

2. Котлова, Е. Р. Антиокислительные системы лишайников: дисс. канд. биол. наук: 03.00.1203.00.24 / Котлова Екатерина Робертовна; Ботанический институт им. В. Л. Комарова. – Санкт-Петербург, 2000. – 199 с.
3. Ладыгин В. Г. Пути биосинтеза, локализация, метаболизм и функции каротиноидов в хлоропластах различных видов водорослей. / В. Г. Ладыгин // Вопросы современной альгологии. – Пущино, 2014. – 87 с.
4. Bolwell G.P., Bindschedler L.V., Blee K.A., Butt V.S., Davies D.R., Gardner S.L., et al. The apoplastic oxidative burst in response to biotic stress in plants: a three-component system // Journal of Experimental Botany. 2002.- Vol. 53.- P. 1367–1376.
5. Валитова Ю.Н., Хабибрахманова В.Р., Гурьянов О.П., Уваева В.Л., Хайруллина А.Ф., Рахматуллина Д.Ф., Галеева Е.И., Трифонова Т.В., Викторова Л.В., Минибаева Ф.В. // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2023.- Т.13.- № 4.- С.532-542.
6. Hashimoto H., Uragami C., Cogdell R.J. “Carotenoids and photosynthesis,” in Carotenoids in Nature. Springer: Cham, Switzerland, 2016. P. 111

Механизмы регуляции разных сценариев ксилогенеза на примере карельской березы: взаимодействие ауксинового и АФК-сигналинга

**Галибина Н. А.^{А*}, Мощенская Ю. Л.^А, Тарелкина Т.В.^А,
Никерова К. М.^А, Горшкова Т. А.^Б, Горшков О. В.^Б,
Корженевский М. А.^А, Серкова А. А.^А, Чирва О. В.^А**

^А *Институт леса – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», Петрозаводск, Россия.*

**E-mail: 181102@mail.ru*

^Б *Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, Россия.*

В последнее время во всем мире растет интерес к изучению молекулярных механизмов, регулирующих формирование тканей ствола древесных растений. Поиск путей эффективного управления ксилогенезом актуален как с точки зрения повышения продуктивности растений, так и получения древесины с заданными свойствами. Все многообразие структурных элементов флоэмы и ксилемы образуется из стволовых клеток латеральной меристемы – камбия. Несмотря на впечатляющие достижения в клеточной, молекулярной и структурной биологии, наше понимание взаимодействия сигнальных путей при разных сценариях ксило- и флоэмогенеза даже для модельных растений *Arabidopsis* и *Populus* все еще фрагментарно.

Объектами нашего исследования являются две формы березы повислой: обычная береза повислая (*Betula pendula* Roth var *pendula*) с типичной

для вида прямослойной древесины и карельская береза (*B. pendula* var. *carelica* (Merckl.) var. *Hämet-Ahti*) с узорчатой (аномальной по структуре) древесиной ствола. Хорошо известно, что растения карельской березы различаются между собой по времени начала и моделям развития узорчатой древесины в онтогенезе, у некоторых деревьев узорчатая древесина формируется только на одной стороне ствола. Участки со структурными аномалиями в древесине карельской березы содержат гораздо меньше сосудов по сравнению с древесиной обычной березы. Структурные нарушения в ксилеме карельской березы тесно связаны с изменением строения проводящей флоэмы: узорчатые деревья карельской березы формируют более узкие приросты проводящей флоэмы, содержащие меньшее число ситовидных трубок, по сравнению с деревьями березы повислой. Рисунок древесины карельской березы создается в результате изменения программ дифференцировки производных камбия: вместо сосудов, волокон, ситовидных элементов образуются крупные скопления клеток паренхимы.

Сниженная плотность сосудов в узорчатой древесине карельской березы так же, как и нарушение их пространственной ориентации, указывают на снижение свободного (физиологически активного) ауксина. Мы выявили, что уровень экспрессии *BpARF5*, ключевого регулятора ауксин-зависимого формирования сосудистого рисунка, в аномальных участках карельской березы существенно понижен со стороны камбиальной зоны и, особенно, в дифференцирующейся ксилеме, по сравнению с прямослойной древесиной обычной березы. Ранее мы идентифицировали гены, кодирующие основные ферменты биосинтеза, транспорта и конъюгации ауксина, и изучили паттерны их экспрессии при разных сценариях ксилонеза. Мы показали, что у карельской березы формирование тканей ствола происходит при повышенной экспрессии генов, вовлеченных в биосинтез ауксина (*Yucca*), полярный транспорт ауксина (*PIN*) и конъюгацию ауксина с аминокислотами (*GH3*) и УДФ-глюкозой (*UGT84B1*). Вероятно, инактивация ауксина является важной составляющей механизма нарушения структуры древесины у карельской березы. Высказано предположение, что карельскую березу можно рассматривать, как ауксин-дефицитный фенотип.

