words: morphogenesis, quantitative morphology, movement geometry, growth cycle, unicellular trichomes, branching, genus *Draba* L.