

Санкт-Петербургский государственный университет

На правах рукописи

Кузнецова Ксения Андреевна

**Система WOX-CLAVATA и ее мишени в регуляции развития запасяющего
корня и спонтанных опухолей у редиса посевного (*Raphanus sativus* L.)**

Научная специальность 1.5.7. Генетика

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:
кандидат биологических наук, доцент
Додуева Ирина Евгеньевна

Санкт-Петербург

2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1. Латеральные меристемы высших растений	15
1.1.1. Перцикл – плюрипотентная первичная меристема	19
1.1.2. Прокамбий и камбий – меристемы проводящих тканей	22
1.1.2.1. Регуляция активности камбия с помощью системы WOX-CLAVATA	24
1.1.2.2. Регуляция активности камбия с помощью других групп ТФ	30
1.1.2.3. Фитогормональная регуляция активности камбия.....	32
1.1.3. Феллоген – пробковый камбий	35
1.2. Факторы, влияющие на формирование запасающего корня	38
1.2.1. Коммуникация надземной и подземной частей растения и сигналы внешней среды в развитии запасающего корня	39
1.2.2. Метаболические изменения при развитии запасающего корня	41
1.3. Особенности редиса как объекта для изучения генетики развития запасающего корня.....	44
1.4. Опухоли высших растений	46
1.4.1. Опухоли высших растений, вызванные патогенами.....	49
1.4.2. Спонтанные опухоли растений	57
Спонтанные опухоли у межвидовых гибридов	58
Спонтанные опухоли у мутантов <i>Arabidopsis thaliana</i>	60
Спонтанные опухоли у инбредных линий.....	62
1.5. Заключение: Развитие корня редиса как комплексный признак.....	70
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	72
2.1. Растительный материал и условия выращивания растений	72
2.1.1. Растительный материал	72
2.1.2. Условия выращивания растений.....	74
2.2. Методы	74
2.2.1. Анализ данных секвенирования геномов линий редиса.....	74
2.2.2. Изучение роли генов, кодирующих компоненты систем WOX-CLAVATA, в развитии корня.....	79
2.2.3. Количественный анализ экспрессии генов	83
2.2.4. Анализ взаимодействий ТФ-ДНК.....	86

2.2.5. Статистическая обработка данных	87
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ	88
3.1. Анализ геномов двух линий генетической коллекции редиса, контрастных по способности к спонтанному опухолеобразованию	88
3.1.1. Оценка качества сборки геномов линий редиса	89
3.1.2. Идентификация генов, содержащих однонуклеотидные замены (SNP), инсерции и делеции (InDel) у опухолевой линии	91
3.1.3. Проверка наличия SNP и InDel у опухолевой линии с помощью секвенирования ампликонов	95
3.2. Идентификация, анализ последовательностей генов <i>RsWOX</i> и <i>RsCLE</i> редиса и предсказание доменной структуры кодируемых ими белков	117
3.2.1. Идентификация и хромосомная локализация генов <i>RsWOX</i> ; анализ структуры белков <i>RsWOX</i> у редиса	118
3.2.2. Идентификация и хромосомная локализация генов <i>RsCLE</i> ; анализ структуры белков <i>RsCLE</i> у редиса	123
3.3. Изучение влияния генов <i>RsWOX4</i> , <i>RsWOX14</i> и <i>RsCLE41</i> на развитие корнеплода и экспрессию генов редиса	128
3.3.1. Транскриптомный анализ корней редиса со сверхэкспрессией <i>RsCLE41</i>	128
3.3.2. Изучение влияния сверхэкспрессии <i>RsWOX4</i> и <i>RsWOX14</i> на развитие корня редиса	132
3.4. Поиск мишеней транскрипционных факторов <i>RsWOX4</i> и <i>RsWOX14</i>	136
3.4.1. Поиск возможных мишеней ТФ <i>RsWOX4</i> и <i>RsWOX14</i> <i>in silico</i>	136
3.4.2. Количественный анализ экспрессии генов-кандидатов в норме, при сверхэкспрессии и при сайленсинге гена <i>RsWOX4-2</i>	139
3.4.3. Анализ взаимодействия гомеодомена ТФ <i>RsWOX4</i> с промоторами генов-кандидатов с помощью дрожжевой одногибридной системы	141
3.5. Заключение: Идентификация регуляторов развития запасяющего корня и спонтанных опухолей у редиса	144
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ	146
ВЫВОДЫ	153
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	154
БЛАГОДАРНОСТИ	197
ПРИЛОЖЕНИЕ	198

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АБК – абсцизовая кислота

АМК – апикальная меристема корня

АПМ – апикальная меристема побега

ИУК – индолил-3-уксусная кислота

ЛМ - латеральная меристема

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ПЦР-РВ – полимеразная цепная реакция в реальном времени

ЦК – цитокинин

ТФ – транскрипционный фактор

CLE – CLAVATA3/EMBRYO SURROUNDING REGION-related

HD-ZIPIII – HOMEODOMAIN-LEUCINE ZIPPER класса III

InDel – **i**nsertion or **d**eletion of bases

SNP – single nucleotide polymorphism

SNV - single nucleotide variant

TDIF –Tracheary Element Differentiation Inhibitory Factor

TDR/PXY – TDIF RECEPTOR/PHLOEM INTERCALATED WITH XYLEM

WOX – WUSCHEL-RELATED HOMEОBOX

3-АТ – 3-аминотриазол

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Формирование запасающего корня - явление, в основе которого лежит работа генов, контролирующих активность латеральной меристемы - камбия, а также различных внешних сигналов и метаболических изменений (см. обзор Кузнецова и др., 2020). Изучение процессов деления и дифференцировки клеток у высших растений является одной из наиболее актуальных задач современной генетики развития растений. Механизмы генетического контроля латеральных меристем, в том числе вторичных, к которым относится камбий, в настоящее время активно исследуются (Turley and Etchells, 2022, Fernández-Piñán et al., 2021, Ikeuchi et al., 2022). Одним из важнейших регуляторов активности камбия является система WOX-CLAVATA. Она представляет собой высоко консервативный регуляторный модуль, включающий в себя пептиды семейства CLAVATA3/EMBRYO SURROUNDING REGION-related (CLE), их рецепторы, а также мишени - гены, кодирующие гомеодомен-содержащие транскрипционные факторы (ТФ) семейства WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN (WOX). Этот модуль контролирует поддержание стволовых клеток и различных меристем (Stahl and Simon, 2009; Lee and Torii, 2012).

Вместе с тем, исследования функций модуля WOX-CLAVATA в развитии запасающего корня в настоящее время находятся на начальном этапе (Hoang et al., 2020; Кузнецова и др., 2020; Kuznetsova et al., 2022). Редис посевной (*Raphanus sativus* L.) как однолетняя культура, родственная модельному объекту генетики *Arabidopsis thaliana*, является перспективным модельным объектом для изучения генетики развития запасающего корня. Согласно данным сравнительного анализа транскриптомов (Hoang et al., 2020), разные виды растений с запасающим корнем характеризуются изменением экспрессии одних и тех же регуляторных генов в ходе роста корнеплода, и, следовательно, механизмы развития запасающего корня могут быть сходными у разных видов. Таким образом, данные, полученные на редисе, могут быть экстраполированы на другие сельскохозяйственные культуры с запасающим корнем. Изучение генетического контроля формирования запасающего корня, в частности у редиса посевного, является актуальной задачей для современной биологии и сельского хозяйства. Наша работа вносит вклад в изучение функций генов-регуляторов развития запасающего корня, которые могут

быть использованы как мишени для геномного редактирования при создании улучшенных форм корнеплодных культур.

Степень разработанности темы. Корнеплодные культуры входят в число наиболее массово культивируемых сельскохозяйственных растений (Fernie, Yan, 2019), и изучение механизмов развития запасающего корня в настоящий момент является значимым для решения задач генетики растений. Запасающий корень формируется как результат интенсивного вторичного роста корня за счет высокой активности латеральной меристемы - камбия. Генетический контроль регуляции развития камбия, в том числе роль консервативных меристемных регуляторов в контроле его активности, также исследуется в последнее десятилетие. Так, был выявлен ряд регуляторов активности камбия и формирования запасающего корня, в том числе: 1. фитогормоны: цитокинины (ЦК), индолил-3-уксусная кислота (ИУК), пептидные фитогормоны; 2. ТФ, включая белки семейства *WOX*; и 3. эпигенетические регуляторы. Пептидные гормоны *CLE* относятся к группе мобильных регуляторов экспрессии меристемных генов, в частности, генов *WOX* – консервативных регуляторов развития меристем (Hirakawa and Bowman, 2015; Yamaguchi et al., 2016). Пептиды *CLE* и ТФ *WOX* играют центральную роль в развитии камбия (Hirakawa et al., 2010) и формировании запасающих корней, в том числе у редиса (Gancheva et al., 2016; Ганчева и др., 2018). В связи с этим, в задачи работы входит изучение механизмов действия ТФ *WOX4* и *WOX14* и пептида *CLE41* в развитии запасающего корня редиса.

В нашей работе были использованы линии генетической коллекции инбредных линий редиса, которая была создана и поддерживается на кафедре генетики и биотехнологии СПбГУ (Нарбут, 1966; Бузовкина, Лутова, 2007). Генетическая коллекция редиса является источником материала для изучения генетики развития запасающего корня. В коллекции имеются линии, различающиеся по характеристикам запасающего корня, в том числе с аномалиями его развития, такими, как спонтанные опухоли, формирующиеся на корнеплодах определенных линий.

Таким образом, в задачи работы также входит изучение механизмов развития спонтанных опухолей у инбредных линий редиса. Опухоли возникают вследствие нарушения процессов системного контроля деления клеток на уровне отдельных органов или целого организма. Большая часть исследований опухолеобразования у растений была проведена на примере опухолей,

индуцированных фитопатогенами. Исследований, посвященных спонтанным опухолям растений, имеется мало: они встречаются редко в связи с наличием у растений «гибкой» системы регуляции общего плана строения тела с множеством обратных связей (Dodueva et al., 2020). В связи с этим, изучение механизмов развития спонтанных опухолей способствует выявлению системных регуляторов пролиферации клеток у высших растений. Так, при изучении спонтанных опухолей у мутантов арабидопсис и межвидовых гибридов табака были выявлены новые участники системного контроля деления клеток растений, в число которых входят, например, регуляторы клеточной адгезии (Frank et al., 2002; Krupkova et al., 2007).

Спонтанные опухоли у инбредных линий редиса формируются на корне и являются производными латеральной меристемы - камбия (Lebedeva et al., 2015), которая вносит основной вклад в развитие запасяющего корня. Следовательно, их изучение позволит получить новые данные о функциях камбиальных регуляторов, которые играют роль в формировании запасяющего корня, в более «общих» процессах, таких как системный контроль деления клеток растений.

Цель работы: изучение роли меристемных регуляторов, принадлежащих к системе WOX-CLAVATA, в процессе роста и развития корня у редиса посевного (*Raphanus sativus* L).

Для достижения цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Анализ геномов двух линий генетической коллекции редиса, контрастных по способности к спонтанному опухолеобразованию:

1.1. Оценка качества сборки геномов линий редиса;

1.2. Идентификация генов, содержащих однонуклеотидные замены (SNP), инсерции и делеции (InDel) у опухолевой линии;

1.3. Проверка наличия SNP и InDel у опухолевой линии с помощью секвенирования ампликонов.

2. Идентификация, анализ последовательностей генов *RsWOX* и *RsCLE* редиса и предсказание доменной структуры кодируемых ими белков:

2.1. Идентификация и хромосомная локализация генов *RsWOX*; анализ структуры белков *RsWOX* у редиса;

2.2. Идентификация и хромосомная локализация генов *RsCLE*; анализ структуры белков *RsCLE* у редиса.

3. Изучение влияния генов *RsWOX4*, *RsWOX14* и *RsCLE41* на развитие корня и экспрессию генов редиса:

- 3.1. Транскриптомный анализ корней редиса со сверхэкспрессией *RsCLE41*;
- 3.2. Изучение влияния сверхэкспрессии *RsWOX4* и *RsWOX14* на развитие корня редиса;
4. Поиск мишеней транскрипционных факторов *RsWOX4* и *RsWOX14*:
 - 4.1. Поиск возможных мишеней ТФ *RsWOX4* и *RsWOX14 in silico*;
 - 4.2. Количественный анализ экспрессии генов-кандидатов в норме, при сверхэкспрессии и при сайленсинге гена *RsWOX4-2*;
 - 4.3. Анализ взаимодействия гомеодомена ТФ *RsWOX4* с промоторами генов-кандидатов с помощью дрожжевой одногибридной системы.

Научная новизна работы. Работа посвящена изучению роли меристемных регуляторов в развитии корня у редиса. Изучение генетических механизмов развития запасящего корня у разных видов растений в настоящий момент находится на начальном этапе исследований, и целый ряд данных был получен в этой работе впервые. Кроме того, в связи с редкой встречаемостью у растений в целом таких аномалий развития, как спонтанные опухоли, данных о механизмах их развития крайне мало, что также говорит о новизне настоящего исследования. В нашей работе впервые были получены сборки геномов родственных опухолеобразующей и безопухолевой линий редиса. Впервые были выявлены однонуклеотидные замены (single nucleotide polymorphism) и инсерции/делеции (InDels; **in**sertion or **d**eletion of bases), различающие линии редиса, контрастные по способности к спонтанному опухолеобразованию. В полученных сборках геномов были идентифицированы гены-регуляторы развития меристем, в том числе меристем запасящего корня (гены семейств *WOX* и *CLE*), проведен анализ последовательностей соответствующих белков. Впервые был проведен транскриптомный анализ растений со сверхэкспрессией гена *RsCLE41-1*. Впервые была выявлена вероятная прямая мишень транскрипционного фактора *RsWOX4*, играющего центральную роль в контроле активности камбия – ген *RsLOG3*, кодирующий фермент биосинтеза цитокининов. Таким образом, работа характеризуется высокой степенью научной новизны.

Практическая и теоретическая значимость работы. В нашей работе был осуществлен поиск новых генов-кандидатов на роль регуляторов развития запасящего корня на модели редиса посевного. Проведен анализ анатомии корня и экспрессии генов у растений с измененным уровнем экспрессии генов-регуляторов развития камбия *RsCLE41*, *RsWOX4* и *RsWOX14*, что позволило

получить данные об их роли в развитии запасающего корня. Важным результатом является выявление мишени основного регулятора активности камбия - транскрипционного фактора RsWOX4: это ген *RsLOG3*, кодирующий фермент биосинтеза цитокининов. Гены *RsWOX4* и *RsLOG3* в дальнейшем могут стать мишенями для геномного редактирования редиса, направленного на улучшение важных для сельского хозяйства признаков этой культуры.

Теоретическая значимость результатов работы заключается в идентификации и анализе последовательностей генов семейств *RsCLE* и *RsWOX* редиса и изучении функций определенных представителей этих генных семейств, а также их вероятных генов-мишеней, что вносит вклад в область генетики развития растений. Важной задачей работы является изучение спонтанного опухолеобразования у инбредных линий редиса. Секвенирование и сравнительный анализ геномов опухолевой и безопухолевой родственных линий редиса дают возможность для выявления генов-кандидатов на роль регуляторов спонтанного опухолеобразования и системного контроля деления клеток.

Методология и методы исследования. В работе использован широкий круг молекулярно-генетических и биоинформатических методов. *Для анализа данных секвенирования геномов линий редиса* применяли методы биоинформатики, позволяющие проводить секвенирование, сборку, аннотацию геномов, а также поиск различий по однонуклеотидным заменам и инсерциям/делециям. *Для изучения роли генов, кодирующих компоненты систем WOX-CLAVATA,* использовали методы *in silico* анализа последовательностей, методы филогенетического анализа, методы выделения ДНК, полимеразную цепную реакцию (ПЦР), систему Gateway для клонирования генов, трансформацию бактерий и растений, методы световой микроскопии. *Для количественного анализа экспрессии генов* применяли РНК-секвенирование транскриптомов и методы анализа транскриптомных данных, а также ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ). *Для анализа взаимодействий TF WOX4 с промоторами предполагаемых генов-мишеней* использовали метод дрожжевой одногибридной системы. Для проверки достоверности результатов исследования применяли комплекс статистических методов.

Степень достоверности и апробация результатов. Основные результаты диссертационной работы были доложены и обсуждены на 6 международных конференциях и опубликованы в 6 статьях в рецензируемых научных изданиях:

1. **Kuznetsova, X.**; Dodueva, I.; Afonin, A.; Gribchenko, E.; Danilov, L.; Gancheva, M.; Tvorogova, V.; Galynin, N.; Lutova, L. Whole-Genome Sequencing and Analysis of Tumour-Forming Radish (*Raphanus sativus* L.) Line. *Int. J. Mol. Sci.* 2024. Vol. 25. P. 6236.
2. **Kuznetsova KA**, Dodueva IE, Lutova LA. The homeodomain of the *Raphanus sativus* *WOX4* binds to the promoter of the *LOG3* cytokinin biosynthesis gene. *Ecological genetics.* 2024a. Vol. 22, №. 1. P. 33–46.
3. **Kuznetsova K.**, Efremova E., Dodueva I., Lebedeva M., Lutova L. Functional Modules in the Meristems: “Tinkering” in Action. *Plants (Basel).* 2023. Vol. 12, №. 20. P. 3661;
4. **Kuznetsova K.**, Dodueva I., Gancheva M., Lutova L. Transcriptomic Analysis of Radish (*Raphanus sativus* L.) Roots with *CLE41* Overexpression. *Plants (Basel).* 2022. Vol. 11, №. 16. P. 2163;
5. Tkachenko A., Dodueva I., Tvorogova V., Predeus A., Pravdina O., **Kuznetsova K.**, Lutova L. Transcriptomic Analysis of Radish (*Raphanus sativus* L.) Spontaneous Tumor. *Plants (Basel).* 2021. Vol. 10, №. 5. P. 919;
6. **Кузнецова К.А.**, Додуева И.Е., Паутов А.А., Крылова Е.Г., Лутова Л.А. Генетический контроль развития запасающего корня. *Физиология растений.* 2020. Т. 67, №4 С. 589-605.

Иные публикации по теме диссертации:

1. **Кузнецова К.А.**, Ефремова Е.П., Бузовкина И.С., Додуева И.Е., Лутова Л.А. Станислава Иосифовна Нарбут — создательница первой в России генетической коллекции редиса. *Экологическая генетика.* 2023. Т. 21. № 2. С. 167–182.
2. Dodueva I.E., Lebedeva M.A., **Kuznetsova K.A.**, Gancheva M.S., Paponova S.S., Lutova L.A. Plant tumors: a hundred years of study. *Planta.* 2020. Vol. 251, №. 4. P. 82

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения и четырех разделов. Общий объем диссертации составляет 203 страницы с 40 рисунками и 7 таблицами. Список литературы содержит 585 наименований.

Основные научные результаты.

1) Получены сборки геномов двух инбредных линий из генетической коллекции редиса, контрастно различающихся по способности к спонтанному

опухолеобразованию. У опухолеобразующей линии идентифицированы 108 генов с однонуклеотидными заменами, влияющими на последовательность кодируемых белков (Kuznetsova et al., 2024a; основные результаты представлены на страницах 4-10; степень личного участия 80%: получение растительного материала, биоинформатический анализ, подготовка иллюстраций для статьи, написание 18 из 20 страниц текста статьи, подготовка статьи к публикации).

2) В геномах инбредных линий редиса идентифицированы гены, кодирующие компоненты системы WOX-CLAVATA, определена их хромосомная локализация (Kuznetsova et al., 2024a; основные результаты представлены на страницах 6-9; степень личного участия 80%: получение растительного материала, биоинформатический анализ, хромосомная локализация генов, подготовка иллюстраций для статьи, написание 18 из 20 страниц текста статьи, подготовка статьи к публикации).

3) Выявлены новые предполагаемые мишени сигнального пептида RsCLE41 (Kuznetsova et al., 2022; основные результаты представлены на страницах 12-14; степень личного участия 80%: методология эксперимента, выделение РНК, анализ транскриптома, визуализация данных, валидация данных, написание 14 из 19 страниц текста статьи, подготовка статьи к публикации).

4) Показано взаимодействие ТФ RsWOX4 с сайтом ТААТСС в промоторе гена *RsLOG3*, регулирующего биосинтез цитокининов (Kuznetsova et al., 2024b; основные результаты представлены на страницах 5-8; степень личного участия 80%: получение растительного материала, получение конструкций для трансформации растений, *in silico* анализ, постановка эксперимента с дрожжевой гибридной системой, гистологический анализ, статистический анализ, анализ полученных данных, написание 12 из 14 страниц текста, подготовка статьи к публикации).

5) Проведен обширный анализ данных по мишеням и механизмам действия консервативного систем WOX-CLAVATA у разных видов высших растений, в том числе при развитии запасяющего корня (Кузнецова и др., 2020; основные результаты представлены на странице 14; степень личного участия 80%, анализ данных по консервативной роли систем WOX-CLAVATA, ТФ и средовых факторов в контроле активности камбия и развития запасяющего корня у модельных объектов и корнеплодных культур, написание 15 из 18 страниц текста). Сформулирована концепция консервативных регуляторных модулей (генных

модулей), участвующих в разных аспектах развития растений, установлена связь с tinkering-концепцией, выдвинутой Ф. Жакобом в 1977 году (Kuznetsova et al., 2023; основные результаты представлены на странице 29; степень личного участия - 80%: формулировка концепции регуляторного модуля на молекулярном уровне в ходе развития растений; выявление значимости модульного принципа в регуляции развития систем органов растений (на примере меристем) и в ходе реализации молекулярных механизмов контроля развития; анализ данных по действию систем *WOX-CLAVATA* как наиболее консервативного генного модуля в развитии растений, написание 29 из 40 страниц текста).

б) На основе данных транскриптомного анализа опухолей редиса показано, что гены с выявленными различиями по InDel и SNP дифференциально экспрессируются у опухолевой линии 19. Показано, что уровни экспрессии генов *PCNA1* и *LOC108817684* повышаются в корнях редиса, а уровни экспрессии *SAUR32*, *ERF019*, *LRR-RK* и *ERF018* — снижаются (Tkachenko et al., 2021a; основные результаты представлены на страницах 12-14; степень личного участия 50%: выращивание растений, выделение РНК, анализ транскриптома по индивидуальным генам, проверка данных с помощью ПЦР в реальном времени, написание 6 из 20 страниц текста).

Положения, выносимые на защиту.

1. Впервые проведено секвенирование и анализ геномов инбредных линий редиса генетической коллекции СПбГУ, контрастно различающихся по способности к спонтанному опухолеобразованию. У опухолеобразующей линии генетической коллекции редиса СПбГУ по сравнению с безопухолевой линией выявлены 36 генов с однонуклеотидными заменами (SNP) и 72 гена с инсерциями/делециями (InDel), предположительно вызывающими потерю функции кодируемых белков.

2. Идентифицированы гены системы *WOX-CLAVATA* (24 гена семейства *WOX* и 52 гена семейства *CLE*) у линий коллекции, определена их хромосомная локализация. Гены *RsWOX4-1* и *2*, *RsWOX14*, *RsCLE41-1*, *2*, и *3*, *RsCLE42-1* и *2* предположительно участвуют в контроле активности камбия в соответствии с функциями их гомологов у других видов растений.

3. Показано, что сверхэкспрессия генов *RsWOX14* и *RsWOX4* вызывает изменение строения стелы корня и увеличение числа клеток вторичной ксилемы.

4. Выявлены новые предполагаемые мишени сигнального пептида RsCLE41 и транскрипционного фактора RsWOX4. Показано взаимодействие ТФ RsWOX4 с сайтом ТААТСС в промоторе гена *RsLOG3*, регулирующего биосинтез цитокининов.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Целью данной работы является изучение механизмов формирования запасающего корня, которое входит в число актуальных задач современной биологии развития и сельского хозяйства. Одним из наиболее перспективных объектов для изучения запасающего корня является редис посевной (*Raphanus sativus* var. *radicula* Pers.) - корнеплодная культура, родственная модельному объекту генетики *Arabidopsis thaliana*.

Редис принадлежит к семейству *Brassicaceae* (Капустные) и является разновидностью редьки посевной (*Raphanus sativus* L.). В настоящее время геном редиса секвенирован и аннотирован (Kitashiba et al., 2014; Xu et al., 2023). Диким предком редиса, как и редьки, является редька полевая *Raphanus raphanistrum* L. (Lewis-Jones et al., 1982). Редис - однолетнее растение с коротким сроком вегетации, для него характерно очень быстрое (в течение 30 дней и менее) разрастание стержневого корня и нижней части гипокотилия, что делает редис наиболее ранней корнеплодной культурой, а также перспективным объектом для изучения генетики развития запасающего корня. Как известно, развитие запасающего корня зависит от повышенной активности латеральной меристемы - камбия, из которого формируются проводящие ткани растения (Kuznetsova и др., 2020). Согласно анатомической классификации, редис формирует монокамбиальный корнеплод ксилемного типа – с одним камбиальным кольцом и дифференцировкой запасающей ксилемной паренхимы, которая составляет большую часть корнеплода этого растения (Сазанова, 1985; Zaki et al., 2012).