Мы идентифицировали транскриптомные профили развивающихся тканей ствола у двух форм березы повислой и выявили дифференциально экспрессируемые гены (DEGs) у узорчатых растений карельской березы в период формирования поздней флоэмы. Комплекс тканей, отобранных для анализа транскриптома, включал делящиеся и дифференцирующиеся ткани (несколько слоев дифференцирующейся ксилемы, расположенных рядом с камбием, камбиальную зону, дифференцирующиеся клетки позд-

ней флоэмы), а также активно функционирующие внутренние слои флоэмы. Транскриптомное профилирование было реализовано на платформе Illumina NovaSeq 6000 / NovaSeq X Plus (Novogene). В общей сложности у березы повислой 64.3 % (18918 из 29414) всех транскриптов экспрессировались в исследованных тканях ствола. Из них дифференциально экспрессируемых генов (DEGs) – 1168 ($p_{\text{adj.}} < 0.01$ и $\text{Log}_2(\text{FC}) > / < 2$). Среди DEGs 75 экспрессировались в анализируемых тканях только у *B. pendula* var. *pendula*, 465 – только у *B. pendula* var. *carelica*, 563 – у обеих форм березы. В докладе обсуждаются некоторые пути, связанные с (1) метаболизмом триптофана и синтезом ауксина, (2) MAPK (mitogen activated protein kinase) сигнальным путем; (3) путем взаимодействия растения с патогеном (plant-pathogen interaction), а также (5) биосинтезом вторичных метаболитов.

Одним из механизмов инактивации ауксина, наряду с конъюгацией и депонированием во внутриклеточных компартментах, является окисление гормона. У различных растений идентифицирована небольшая группа генов DAO, кодирующих oxxygenase superfamily protein со специфической ИУК-оксидазной активностью (DAO; 2-oxoglutarate and Fe(II)-dependent oxxygenase superfamily protein [KO:K23947] [EC:1.14.11.-]). Установлено, что гены DAO специфичны для покрытосеменных и не присутствуют в геномах растений других систематических групп, в том числе голосеменных. Мы показали, что экспрессия DAO в 2-2.5 раз выше в тканях ствола карельской березы, по сравнению с обычной березой повислой. Роль генов DAO в поддержании гомеостаза ауксина в тканях покрытосеменных древесных растений в настоящее время до конца не изучена.

Считается, что ослабление рецепции ауксина и его сигналинга усиливает толерантность к пероксиду водорода – одной из основных АФК. В докладе рассматривается роль регуляторной системы обратной связи LBD (*LBD* – гены, содержащие LATERAL ORGAN BOUNDARIES (LOB) DOMAIN) – АФК, которая, как было показано на примере растений *Arabidopsis*, участвует в поддержании редокс-гомеостаза, специфичного для камбия и радиального роста. Установлено, что фактор транскрипции LBD11 активирует экспрессию нескольких ключевых генов метаболизма АФК, включая *RBOH D, F* (*RESPIRATORY BURST OXIDASE HOMOLOGS D, F*), а также *PEROXIDASE*, для генерации локальных максимумов АФК в камбии, которые, в свою очередь, усиливают пролиферацию камбиальных клеток. По механизму отрицательной обратной связи более высокие уровни АФК затем подавляют экспрессию *LBD11* и поддерживают баланс пролиферации камбиальных клеток.

Существует достаточное количество сведений о том, что пероксид водорода может регулировать ауксиновый сигналинг, тем самым, влияя

на ростовые процессы в растениях. Было показано, что пероксид водорода подавляет экспрессию ауксин-зависимых генов через активацию MAPK каскада (ANP1–MPK3/6; MEKK1–MPK4), который играет ключевую роль в передаче сигналов окружающей среды и связывает сигналы от внешних стимулов с изменениями в клеточной организации или экспрессии генов. Модули MAPK фосфорилируют последующие сигнальные мишени, включая другие киназы, ферменты, цитоскелетные белки или факторы транскрипции. Мы установили, что 22 DEGs (гомологичны 15 генам *Arabidopsis*) были вовлечены в MAPK сигнальный путь растений у *B. pendula*. Дифференциальная экспрессия была показана для генов, вовлеченных в ответ на стимулы, связанные с АФК и влиянием патогенов (pathogenic infections). Выявленные DEGs представляют (1) модуль MAPKKK-MAPKK-MAPK, (2) гены, кодирующие вышерасположенные рецепторы, а также (3) нижерасположенные мишени. Среди генов модуля MAPKKK-MAPKK-MAPK, дифференциальная экспрессия показана для *MPK3* (mitogen-activated protein kinase) и *MKK9* (mitogen-activated protein kinase kinases). Среди рецепторов дифференциальная экспрессия показана для *OXI1* (*OXIDATIVE SIGNAL-INDUCIBLE1*), кодирующих серин/треонин киназу, чувствительную к широкому спектру H_2O_2 – генерируемых стимулов. Среди ниже MAPK-каскада расположенных мишеней дифференциальная экспрессия показана, в том числе, для генов *PR1* (*PATHOGENESIS-RELATED PROTEIN 1*) и *RBOHD*, *RBOHF*, кодирующих НАДФН-оксидазы, связанные с плазматической мембраной, и играющих важную роль в сигнальных путях, где в качестве первичных мессенджеров выступают АФК. Мы получили, что гены, гомологичные *MKK9*, *MPK3*, *RBOHD*, *PR1*, высоко экспрессировались ($TGR > 1000$) у карельской березы. Гены, гомологичные *RBOHF*, *PR1*, были уникальны для карельской березы и не экспрессировались ($TGR < 16$) у обычной березы повислой.

Идентификация и исследование экспрессии генов в процессах нормального и аномального ксилогенеза позволяет глубже и всесторонней постигнуть механизмы регуляции образования тканей ствола в норме. В этой связи, обычную березу повислую и ее форму – карельскую березу, можно рассматривать как уникальные объекты для изучения регуляции ксило- и флоэмогенеза у древесных растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке из средств федерального бюджета на выполнение государственного задания КарНЦ РАН (Институт леса КарНЦ РАН).