В СПбГУ поддерживается генетическая коллекция инбредных линий редиса, созданная путем самоопыления индивидуальных растений различных сортов (Нарбут, 1966; Бузовкина и Лутова, 2007). В коллекции имеются линии, происходящие из трех сортов и различающиеся по ряду маркерных признаков, в том числе по степени развития запасающего корня. Кроме того, в генетической

коллекции редиса имеются и линии с различными морфогенетическими аномалиями, в том числе – линии со спонтанным опухолеобразованием. Опухоли, морфологически и анатомически похожие на корончатый галл, индуцированный *Agrobacterium tumefaciens*, образуются на запасящем корне растений определенных линий редиса при переходе к цветению (Нарбут, 1967; Бузовкина, Лутова, 2007; Lebedeva et al., 2015). В связи со сложно регулируемой многоуровневой организацией системного контроля деления клеток, а также в связи с модульной организацией растительного организма (Kuznetsova et al., 2023), формы растений со спонтанными опухолями весьма редки. При этом они являются объектом интереса, поскольку при их изучении можно идентифицировать специфические для растений системные регуляторы пролиферации клеток (Dodueva et al., 2020). Согласно полученным данным, спонтанные опухоли на корнях редиса имеют камбиальное происхождение (Ильина и др., 2006; Lebedeva et al., 2015), а их формирование связано с повышением уровня свободных ЦК (Matveeva et al., 2004) и активацией экспрессии генов меристемных регуляторов (Лутова, Додуева, 2007; Lebedeva et al., 2015; Tkachenko et al., 2021a). Таким образом, изучение процессов, лежащих в основе формирования спонтанных опухолей, важно для понимания механизмов регуляции меристематической компетентности клеток камбия.

Несмотря на то что генетический контроль активности камбия в настоящий момент исследован достаточно подробно (Fischer et al., 2019; Wang et al., 2021a), роль отдельных камбиальных регуляторов в развитии запасящих корней находится в начальной стадии изучения (Gancheva et al., 2016; Ганчева и др., 2018; Кузнецова и др., 2020). В связи с этим, на кафедре генетики и биотехнологии СПбГУ проводится изучение генетических механизмов, лежащих в основе контроля активности камбия и развития запасящего корня, на модели редиса посевного. В частности, в работах сотрудников кафедры были изучены функции некоторых компонентов регуляторного модуля WOX-CLAVATA (см. ниже), контролирующего активность камбия и развитие проводящей системы, в формировании запасящего корня у редиса и его дикого предка *Raphanus raphanistrum* (Gancheva et al., 2016; Ганчева и др., 2018). Был получен ряд уникальных результатов: при изучении анатомии спонтанных опухолей у линий редиса была показана их меристемная природа (Lebedeva et al., 2015); была установлена связь локализации зон пролиферации клеток с распределением ИУК и

ЦК в тканях (Lebedeva et al., 2015; Matveeva et al., 2004); при транскриптомном анализе спонтанных опухолей показано усиление экспрессии большого количество генов, действующих на всех стадиях контроля клеточного цикла у растений (Tkachenko et al., 2021a). Вместе с тем, мы не можем с уверенностью сказать, какие именно гены определяют наличие спонтанных опухолей у одних линий редиса и отсутствие их у других. Выявление генов, последовательности которых различаются у опухолевой и безопухолевой линий, было важным шагом в этом направлении и одной из целей секвенирования геномов двух инбредных линий редиса, контрастных по опухолеобразованию.

Наша работа является продолжением ранее проведенных исследований развития запасающего корня и спонтанных опухолей у редиса посевного. Работа может внести вклад в понимание генетического контроля активности латеральной меристемы камбия, а также развития структур камбиального происхождения – запасающего корня и спонтанных опухолей.

1.1. Латеральные меристемы высших растений

Меристемы представляют собой сложно организованные совокупности растительных клеток, интенсивно делящихся и сохраняющих физиологическую активность на протяжении всего онтогенеза. Меристемы обеспечивают формирование новых органов и тканей и непрерывное увеличение массы растения. К общим свойствам меристем относятся:

- способность поддерживать недифференцированное состояние клеток и продуцировать клетки, способные к дифференцировке;
- наличие пула стволовых клеток;
- наличие организующих центров, в которых функционируют консервативные регуляторы - ТФ, поддерживающие недетерминированное состояние меристем.

По локализации меристемы делятся на апикальные: апикальная меристема побега (АМП), которая может трансформироваться в меристему соцветия, а затем в меристему цветка (флоральную меристему), и апикальная меристема корня (АМК), латеральные (прокамбий; перицикл; камбий, продуцирующий клетки ксилемы и флоэмы; пробковый камбий, или феллоген), интеркалярные (вставочные

меристемы междоузлий), маргинальные (меристемы краев листовых пластинок) и нерегулярные, или факультативные (меристемы клубеньков, раневого каллуса, галлов и опухолей, которые могут возникать как *de novo* при дедифференцировке клеток, так и из других меристем).

В данном обзоре литературы будут рассмотрены латеральные меристемы (ЛМ), поскольку объектом нашего исследования является запасающий корень инбредных линий редиса. Развитие запасающего корня связано с процессами вторичного утолщения, зависящими от активности ЛМ камбия (Кузнецова и др., 2020). Спонтанные опухоли, развивающиеся на корнях некоторых линий редиса, также являются производными ЛМ и имеют камбиальное или перициклическое происхождение (Lebedeva et al., 2015).

ЛМ располагаются параллельно боковой (латеральной) поверхности органа, в котором они находятся, и представляют собой тяжи или цилиндрические слои стеловых клеток, из которых формируются новые ткани. ЛМ обеспечивают такие важные процессы, как рост осевых органов утолщением (вторичный рост), формирование проводящей системы и защитных тканей, закладка вторичных АМ и ЛМ, регенерация, определенные типы взаимодействий с патогенами и симбионтами, запасание питательных веществ (что особенно важно для развития запасающего корня) и т.д. (Додуева и др., 2014; Serra et al., 2022). Расположение ЛМ в осевых органах растения и их изменения в процессе онтогенеза представлены на рисунке 1.

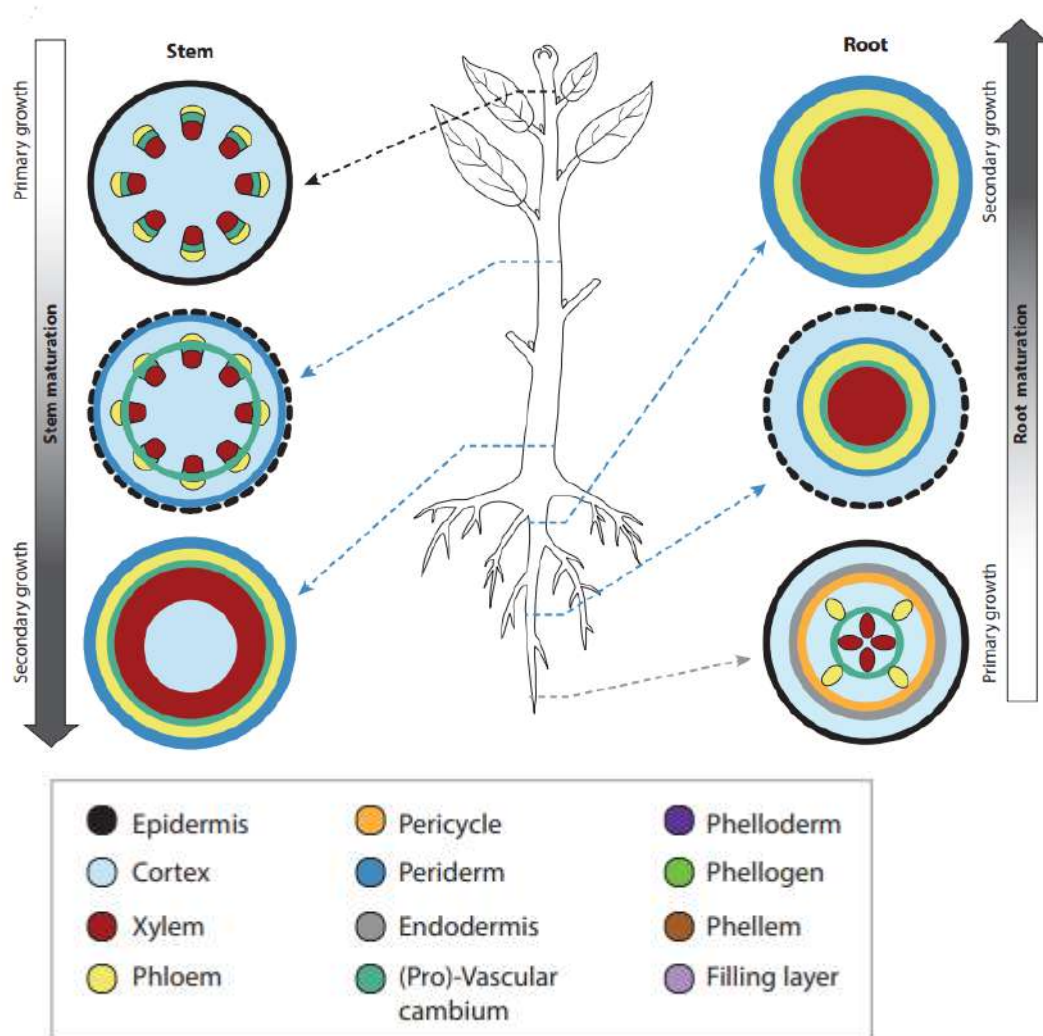


Рисунок 1. Локализация латеральных меристем и тканей в ходе развития стебля и корня (по Serra et al., 2022).

Среди ЛМ выделяют первичные, которые образуются в ходе эмбрионального развития, и вторичные, которые возникают в постэмбриональном развитии из первичных ЛМ. К первичным ЛМ относятся прокамбий и перицикл, к вторичным – камбий и пробковый камбий, или феллоген (Паутов и др., 2012). В ходе развития растения прокамбий дает начало проводящим тканям стебля и корня, обеспечивая их рост утолщением. Перицикл является наиболее плюрипотентной меристемой, дающей начало ЛМ (камбию, феллогену), АМ боковых корней, а также каллусу и АМ побегов при регенерации *in vitro* (см. обзор Додуева и др., 2014).

Развитие ЛМ регулируется рядом факторов, среди которых выделяют фитогормоны и ТФ. Центральную роль в ходе этого процесса играет антагонистическое взаимодействие ЦК и ИУК (Bishopp et al., 2011). Фитогормоны,

в частности, ИУК и ЦК, связаны многочисленными обратными связями с ТФ семейств *WOX* и *KNOX* (*KNOTTED1*-related homeobox), которые контролируют поддержание и пролиферацию стволовых клеток в меристемах. Первоначально такие данные были получены для АМ (Jasinski et al., 2005, Leibfried et al., 2005; Zhang et al., 2017; Tian et al., 2014), но в дальнейшем подобные связи были выявлены и в ЛМ, в частности, в камбии и феллогене (Suer et al., 2011; Smetana et al., 2019; Fu et al., 2021). Помимо *WOX* и *KNOX*, в регуляции развития ЛМ участвуют и другие семейства ТФ, например, несколько классов ТФ с гомеодоменом и лейциновой молнией (*HD-ZIP*) (Smetana et al., 2019) и ТФ *AINTEGUMENTA* (*ANT*) из семейства *APETALA2* (Randall et al., 2015). В целом можно сказать, что ТФ *WOX* в ЛМ, как и в прочих меристемах, являются «ТФ организующего центра» и регуляторами, поддерживающими пул стволовых клеток. Другие группы ТФ выполняют разнообразные функции: от закладки меристемы и пролиферации ее клеток до дифференцировки специфических тканей на ее периферии (Додуева и др., 2014; Кузнецова и др., 2020; Serra et al., 2022).

Также в контроле активности ЛМ (по крайней мере, камбия) важную роль играют пептидные фитогормоны *CLE* и их рецепторы, от которых зависит уровень экспрессии функционирующих здесь генов *WOX* (Hirakawa et al., 2010). Пептиды *CLE*, их рецепторы, относящиеся к семейству серин-треониновых рецепторных протеинкиназ с лейцин-богатыми повторами (leucine-rich repeat receptor kinases, *LRR-RK*), и их мишени - гены *WOX* - составляют так называемую систему *WOX-CLAVATA* – консервативный регуляторный модуль, регулирующий размер пула стволовых клеток в различных меристемах (Додуева и др., 2016; Kuznetsova et al., 2023). Необходимой частью этого регуляторного модуля также являются ТФ семейства *GRAS HAIRY MERISTEM* (*HAM*), которые взаимодействуют с ТФ *WOX* в разных меристемах и по крайней мере в АМ влияют на их перемещение из организующего центра в зону пролиферации стволовых клеток (Zhou et al., 2015; Geng, Zhou, 2021).

Далее в обзоре более детально будут рассмотрены регуляторные пути, контролирующие функционирование ЛМ.

1.1.1. Перикакл – плюрипотентная первичная меристема

Перикакл представляет собой слой недифференцированных плюрипотентных клеток, который окружает проводящий пучок и может в различных условиях образовывать другие типы тканей, в том числе меристематические. Эта первичная ЛМ играет центральную роль в формировании разнообразных вторичных меристем: закладке бокового корня (De Smet et al., 2006), формировании симбиотических клубеньков при инокуляции бобовых растений ризобиями (Ferguson et al., 2010), смыкании камбия в кольцо и вторичном утолщении у двудольных (Baum et al., 2002), дифференциации феллогена с образованием перидермы - суберизованного барьера, защищающего растение от стрессов, а также в процессах каллусогенеза и регенерации растений *in vitro* (Atta et al., 2009; рисунок 2). Перикакл закладывается в эмбриогенезе одновременно с прокамбием (Scheres et al., 1994).

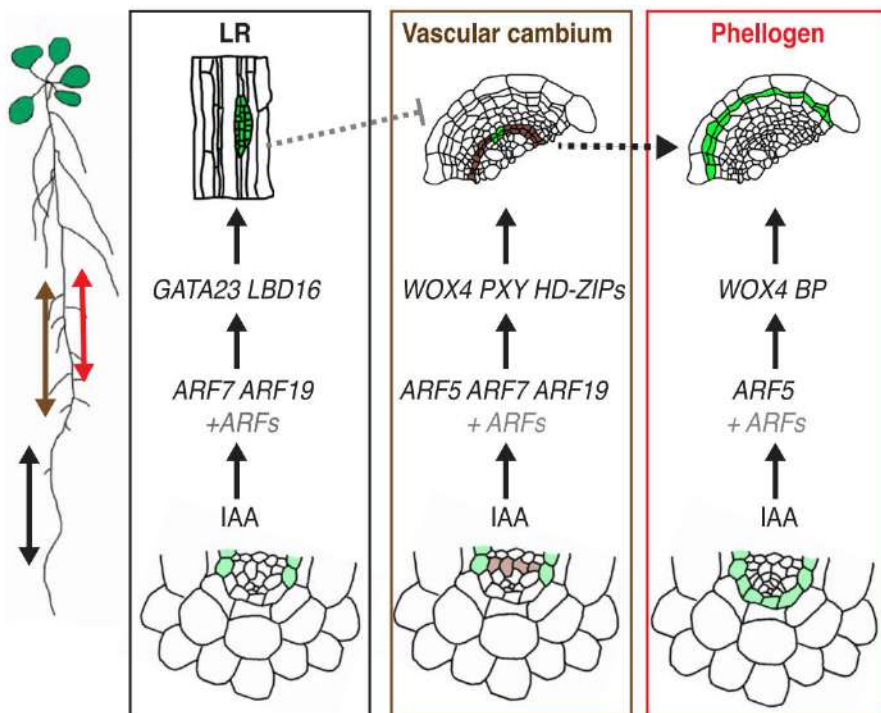


Рисунок 2. Регуляция формирования боковых корней, феллогена и сосудистого камбия из клеток перикакла (по Xiao et al., 2020). Светло-зеленым обозначены клетки перикакла; зеленым - клетки, образующиеся из перикакла; светло-коричневым - клетки прокамбия; коричневым - клетки, образующиеся из прокамбия. Двухнаправленные стрелки обозначают зоны корня, где происходит инициация: бокового корня (черная); перидермы (красная); сосудистого камбия (коричневая). Гены и стрелки, выделенные серым, а также все пунктирные линии указывают на предполагаемые взаимодействия. Развитие сосудистого камбия инициируется после подавления программы развития бокового корня (LR) и, вероятно, зависит от подавления активности неизученных ARF. Формирование

феллогена (phellogen) зависит от активности сосудистого камбия (vascular cambium).

Среди двух типов клеток перицикла (ксилемного и флоэмного) только клетки первого типа способны к образованию других типов меристем, поскольку находятся в недифференцированном состоянии (Baum et al., 2002, Parizot et al., 2008). В клетках ксилемного перицикла отмечается экспрессия генов первичного ответа на ИУК; в клетках флоэмного же перицикла (а также в камбии) экспрессируются гены первичного ответа на ЦК, что иллюстрирует связь характера развития проводящих тканей и перицикла с распределением этих гормонов-антагонистов (Bishopp et al., 2011). Среди ТФ участие в регуляции ксилемного перицикла принимает ТФ SHORTROOT, который образует гетеродимер с ТФ SCARECROW, контролирующим развитие проводящей системы (Helariutta et al., 2000, Cui et al., 2011). Мишенями таких димеров являются гены, кодирующие ТФ семейства HD-ZIPIII (Homeodomain/Leucine rich Zipper III), которые регулируют развитие сосудов (Emery et al., 2003).

Закладка бокового корня является основной функцией перицикла. Боковой корень образуется из клеток перицикла, расположенных напротив ксилемного полюса (Dubrovsky et al., 2000), которые сохраняют митотическую активность долгое время и называются клетками-основательницами бокового корня (De Smet et al., 2006). Ауксины играют ключевую роль в формировании боковых корней (Dubrovsky et al., 2008), воздействуя на циклинзависимые киназы CDKA и CDKB1;1 и стимулируя деление растительных клеток. Также ауксины могут подавлять экспрессию генов, кодирующих белки-ингибиторы клеточного цикла KRP, стимулируя деление клеток перицикла (Weeckman et al., 2001). Концентрация ауксинов в клетках ксилемного перицикла колеблется, что контролирует периодичность клеточных делений и закладку бокового корня (De Smet et al., 2006). Мишенями ауксина в клетках-основательницах боковых корней являются ТФ GATA23 (De Rybel et al., 2010) и LBD16 (Xiao et al., 2020). ЦК подавляют образование бокового корня (Laplaze et al., 2007), оказывая влияние на экспрессию генов *PIN-FORMED (PIN)*, кодирующие белки полярного транспорта ИУК, и нарушая формирование ауксинового градиента (Ruzicka et al., 2009). В перицикле высокий уровень ответа на ЦК наблюдается в зоне между примордиями боковых корней. Гены системы *WOX-CLAVATA*, регулирующей активность АМК - *WOX5*,

кодирующий ТФ, и *Arabidopsis Crinkly 4 (ACR4)*, кодирующий рецептор пептида CLE40, - экспрессируются и в примордии бокового корня на ранних этапах его развития. Экспрессия гена *WOX5* в перицикле в клетках-основательницах бокового корня регулируется ауксинами (Stahl, Simon, 2009; Gonzali et al., 2005). Активность *ACR4* подавляет клеточные деления в соседних с примордием бокового корня клетках перицикла (Stahl, Simon, 2009).

В корне арабидопсиса в закладке вторичной ЛМ **камбия** наряду с прокамбием участвуют клетки ксилемного перицикла, в результате камбий приобретает форму непрерывного клеточного слоя. Перицикл играет центральную роль и в формировании камбия у однодольных (Jura-Morawiec et al., 2021). В контроле активности камбия принимают участие ТФ *WOX4*, *PXY*, *HD-ZIPIII* (см. раздел “Камбий”).

Вместе с тем, клетки флоэмного перицикла дают начало **феллогену**, или пробковому камбию, который, как и камбий, в дальнейшем должен замкнуться в кольцо. Образованная из клеток феллогена пробка после омертвления и слущивания клеток коры и эндодермы выполняет функцию покровной ткани корня. Среди ТФ, стимулирующих формирование феллогена, выделяются *WOX4* (семейство *WOX*) и *KNAT1/BREVIPEDICELLUS (BP)* (семейство *KNOX*) (Xiao et al., 2020), экспрессия генов которых регулируется ауксином. Эти же ТФ и их ауксин-зависимая регуляция важны для спецификации камбия (Liebsch et al., 2014, Hirakawa et al., 2010, Suer et al., 2011) (см. раздел «Феллоген»).

В процессах каллусообразования и регенерации принимают участие клетки перицикла, расположенные напротив полюсов протоксилемы (Atta et al., 2009). За счет деления клеток ксилемного перицикла на эксплантах растений формируются выросты, сходные с примордиями боковых корней. В них экспрессируются гены *PLETHORA1*, *SCR*, *SHR* и *GLABRA2*, характерные для боковых корней (Atta et al., 2009, Sugimoto et al., 2010). Ген *WOX5* экспрессируется в субэпидермальных слоях клеток (Sugimoto et al., 2010). Перенос эксплантов на среду с ауксином вызывает превращение примордиев каллуса в боковые корни, на среду с ЦК - в побеги (Atta et al., 2009).

Перицикл участвует в некоторых типах **растительно-микробных взаимодействий**, а именно в формировании азотфиксирующих клубеньков, а также корневых разрастаний, индуцируемых агробактериями и паразитическими нематодами. Развитие клубеньков и боковых корней контролируют общие

компоненты (Searle et al., 2003); при образовании их примордиев происходит инициация клеточных делений в ксилемном перицикле. Клубенек имеет собственную меристему, развитие которой контролирует ген *WOX5*. Ген *WOX5* является мишенью системы авторегуляции клубенькообразования, которая включает в себя CLE-пептиды и их рецепторы (Osipova et al., 2012). С участием перицикла формируются клубеньки недетерминированного типа, которые, в отличие от клубеньков детерминированного типа, способны в течение длительного времени поддерживать свою меристематическую активность (Hirsch et al., 1989). Перицикл важен и для взаимодействия растений с патогенами, вызывающими образование на корнях **галлов и опухолей** (см. раздел “Опухоли у высших растений”). Перенос и интеграция Т-ДНК при заражении корневых эксплантов *Agrobacterium tumefaciens* происходит преимущественно в клетки перицикла (De Buck et al., 2000). При поражении растения нематодами формируются сайты кормления, в которых происходит активация делений клеток перицикла и ксилемной паренхимы. Формирование таких сайтов связано с изменением характера экспрессии генов клеточного цикла (De Almeida, Gheysen, 2013).

Таким образом, перицикл дает начало разнообразным типам вторичных меристем, в том числе ЛМ – камбию и феллогену, а также патоген-индуцированным опухолям растений.

1.1.2. Прокамбий и камбий – меристемы проводящих тканей

Закладка первичной меристемы прокамбия осуществляется в эмбриогенезе на стадии сердца, одновременно с другой первичной ЛМ - перициклом (Scheres et al., 1994). В постэмбриональном развитии из прокамбия образуются ткани, формирующие проводящую систему растения: первичные флоэма и ксилема (Baum et al., 2002). Камбий представляет собой вторичную ЛМ, которая дает начало вторичным проводящим тканям растений и практически идентична прокамбию по структуре, функции и регуляторным путям. В корне камбий формируется с участием прокамбия и перицикла – первичных ЛМ (Smetana et al., 2019; Shi et al., 2019).

Следует также отметить, что в ходе эволюции семенных растений возникли два типа вторичных ЛМ, дающих начало проводящим тканям: сосудистый камбий (*vascular cambium*), характерный для голосеменных и двудольных, и камбий однодольных (*monocot cambium*). Камбий двудольных формируется из плюрипотентных клеток прокамбия в проводящих пучках (пучковый камбий), а также перицикла (межпучковый камбий) и имеет вид непрерывного слоя клеток. Клетки пучкового камбия, асимметрично делясь с последующей дифференцировкой, дают начало проводящим элементам ксилемы и флоэмы, а производные межпучкового камбия дают начало клеткам паренхимных лучей (Fisher et al., 2019).

Камбий однодольных формируется вне первичных сосудистых пучков из перицикла, и, периклинально делясь, откладывает снаружи вторичную кору, а кнутри - вторичную основную ткань с вторичными ксилемой и флоэмой, расположенными в сосудистых пучках (Jura-Morawiec et al., 2021). Оба типа камбия сходны своим концентрическим строением и содержат инициали, которые претерпевают периклинальные деления и дифференцируются с образованием вторичных проводящих тканей, а также играют аналогичную роль в радиальном росте осевых органов растений.

Зона камбия двудольных растений состоит из одного ряда асимметрично делящихся недифференцированных камбиальных инициалей (стволовых клеток) и материнских клеток флоэмы и ксилемы (клеток-предшественниц). В соответствии с этим, в камбии выделяют три домена: проксимальный (состоит из материнских клеток ксилемы), дистальный (включает материнские клетки флоэмы) и центральный (состоит из стволовых клеток). Слой клеток проксимального домена, примыкающий к ксилеме, выполняет в камбии роль организующего центра (Smetana et al., 2019).

Стволовые клетки камбия претерпевают асимметричные периклинальные деления, в результате каждого из которых образуется одна ксилемная и одна флоэмная клетки-предшественницы (Smetana et al., 2019; Shi et al., 2019). Эти клетки делятся симметрично по обеим сторонам камбиальной зоны, дифференцируя к центру клетки вторичной ксилемы, а к периферии – клетки вторичной флоэмы. В состав вторичных ксилемы и флоэмы входят проводящие и механические элементы разных типов, клетки осевой паренхимы и радиальных лучей. Флоэма и ксилема также служат источниками сигналов, определяющих

развитие камбия: по ксилеме и ее клеткам-предшественницам поступает ИУК, регулирующая поддержание организующего центра камбия, а из флоэмы – CLE-пептиды семейства TDIF, поддерживающие пролиферативную активность камбия (Smetana et al., 2019; Hirakawa et al., 2010).

Деятельность камбия зависит от баланса пролиферации и дифференцировки клеток. В многочисленных исследованиях выявлены различные регуляторы камбия, в том числе ТФ разных семейств и взаимодействующие с ними фитогормоны (обзор Кузнецова и др., 2020).

1.1.2.1. Регуляция активности камбия с помощью системы WOX-CLAVATA

Основная роль в регуляции поддержания стволовых клеток камбия принадлежит ТФ WOX4 (Ji et al., 2010), с которым взаимодействует его кофактор – ТФ NAM4 (Zhou et al., 2015), и его «дублеру» ТФ WOX14 (Etchells et al., 2013). Гены *WOX4* и *WOX14* являются мишенями сигнального пути, индуцируемого одной из групп пептидов CLE (Hirakawa et al., 2010; Etchells et al., 2013), и, таким образом, входят в состав камбиального модуля WOX-CLAVATA. Данные об участии системы WOX-CLAVATA в функционировании камбия представлены на рисунке 3.

В камбии система WOX-CLAVATA контролирует гомеостаз этой ЛМ посредством положительного регуляторного каскада, мишенью которого является экспрессия генов *WOX4* и *WOX14*. Баланс пула стволовых клеток камбия находится под контролем небольшой специфической группы пептидов CLE, называемой TRACHEARY ELEMENT DIFFERENTIATION INHIBITORY FACTOR (TDIF), также известной как CLE-пептиды группы В. У *Arabidopsis* группа TDIF включает в себя пептиды CLE41/CLE44 (продукты генов *CLE41* и *CLE44*, дающие идентичные по составу зрелые пептиды) и CLE42 (Ito et al., 2005). Для правильной ориентации деления клеток камбия важен градиент концентрации пептидов TDIF, формирующийся при поступлении TDIF из флоэмы. Изменение этого градиента ведет к изменению ориентации клеточных делений и нарушению упорядоченной структуры стелы. Пептиды TDIF продуцируются клетками флоэмы, а затем перемещаются в камбий, где связываются со своим рецептором, называемым TDIF

РЕСЕПТОР/PHLOEM INTERCALATED WITH XYLEM (TDR/PXY), членом семейства LRR-RLK, и его гомологами, называемыми PXY-like (PXL1 и PXL2) (Hirakawa et al., 2010; Jung et al., 2015). В отличие от апикальных меристем, где CLE-пептиды действуют как негативные регуляторы поддержания стволовых клеток и экспрессии генов *WUS* в АМП и *WOX5* в АМК (Schoof et al., 2000; Stahl et al., 2009), взаимодействие пептидов TDIF с рецептором PXY подавляет дифференцировку стволовых клеток камбия во вторичную ксилему и способствует поддержанию идентичности этой ЛМ (Hirakawa et al., 2010).

Другим способом позитивной регуляции экспрессии *WOX4* является ауксин-зависимый контроль с помощью ТФ семейств Auxin-Response Factor (ARF) и HD-ZIPIII. Эти ТФ участвуют в формировании ксилемы; кроме того, этот путь важен для создания организующего центра камбия (Smetana et al., 2019; Shi et al., 2019).

В то же время TDIF-зависимый контроль деления клеток камбия требует наличия функционально активного рецептора PXY и не зависит от активности ТФ *WOX4* (Etchells, Turner, 2010). Считается, что *WOX4* участвует в регуляции клеточной пролиферации, но не дифференциации ксилемы, что позволяет предположить наличие различных мишеней действия TDIF-PXY (Hirakawa et al., 2010). Имеются данные о том, что в сигнальном пути *WOX4* действует ниже *PXY*, способствуя делению сосудистых клеток вместе с *WOX14*, экспрессия которого повышается в ответ на более длительную обработку TDIF, поскольку *wox14* усиливает дефект деления клеток у мутантов по *wox4* (Etchells et al., 2013). Считается, что пептиды TDIF передают позиционную информацию через рецептор PXY, поддерживая активность и асимметричные деления камбиальных стволовых клеток посредством трех различных путей:

Во-первых, активация рецептора PXY репрессирует дифференцировку клеток ксилемы путем ассоциации с белками семейства киназы 3 гликогенсинтазы (GSK3) BRASSINOSTEROID INSENSITIVE2 (BIN2), BIN2-LIKE1 (BIL1) и BIL2 на плазматической мембране (Kondo et al., 2014). Это взаимодействие, в свою очередь, приводит к фосфорилированию и последующей дестабилизации brassinosteroid-зависимых ТФ BRASSINAZOLE-RESISTANT1/BRI1-EMS-SUPPRESSOR1 (BES1/BZR1), которые способствуют дифференцировке ксилемы (Saito et al., 2018). Передача сигналов TDIF через рецептор PXY, таким образом, подавляет дифференцировку стволовых клеток камбия, «не доходя» до регуляции экспрессии *WOX4* и *WOX14* (Etchells et al., 2013).

Во-вторых, передача сигналов TDIF-PXY способствует пролиферации клеток камбия посредством активации экспрессии генов *WOX4* и *WOX14*, и было высказано предположение, что регуляторный модуль TDIF-PXY-WOX4/14, контролирующей деление камбиальных клеток, действует параллельно с путем TDIF-PXY-BIN2-BES1, регулирующим дифференцировку стволовых клеток камбия в ксилему (Etchells et al., 2013).

В-третьих, взаимодействие TDIF-PXY влияет на рекрутирование стволовых клеток камбия во флоэмную линию. Этот путь осуществляется с помощью PXY-зависимой регуляции ТФ *WOX14*, вероятной мишенью которого является ген, кодирующий ТФ TARGET OF MONOPTEROS6 (TMO6), который также регулируется ауксином и ТФ MONOPTEROS из семейства ARF (Schlereth et al., 2010). ТФ *WOX14* и TMO6 регулируют экспрессию гена *LATERAL ORGAN BOUNDARIES DOMAIN 4 (LBD4)*, который кодирует ТФ, активный в клетках, локализованных на границе прокамбия и флоэмы, и участвующий в делении клеток камбия и дифференцировке флоэмы (Smit et al., 2020).

Другие компоненты камбиальной системы *WOX-CLAVATA* у *Arabidopsis* включают два близких гомолога рецепторов TDR/PXY, PXY-LIKE (PXL1 и PXL2) (Jung et al., 2015) и корецепторы группы SOMATIC EMBRYOGENESIS RECEPTOR KINASE (SERK), взаимодействующие с PXY для связывания пептидных лигандов TDIF (Zhang et al., 2016c). Кроме того, имеются еще два рецептора LRR-RK, MORE LATERAL GROWTH 1 (MOL1) и REDUCED LATERAL GROWTH 1 (RUL1), которые не входят в систему *WOX-CLAVATA*, но также участвуют в развитии камбия: судя по фенотипу мутантов *mol1* и *rul1*, рецептор MOL1 считается негативным регулятором, который подавляет пролиферацию камбиальных клеток независимо от TDR/ PXY, тогда как RUL является позитивным регулятором (Gursansky et al., 2016).

Дифференциация клеток камбия по пути флоэмы или ксилемы также контролируется *CLAVATA*-подобными (возможно, *WOX-CLAVATA*) системами. В частности, образование флоэмы - ткани, продуцирующей пептиды TDIF, контролируется пептидами CLE25 и CLE45, их рецепторами CLV2/CRN и BAM3, а также корецепторами CIK и CLERK (Ren et al., 2019). Пептид CLE10 подавляет развитие сосудов посредством ингибирования экспрессии генов *ARR* типа А, *ARR5* и *ARR6*, кодирующих репрессоры передачи сигнала ЦК (Kondo et al., 2011). Кроме того, недавно были получены данные об идентификации у арабидопсиса нового гена

- *AtCLE33*, имеющего большой процент сходства с *AtCLE45* и контролирующего образование протофлоэмы. Как было показано, *AtCLE33* экспрессируется в развивающейся протофлоэме и рецептируется BAM3. У двойных мутантов по *CLE33* и *CLE45* наблюдалась эктопическая дифференцировка протофлоэмы в соседних клетках, что согласуется с моделью, согласно которой специфичные для флоэмы CLE-пептиды действуют как паракринные сигналы, поддерживающие единственную функциональную клетку протофлоэмы. Ортологи *CLE33* были обнаружены у покрытосеменных, однодольных и эвдикотовых, а дупликация гена, давшего начало *CLE45* у *Arabidopsis* и других *Brassicaceae*, по-видимому, произошла недавно (Carbonnel et al., 2023). Пептид CLE19, напротив, активирует развитие ксилемы: сверхэкспрессия *CLE19* ведет к образованию “островков” ксилемы, не связанных с проводящей системой растения, в органах цветка арабидопсис и капусты (Fiers et al., 2004), а также повышает количество элементов ксилемы – сосудов и одревесневшей ксилемной паренхимы – в запасующем корне редиса (Gancheva et al., 2016).

Возможные мишени ТФ WOX в камбии

Итак, сигнальный модуль WOX-CLAVATA играет центральную роль в контроле активности камбия и дифференцировки его производных. Получены многочисленные данные о генетическом контроле дифференцировки ксилемы и флоэмы этим регуляторным модулем (см. ниже). Вместе с тем, о прямых мишенях ТФ WOX4 и WOX14 в настоящий момент известно мало (за исключением данных об участии ТФ WOX14 в регуляции экспрессии *TMO6* и *LBD4*, о котором сказано выше), и поиск таких мишеней является актуальной задачей генетики развития растений.

В то же время, были получены данные о мишенях других ТФ семейства WOX, контролирующих развитие апикальных меристем, – WUS и WOX5 (таблица 1). Поскольку были получены данные о последовательностях сайтов связывания ТФ WOX в промоторах генов-мишеней (Lohmann et al., 2001; Busch et al., 2010) и найден ряд генов-мишеней ТФ WUS и WOX5, то первичный выбор предполагаемых кандидатов на роль мишеней WOX4 и WOX14 может быть основан на наличии определенных сайтов связывания в промоторах, а также на принадлежности к определенным генным семействам, которые регулируются другими ТФ WOX.

Доменный состав ТФ WOX предполагает, что они могут быть как позитивными, так и негативными регуляторами транскрипции (Rodriguez et al., 2016). Согласно литературным данным (таблица 1), к числу выявленных мишеней ТФ WUS относятся гены семейства *CLE* – *CLV3* и *CLE40*, которые в свою очередь регулируют экспрессию гена *WUS* в составе систем WOX-CLAVATA. Интересно, что экспрессию гена *CLV3* (негативного регулятора экспрессии гена *WUS*) ТФ WUS регулирует позитивно (Schoof et al., 2000), а экспрессию гена *CLE40* (позитивного регулятора экспрессии гена *WUS*) – негативно (Schlegel et al., 2021). Таким образом, в регуляции пула стволовых клеток АМП действуют как позитивная, так и негативная обратные связи. Также ТФ WUS негативно регулирует экспрессию генов, кодирующих репрессоры передачи сигнала ЦК ARR А-типа (Leibfried et al., 2005) и один из ферментов биосинтеза ЦК – LOG4 (Chickarmane et al., 2012). К мишеням негативной регуляции ТФ WUS относятся и гены-регуляторы формирования листового примордия: *ASYMMETRIC LEAF 2 (AS2)*, *KANADY1 (KAN1)*, *YABBY3 (YAB3)* (Yadav et al., 2013). В то же время, ТФ WOX5 как центральный регулятор стволовых клеток АМК негативно регулирует экспрессию гена-регулятора клеточного цикла *CYCD3;1*, обеспечивая медленное деление клеток организующего центра (Forzani et al., 2014), и гена, кодирующего ТФ *CYCLING DOF FACTOR 4 (CDF4)* – регулятора дифференцировки инициалей колумеллы (Pi et al., 2015). К мишеням прямой позитивной регуляции ТФ WOX5 относятся гены пути биосинтеза ИУК через индолпириновиную кислоту (Savina et al., 2020) и ген ТФ *PLETHORA3 (PLT3)* – регулятор деления стволовых клеток АМК и транспорта ИУК (Burkart et al., 2022).

Гены, экспрессирующиеся в камбии и/или проводящих тканях корня редиса (по данным транскриптомного анализа Tkachenko et al., 2021a,b) и относящиеся к тем же семействам, что и вышеперечисленные мишени ТФ WUS и WOX5, были проверены в нашей работе в качестве возможных мишеней ТФ WOX4 (см. раздел «Результаты»).

Таблица 1. Известные мишени ТФ семейства WOX, контролирующих развитие меристем. Красным шрифтом выделены гены, экспрессия которых подавляется, зеленым – гены, экспрессия которых активируется.

ТФ WOX	Ген-мишень (что кодирует)	Функция гена-мишени	Ссылка
WUS (регулятор апикальной меристемы побега)	<i>CLV3</i> (сигнальный пептид)	Подавление экспрессии <i>WUS</i> (негативная обратная связь), ограничение пула стволовых клеток АМП	Schoof et al., 2000; Schlegel et al., 2021
	<i>CLE40</i> (сигнальный пептид)	Активация экспрессии <i>WUS</i> (позитивная связь) и поддержание пула стволовых клеток в АМП, подавление экспрессии <i>WOX5</i> и ограничение размеров пула стволовых клеток АМК	Schlegel et al., 2021
	<i>ARR5, ARR6, ARR7, ARR15</i> (репрессоры передачи сигнала)	Подавление ответа на ЦК	Leibfried et al., 2005
	<i>AS2</i> (ТФ)	Закладка листового примордия, развитие «верхней» стороны листа	Yadav et al., 2013
	<i>KAN1</i> (ТФ)	Развитие «нижней» стороны листа, подавление транспорта ИУК	Yadav et al., 2013
	<i>YAB3</i> (ТФ)	Развитие «нижней» стороны листа, пролиферация клеток листа	Yadav et al., 2013
	<i>LOG4</i>	Биосинтез ЦК в эпидермисе АМП; негативно регулируется WUS	Chickarmane et al., 2012
WOX5 (регулятор апикальной меристемы корня)	<i>CDF4</i> (ТФ)	Дифференцировка клеток колумеллы	Pi et al., 2015
	<i>PLT3</i> (ТФ)	Деление стволовых клеток меристемы корня, поддержание транспорта ИУК	Burkart et al., 2022
	<i>TAA1, YUC1-7</i> (ферменты)	Биосинтез ИУК через индолпировиноградную кислоту	Savina et al., 2020
	<i>CYCD3;3</i>	Пролиферация клеток колумеллы	Forzani et al., 2014

1.1.2.2. Регуляция активности камбия с помощью других групп ТФ

Помимо ТФ *WOX4*, *WOX14* и регулирующих экспрессию их генов пептидов *CLE*, развитие камбия и проводящей системы растений контролируется с помощью нескольких других семейств ТФ. Участие ТФ разных групп в регуляции камбия показано на рисунке 3.

ТФ **KNOX** изначально были выявлены как центральные регуляторы развития АМП. Кроме того, они играют роль в развитии камбия и проводящей системы. ТФ *STM* и *KNAT1* осуществляют дифференцировку сосудов и ксилемных волокон посредством подавления транскрипции генов, кодирующих ТФ *BLADE-ON-PETIOLE1* и *2*, которые определяют границы листовых примордиев (Woerlen et al., 2017).

ТФ **HD-ZIPIII** *PHABULOSA*, *CORONA*, *REVOLUTA* и *ARABIDOPSIS THALIANA HOMEBOX8* контролируют полярный транспорт ИУК, ранние этапы дифференцировки ксилемы (Baima et al., 2001; Smetana et al., 2019), а также поддержание центрального домена камбиальной зоны и экспрессии контролирующих его генов - *WOX4* и *ANT* (Smetana et al., 2019).

Мобильные ТФ группы **PHLOEM EARLY DOF 1 и 2** (*PEAR1*, *2*), транспортирующиеся из флоэмы, стимулируют периклиналильные деления клеток камбия, активируя экспрессию генов, кодирующих ТФ **HD-ZIPIII** (Miyashima et al., 2019).

ТФ семейства **LATERAL ORGAN BOUNDARIES DOMAIN (LBD)** стимулируют активность камбия и вторичный рост, предположительно играя роль в рекрутировании стволовых клеток во флоэмную линию (Smith et al., 2020). Их гены экспрессируются на границе камбия и флоэмы и напрямую регулируются ЦК (Ye et al., 2021). Также в регуляции экспрессии генов *LBD* участвуют ТФ *WOX14* и *KNAT1* (Smith et al., 2020).

ТФ **ANT**, относящийся к семейству *APETALA2*, необходим для пролиферации стволовых клеток камбия: в число его прямых мишеней входят гены циклинов класса *D*. Ген *ANT* активен не только в камбии, но и относится к числу генов, от уровня экспрессии которых зависит размер органов растений (Randall et al., 2015).

ИУК-регулируемый **ТФ AUXIN RESPONSE FACTOR5/MONOPTEROS (ARF5/MP)**, контролирующей экспрессию генов *PIN*, также регулирует развитие камбия (Krogan et al., 2016). MP ограничивает количество стволовых клеток камбия через подавление экспрессии гена *WOX4*; ARF3 и 4 регулируют *WOX4* и камбий позитивно (Brackmann et al., 2018). Ген, кодирующий **ТФ TARGET OF MONOPTEROS5 (TMO5)**, также является мишенью ТФ MP: он взаимодействует с ТФ **LONESOME HIGHWAY (LHW)** и обеспечивает спецификацию клеток прото- и метаксилемы (Ohashi-Ito et al., 2013).

ТФ с MADS-боксом также регулируют развитие камбия. Они принимают участие в развитии корня у арабидопсис (Alvarez-Buylla et al., 2019), картофеля (Gao et al., 2018), батата (Noh et al., 2010, Ku et al., 2008). Было показано, что сверхэкспрессия гена *SRDI* батата вызывает у него усиленную пролиферацию клеток камбия и метаксилемы (Ku et al., 2008).

ТФ с NAC-доменом: VASCULAR-RELATED NAC DOMAIN PROTEIN (VND) и SECONDARY WALL-ASSOCIATED NAC DOMAIN PROTEIN (SND) - отвечают за дифференцировку элементов ксилемы, контролируя лигнификацию клеточной стенки и отмирание протопласта. Предполагаемыми мишенями ТФ SND являются гены биосинтеза целлюлозы и лигнина, а мишенями ТФ VND – гены, контролирующие разрушение протопластов сосудов (Kubo et al., 2005, Ohashi-Ito et al., 2010).

ТФ ALTERED FLOEM DEVELOPMENT семейства MYB контролируют дифференцировку протофлоэмы. Вероятно, программы дифференцировки флоэмы и ксилемы конкурентно ингибируют друг друга (Bonke et al., 2003). **ТФ LATERAL ORGAN BOUNDARIES1** регулирует ранние этапы дифференцировки флоэмы. У мутантов по *LBD1* число клеток флоэмы снижено, а уровень экспрессии генов *KNOX*, стимулирующих дифференцировку ксилемы, повышен (Yordanov et al., 2010).

1.1.2.3. Фитогормональная регуляция активности камбия

Поскольку все этапы развития растений регулируются фитогормонами, разные группы этих веществ участвуют также в контроле развития камбия и других ЛМ. На рисунке 3 показана схема регуляции активности камбия и дифференцировки проводящих тканей с участием фитогормонов и ТФ.

Как было сказано выше, пептидные гормоны CLE являются центральными регуляторами активности меристем, в том числе камбия, а также развития проводящей системы растений.

Помимо пептидов CLE, в регуляции активности камбия принимает участие и другая группа пептидных фитогормонов – пептиды **EPFL (EPIDERMAL PATTERNING FACTOR LIKE)**, которые также играют роль в контроле развития производных эпидермы – устьиц и трихом (Togii, 2021). В дальнейшем была показана роль некоторых пептидов семейства EPFL в качестве позитивных регуляторов активности камбия. Пептиды EPFL6 и EPFL4 синтезируются в эндодерме и поступают во флоэму, где связываются с рецепторами семейства ERECTA (ER), также относящемуся к LRR-RK (Tameshige et al., 2017). Мишенями действия рецепторных протеинкиназ ER является MAP-киназный каскад (Jewaria et al., 2013). В регуляции дифференцировки устьиц в качестве мишеней MAP-киназ, действующих ниже рецепторов ER, выступают ТФ семейства basic helix-loop-helix (bHLH) SPEECHLESS, MUTE и FAMA, каждый из которых регулирует свой этап дифференцировки замыкающих клеток устьиц (Chowdhury et al., 2021). В контроле развития камбия эти ТФ не принимают участия, и мишени EPFL-активируемого MAP-киназного каскада в этом процессе неизвестны.

Для закладки прокамбия в эмбриогенезе, формирования камбия и перехода к вторичному росту важно антагонистическое взаимодействие **ИУК** и **ЦК**. Эти гормоны ассиметрично распределяются в стеле корня арабидопсис: ИУК локализуется в первичной ксилеме и клетках перицикла, а ЦК - в прокамбии и первичной флоэме (Bishopp et al., 2011).

ИУК вносит основной вклад в развитие ксилемы: ИУК-регулируемый **MONOPTEROS/AUXIN RESPONSE FACTOR 5 (MP/ARF5)** регулирует экспрессию генов, кодирующих ТФ **TARGET OF MONOPTEROS 5 (TMO5)** и **HD-ZIPIII**, которые контролируют дифференцировку клеток камбия по ксилемному типу

(Smetana et al., 2019, Brackmann et al., 2018). Кроме того, ИУК контролирует и развитие камбия: взаимодействие ТФ ТМО5 и LHW, регулируемых ИУК, определяет периклинальные деления камбия (Ohashi-Ito et al., 2010), а ауксин-регулируемые ТФ HD-ZIPIII важны для поддержания организующего центра камбия (Smetana et al., 2019). Высокий уровень ИУК в проксимальном домене камбия поддерживается благодаря системе полярного транспорта (Bennett et al., 2016).

ЦК контролируют спецификацию камбия и пролиферацию его клеток (Bishopp et al., 2011, Matsumoto-Kitano et al., 2008) и сосредоточены в камбии и флоэме (Bishopp et al., 2011), где активируют экспрессию генов, отвечающих за клеточные деления: в центральном домене камбия – генов *ANT* и *CYCD3;1* (Randall et al., 2015), а во флоэме и дистальном домене камбия – генов *PEAR* (Miyashima et al., 2019) и *LBD* (Ye et al., 2021). Антагонизм ЦК и ИУК в камбии проявляются в следующем: ЦК негативно регулируют экспрессию регуляторов полярного транспорта ИУК - *PIN1* и *PIN7*; ИУК же индуцирует экспрессию гена *ARABIDOPSIS HISTIDINE PHOSPHOTRANSFER PROTEIN 6 (AHP6)*, чей продукт - негативный регулятор передачи сигнала ЦК (Bishopp et al., 2011).

Кроме того, в развитии камбия важны и другие фитогормоны: гиббереллины, этилен, брассиностероиды, стриголактоны.

Гиббереллины стимулируют дифференцировку одревесневающих элементов ксилемы (Mauriat and Moritz, 2009, Ragni et al., 2011). Гены биосинтеза гиббереллинов являются мишенями негативной регуляции ТФ KNOX (Jasinski et al., 2005). Вероятно, биосинтез или транспорт гиббереллинов контролируется ТФ WOX14, так как сверхэкспрессия *WOX14* увеличивает уровень активных гиббереллинов в стеле, а дефекты развития у мутанта *wox14* компенсируются добавлением гиббереллинов (Denis et al., 2017).

Этилен стимулирует деление клеток камбия, увеличивая площадь камбия и ксилемы. Ген *ACO (ACC OXIDASE)*, контролирующий лимитирующую стадию биосинтеза этилена, экспрессируется только в дифференцирующейся вторичной ксилеме (Love et al., 2009). Ген, кодирующий ТФ *ERF1 (Ethylene Response Factor)*, также контролирует развитие клеток камбия и ксилемы. У мутантов *tdr/pxy* повышенная экспрессия *ERF1* свидетельствует о возможном антагонистическом взаимодействии TDR/PXY-зависимого и этилен-зависимого путей регуляции активности камбия (Etchells et al., 2012).

Стриголактоны стимулируют активность камбия и вторичный рост стебля и корня: эти процессы контролируются генами *MAX (MORE AXILLARY BRANCHES)* и их антагонистами - генами семейства *SUPPRESSOR OF MAX 2 (SMAX2)-LIKE (SMXL3, SMXL4 и SMXL5)*, которые кодируют репрессоры передачи сигнала стриголактонов и контролируют образование флоэмы (Agusti et al., 2011, Wallner et al., 2017).

Брассиностероиды позитивно регулирует дифференцировку сосудов ксилемы (Yamamoto et al., 2001) и контролируется брассиностероид-зависимыми генами *BZR1* и *BES1* (Kondo et al., 2014). Гены семейства *GSK3 – BIN2, BIL1* и *BIL2* - подавляют передачу сигнала брассиностероидов посредством ингибирующего фосфорилирования ТФ *BZR1* и *BES1*. Как было сказано выше, белки *BIN2, BIL1* и *BIL2* также взаимодействуют с белком *TDR/PXY* - компонентом системы *WOX-CLAVATA*, регулирующей баланс камбий/ксилема (Kondo et al., 2014). Кроме того, *GSK3* регулируют и ответ на ИУК, фосфорилируя ИУК-зависимые ТФ *ARF*, чтобы высвободить их из комплексов с транскрипционными репрессорами. Так, мишенью киназы *BIL1* является ТФ *MP* – ключевой регулятор дифференцировки ксилемы (Sehr et al., 2010).

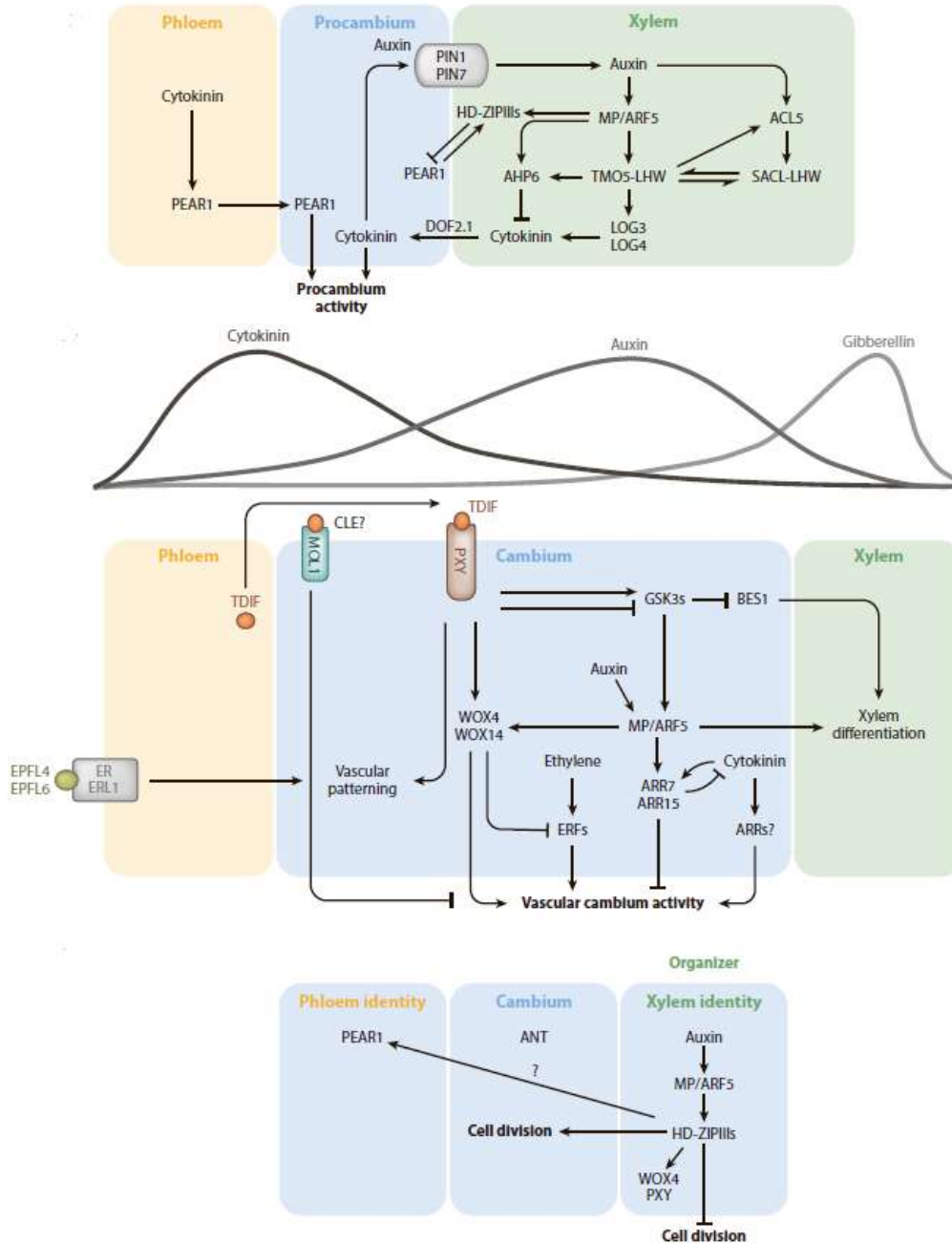


Рисунок 3. Участие ТФ и фитогормонов в контроле активности камбия и дифференцировки проводящих тканей (по Fisher et al., 2019, подробности в тексте).

1.1.3. Феллоген – пробковый камбий

Вторичная ЛМ феллоген входит в состав перидермы - покровной ткани осевых органов многолетних растений, которая также включает в себя пробку (феллему) и феллодерму. Феллоген (также называемый пробковым камбием) – средний слой перидермы, который состоит из живых делящихся клеток. В

результате деления клеток феллогена наружи дифференцируется защитная покровная ткань пробка, а внутри - один или несколько слоев клеток феллодермы, которая состоит из паренхимных клеток.

Формирование перидермы начинается после закладки сосудистого камбия. В стеблях большинства многолетних растений феллоген закладывается из клеток субэпидермального слоя, реже - из эпидермиса, флоэмы или коры (Serra et al., 2022). В корнях местом закладки феллогена является перицикл (Wunderling et al., 2018). В клубнях картофеля перидерма образуется в ходе радиального роста из гиподермы (Kumar, Ginzberg, 2022).

Процессы, приводящие к дифференцировке феллемы из клеток феллогена, изучены довольно детально и включают в себя формирование вторичной клеточной стенки, а также биосинтез и отложение суберина, лигнина, тритерпенов и растворимых ароматических соединений (Fernández-Piñán et al., 2021).

Экспрессия генов в ходе развития феллогена изучена на примере одревесневших стеблей тополя, у которого развитие пробкового камбия зависит от времени года (Fernández-Piñán et al., 2021), а также корня арабидопсиса (Wunderling et al., 2018). При этом отмечен ряд сходных черт в организации и экспрессии генов между феллогеном и сосудистым камбием, что схематично отражено на рисунке 4.

Так, в стебле тополя при закладке феллогена повышается экспрессия генов циклинов, отвечающих за деление клеток (*CYCD3;1*), а также генов, отвечающих за поддержание активности меристем. В число последних входят гены, известные как центральные регуляторы активности АМП - *WUSCHEL* (*WUS*, семейство *WOX*) и *SHOOTMERISTEMLESS* (*STM*, семейство *KNOX*), а также гены-регуляторы развития сосудистого камбия и проводящих тканей: *WOX4*, *PXY*, *BIN2*, *HAM3*, *SCARECROW-LIKE28*, *KNAT1/BP*, *ANT* и *ANT-LIKE*, *PHB* (Fernández-Piñán, et al., 2021; Zhang et al., 2019). Одним из важных регуляторов сезонной активности феллогена является продукт гена *Ultrapetala 1* (*ULT1*), который действует как фактор, ограничивающий активность этой ЛМ; его предполагаемой мишенью является ген *STM* (Fernández-Piñán et al., 2021).

На примере корня арабидопсиса было показано, что для формирования феллогена из перицикла требуется активность сосудистого камбия. При закладке феллогена имеет место повышение уровня ИУК и активация экспрессии генов *ARF5* и *ARF8*, кодирующих ИУК-зависимые ТФ (Wunderling et al., 2018). Предполагается, что под их влиянием имеет место активация экспрессии *WOX4* в

определенных клетках перицикла и/или субэпидермального слоя и инициация феллогена (Serra et al., 2021).

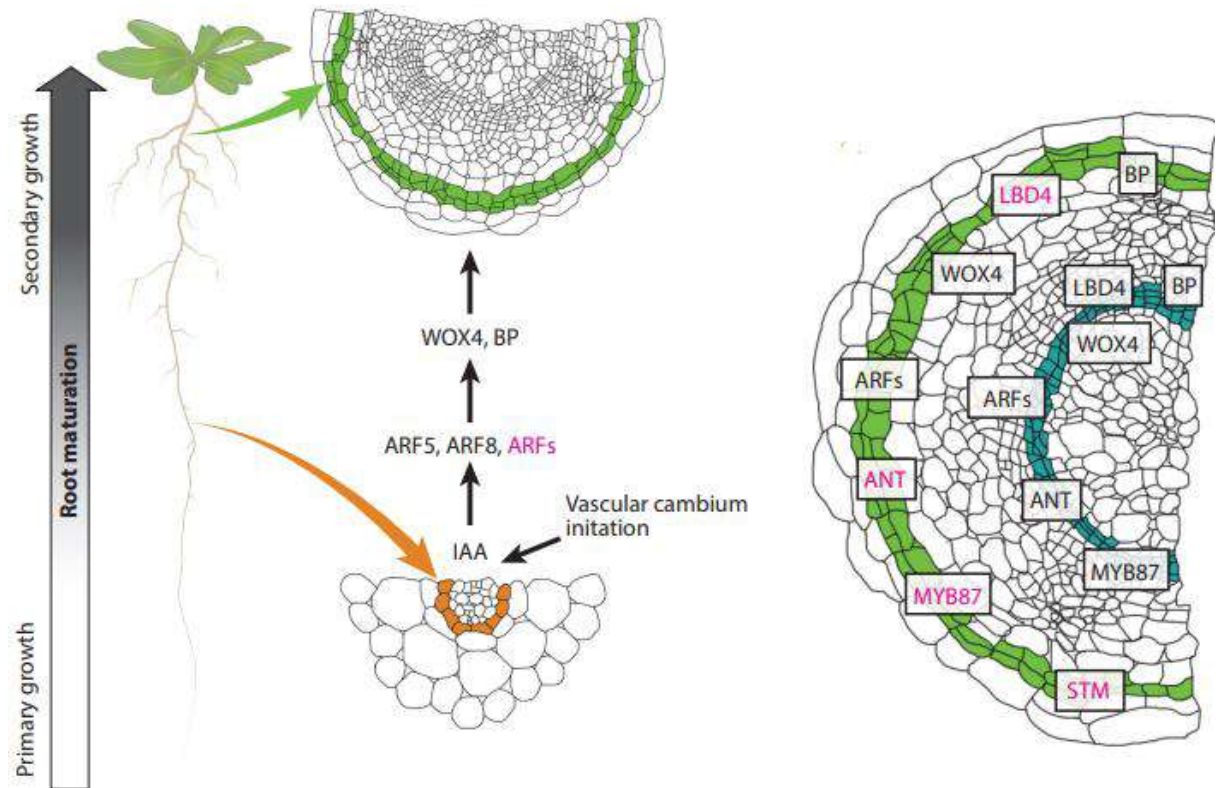


Рисунок 4. Сходство генетической регуляции развития сосудистого камбия и феллогена (по Serra et al., 2022). Предполагаемые гены-регуляторы выделены розовым, известные гены-регуляторы выделены черным. Клетки различных тканей отмечены светло-зеленым (феллоген), оранжевым (перицикл), темно-зеленым (камбий).

При максимальном росте пробки усиливаются метаболические процессы: биосинтез суберина, лигнина, тритерпенов и растворимых ароматических соединений. При синтезе суберина повышается экспрессия генов, связанных с элонгацией жирных кислот (Teixeira et al., 2014, Lopes et al., 2020). Среди генов биосинтеза суберина, активных в феллогене, выделяют *GPAT5*, *CYP86A1*, *CYP86B1*, *AtHHT/ASFT*, *CYP86A33* и *FHT* (Boher et al., 2018). В отличие от суберина, молекулярные процессы формирования лигнина и полисахаридов клеточной стенки в феллеме в настоящее время не исследованы. В группу этих генов входят регуляторы вторичной клеточной стенки - целлюлозосинтазы, гемицеллюлозы и лакказы, которые могут участвовать в образовании поздней пробки, обеспечивая более высокую прочность, жесткость и гидрофобность (Fernández-Piñán et al., 2021).

В регуляции феллогена важную роль играют и фитогормоны - ауксины и brassinosterоиды. Повышение уровня ауксина приводит к продукции этилена, основного активатора генов, участвующих в начальных этапах формирования феллогена (Lev-Yadun et al., 1990). Ортологи *PIN3*, транспортера ауксина, и *DWF1*, кодирующего фермент биосинтеза brassinosterоида, экспрессируются в клетках феллогена на высоком уровне (Boher et al., 2018). ТФ AREB/ABF и MYC/MYB имеют большее количество регулируемых элементов у деревьев с более выраженным пробковым слоем (Teixeira et al., 2014). Кроме того, в этих образцах пробки на высоком уровне экспрессировались гены, кодирующие чувствительные к этилену ТФ: EIN3 (Ethylene insensitive 3), ETR1/ETR2 и EIN4 (Teixeira et al., 2018). Отмечалось и повышение экспрессии генов сигналинга жасмонатов (Lopes et al., 2020). Также в ходе развития пробки деревьев экспрессировались гены, ассоциированные с программированной клеточной смертью (ПКС), кодирующие каспазы и субъединицы протеасом (Rantong et al., 2015). ПКС начинается одновременно с быстрой суберизацией клеточной стенки и дифференцировкой клеток феллемы и имеет онтогенетическую природу (Inácio et al., 2021).

Итак, активность ЛМ находится под контролем сложно организованной генной сети с участием ТФ разных семейств и фитогормонов. Разные ЛМ связаны между собой происхождением и генетическим контролем. Результатом их активности является, в том числе, проводящая система растений, разрастание паренхимы которой может приводить к формированию запасующих осевых органов, в том числе запасующего корня.

1.2. Факторы, влияющие на формирование запасующего корня

Формирование любого запасующего органа растений – комплексный признак, который контролируется целым рядом факторов. Во-первых, паренхима проводящих тканей, которая составляет большую часть запасующего корня, является производной камбия. Кроме того, зачастую свойством паренхимы проводящих тканей в запасующем корне является «продленная камбиальная активность», что выражается в пролиферации паренхимы и иногда закладке третичных меристемных очагов и дополнительных проводящих пучков в ее толще

(Hearn et al., 2018; Кузнецова и др., 2020). Активность камбия и дифференцировка ксилемы и флоэмы, в свою очередь, находятся под контролем внешних факторов и внутренней среды (фитогормонов). Во-вторых, формирование запасающего корня (основного органа-акцептора питательных веществ) зависит от координации развития других органов растения, его надземной и подземной части. В-третьих, само формирование запасающей паренхимы и отложение питательных веществ регулируется сложной системой генетических механизмов.

Закладка ксилемной и флоэмной запасающей паренхимы из камбия имеет значение для развития запасающих корней у корнеплодных растений. Кроме того, паренхима в запасающих корнях довольно долгое время сохраняет способность к пролиферации и даже закладке третичных камбиальных очагов (Tonp and Greb, 2017). Генетический контроль функционирования камбия – ЛМ, лежащей в основе формирования запасающего корня - был подробно освещен в предыдущей части обзора. В данном разделе мы кратко рассмотрим механизмы влияния внешних сигналов на развитие запасающего корня, а также сами механизмы запасаения веществ в корнях.

1.2.1. Коммуникация надземной и подземной частей растения и сигналы внешней среды в развитии запасающего корня

Развитие запасающего корня во многом зависит от коммуникации его с надземной частью растения, откуда в корень поступают метаболиты и регуляторы роста. Углеводы из надземной части используются для формирования клеточных стенок и тканей корня, а также для запасаения в форме крахмала в запасающей паренхиме. Кроме того, сахароза контролирует уровень экспрессии генов-регуляторов клеточного цикла *CYCD* (Riou-Khamlichi et al., 1999), а также удлинение и вторичный рост корней (Kircher and Schopfer, 2012).

Гормоны (в частности ИУК), белки и РНК также поступают в корень, определяя модификацию программы его развития в сторону запасаения веществ (рисунок 5). Одним из примеров таких мобильных сигналов являются регуляторные пептиды - продукты генов семейства *FLOWERING LOCUS T (FT)*, которые у различных видов растений регулируют фотопериодический контроль

цветения, выполняя функцию флоригена (Corbesier et al., 2007). Роль гомологов FT-белков в ходе формирования запасующих органов была установлена у картофеля (Navarro et al., 2011) и лилейных (Lee et al., 2013; Noy-Porat et al., 2013); белки FT также были идентифицированы у сахарной свеклы (Pin et al., 2010), редиса (Jung et al., 2016) и кассавы (Adeyemo et al., 2019). Так как у некоторых растений была показана зависимость утолщения корня от длины дня, предполагается, что FT-подобные белки могут также контролировать формирование и запасующего корня (Guoa et al., 2019).

Малые РНК и мРНК также регулируют процессы вторичного роста, которые лежат в основе формирования запасующего корня. Транскрипты генов, кодирующих гомеодомен-содержащие ТФ семейства BEL, играют центральную роль в этом процессе, так как способны к формированию гетеродимеров с ТФ KNOX, что важно для органогенеза (Di Giacomo et al., 2013). У картофеля к этой группе регуляторов относятся ТФ *StBEL5*, мРНК которого перемещается из листьев в столоны, и ТФ *POTATO HOMEBOX 1* (*POTH1*) семейства KNOX, с которым *StBEL5* взаимодействует в столоне (Ghate et al., 2017). Сверхэкспрессия *StBEL5* активирует экспрессию генов метаболизма ИУК (*YUCCA*) и ЦК (*IPT*, *LOG*), что свидетельствует о возможной роли этого ТФ в развитии клубня (Lin et al., 2013).

Ортологи *StBEL5* и *POTH1* выявлены у многих корне- и клубнеплодных растений. Они могут контролировать формирование корнеплода посредством регуляции генов биосинтеза фитогормонов: в промоторных областях генов *YUCCA*, *IPT*, *ARF8* и *GA200x* свеклы известны консервативные мотивы для связывания димеров BEL5-POTH1 (Natarajan et al., 2019; Kondhare и др., 2018). Также в стабилизации мРНК при их транспорте участвуют белки-шапероны семейства Polypyrimidine Tract binding Protein (Kondhare et al., 2018). Среди малых РНК, регулирующих процесс формирования запасующего корня, важную роль занимают miR156 и miR172, которые выполняют противоположные функции в переходе от ювенильной к взрослой фазе развития растений (Natarajan et al., 2019).

Итак, регуляция развития запасующего корня сигналами из надземной части растения в основном изучена на примере клубней картофеля; их роль в контроле запасующих корней находится на стадии изучения.

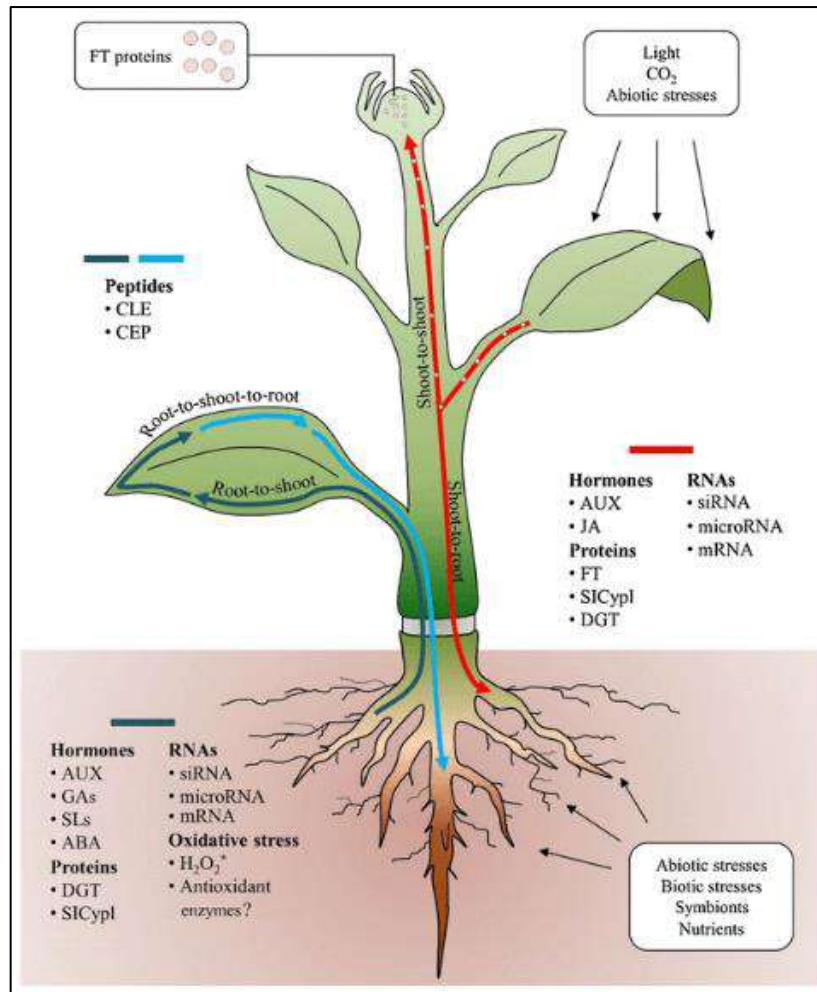


Рисунок 5. Основные факторы, опосредующие взаимодействие надземной и подземной частей растений (по Gaion et al., 2018).

1.2.2. Метаболические изменения при развитии запасяющего корня

Запасяющие корни используются растениями для переживания неблагоприятных условий и для вегетативного размножения, а также выступают в качестве источников питания для человека и животных благодаря накоплению углеводов (обычно в виде крахмала). Было показано, что главными метаболическими факторами образования запасяющего корня у растений являются повышение уровня крахмала и сахаров и снижение биосинтеза лигнина (Eserman et al., 2018; Wang et al., 2016a; Firon et al., 2013). Из углеводов в запасяющих корнях откладывается в основном крахмал – смесь амилозы и амилопектина, полимеров альфа-глюкозы. Крахмал в корне растений в основном синтезируется и

накапливается в амилопластах (пластидах подземных органов). Материал для синтеза крахмала переносится в корень из надземной части растения по флоэме (в форме сахарозы), распределяясь затем при помощи мембранных транспортеров и по межклеточным каналам (плазмодесмам), и по тканям корня (Hennion et al., 2019). Синтез крахмала катализируется несколькими высококонсервативными группами ферментов (Pfister and Zeeman, 2016). Участие их в процессе формирования запасяющего корня было показано у различных сельскохозяйственных растений (Firon et al., 2013; Wang et al., 2016a; Eserman et al., 2018). Анатомические и биохимические исследования показали, что корни диких предков сельскохозяйственных растений, формирующих запасяющие корни, а также корни бескорнеплодных растений образуют малое число клеток паренхимы и накапливают мало крахмала (Eserman et al., 2018), а гены биосинтеза крахмала экспрессируются у них на низком уровне (Wang et al., 2016a).

Кроме крахмала и сахаров в запасяющих корнях сложноцветных растений могут накапливаться полимеры фруктозы – фруктаны, в основном инулинового типа, состоящие из множества молекул β -D-фруктозы и одной молекулы α -D-глюкозы. У сахарной свеклы (и ее дикого предка) вместо полисахаридов накапливается сахароза, что, вероятно, связано с ее стратегией адаптации к условиям засоления. Гены, кодирующие ферменты пути биосинтеза крахмала, идентифицированы в геноме свеклы, и при образовании корнеплода уровни их экспрессии повышаются. К настоящему времени причины такого парадокса не ясны (Turesson et al., 2014).

В запасяющих корнях накапливается и лигнин - смесь ароматических полимеров – производных фенилпропана. Он образуется в ходе процессов биосинтеза и полимеризации мономеров и входит в состав одревесневших клеточных стенок растений, в том числе – стенок проводящих элементов. Ферменты биосинтеза моно- и полимеров лигнина регулируют содержание этого вещества в растительных клетках (Liu et al., 2018). В запасяющих корнях содержание лигнина снижено (Wang et al., 2016a; Yang et al., 2011), что связано с образованием большого количества запасяющей паренхимы со слабо лигнифицированными клеточными стенками. Кроме того, у растений с формирующимся запасяющим корнем есть взаимосвязь между метаболизмом фенилпропаноидов и крахмала. Так, у трансгенного батата с повышенным уровнем биосинтеза лигнина снижалось количество сахарозы и гексоз в листьях и уровень

др., 2020). Наша работа посвящена изучению роли ряда камбиальных регуляторов в развитии запасяющего корня редиса.

1.3. Особенности редиса как объекта для изучения генетики развития запасяющего корня

Одним из наиболее перспективных объектов для изучения запасяющего корня является редис посевной (*Raphanus sativus* var. *radicula* Pers.) - корнеплодная культура, принадлежащая к семейству *Brassicaceae* и родственная модельному объекту генетики *Arabidopsis thaliana*. Редис формирует монокамбиальный корнеплод ксилемного типа – с одним камбиальным кольцом и дифференцировкой запасяющей ксилемной паренхимы, которая составляет большую часть корнеплода этого растения (Сазанова, 1985; Zaki et al., 2012). Следует отметить, что корнеплод (этот термин обозначает запасяющий стержневой корень) редиса является композитной структурой, верхняя часть которой является производной гипокотилия (Сазанова, 1985), тем не менее, в дальнейшем мы будем говорить именно о запасяющем корне.

Рост запасяющего корня редиса позитивно регулируется нитратами (Geem et al., 2023), фотопериодом (Guoa et al., 2019) и ЦК (Jang et al., 2015).

В результате транскриптомного анализа разных стадий развития корнеплода редиса были выделены несколько групп транскриптов, уровни которых наиболее существенно возрастают в процессе роста и развития корнеплода. Среди них преобладают гены, регулирующие деление (некоторые гены циклинов и циклин-зависимых киназ) и растяжение клеток (гены, кодирующие ферменты дестабилизации клеточной стенки – экспансины и ксилоглюкан-эндотрансгликозилазы) (Wang et al., 2013b), регуляторы различных метаболических путей и сигналинга (например, гены, кодирующие ТФ разных семейств и компоненты MAP-киназного каскада), гены микро-РНК, мишенями которых являются некоторые гены, кодирующие ТФ (Yu et al., 2015), а также гены-регуляторы биосинтеза и метаболизма крахмала и сахарозы и биосинтеза вторичных метаболитов (Wang et al., 2013b; Xie et al., 2018b). Также при развитии корнеплода редиса было отмечено повышение уровней экспрессии некоторых

генов, регулирующих метаболизм и/или передачу сигнала фитогормонов – ИУК, ЦК, этилена и абсцизовой кислоты (Xie et al., 2018b).

Два кандидата на роль регуляторов развития корнеплодов были выявлены среди многочисленных генов *CLE* редиса: *RsCLE41*, регулятор деления клеток камбия и репрессор дифференцировки ксилемы, и *RsCLE19*, для которого предполагается роль стимулятора дифференцировки сосудов. Для этих генов было показано многократное возрастание уровней экспрессии при росте запасяющего корня редиса и локализация экспрессии в строго определенных тканях (*CLE41* во флоэме и камбии, *CLE19* в ксилеме). В опытах по сверхэкспрессии *CLE41* и *CLE19* у редиса посевного *R. sativus* и его дикого предка *R. raphanistrum* было показано, что *CLE41* вызывает разрастание проводящих пучков, увеличение количества клеток камбия и тонкостенной ксилемной паренхимы, тогда как *CLE19* повышает количество одревесневающих элементов ксилемы (Gancheva et al., 2016; Ганчева и др., 2018).

В СПбГУ поддерживается генетическая коллекция инбредных линий редиса, созданная путем самоопыления индивидуальных растений различных сортов. В настоящее время коллекция включает в себя 33 линии примерно 50го поколения инбридинга, различающиеся по ряду маркерных признаков, в том числе по степени развития запасяющего корня (Нарбут, 1966; Бузовкина и Лутова, 2007). Кроме того, в генетической коллекции редиса имеются 10 линий с аномалиями развития корня - спонтанным опухолеобразованием (см. далее). Спонтанные опухоли редиса имеют камбиальное происхождение (Lebedeva et al., 2015); таким образом, гены-регуляторы опухолеобразования могут быть неизвестными компонентами регуляции развития камбия и меристематической компетентности клеток корня. В этом отношении генетическая коллекция редиса СПбГУ уникальна, поскольку в имеющихся в мире коллекциях других корнеплодных культур о появлении таких аномалий не сообщалось.

Следует отметить, что спонтанные опухоли растений встречаются довольно редко. Изучение примеров спонтанного опухолеобразования (например, у мутантов арабидопсиса) показало, что опухоли являются результатом потери функций определенных генов, которые являются специфичными для растений системными регуляторами клеточной пролиферации и дифференцировки (см. ниже). Таким образом, присутствие в генетической коллекции редиса многочисленных опухолевых линий свидетельствует о том, что в самом селекционном процессе

этого объекта отбирались не просто формы с нарушением контроля активности камбия, но и с нарушением системного контроля пролиферации клеток. Изучение механизмов развития спонтанных опухолей у редиса может помочь в понимании направления селекции при создании корнеплодных культур.

В связи с этим, в задачи работы входил поиск генов-регуляторов спонтанного опухолеобразования в ходе анализа геномов родственной опухолевой и безопухолевой линий редиса. Некоторые выявленные регуляторы формирования запасающего корня и опухолей у редиса представлены на рисунке 7.

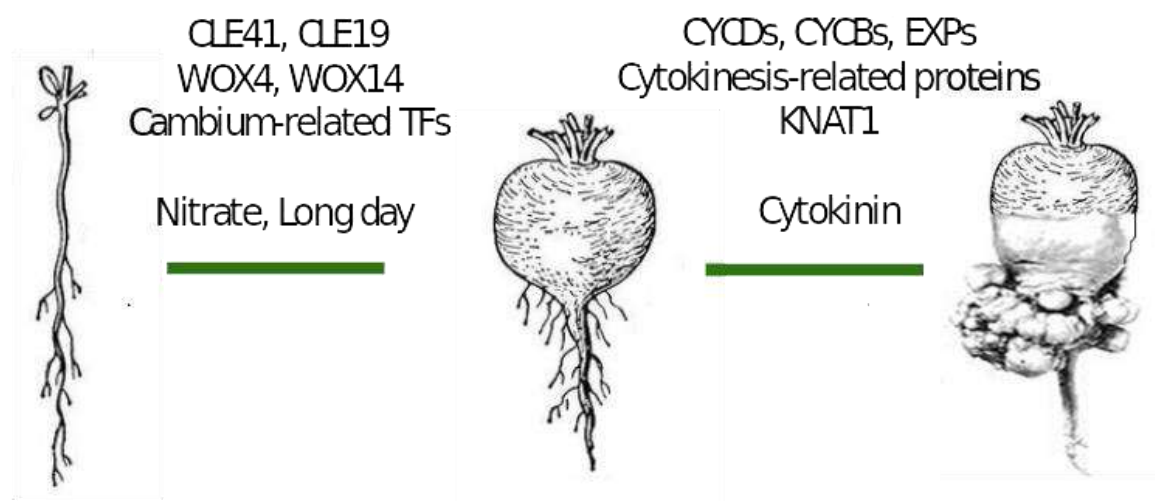


Рисунок 7. Некоторые выявленные регуляторы формирования запасающего корня и опухолей у редиса (по данным Guo et al., 2019, Jang et al., 2015, Gancheva et al., 2016, Xie et al., 2018).

1.4. Опухоли высших растений

Опухоли, или неоплазии – это патологические образования, возникающие в результате неконтролируемого размножения группы клеток, которое может быть вызвано нарушением процессов поддержания стволовых клеток или нарушением регуляции митогенных сигналов (Doonan and Sablowski, 2010; Ullrich et al., 2019). Поскольку многоклеточность развилась у растений и животных независимо (Meurerowitz, 2002), системная регуляция клеточной пролиферации и дифференцировки у этих двух групп высших эукариот организована по-разному, и имеются существенные различия в опухолеобразовании у растений и животных.

Во-первых, опухоли у растений встречаются гораздо реже, чем у животных. Большинство опухолей растений формируются под влиянием патогенов, тогда как спонтанные опухоли, зависящие от генотипа растения, встречаются редко (Dodueva et al., 2020; Doonan and Sablowski, 2010). В отличие от животных, у высших растений нарушение отдельных компонентов контроля клеточного цикла не вызывает образования опухолей в связи с тем, что «лишние» растительные клетки, образующиеся за счет усиленной клеточной пролиферации, могут быть включены в уже существующий план тела (Dewitte et al., 2007).

Одной из причин этого может быть тот факт, что у высших растений процессы пролиферации и дифференцировки клеток сосредоточены в основном в меристемах - структурах, содержащих пулы стволовых клеток и являющихся основными зонами органогенеза и гистогенеза у высших растений (Ivanov, 2003; Heidstra and Sabatini, 2014). Помимо регуляторов клеточного цикла пролиферация клеток в меристемах регулируется меристем-специфичными ТФ, а также действующими выше них сигнальными системами, в частности мобильными пептидами и фитогормонами (Hazak and Hardke, 2016; Schaller et al., 2015; Lee et al., 2019). Действительно, в большинстве примеров спонтанного и патоген-индуцированного опухолеобразования у растений отмечено повышение уровня фитогормонов (главным образом ЦК) в тканях как стартовый механизм опухолеобразования, а также повышение уровня экспрессии ряда генов, кодирующих меристемные регуляторы, в частности ТФ (см. обзоры Dodueva et al., 2020; Doonan and Sablowski, 2010).

Опухоли растений могут развиваться на органах любого типа, включая листья, стебли, корни, органы цветка (Ahuja, 1998), и характеризоваться различной степенью дифференцировки клеток. У растений различают опухолеподобные образования с недетерминированным ростом и отсутствием вторичной дифференцировки клеток (опухоли) и детерминированным ростом с признаками дифференцировки (галлы). Первые имеют вид массы недифференцированных клеток, длительно делятся и напоминают каллус, иногда такие опухоли могут частично подвергаться вторичной дифференцировке и даже образовывать новые ткани и органы. К таким опухолям относятся опухоли, индуцированные *Agrobacterium tumefaciens*, которые могут образовывать ограниченное число типов дифференцированных тканей, таких как сосуды (Ullrich and Aloni, 2000) или эпидермис (Veselov et al., 2003). Другие опухоли недетерминированного типа

образуют массу аномальных органов, например, листовые опухоли, вызываемые бактерией *Rhodococcus fascians* (Depuydt et al., 2008). Галлы представляют собой более упорядоченные образования, состоящие из дифференцированных клеток и тканей. Типичным примером являются галлы, индуцированные паразитическими членистоногими (Paponova et al., 2017; Giron et al., 2016; Shorthouse et al., 2005).

В ходе многолетнего изучения спонтанных и индуцированных патогенами опухолей растений выявлены различные механизмы, лежащие в основе их развития, в том числе изменение уровня основных фитогормонов, нарушение регуляции клеточного цикла и клеточной адгезии и другие. Поскольку опухоли растений очень разнообразны, разные исследования сосредоточены на различных их типах.

Большая часть примеров опухолеобразования у растений связана с развитием неоплазий под действием разнообразных патогенов: бактерий, грибов, простейших, нематод, членистоногих (рисунок 8). В многочисленных исследованиях были выявлены как гены паразитических организмов, необходимые для формирования опухолей, так и гены растений, экспрессия которых способствует развитию неоплазий (см. ниже).

В то же время, спонтанные опухоли у растений встречаются сравнительно редко и формируются у растений с определенным генотипом (мутантов, межвидовых гибридов или инбредных линий) (Doonan and Sablowski, 2010; Dodueva et al., 2020). В основном данные о механизмах формирования спонтанных опухолей были получены для группы моногенных опухолеобразующих мутантов арабидопсис (рисунок 8). У разных представителей этой группы образование опухолей может быть следствием нарушения структуры клеточной стенки и снижения клеточной адгезии (Krupkova et al., 2007), гиперчувствительности к определенным группам регуляторов роста (Pelagio-Flores et al., 2013) или неправильного функционирования компонентов передачи сигналов клетки с неизвестными функциями (Smoczynski et al., 2006; Da Costa et al., 2006). Спонтанные опухоли могут образовываться у растений межвидовых гибридов (между некоторыми видами *Nicotiana*), а также у инбредных линий донника белого *Melilotus albus* (Littau and Black, 1952) и редиса посевного *Raphanus sativus* (Нарбут, 1967). Генетический контроль таких опухолей остается малоизученным.

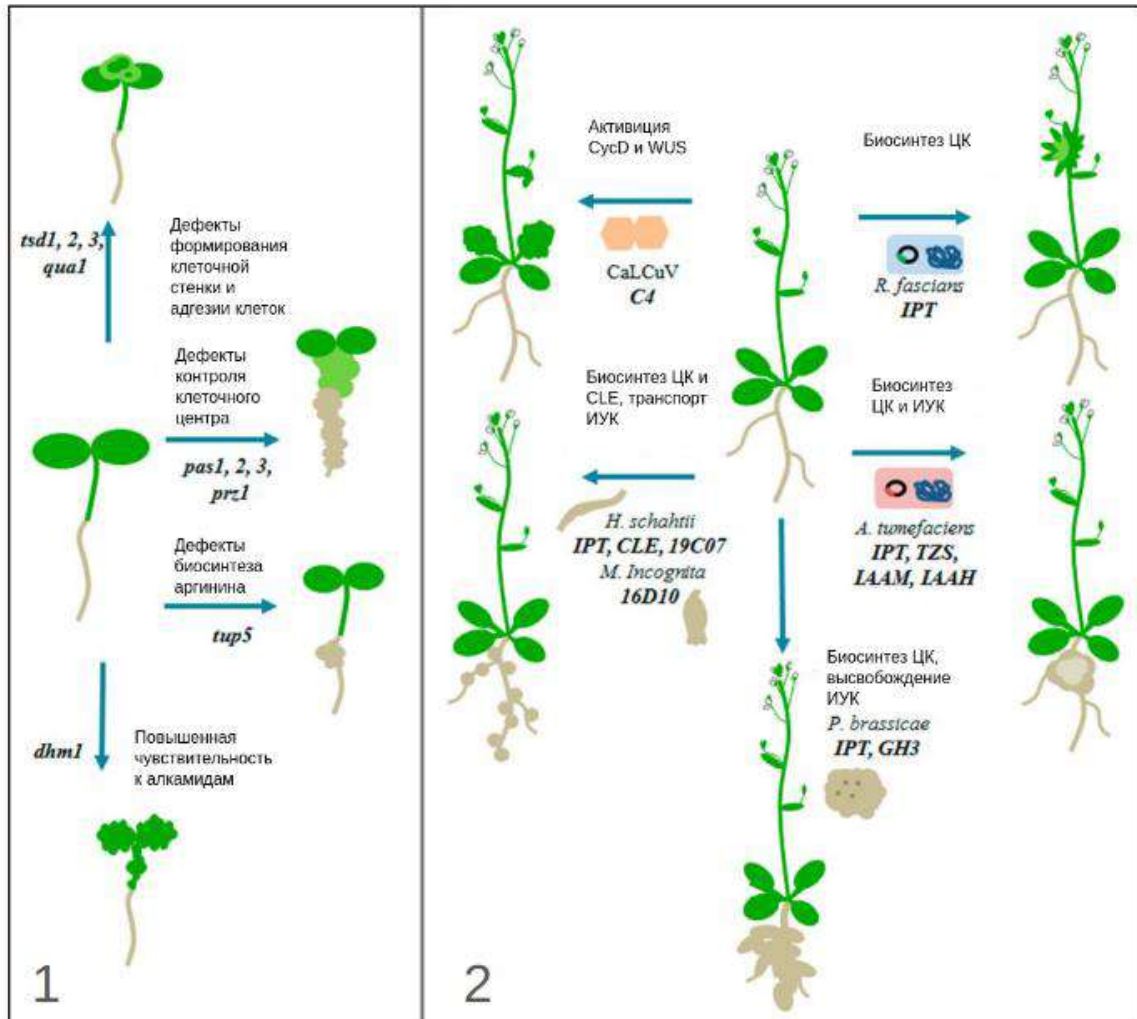


Рисунок 8. Спонтанные (1) и патоген-индуцируемые (2) опухоли у *Arabidopsis* (по Dodueva et al., 2020). Гены, обозначенные на рисунке 8 (2), принадлежат патогенам и являются гомологами соответствующих генов растений. При инфицировании растений различными видами патогенов на у растений формируются различные структуры: скручивания листьев (при инфицировании вирусом *CaLCuV*); повышение активности АМП и формирование характерных структур на побеге (при инфицировании бактерией *R. fascians*); формирование галлов на корнях растений (при инфицировании нематодами *Heterodera schachtii* и *Meloidogyne incognita*); формирование килы на корнях при заражении протистом *Plasmodiophora brassicae*; формирование корончатого галла на корнях растений (при заражении бактерией *Agrobacterium tumefaciens*). Паразиты схематично изображены под их видовым названием.

1.4.1. Опухоли высших растений, вызванные патогенами

Фитогормоны, особенно ИУК и ЦК, играют центральную роль в основных процессах развития растений, а также участвуют в процессах опухолевого роста, индуцируемых патогенами (Voivin et al., 2016). Целый ряд биотрофных патогенов растений манипулируют уровнем ИУК и/или ЦК для того, чтобы вызвать

разрастание тканей хозяина ради собственной выгоды, чтобы создать себе среду обитания или источник питательных веществ.

К настоящему времени у разных групп фитопатогенов обнаружены гены биосинтеза ИУК и/или ЦК, экспрессия которых важна для заражения растений и индукции разрастания их тканей. Такие гены были также обнаружены у различных бактерий (включая как опухолевые патогены, так и неспособные индуцировать опухоли, а также у симбиотических и свободноживущих видов). Интересно, что ферменты биосинтеза ИУК и ЦК у «нерастительных» организмов были выявлены раньше, чем у растений. Так, изопентенилтрансферазы (IPT), регулирующие первую стадию биосинтеза ЦК, впервые были идентифицированы у амебы *Dictyostelium discoideum* (Taya et al., 1978) и бактерии *A. tumefaciens* (Akiyoshi et al., 1983; Barry et al., 1984) и гораздо позже у растений (Takei et al., 2001). Некоторые фитопатогены также способны модулировать гомеостаз фитогормонов хозяина, нарушая их транспорт. Например, опухолеиндуцирующие бактерии *Pantoea agglomerans* и паразитические нематоды, которые вызывают галлы на корнях, могут манипулировать потоком ИУК с помощью своих эффекторных белков, которые в клетках растений взаимодействуют с белками, образующими каналы притока и оттока ИУК (Lee et al., 2011; Chalupowicz et al., 2013). У различных фитопатогенов также имеется множество эффекторов, взаимодействующих с путями передачи сигнала разных групп фитогормонов с целью индукции разрастания тканей и подавления защитных сил хозяина (см. обзор Додуева и др., 2022). Кроме того, некоторые фитопатогены, в том числе способные к индукции гиперплазий, могут синтезировать и секретировать пептидные фитогормоны разных групп (Dodueva et al., 2021).

Наиболее известными фитопатогенами, вызывающими гиперплазии у растений, являются **бактерии** рода *Agrobacterium*, в частности, *A. tumefaciens*, вызывающая развитие недетерминированных опухолей с низкой способностью к вторичной дифференцировке (так называемого корончатого галла), и *A. rhizogenes*, вызывающая развитие многочисленных придаточных корней на пораженном органе (Terfer, 1984). Все патогенные виды рода *Agrobacterium* содержат вирулентные плазмиды, которые носят название Ti (Tumor inducing) у *A. tumefaciens* и Ri (Root inducing) у *A. rhizogenes*. Причиной развития гиперплазий агробактериального происхождения является экспрессия генов специфического участка ДНК - T-ДНК, входящего в состав вирулентных плазмид агробактерий. T-ДНК представляет собой

фрагмент размером 10-30 kbp, ограниченный прямыми повторами (Huffman et al., 1984). Вырезание Т-ДНК и перенос ее в ядро клетки растения контролируют продукты генов *Vir*-области агробактериальной плазмиды (*VirA-VirF*), а также некоторые хромосомные гены (Gelvin, 2003; Пермякова и др., 2009; Pitzschke and Hirt, 2010). В природе заражение растений агробактериями происходит через поранение. Выделяющиеся при поранении соединения (фенолы и сахара) служат индукторами экспрессии *Vir* генов (Gelvin, 2003).

Экспрессия генов Т-ДНК в клетках растений вызывает неконтролируемую пролиферацию и аномальный рост тканей, а также синтез опинов – производных аминокислот, которые используются агробактериями в качестве источника питания (Dessaux et al., 1986). Таким образом, большинство изученных генов Т-ДНК относятся к одной из двух функциональных групп: гены, контролирующие биосинтез и секрецию опинов, и гены, стимулирующие пролиферацию клеток зараженного растения (последние называются агробактериальными онкогенами). Различные стратегии патогенеза *A. tumefaciens* и *A. rhizogenes* определяются различием их Т-ДНК по составу онкогенов. В целом можно сказать, что наиболее изученные онкогены *A. tumefaciens* вызывают синтез большого количества ИУК и ЦК, тогда как онкогены *A. rhizogenes* – синтез ИУК и повышение чувствительности тканей растения к фитогормонам (Carone et al., 1989).

Например, локус *tms* (*tumor morphology shoot*) *A. tumefaciens* содержит гены, контролирующих этапы биосинтеза ИУК из индол-3-ацетамида: *tms1* (*iaaM*) и *tms2* (*iaaH*) (Kemper et al., 1985), а локус *tmr* (*tumor morphology root*) – ген *ipt*, кодирующий ключевой фермент биосинтеза ЦК (Barry et al., 1984). Еще один ген, связанный с биосинтезом ЦК, *tzs* (транс-зеатинсинтаза), присутствует только на определенных типах Ti-плазмид (Akiyoshi et al., 1983).

Вместе с тем, функции ряда генов Т-ДНК *A. tumefaciens* не имеют прямого отношения к гормональному биосинтезу. Таким примером является локус *tml* (*tumor morphology large*), включающий в себя онкоген *bb*, экспрессия которого у трансгенных растений стимулирует опухолеобразование, деление клеток каллуса и изменение морфологии листа (Helfer et al., 2003). Ген *bb* не связан с метаболизмом фитогормонов и принадлежит к семейству *plast* генов (генов фенотипической пластичности) (Otten, 2018), кодируемый им белок – эффектор транспортируется в клетки растений, где взаимодействует с небольшой группой ядерных белков с неизвестной функцией (Kitakura et al., 2008). Белок *bb* также влияет на

хроматиновый статус растительной ДНК, активируя экспрессию генов клеточного цикла (*CYCB*, *CYCD*) и меристемных регуляторов (*KNOX* класса I) (Terakura et al., 2007).

Заражение *A. tumefaciens* также вызывает изменение уровней экспрессии определенных генов растения-хозяина. Так, транскриптомный анализ корончатого галла, образующегося на проростках редиса, выявил активацию экспрессии большого количества генов, кодирующих ТФ, и негативную регуляцию генов, участвующих в ответе на стресс (Tkachenko et al., 2021b).

К семейству *plast* относится также большинство генов Т-ДНК *A. rhizogenes* (Otten, 2018). При заражении растений этой бактерией развивается синдром бородатого корня: происходит стимуляция деления клеток перицикла, и на пораженном органе образуется множество придаточных корней.

Наиболее известными среди генов Т-ДНК *A. rhizogenes* являются гены *rol* (*root locus*): *rol A*, *B*, *C*, *D*, - от которых зависит развитие бородатого корня (Carone et al., 1989). Точные функции генов *rol* неизвестны. Продукты некоторых из них способны к взаимодействию с растительными белками, участвующими в работе сигнальных каскадов (Moriuchi et al., 2004; Dubrovina et al., 2009). Продуктами генов *aux1* и *aux2* Т-ДНК *A. rhizogenes*, как и генов локуса *tms* *A. tumefaciens*, являются ферменты биосинтеза ауксинов (Gaudin and Jouanin, 1995).

Неопластический рост тканей у растений также может вызываться гетерогенной группой бактерий, которые стимулируют образование опухолей, анатомически сходных с индуцированным *A. tumefaciens* корончатым галлом (Clark et al., 1989; Chalupowicz et al., 2006), но не способных к трансформации растительных клеток. К таким бактериям относятся *Pseudomonas savastanoi*, вызывающая опухоли у олив и олеандра, *Rhizobacter dauci*, вызывающая бактериальные галлы у моркови, а также *Pantoea agglomerans* и *Rhodococcus fascians*, вызывающие опухоли у различных видов. Все вышеперечисленные виды бактерий способны к выработке ИУК и ЦК, и в их геномах были идентифицированы гены биосинтеза ИУК и ЦК, расположенные на хромосомах или плаزمиде (Inze et al., 1987; Clark et al., 1993). От генов фитогормонального биосинтеза зависит эффективность заражения растений и развитие бактериальных неоплазий (Bardaji et al., 2011). Активная пролиферация клеток в листовых галлах, образующихся при действии этих бактерий, связана с активацией гена клеточного цикла *CYCD3* (Depuydt et al., 2009) и генов-регуляторов меристем *STM* и *KNAT1*

(De O-Manes et al., 2001; Depuydt et al., 2008). Таким образом, жизненная стратегия всех опухоль-индуцирующих фитопатогенных бактерий связана с использованием тех генов фитогормонального биосинтеза, которые у них имеются.

Способность синтезировать и секретировать ИУК и ЦК широко распространена также в царстве **грибов**. Она встречается как у опухолеиндуцирующих фитопатогенов, так и у тех, которые не вызывают развитие гиперплазий у растений (Shen et al., 2018; Chanclud and Morrel, 2016, Tanaka et al., 2011, Hinsch et al., 2015, Miransari et al., 2014, Hilbert et al., 2012).

Базидиомицеты *Ustilago* имеют жизненные циклы, включающие непатогенную гаплоидную и патогенную диплоидную стадии; грибы заселяют растения через надземные меристематические ткани. Клеточные стенки инфицированных растений разрушаются в местах соприкосновения гиф и мембран растительных клеток, вследствие чего образуются биотрофные поверхности с усиленным везикулярным транспортом. Вскоре после заражения наблюдается гипертрофия и пролиферация клеток растения-хозяина (Doehlemann et al., 2008). У *U. maydis* идентифицированы гены биосинтеза ИУК, однако способность *Ustilago* синтезировать ИУК не является ключевым фактором индукции опухоли (Reineke et al., 2008). Гены биосинтеза ЦК у *Ustilago* не идентифицированы (Morrison et al., 2015). Образование опухолей, индуцированных *U. maydis*, также зависит от гиббереллинов (Walbot and Skibbe, 2010).

Аскомицеты *Taphrina* также способны вызывать гиперплазию тканей растений (Tsai et al., 2014). Заражение *T. deformans* связано с повышенными уровнями ЦК (Johnston and Trione, 1974; Testone et al., 2008) и ИУК (Yamada et al., 1990) в листьях хозяина. У видов, индуцирующих гиперплазию, выявлены гены синтеза ИУК, ЦК, гиббереллинов и АБК, в том числе ортологи генов биосинтеза ИУК *Ustilago*, то есть, возможно, аскомицеты используют аналогичную стратегию синтеза ИУК (Cissé et al., 2013; Tsai et al., 2014). У аскомицетов обнаружены и другие ферменты биосинтеза ИУК - ортологи YUCCA (Tsai et al., 2014). У листьев растений, пораженных аскомицетами рода *Taphrina*, наблюдалась повышенная пролиферация клеток палисадного мезофилла - эффект, схожий с влиянием сверхэкспрессии генов *KNOX I* класса (Testone et al., 2008).

Грибы рода *Fusarium* вызывают у поражаемых растений образование структур, напоминающих листовые галлы, вызываемые *R. fascians*. У *Fusarium* идентифицированы гены синтеза ИУК (*iaaM*, *iaaH*, *YUCCA*), ЦК (*IPT*, *LOG*) и

гиббереллинов (Vanstaden, Nicolson, 1989; Tsavkelova et al., 2012; Niehaus et al., 2016, Sørensen et al., 2018). Кроме того, грибы *Fusarium* способны синтезировать пептидные фитогормоны RALF (RAPID ALKALINIZATION FACTOR), которые важны для развития симптомов патогенеза (Masachis et al., 2016).

Среди **простейших**, вызывающих опухоли у растений, выделяют *Plasmodiophora brassicae* — облигатного протиста, вызывающего у представителей семейства *Brassicaceae* килу - наросты на гипокотилеях и корнях инфицированных растений (Kageyama and Asano, 2009). Заражение гипокотилей арабидопсиса *P. brassicae* усиливает деление клеток камбия и флоэмной паренхимы (Kobelt et al., 2000), о чем свидетельствует повышение уровней экспрессии генов *СУСВ1*, *ANT* и *EXP*; кроме того, при заражении наблюдалось подавление дифференцировки ксилемы, о чем свидетельствует снижение уровней регуляторов ксилогенеза *VND6*, *VND7* и *MYB4* (Malinowski et al., 2012; Irani et al., 2018). Трансгенные растения со сверхэкспрессией ингибитора клеточного цикла *KRP1* и мутанты *cle41* с пониженным числом стволовых клеток камбия имели пониженную способность к образованию таких наростов (Malinowski et al., 2012). Образование килы является результатом изменения баланса фитогормонов растения-хозяина, возникающего при инфекции *P. brassicae*, в сторону увеличения содержания свободных и связанных форм ИУК и ЦК в несколько раз (Dekhuijzen and Overeem, 1971; Devos et al., 2005). Экспланты корней и стеблей, инфицированных *P. brassicae*, росли независимо от ЦК *in vitro* (Dekhuijzen and Overeem, 1971). На ранней стадии образования килы преобладают процессы деления клеток, что связано с синтезом бактериями ЦК (Dekhuijzen and Overeem, 1971; Devos et al., 2005), а на последних стадиях - процессы роста (Kobelt et al., 2000), что связывают с повышенными уровнями ИУК (Grsic-Rausch et al., 2000). Одним из генов, обеспечивающих поддержание баланса ИУК у *P. brassicae*, является *PbGH3*, чей продукт конъюгирует ИУК и жасмонаты с аминокислотами *in vitro*. Данный ген отсутствует у ближайших родственников *P. brassicae* (Schwelm et al., 2015).

Фитопаразитические **нематоды**, помимо стандартной стратегии опухолеиндуцирующих патогенов (продукция ЦК и влияние на распределение ИУК в тканях растений), могут использовать уникальную стратегию — биосинтез и секрецию эффекторных пептидов, имитирующих растительные пептиды семейств CLE, CEP (C-terminally encoded peptides) и IDA (inflorescence deficient in abscission). Среди нематод, индуцирующих опухоли у растений,

различают галловые (*Meloidogyne* spp.) и цистовые нематоды (*Globodera* spp. и *Heterodera* spp.). Они проникают в клетки корней и модифицируют ткани растения-хозяина, образуя галлы (Palomares-Rius et al., 2017). В клетке растения, выбранной нематодой для питания, запускается клеточный цикл, после чего соседние клетки начинают расширяться. Затем образуются так называемые сайты кормления - или путем слияния клеток в синцитий (у цистообразующих нематод), или путем образования гигантских клеток в отсутствие цитокинеза (у галловых нематод). На ранних стадиях паразитизма нематод активируются гены клеточного цикла, что важно для формирования таких сайтов кормления (de Almeida Engler and Gheysen, 2013; Siddique et al., 2015).

Нематоды впрыскивают в клетки растения секрет своих слюнных желез, который содержит фитогормоны и эффекторные белки, например, 16D10 и 7H08, которые обладают транскрипционной активностью в ядре растений-хозяев (Mitchum et al., 2012; Ali et al., 2017). При заражении растений цистовыми нематодами в синцитии и соседних клетках активируется экспрессия ЦК-зависимых генов (Siddique et al., 2015; Dowd et al., 2017).

Ни цистовые, ни галловые нематоды не способны продуцировать ИУК (Goverse et al., 2000), но они могут манипулировать потоком ИУК в растениях-хозяевах через транспортеры AUX/LAX и PIN (Kyndt et al., 2016). Цистовые и галловые нематоды различаются по манипулированию действием ИУК: одной из мишеней ИУК в галлах, индуцированных галловыми нематодами, является ИУК-регулируемый ген *LBD16*, регулятор клеточных делений в перицикле ксилемы при образовании боковых корней (Cabrera et al., 2015).

Нематоды способны продуцировать и CLE-пептиды, что является их уникальной особенностью (Wang et al., 2001; Gao et al., 2003). Пептиды CLE цистообразующих нематод относятся к той же группе, что и пептиды CLE1-7 *Arabidopsis* (Ali et al., 2017). У *H. schachtii* идентифицирована и группа пептидов CLE, сходная с CLE пептидами В-типа, а также белок TDR, связывающий CLE-пептиды В-типа. Оба типа пептидов CLE, А и В, могут способствовать пролиферации клеток во время формирования сайтов кормления (Guo et al., 2017). У *M. incognita* был также идентифицирован ген *16D10*, кодирующий белок, сходный с CLE-пептидами, и стимулирующий рост корней. В корнях арабидопсиса 16D10 взаимодействует с двумя ТФ: SCL6 и SCL21 (Huang et al., 2006).

Образующая синцитии нематода *Rotylenchulus reniformis* секретирует пептиды, сходные с СЕР-пептидами растений. Гены семейства *RrCER* активируются во время инфекционной фазы жизненного цикла нематод и экспрессируются в клетках глоточной железы. Синтетический пептид RrCER1 усиливал экспрессию гена переносчика нитратов *AtNRT2.1* (Eves-Van Den Akker et al., 2016). Нематоды *Meloidogyne* также секретируют пептиды IDA, функцией которых является ослабление связей между клетками растений, что облегчает нематодам проникновение в корень (Kim et al., 2018).

Членистоногие - насекомые и клещи - вызывают у растений гиперплазии различного вида: от небольших вздутий на листьях или стеблях, образованных разросшимися эпидермальными клетками, до сложных структур с дифференцированными тканями (Giron et al., 2016; Shorthouse et al., 2005). Галлы, индуцируемые насекомыми и клещами, имеют общие характеристики и регулируются общими механизмами. Насекомые, вызывающие образование галлов, могут впрыскивать секреты, вероятно, содержащие ИУК и ЦК, в ткани растения-хозяина, вызывая аномальный рост (Hough, 1953). Галлоиндуцирующие насекомые влияют и на экспрессию генов регуляторов камбия (*CLE44*, *TDR/PXY*, *WOX4* и *ERECTA*), а также цветения и формирования плодов (Schultz et al., 2019).

Галл-индуцирующие клещи прокалывают эпидермальную ткань растений-хозяев и впрыскивают туда слюну, в которой была обнаружена слабая ИУК- и ЦК-подобная активность (De Lillo and Monfreda, 2004), индуцируя аномальный рост. Галлы, индуцированные клещами, характеризуются усиленной пролиферацией мезофилла, приводящей к образованию однородной паренхимы и изменениям адаксиально-абаксиальной полярности листовой пластинки (Kane et al., 1997; Raponova et al., 2017). При развитии галлов, индуцированных клещом на землянике, активировались гены *KNOX* и *WOX*; гены, контролирующие развитие листа (*YAB2*, *REV*, *AS2*); гены клеточного цикла (*CYCD3*, *CYCB1*) и гены первичного ответа на ИУК и ЦК (Raponova et al., 2017).

Вирусы двух групп — *Reoviridae* (реовирусы) и *Geminiviridae* (геминивирусы) - вызывают формирование опухолей у растений, при этом механизмы индукции гиперплазий отличаются от таковых у вышеперечисленных групп фитопатогенов и не связаны с изменениями баланса фитогормонов (Hibino, 1996; Roumagnac et al., 2015; Wei and Li, 2016). Представители реовирусов, заражающие растения, распространяются по флоэме, вызывая гиперплазию

ситовидных трубок и повышенную пролиферацию клеток флоэмной паренхимы (Lv et al., 2017). Возможные механизмы, лежащие в основе образования опухолей, индуцированных реовирусом, связаны с влиянием на фитогормональный баланс хозяина. Например, белок Р2 вируса, вызывающего карликовость риса (RDV), связывается с ключевым ферментом биосинтеза гиббереллина энт-кауреноксидазой, негативно регулируя уровень гиббереллина и, тем самым, рост растений (Zhu et al., 2005). Геминивирусы способны стимулировать эндоредупликацию в клетках растения-хозяина и повышать частоту митозов (Latham et al., 1997; Hanley-Bowdoin et al., 2004) посредством взаимодействия с белками клеточного цикла. Некоторые белки геминивирусов содержат консервативные последовательности для связывания с белком RETINOBLASTOMA-RELATED растений (Kong et al., 2000; Arguello-Astorga et al., 2004). Действительно, заражение *Arabidopsis* вирусом курчавости листьев капусты снижает уровень экспрессии генов, регулирующих переход G1-S (*CYCD3*), и активирует гены, регулирующие фазы G2 и М. Сверхэкспрессия *CYCD3;1* и *E2FB*, активность которых в норме стимулирует пролиферацию клеток и уменьшает количество эндоциклов, блокирует развитие вирусной инфекции, а сверхэкспрессия *E2FA* и *E2FC*, стимулирующих эндомитоз, способствует развитию опухолей у инфицированных растений (Ascencio-Ibáñez et al., 2008). Для запуска пролиферации растительных клеток геминивирусы также используют стратегию, связанную с взаимодействием вирусных белков с белками клеточного цикла растений и регуляторами активности меристем. Белок С4 вируса курчавости свеклы имеет ключевое значение для развития опухолей (Latham et al., 1997; Mills-Lujan and Deom, 2010). У проростков растений, трансформированных *C4*, усиливалась экспрессия генов *CYCA1;1* и *CYCB1;4* (Mills-Lujan and Deom, 2010). В клетках растений белки С4 связываются с киназами SHAGGY, которые являются гомологами ключевых регуляторов сигнальных путей у животных (Piroux et al., 2007; Deom and Mills-Lujan, 2015) и участвуют в передаче сигналов brassinosterоидов у *Arabidopsis* (Yan et al., 2009).

1.4.2. Спонтанные опухоли растений

Спонтанные (генетические, или генетически детерминированные) опухоли развиваются у растений с определенным генотипом без заражения возбудителем. У

высших растений спонтанные опухоли встречаются значительно реже, чем опухоли, индуцированные патогенами; они могут образовываться у различных видов на различных органах: листьях, семядолях, боковых побегах, завязях (Ahuja, 1998). Спонтанные опухоли также образуются у инбредных линий и межвидовых гибридов. Генетический контроль большинства примеров спонтанных опухолей растений (за исключением опухолевых моногенных мутантов арабидопсис) остается малоизученным.

Спонтанные опухоли у межвидовых гибридов

Спонтанное опухолеобразование у межвидовых гибридов было отмечено в родах *Datura*, *Briofillum*, *Lilium*, *Gossipium*, *Lycopersicon*, *Brassica* и *Nicotiana* (Ahuja, 1998). Первые исследования спонтанного опухолеобразования были сосредоточены на изучении опухолей у межвидовых гибридов рода *Nicotiana* (Smith, 1988). Опухоли у табака развиваются во время цветения в нижней части стебля, они гистологически сходны с корончатыми галлами, индуцированными *A. tumefaciens*, однако способны к вторичной дифференцировке и образованию рудиментарных побегов и листовидных структур (Hagen, 1962; Aoki and Syono, 1999). В составе рода *Nicotiana* выделяют две группы («+» и «-»), и у гибридов видов из разных групп, в отличие от гибридов видов из одной группы, наблюдалось опухолеобразование (Naf, 1958). Вероятно, это связано с тем, что геномы «+» видов обладают геном-инициатором, который контролирует инициацию образования опухоли, а геномы «-» видов обладают множественными локусами усиления экспрессии (expression enhancers, «ee») (Ahuja, 1968). Представители минус-группы проявляли большую способность к корнеобразованию у эксплантов, а представители плюс-группы - к регенерации побегов (Vogani et al., 1997).

У межвидовых гибридов табака наблюдалась связь опухолеобразования с гормональным балансом, экспрессией разных групп генов, а также экспрессией генов Т-ДНК. У опухолеобразующих гибридов табака (Ahuja, 1971) отмечались повышенные уровни свободной ИУК и ЦК. Обработка гибридов (Qu et al., 2006) или изолированных АМК (Ames, 1972; Ames and Mistretta, 1975) цитокининами стимулировала образование опухоли, а ИУК ингибировала его. Также у развивающихся опухолей гибридов табака отмечалась активация генов *CYCD3* (Wang et al., 1999; Jin et al., 2008) и *KNOX I* (Lee et al., 2004).

Одной из возможных причин опухолеобразования у межвидовых гибридов табака считалась экспрессия гомологов онкогенов *Agrobacterium*, которые

присутствуют в геномах многих видов «минус-группы» *Nicotiana* и получили название «клеточная Т-ДНК» (клТ-ДНК). КлТ-ДНК *N. glauca* представляет собой несовершенный инвертированный повтор, содержащий гомологи нескольких онкогенов Т-ДНК *A. rhizogenes* (*NgrolB*, *NgrolC*, *Ngorf13*, *Ngorf14*) и ген опин-синтазы (Aoki and Syono, 1999). В дальнейшем последовательности кТ-ДНК были идентифицированы у многих видов *Nicotiana*, принадлежащих к секциям *Tomentosae* и *Noctiflorae* (Intrieri and Buiatti, 2001; Chen and Otten, 2017). Большинство последовательностей клТ-ДНК экспрессируются, что указывает на то, что они могут играть роль в жизни растений; более того, их экспрессия резко усиливается при индукции опухолей поранением и снижается при регенерации растений из опухолей (Aoki and Syono, 1999). В дальнейшем клТ-ДНК, наличие которой может быть результатом горизонтального переноса генов, была найдена в геномах различных видов растений за пределами рода *Nicotiana*. Ни один из этих видов не образует опухолей, и предполагается, что клТ-ДНК может играть роль в адаптации растений к стрессам и синтезе определенных вторичных метаболитов (Chen et al., 2018; Matveeva and Otten, 2021).

Кроме того, спонтанное опухолеобразование отмечалось у трансгенных растений *Nicotiana tabacum* с супрессией гена *CHRK1*, кодирующего рецепторную киназу с хитиназо-подобной последовательностью в экстраклеточном домене (Kim et al., 2000), которая также обладает антионкогенной активностью (Lee et al., 2003). Ген *CHRK1* экспрессируется в АМП, молодых листьях и проводящей системе (Lee et al., 2003). Каллус с супрессией *CHRK1* способен к быстрой гормоннезависимой пролиферации клеток и формированию побегоподобных структур, демонстрируя фенотипическое сходство с опухолями межвидовых гибридов *Nicotiana*. Киниза *CHRK1*, вероятно, участвует в контроле уровня ЦК в тканях растений (Lee et al., 2003). В клетках трансгенных проростков, а также каллусах, культивируемых на среде с ЦК, резко возрос уровень экспрессии гена *CycD3* (Lee et al., 2004). Получены данные и об участии киназы *CHRK1* в регуляции ответа на стресс. В опухолях *CHRK1-s* растений наблюдается повышенный уровень экспрессии генов, участвующих в реакции на стресс (Lee et al., 2004). Усиление экспрессии генов стрессового ответа отмечалось и в опухолях межвидовых гибридов табака (Lee et al., 2004). Таким образом, репрессия *CHRK1*-пути, вызванная делецией экстраклеточного домена киназы *CHRK1*, в сочетании с гормональным дисбалансом, вызванным экспрессией генов кТ-ДНК, может быть причиной

опухолеобразования у межвидовых гибридов *Nicotiana* (Lee et al., 2003). Также в образовании опухолей у табака могут принимать участие онкогены *Hl-1* и *Hl-2*, *habituated leaves* (Meins and Tomas, 2003), вызывающие ЦК-независимый рост тканей *in vitro*. Трансгенные по *Hl-1* и *Hl-2* растения имели повышенные уровни ЦК в тканях по сравнению с диким типом (Hewelt et al., 2000).

Итак, механизмы, лежащие в основе спонтанного опухолеобразования у межвидовых гибридов, не до конца понятны, хотя имеется ряд генов-кандидатов на роль регуляторов опухолеобразования у гибридов *Nicotiana*.

Спонтанные опухоли у мутантов *Arabidopsis thaliana*

Наиболее изученным примером спонтанного опухолеобразования у растений являются опухоли у мутантов *A. thaliana*. Развитие опухолей у этих мутантов начинается вскоре после прорастания и поражает АМП, листовые зачатки и гипокотиль. У мутантов отмечается повышение экспрессии ЦК- и ИУК-чувствительных генов, а также генов клеточного цикла и контроля меристем (Frank et al., 2002; Sieberer et al., 2003; Krupkova et al., 2007), но уровни ИУК и ЦК у мутантов сходны с таковыми у растений дикого типа. Причины онкогенеза у мутантов арабидопсис разнообразны. Различные моногенные мутации, имеющие следствием опухолевый рост, могут приводить к нарушению структуры клеточной стенки и снижению клеточной адгезии (у мутантов группы *tsd*), нарушению биосинтеза аргинина (у мутанта *tup5*), гиперчувствительности к регулятору роста (у мутанта *dhm1*), а также к нарушению функционирования компонентов клеточного сигналинга и активации клеточного цикла (у мутантов группы *pas*).

У мутантов *tumorous shoot development (tsd1, 2, 3)* вместо АМП развиваются каллусоподобные структуры с aberrантными листовидными органами (Frank et al., 2002). Дефекты развития мутантов *tsd* вызываются нарушением формирования клеточной стенки из-за изменений ориентации микроволокон целлюлозы и состава пектина, а также нарушением ориентации микротрубочек цитоскелета (Krupkova et al., 2007; Paredez et al., 2008). Продуктом *TSD1* является эндо-1,4-β-d-глюканаза, которая участвует в биосинтезе целлюлозы (Krupkova and Schmölling, 2009); *TSD2* кодирует пектин-метилтрансферазу (Krupkova et al., 2007). Другой ген этой группы, *QUA1*, кодирует гликозилтрансферазу, которая также участвует в биосинтезе пектина. Мутанты *qual* с потерей функции обнаруживают нарушение клеточной адгезии, что приводит к спонтанному образованию каллуса на поверхности семян, корней и гипокотыля (Bouton et al., 2002). Образование каллуса из

побега и семядолей, которое является результатом нарушения гена *NpGUT1*, кодирующего глюкуронилтрансферазу, участвующую в синтезе пектина, также характерно для мутанта *nolac-H18* (*non-organogenic callus with loosely attached cells*) табака (Iwai et al., 2002).

Мутанты *pasticcino* (*pas1*, 2, 3) формируют зоны эктопической пролиферации клеток на надземных частях растений. У проростков *pas1* в гипокотиле образуются дополнительный слой хаотично делящихся клеток, также имеется зона эктопического деления клеток в эпидермисе и первичной коре. Как и у мутантов *tsd*, пролиферацию клеток у мутантов *pas* усиливают ЦК (Faure et al., 1998). Продукт гена *PAS1* представляет собой иммунофилиновый белок (Smuczynski et al., 2006). *PAS2* кодирует тирозинфосфатаза-подобный белок PTPL, характеризующийся отсутствием фосфатазной активности (Bellec et al., 2002). Белок *PAS2* взаимодействует с фосфорилированной формой CDKA и конкурирует с активными фосфатазами за взаимодействие с субстратами. Возможно, что фенотип *pas2* формируется за счет стимуляции клеточного деления, являющейся результатом повышения каталитической активности CDKA (Da Costa et al., 2006).

Фенотип мутантных проростков *proporz* (*prz1*) реагирует на внесение экзогенных ЦК или ИУК, которые вызывают образование опухолевидного каллуса на поверхности всех органов (Sieberer et al., 2003). Ген *PRZ1* кодирует фактор ремоделирования хроматина AtADA2b (Mao et al., 2006), который имеет ряд мишеней, включая гены *KRP*, кодирующие KIP-подобные белки, которые взаимодействуют с CDK, подавляя их активность (Sieberer et al., 2003; Anzola et al., 2010). ИУК и ЦК являются антагонистами белков *KRP*: обработка ИУК подавляет гены *KRP*, особенно у мутантов *prz1*, вызывая дерегуляцию перицикла и неконтролируемую пролиферацию клеток (Anzola et al., 2010). К другим мишеням белка *PRZ1* относятся гены *PLT*, ключевые регуляторы ниши стволовых клеток АМК (Kornet and Scheres, 2009).

Мутант *tumor prone 5* (*tup5*) характеризуется формированием зачатков корней с задержкой роста, которые образуют каллусоподобные структуры. Ген *TUP5* кодирует ацетилорнитинаминотрансферазу, участвующую в биосинтезе аргинина (Frémont et al., 2013). Мутант *N-isobutyl decanamide-hypersensitive1* (*dhm1*) проявляет повышенную чувствительность к алкамидам и образует опухоли на черешках, листьях и стеблях (Pelagio-Flores et al., 2013). Высокие концентрации *N*-изобутилдеканамида, активного природного алкамида, вызывают образование

каллусов на листьях и усиливают образование боковых корней, что указывает на то, что соединение обладает биологической активностью (Lopez-Bucio et al., 2007).

Таким образом, регуляторы спонтанного опухолеобразования у мутантов арабидопсиса очень разнообразны, хотя механизмы образования опухолей понятны только для мутантов с нарушенной клеточной адгезией (*tsd*, *qua*, *nolac-H18*).

Спонтанные опухоли у инбредных линий

Образование спонтанных опухолей отмечено у инбредных линий *Melilotus albus* (Littau, Black, 1952) и *Raphanus sativus* (Нарбут, 1967); основные работы посвящены исследованию последних. Генетическая коллекция линий редиса (*Raphanus sativus* var. *radicula* Pers.) была создана в СПбГУ путем инбридинга отдельных растений разных сортов редиса (Нарбут, 1966, 1967); в настоящее время она включает 33 высокоинбредные линии (Бузовкина, Лутова, 2007; рисунок 9, таблица 2). Образование спонтанных опухолей на корнях наблюдалось у некоторых форм коллекции уже через 2–3 поколения инбридинга (Нарбут, 1967), и в настоящее время десять инбредных линий редиса спонтанно образуют опухоли на главном корне и гипокотиле во время цветения (Бузовкина, Лутова, 2007). Было показано, что в некоторых гибридных комбинациях линий сорта Сакса, в том числе при скрещивании линий 18х19, опухолеобразование наследуется как моногенный рецессивный признак (Matveeva et al., 2004). В связи с этим объектами нашего исследования стали родственные линии 18 и 19 генетической коллекции линий редиса СПбГУ.

Исследование анатомического строения опухолей показало связь опухолеобразования у растений с интенсификацией процессов деления и роста клеток. Было показано, что в спонтанных опухолях были активны многие гены – регуляторы клеточного цикла (рисунок 10), что связывает образование опухолей с повышением уровня пролиферации клеток. Спонтанные опухоли стержневого корня редиса происходят из клеток перицикла и камбия и состоят из недифференцированных клеток паренхимы с повышенным уровнем ploидности по сравнению с клетками стержневого корня и аномально организованных сосудистых пучков, связанных с сосудистой системой растения (Ильина и др., 2006, Lebedeva et al., 2015). Периферия молодых растущих опухолей содержит многочисленные меристематические очаги, напоминающие АМК и характеризующиеся повышенной интенсивностью клеточной пролиферации, максимумами ауксинового ответа и экспрессией *RsWOX5* (Lebedeva et al., 2015).

Генетический анализ показал, что спонтанное опухолеобразование у инбредных линий редиса контролируется полигенно, однако в некоторых скрещиваниях может наследоваться и как моногенный рецессивный признак (Matveeva et al., 2004).

Была показана связь опухолеобразования у инбредных линий редиса с нарушением баланса фитогормонов, а также с экспрессией генов-регуляторов пролиферации клеток. Повышение концентрации ЦК и ИУК как вероятный основной механизм индукции опухоли роднит опухоли инбредных линий редиса с патоген-индуцированными опухолями (например, с корончатыми галлами, индуцированным агробактериями). Одной из причин спонтанного опухолеобразования у инбредных линий редиса является повышенное содержание свободных ЦК, которое было выявлено в корнях опухолеобразующих линий редиса в процессе перехода к цветению (Matveeva et al., 2004). При анализе распределения зон клеточной пролиферации и дифференцировки в опухолях инбредных линий редиса были выявлены меристематические очаги, расположенные по периферии опухоли и напоминающие меристемы боковых корней, в том числе по наличию максимумов ауксинового ответа и экспрессии *RsWOX5* – регулятора АМК (Lebedeva et al., 2015).

Вместе с тем, анализ транскриптома спонтанных опухолей редиса по сравнению с боковыми корнями тех же линий на той же стадии развития выявил резкое повышение уровней экспрессии большого количества генов клеточного цикла, действующих на разных этапах его регуляции - от перехода G1-S до цитокинеза (рисунок 11), а также снижение экспрессии генов, регулирующих дифференцировку тканей - например, регуляторов лигнификации клеточной стенки и регуляторов биосинтеза вторичных метаболитов, таких как глюкозинолаты (Tkachenko et al., 2021a). Вместе с тем, данные транскриптомного анализа опухолей, индуцированных на корнях и гипокотильях редиса *A. tumefaciens*, выявили совершенно другие дифференциально экспрессирующиеся гены: в частности, повышение экспрессии генов ответа на фитогормоны и снижение экспрессии генов ответа на биотический и абиотический стрессы (Tkachenko et al., 2021b).

Таким образом, развитие спонтанных опухолей – комплексный признак, что не исключает того, что причина их развития может заключаться в мутациях по ограниченному количеству регуляторных генов, которые могут оказывать

системный эффект. В связи с этим, разностороннее изучение феномена спонтанного опухолеобразования у растений, в частности, на инбредных линиях редиса, может позволить выявить ранее неизвестные системные регуляторы меристематической активности клеток. С целью их выявления в работе нами была поставлена задача секвенирования геномов родственных опухолевой и безопухолевой линий редиса.

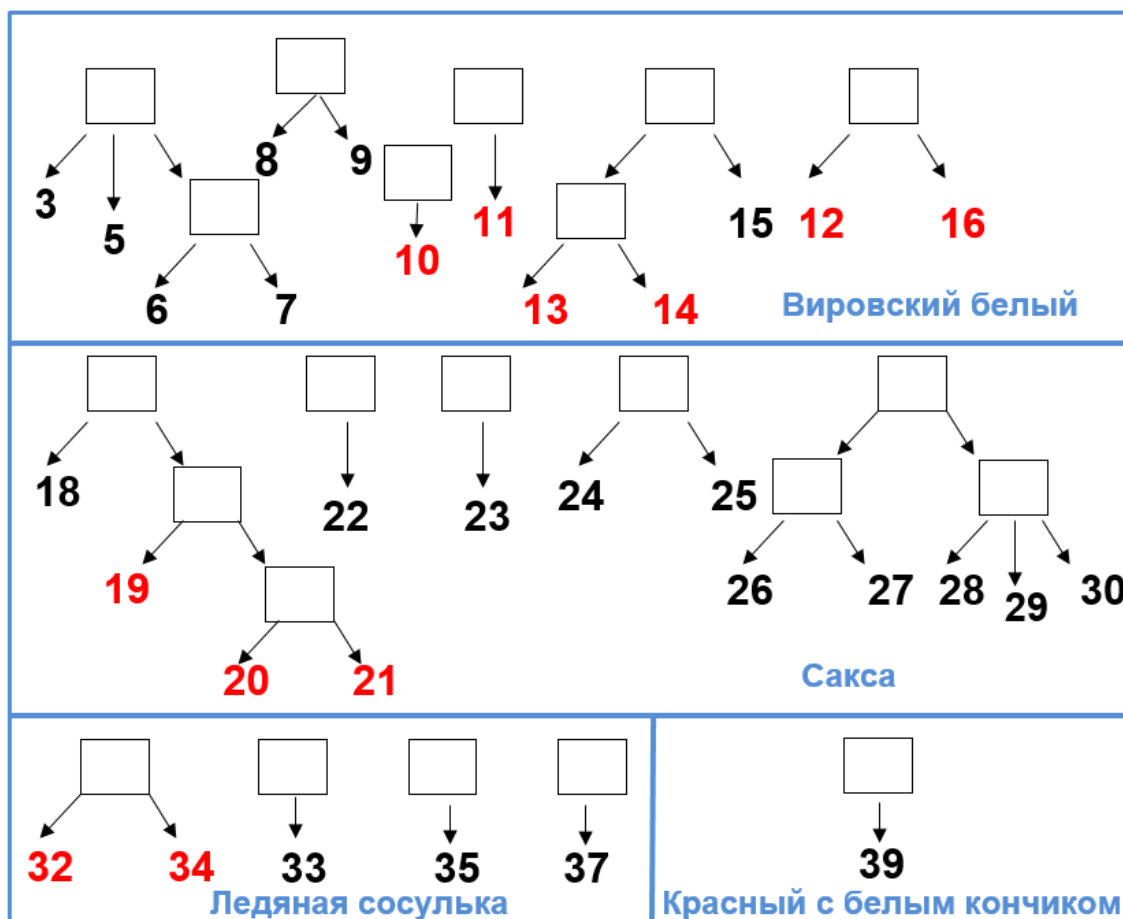


Рисунок 9. Происхождение опухолеобразующих инбредных линий редиса генетической коллекции СПбГУ. Линии со спонтанным опухолеобразованием отмечены красным (по Tkachenko et al., 2021a).

Таблица 2. Линии генетической коллекции редиса и их характеристики.

Сорт	Линии			
	Безопухолевые		Опухолевые	
	Но мер	Характеристики	Но мер	Характеристики
Вировский белый	3	Окрашенный корнеплод, окрашенный венчик, рассеченный лист, круглый корнеплод, высота растения ниже среднего, стрелкование среднее, автофертильность средняя. Снижение апикального доминирования.	10	Неокрашенный корнеплод, окрашенный венчик, нерассеченный лист, округлый корнеплод, высота растения ниже среднего, стрелкование позднее, автофертильность низкая
	5	Неокрашенный корнеплод, окрашенный венчик, нерассеченный лист, овальный корнеплод, высота растения средняя, стрелкование среднее, автофертильность средняя.	11	Неокрашенный корнеплод, окрашенный венчик, нерассеченный лист, округлый корнеплод, очень высокорослая, с удлинением всех органов, стрелкование ранее, автофертильность очень низкая. Нарушение периода покоя семян.
	6	Нет окрашенных органов, рассеченный лист, длинный корнеплод, высота растения ниже среднего, стрелкование ранее, автофертильность средняя. Снижение апикального доминирования, нет терминации апикальной меристемы (израстание завязи).	12	Неокрашенный корнеплод, окрашенный венчик, нерассеченный лист, округлый корнеплод, низкорослая, стрелкование среднее, автофертильность средняя. Увеличенное число цветков в соцветии, фасциации стебля.
	7	Окрашенный корнеплод, окрашенный венчик, рассеченный лист, длинный корнеплод, высота растения ниже среднего, стрелкование среднее, автофертильность средняя	13	Неокрашенный корнеплод, окрашенный венчик, нерассеченный лист, округлый корнеплод, очень высокорослая, стрелкование очень позднее, автофертильность низкая, чувствительна к недостатку калия
	15	Неокрашенный корнеплод, окрашенный венчик, нерассеченный лист, округлый, мелкий корнеплод, низкорослая, стрелкование позднее, автофертильность низкая, чувствительна к недостатку калия	14	Неокрашенный корнеплод, окрашенный венчик, нерассеченный лист, округлый корнеплод, очень высокорослая, стрелкование очень позднее, автофертильность очень низкая, прорастание семян в стручке, чувствительна к недостатку калия
			16	Неокрашенный корнеплод, окрашенный венчик, рассеченный лист, округлый, мелкий корнеплод, высота ниже среднего, стрелкование ранее, но завязываемость поздняя, автофертильность очень низкая. Изгибы побегов (Wsh1)

Сакса	18	Окрашенный корнеплод, неокрашенный венчик, рассеченный лист, округлый корнеплод, высота средняя, стрелкование позднее, автофертильность средняя	19	Окрашенный корнеплод, неокрашенный венчик, рассеченный лист, округлый, мелкий корнеплод, высота средняя, стрелкование среднее, автофертильность высокая
	22	Окрашенный корнеплод, неокрашенный венчик, рассеченный лист, округлый корнеплод, высота средняя, стрелкование среднее, автофертильность низкая.	20	Окрашенный корнеплод, неокрашенный венчик, рассеченный лист, округлый, мелкий корнеплод, высота ниже среднего, стрелкование среднее, автофертильность средняя. Светло-зеленая окраска.
	23	Окрашенный корнеплод, окрашенный венчик, рассеченный лист, округлый, крупный корнеплод, высота выше среднего, стрелкование позднее, автофертильность средняя	21	Окрашенный корнеплод, неокрашенный венчик, рассеченный лист, округлый, мелкий корнеплод, высота ниже среднего, стрелкование среднее, автофертильность средняя. Светло-зеленая окраска.
	24	Окрашенный корнеплод, окрашенный венчик, рассеченный лист, округлый корнеплод, высота выше среднего, стрелкование среднее, автофертильность высокая		
	25	Окрашенный корнеплод, окрашенный венчик, рассеченный лист, округлый корнеплод, высота выше среднего, стрелкование среднее, автофертильность средняя		
	26	Окрашенный корнеплод, окрашенный венчик, рассеченный лист, округлый корнеплод, высота средняя, стрелкование среднее, автофертильность средняя, изгибы побегов (<i>Wsh2</i>), увядающая		
	27	Окрашенный корнеплод, окрашенный венчик, рассеченный лист, округлый корнеплод, высота средняя, стрелкование среднее, автофертильность высокая.		
	28	Окрашенный корнеплод, окрашенный венчик, рассеченный лист, округлый корнеплод, высота выше среднего, стрелкование среднее, автофертильность высокая.		
	29	Окрашенный корнеплод, окрашенный венчик, рассеченный лист, округлый корнеплод, высота выше среднего, стрелкование среднее, автофертильность высокая.		

	30	Окрашенный корнеплод, окрашенный венчик, рассеченный лист, округлый корнеплод, высота выше среднего, стрелкование среднее, автофертильность высокая.		
Ледяная сосулька	33	Неокрашенный корнеплод, неокрашенный венчик, рассеченный лист, длинный корнеплод, высота ниже среднего, стрелкование среднее, автофертильность низкая.	32	Неокрашенный корнеплод, неокрашенный венчик, рассеченный лист, длинный корнеплод, высота средняя, стрелкование среднее, автофертильность низкая
	35	Неокрашенный корнеплод, неокрашенный венчик, рассеченный лист, длинный корнеплод, высота средняя, стрелкование позднее, автофертильность средняя		
	37	Неокрашенный корнеплод, неокрашенный венчик, рассеченный лист, длинный корнеплод, высота средняя, стрелкование позднее, автофертильность высокая		
Красный с белым кончиком	39	Неокрашенный корнеплод, неокрашенный венчик, рассеченный лист, круглый корнеплод, стрелкование позднее, автофертильность низкая. Карлик.		

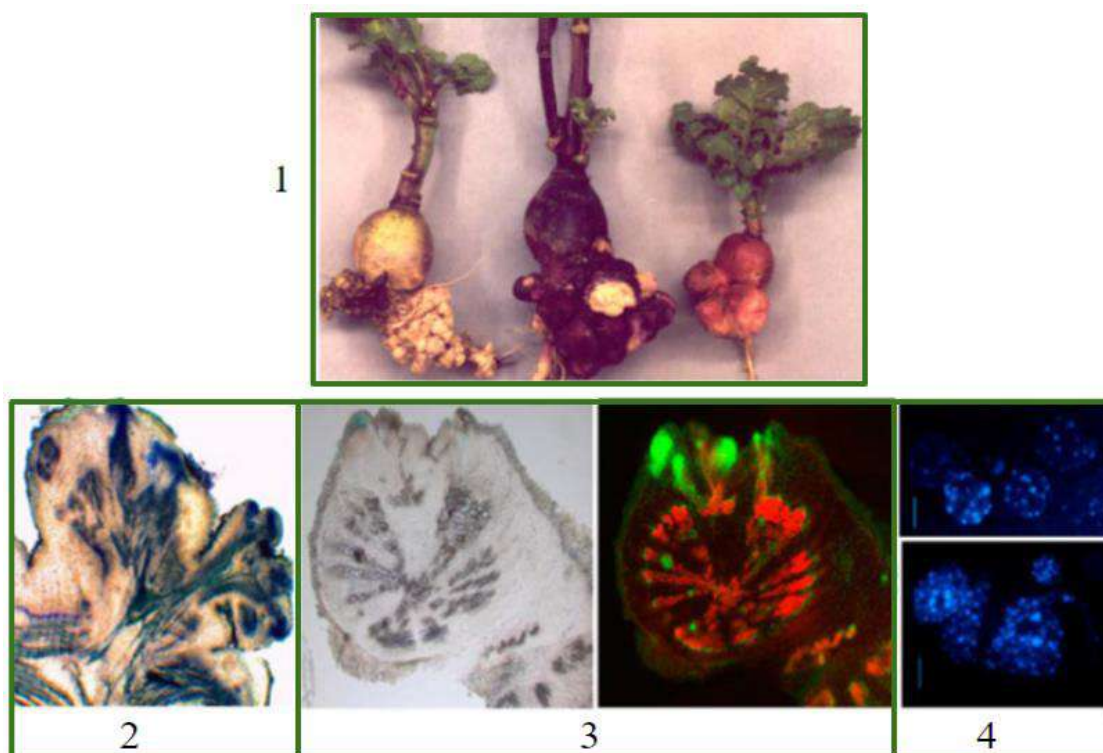


Рисунок 10. Спонтанные опухоли редиса: 1) Внешний вид спонтанных опухолей у редиса генетической коллекции СПбГУ; 2) Основные черты анатомического строения: наличие недифференцированных клеток на периферии опухоли, образование сосудов в центральной части, связь сосудистых систем опухоли и растения; 3) Визуализация активно пролиферирующих клеток в опухолях на корнях редиса с помощью мечения 5-этинил-2'-дезоксисуридином (зеленое свечение; делящиеся клетки) и флуоресцентного окрашивания Alexa Fluor-488 (красное свечение; неспецифически окрашенные клеточные стенки; картинка справа); 4) Цитологический анализ корней и опухолей редиса у опухолеобразующей линии 19 (окраска): клетки опухоли (нижняя часть рисунка) полиплоидны, о чем свидетельствует увеличенное число хромосом, окрашиваемых DAPI (по Lebedeva et al., 2015, Betekhtin et al., 2011).

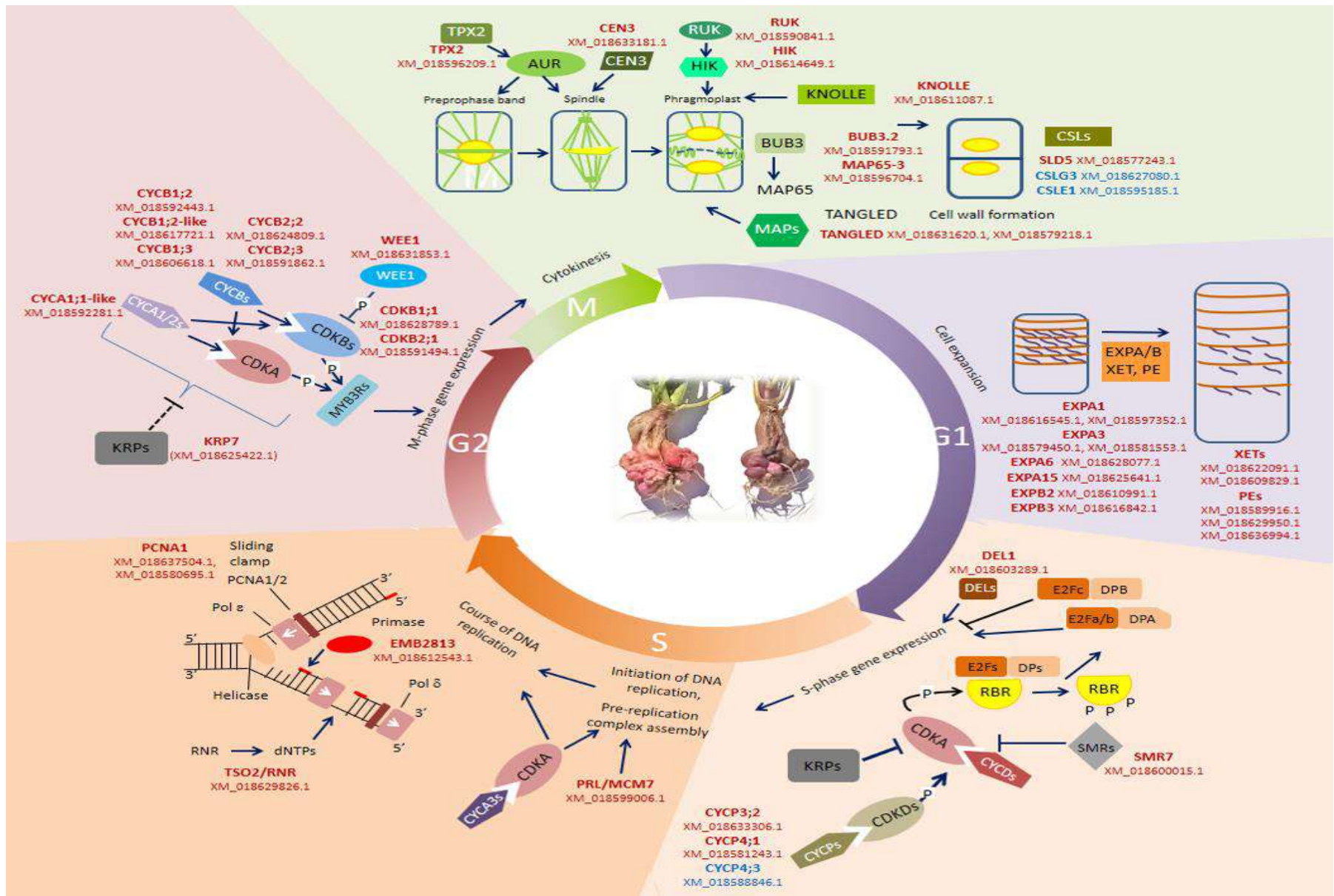


Рисунок 11. Гены клеточного цикла, меняющие уровни экспрессии в спонтанных опухолях редиса по сравнению с боковыми корнями, согласно данным транскриптомного анализа (по Tkachenko et al., 2021a). Красным цветом выделены гены с повышенным уровнем экспрессии, синим – пониженным.

1.5. Заключение: Развитие корня редиса как комплексный признак

Развитие корня, в том числе запасающего корня, модифицированного для хранения питательных веществ, – комплексный процесс, регулируемый множеством факторов, среди которых контроль активности меристем, дифференцировки разных типов тканей, а также взаимодействие с внешней средой (Кузнецова и др., 2020). Объектом наших исследований является редис посевной – однолетняя корнеплодная культура, близкая арабидопсису, особенностью которой является наличие в генетической коллекции СПбГУ форм (высокоинбредных линий) с аномалиями развития запасающего корня – спонтанными опухолями.

Опухолеобразование и развитие запасающего корня имеют, по всей вероятности, сходный генетический контроль, в котором, согласно нашим данным (Lebedeva et al., 2015; Лутова и др., 2008; Tkachenko et al., 2021a,b) принимают участие меристемные регуляторы, задействованные в контроле активности меристем. Согласно ранее полученным данным, в формировании запасающего корня и опухолей редиса принимает участие одна и та же латеральная меристема – камбий (Lebedeva et al., 2015). С этой точки зрения опухоли представляют собой особый тип нерегулярных (факультативных) вторичных меристем, происходящих из камбия, и их можно считать аномалией вторичного роста, приводящего к формированию запасающего корня.

Формирование опухолей у растений является следствием тотипотентности клеток и высокой пластичности их программ развития. В результате этих особенностей в ряде условий могут образовываться эктопические очаги меристематической активности - опухоли. Образование опухолей у растений (а также и у животных) обусловлено нарушением системного контроля клеточного деления, происходящего на разных уровнях регуляции. Активация меристемо-специфических регуляторов в опухолях растений различного происхождения свидетельствует о меристемоподобном характере гиперплазий у растений. Дальнейшее изучение механизмов образования опухолей у высших растений, в том числе у линий редиса, расширит знания о контроле пролиферации растительных клеток.

Среди событий, происходящих при нормальном развитии запасающего корня, особенно важны закладка кольца камбия из прокамбия и перицикла, деление клеток камбия и дифференцировка клеток на периферии камбиальной зоны в элементы флоэмы и ксилемы. У редиса активно идет пролиферация клеток ксилемы, в том числе интенсивно делятся клетки ксилемной паренхимы (Zaki et al., 2012). При изучении

механизмов развития запасающего корня редиса был выявлен ряд генов-регуляторов, в том числе гены, кодирующие компоненты систем WOX-CLAVATA. Вместе с тем, в настоящее время имеется мало данных о мишенях этой системы при развитии запасающего корня и о связи работы систем WOX-CLAVATA в запасающем корне с ИУК и ЦК.

Итак, задачу по изучению развития корня у редиса можно разделить на две взаимосвязанных части: 1) изучение механизмов развития запасающего корня и 2) поиск регуляторов спонтанного опухолеобразования. Обе эти части представлены в данной работе.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Растительный материал и условия выращивания растений

2.1.1. Растительный материал

Объектами исследования являлись две близкородственные инбредные линии (18 и 19) редиса посевного (*R. sativus* var. *radicula* Pers.) из генетической коллекции СПбГУ (Нарбут, 1966; Бузовкина, Лутова, 2007). Генетическая коллекция инбредных линий редиса была заложена в 60х годах XX века (Нарбут, 1966) Станиславой Иосифовной Нарбут (Кузнецова и др., 2023) и в настоящее время включает в себя линии 50го-55го поколения инбридинга. Таким образом, в работе были использованы почти чистые линии, полученные в результате длительного инбридинга.

Линии 18 и 19 являются потомками одного растения сорта «Сакса» (Нарбут, 1966; Бузовкина, Лутова, 2007). Сакса - районированный сорт редиса, относящийся к сорто типу Красный овально-круглый, который был выведен в Федеральном научном центре овощеводства (согласно Государственному реестру селекционных достижений, допущенных к использованию). Вегетативный период растений сорта Сакса составляет 32-36 дней (среднеспелый сорт). Корнеплоды красные, округлые и продолговато-овальные, длина 4,5-5,2 см., диаметр 2,5-4,0 см. Поверхность гладкая, мякоть белая и бело-розовая. Урожайность товарных корнеплодов 9,7-13,0 т/га. Масса товарного корнеплода до 29 г. Розетка полупрямостоячая, высота розетки 15-16 см., диаметр 17-20 см. Число листьев в розетке 5-7, листья обратнойцевидной формы, черешок со слабой антоциановой окраской, листовая пластинка рассеченная (Сазанова, 1985).

Генетическая коллекция инбредных линий редиса СПбГУ включает в себя 13 линий сорта Сакса. Все инбредные линии редиса, происходящие из сорта Сакса, имеют сходные с материнским сортом морфологические характеристики. Для некоторых линий этого сорта также характерны аномалии морфогенеза, такие как агравитропический рост побегов (линия 26), дефицит хлорофилла (линии 20 и 21) (Бузовкина, Лутова, 2007). Кроме того, ряд линий сорта Сакса характеризуются спонтанным образованием опухолей на корнеплодах цветущих растений с частотой 100%: к опухолеобразующим относятся линии 19, 20 и 21 (Нарбут, 1967; Нарбут и др., 1995; Бузовкина, Лутова, 2007).

Для линий 18 и 19, которые являются объектами нашего исследования, характерны рассеченный лист, красный продолговато-овальный корнеплод, белая окраска венчика цветка, средний срок вегетации и высокая автофертильность при

инбридинге. Основные морфологические признаки линий 18 и 19 представлены на рисунке 12.

Линии 18 и 19 контрастно различаются по способности к спонтанному опухолеобразованию. В фазе цветения почти 100% растений линии 19 образуют опухоли на корне и нижней части стебля, тогда как линия 18 никогда не образует спонтанных опухолей (Нарбут и др., 1995; Бузовкина, Лутова, 2007). Кроме того, при скрещивании этих близкородственных линий были выявлены моногенные различия по способности к спонтанному опухолеобразованию. Опухолеобразование было охарактеризовано как рецессивный моногенный признак, за проявление которого отвечает аллель гена, названного *Tur* (Нарбут и др., 1985; Матвеева и др., 2000; Matveeva et al., 2004).

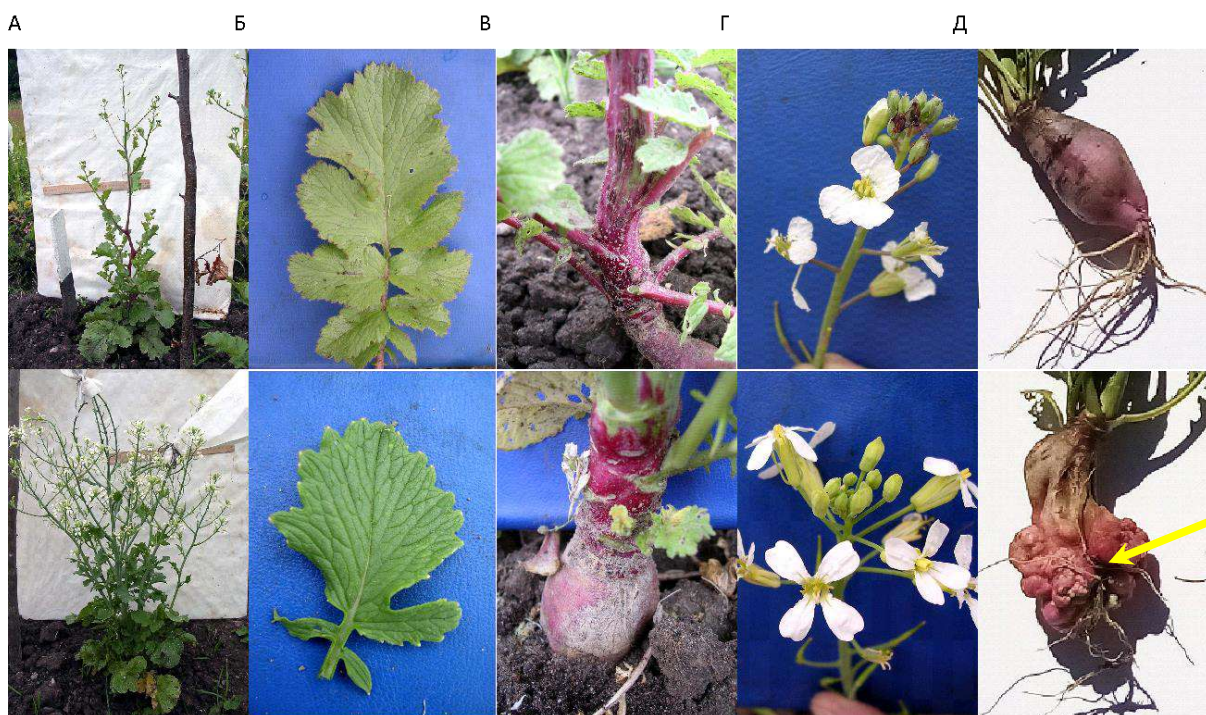


Рисунок 12. Морфологические характеристики линий 18 (верхний ряд) и 19 (нижний ряд), использованных в работе: А – внешний вид, Б – лист, В – стебель, Г – соцветие, Д – корнеплод (стрелкой отмечена спонтанная опухоль).

Помимо способности к спонтанному опухолеобразованию, линии 18 и 19 различаются по реакции эксплантов на ЦК *in vitro*. Гипокотили проростков линии 18 на среде с ЦК образуют разрастания по типу корнеплода, а листовые экспланты образуют каллусы, тогда как линия 19 характеризуется образованием некрозов у эксплантов на среде с ЦК (Бузовкина и др., 1993; Ильина и др., 2006). Предположительно, разница по реакции на ЦК, как и способность к опухолеобразованию, связана с повышенным содержанием эндогенных ЦК в тканях

растений (Matveeva et al., 2004) или активацией клеточного ответа на ЦК (Лутова и др., 2008), которые были ранее выявлены у опухолевых линий.

2.1.2. Условия выращивания растений

Выращивание растений в условиях культуры *in vitro*

Для получения асептических проростков с целью трансформации полученными векторными конструкциями (см. ниже) семена редиса стерилизовали в течение 7 минут смесью, состоящей из 30%-ой перекиси водорода и 95%-го этилового спирта в соотношении 1:1. Полученные асептические проростки выращивали на среде Мурасиге - Скуга (MS) (Murashige and Skoog, 1962) при температуре 23°C и длине светового дня 16 часов.

Выращивание растений в грунте

Полученные в результате трансформации композитные растения редиса после достижения оптимальной мощности корневой системы из стерильных условий пересаживали в вермикулит, затем в грунт и выращивали в оранжерее при естественном освещении и температуре 23 °С.

2.2. Методы

Для решения поставленных в работе задач были использованы разнообразные молекулярно-генетические и биоинформатические методы, которые ниже сгруппированы по задачам, для решения которых они были применены.

2.2.1. Анализ данных секвенирования геномов линий редиса

Для анализа геномов родственных опухолевой и безопухолевой линий редиса была применена следующая последовательность действий:

1) Выделение геномной ДНК линий редиса и секвенирование с применением двух подходов: а. С помощью технологии Oxford Nanopore (преимущества: простая пробоподготовка; получение очень длинных одноконцевых прочтений, длиной до 200 тысяч пар нуклеотидов); б. С помощью технологии Illumina (преимущества: высокая точность; получение коротких парноконцевых прочтений (800 пар нуклеотидов), с

помощью которых можно уточнять данные, полученные с применением первого подхода);

2) Сборка геномов на основе данных секвенирования;

3) Аннотация геномов с помощью инструментов биоинформатики, являющихся апробированными для анализа геномов двудольных растений;

4) Поиск однонуклеотидных замен (SNP) и инсерций/делений (InDel) с помощью программного обеспечения, используемого для NGS-данных геномов растений. Также в данной работе SNP и InDel обозначаются общим термином «single nucleotide variants» (SNVs).

Для этого использовались следующие стандартные методы:

Секвенирование, сборка, аннотация и анализ геномов опухолевой и безопухолевой линий редиса

Выделение ДНК из 50 этиолированных проростков редиса линий 18 и 19 осуществляли по протоколу, любезно предоставленному лабораторией растительно-микробных взаимодействий Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии (неопублик. данные).

Секвенирование ДНК линии 19 проводилось с помощью технологии Oxford Nanopore в центре «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии с использованием прибора MinION (Oxford Nanopore, Cambridge, UK). Сборку генома линии 19 осуществляли с помощью инструмента Canu v.1.7.1 (<https://github.com/marbl/canu/releases>) с предустановленными параметрами. Секвенирование линии 19 также проводилось по технологии Illumina на секвенаторе HiSeq2500 в Центре молекулярных и клеточных технологий Научного парка СПбГУ. Для создания библиотек использовался NEBNext® Ultra™ DNA Library Prep Kit for Illumina (New England Biolabs, Ipswich, MA, USA). Двойной баркодинг проводился с использованием NEBNext® Ultra™ DNA Index Prep Kit for Illumina и NEBNext® Multiplex Oligos® Illumina® (Dual Index Primers Set 1). Для повышения качества сборок геномов проводили уточнение данных с целью коррекции возможных ошибок в программе Pilon v.1.22 (<https://github.com/broadinstitute/pilon/releases>) на основе данных, полученных с использованием двух технологий секвенирования (Illumina и Oxford Nanopore).

Секвенирование ДНК линии 18 проводилось на секвенаторе HiSeq2500 в Центре молекулярных и клеточных технологий Научного парка СПбГУ. Для создания

библиотек использовался NEBNext® Ultra™ DNA Library Prep Kit for Illumina (New England Biolabs). Двойной баркодинг проводился с использованием NEBNext® Ultra™ DNA Index Prep Kit for Illumina и NEBNext® Multiplex Oligos® Illumina® (Dual Index Primers Set 1). Сборка генома линии 18 производилась с использованием инструмента SOAPdenovo v.2.04 (<https://github.com/aquaskyline/SOAPdenovo2>) с параметрами: maximal read length = 150, average insert size = 100, cutoff of pair number for a reliable connection = 5.

В случае каждой сборки для контроля качества и коррекции прочтений использовали алгоритмы MultiQC v.1.12 (Ewels et al., 2016) и Trimmomatic v.0.40 (Bolger et al., 2014) соответственно. Индексирование сборки проводили с помощью инструмента bowtie2 (<https://github.com/BenLangmead/bowtie2>). Сборки двух геномов до уровня хромосом были подготовлены с использованием инструмента Ragtag (<https://github.com/malonge/RagTag>) и имеющегося в базах данных референсного генома редиса, собранного на уровне хромосом GCA_019703475.1 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/data-hub/genome/GCA_019703475.1/; Zhang et al., 2021).

Геномы линий 18 и 19 аннотировали с помощью инструмента для предсказания генов Augustus (<https://github.com/Gaius-Augustus/Augustus>) с параметром `–species = arabidopsis`.

Выравнивание последовательностей линии 19 на сборку генома линии 18 проводили с помощью программы bowtie2 (<https://github.com/BenLangmead/bowtie2>). Идентификация генов-кандидатов и различий в структуре этих генов у разных линий редиса проводилась с помощью программ SnpEff (<http://pcingola.github.io/SnpEff/>), SnpSift (https://pcingola.github.io/SnpEff/ss_introduction/) и GATK с параметром HaplotypeCaller (<https://gatk.broadinstitute.org/hc/en-us/articles/360037225632-HaplotypeCaller>), со следующими настройками: `SelectVariants --select-type SNP` или `--select-type INDEL`.

Анализ обогащения путей генной антологии проводился на основе списка всех генов с SNV и списка всех генов редиса в качестве исходных данных с использованием языка программирования R (v. 4.0.2) на основе неопубликованного пользовательского скрипта для R. Для визуализации данных использовали GSEABase v. 1.50 (<https://bioconductor.riken.jp/packages/3.11/bioc/manuals/GSEABase/man/GSEABase.pdf>). Всего было выявлено 148 путей, связанных с различными биологическими процессами, все из которых были статистически значимыми ($p.val_GO \leftarrow 0,01$, $OddsRatio_GO \leftarrow 2$).

Поиск SNP и InDel и сортировку по генотипам для выявления

филогенетических отношений между изолятами и линиями редиса разного происхождения осуществляли в программе Tassel5 (<https://tassel.bitbucket.io/>).

Визуализацию выравнивания последовательностей на сборку и проверку наличия InDel и SNP *in silico* осуществляли в геномном браузере IGV (<https://igv.org/>).

Для подтверждения обнаруженных различий по SNV между 18 и 19, а также между другими опухолевыми (12, 13, 14, 16, 20, 21, 32) и неопухолевыми (3, 5, 6, 8, 9, 23, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 37, 39) линиями генетической коллекции редиса, из проростков редиса перечисленных линий выделяли ДНК с помощью СТАБ-метода. ПЦР проводили в следующих условиях: начальная денатурация ДНК при 98 °С в течение 3 мин; денатурация ДНК при 98 °С в течение 10 с, отжиг праймеров при 52 °С в течение 30 с, элонгация при 72 °С в течение 1 мин, повтор 35 раз; конечная элонгация при 72 °С в течение 5 мин. Праймеры были сконструированы с использованием алгоритма программного обеспечения VectorNTI v1.1.1 (Invitrogen, Waltham, MA, USA) для амплификации ампликонов длиной 300-400 и синтезированы компанией «Евроген» (Москва, Россия). Полученные ПЦР-смеси секвенировали по методу Сэнгера.

Общая схема эксперимента по анализу геномов линий редиса представлена на рисунке 13.

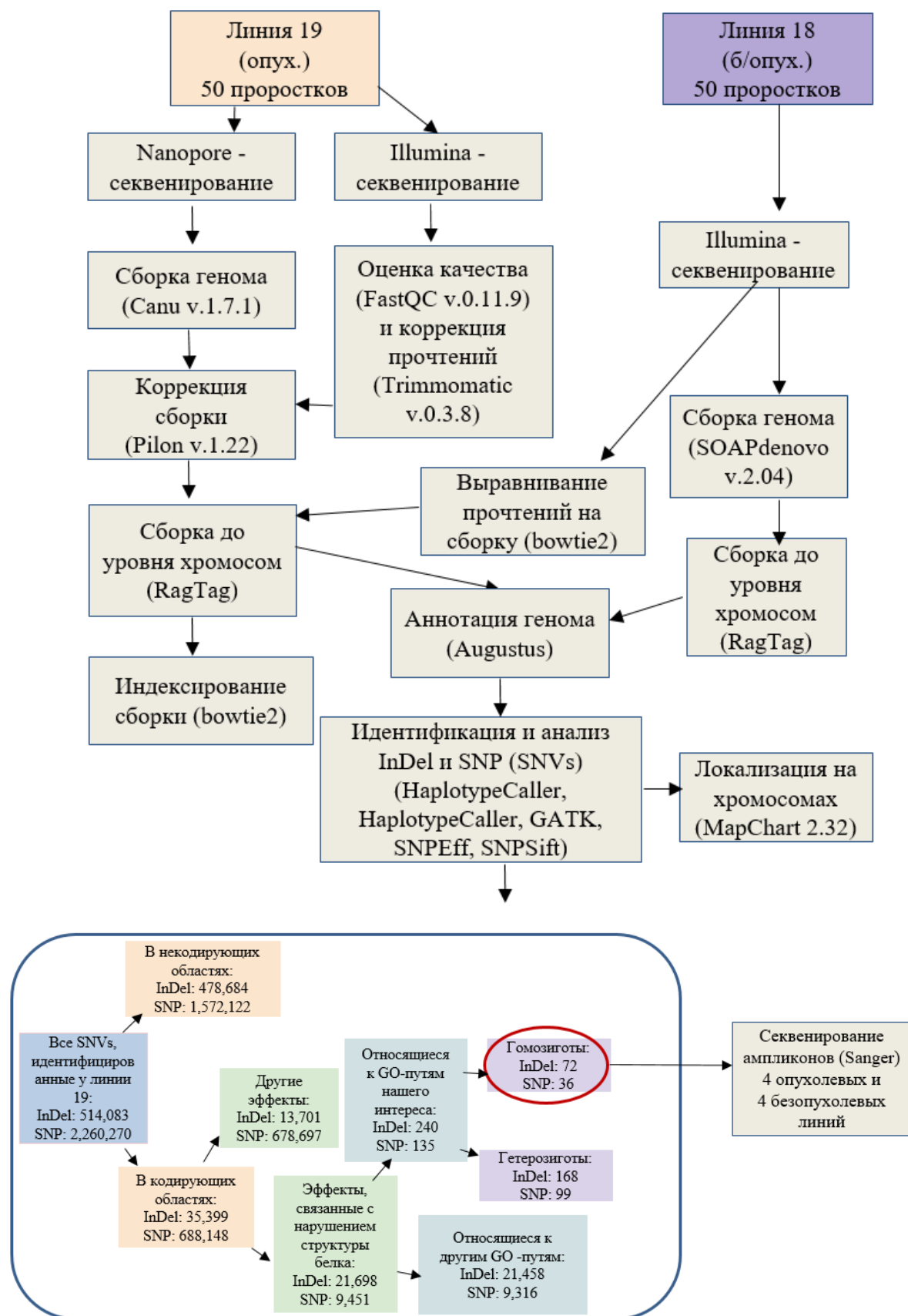


Рисунок 13. Общая схема эксперимента по анализу опухолевых и безопухолевых линий редиса. Все SNV, исследуемые в данной работе, отмечены красным кругом.

2.2.2. Изучение роли генов, кодирующих компоненты систем WOX-CLAVATA, в развитии корня

В задачи работы входила идентификация генов семейств *CLE* и *WOX* у объекта исследований – редиса, а также изучение эффекта их сверхэкспрессии на развитие корня. Для этого был использован широкий ряд методов, связанных с биоинформатическим анализом, конструированием векторов, трансформацией и световой микроскопией.

Поиск, идентификация и анализ последовательностей генов *RsCLE* и *RsWOX*

Поиск генов *RsCLE* и *RsWOX* производили в сборках генома редиса, представленных в таблице 3, с использованием алгоритмов blastP, blastN и tblastN базы данных NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) по нуклеотидным и аминокислотным последовательностям генов и белков *A. thaliana* и *R. sativus*.

Филогенетические деревья белков *CLE* и *WOX* редиса были построены на основании выравнивания аминокислотных последовательностей белков *CLE R. sativus* с помощью алгоритма Muscle в программе MEGA7 (<https://www.megasoftware.net/>) (Kumar et al., 2016) методом Neighbor joining (Saitou and Nei, 1987) со стандартными параметрами и Bootstrap 1000 (Felsenstein, 1985); деревья были визуализированы с использованием программы iTOL v.6.9 (<https://itol.embl.de/>). Структура сигнальных мотивов была предсказана с помощью программы SignalP-6.0 (<https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?SignalP>).

Нуклеотидные и аминокислотные последовательности анализировали с помощью следующих программ: ApE (<https://jorgensen.biology.utah.edu/wayned/appe/>; v.3.1.0), SnapGENE (<https://www.snapgene.com/>; v.6.0.2), UGENE (<http://ugene.net/ru/>; v.33), MEGA7 (<https://www.megasoftware.net/>; v.10.2).

Расположение генов на хромосомах редиса было визуализировано с помощью макроса для Excel MapDrawJZ (<https://github.com/pinbo/MapDrawJZ>).

Для поиска и визуализации доменов белков *RsCLE* была использована программа MEME (<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>). Доменная структура белков *RsWOX4* и *RsWOX14* была проанализирована с помощью инструмента Conserved domains (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>).

Схемы, отражающие предполагаемые взаимодействия компонентов генных сетей, были построены в программе String (<https://string-db.org/>).

Выделение ДНК

Для амплификации отдельных генов *RsCLE* и *RsWOX* суммарную ДНК выделяли из 7-дневных этиолированных проростков редиса модифицированным СТАБ-методом (Aboul-Maaty et al., 2019). Растительный материал растирали пестиком в присутствии жидкого азота, ДНК экстрагировали 2×СТАБ-буфером (2 г СТАБ, 8.18 г NaCl, 10 мл Tris-HCl 1 М, рН 8, 4 мл ЭДТА 0.5 М), в течение 40 минут, затем проводили очистку смесью фенола с хлороформом (1:1) и разделяли фазы центрифугированием (20 мин., 13000 оборотов/мин.). Водную фазу переносили в чистую микропробирку и осаждали ДНК изопропанолом, инкубируя пробирки при +4 °С в течение 30 мин., с последующим центрифугированием (20 мин., 13000 оборотов/мин.). Осадок ДНК промывали холодным 70% этанолом и высушивали под током воздуха в ламинаре, затем растворяли в 100 мкл стерильной дистиллированной воды. Концентрацию выделенной ДНК измеряли с помощью спектрофотометра Nanodrop-2000 (Thermo Scientific) при длине волны 260 нм.

Полимеразная цепная реакция

Праймеры для амплификации кодирующих и промоторных областей генов были подобраны с использованием программ Vector NTI (Invitrogen) и Primer3 (Untergasser et al., 2012) с последующей оценкой качества в программе Ugene на основе представленных в базе данных NCBI последовательностей генов *R. sativus*. Последовательности праймеров представлены в Таблице 1 Приложения.

Реакции ПЦР проводили при следующих условиях:

Амплификация кодирующих частей генов:

- 3 мин. при 95°C – 1 цикл;
- 60 сек. при 95°C, 30 сек. при 54°C, 30 сек. при 72°C - 35 циклов;
- 5 мин. при 72°C – 1 цикл.

Амплификация промоторных областей генов:

- 3 мин при 95°C – 1 цикл;
- 20 сек. при 95°C, 20 сек. при 45°C и 2 мин. при 72°C - 5 циклов;
- 20 сек. при 95°C, 20 сек. при 65°C и 2 мин. при 72°C - 30 циклов;
- 5 мин. при 72°C – 1 цикл.

После прохождения циклов ПЦР проводили электрофорез в 1% агарозном геле, в который добавляли 0,1% интеркалирующий краситель SYBR Safe (Invitrogen) для визуализации ДНК в синем свете. Для определения примерного размера ПЦР-фрагментов использовали маркер длин ДНК 100+ или 1kb (Евроген). Целевые

фрагменты выделяли из геля с помощью набора реактивов и колонок Cleanup Mini (Евроген) по прилагаемому протоколу.

Получение векторов

Для клонирования последовательностей ДНК использовали систему Gateway (Invitrogen, США). ПЦР-фрагменты, полученные при амплификации геномной ДНК редиса с праймерами, перечисленными в приложении 1, были клонированы в вектора ввода при помощи смеси вирусных рекомбиназ BP-clonase (Invitrogen), а затем переклонированы в вектора назначения с помощью смеси вирусных рекомбиназ LR-clonase (Invitrogen). Реакции рекомбинации проводили по протоколу производителя.

Для получения векторов для сверхэкспрессии кодирующие последовательности генов клонировали в вектор ввода pDONR221, после чего переклонировали в вектор назначения pB7WG2D (рисунок 14), содержащий промотор 35S вируса мозаики цветной капусты.

Для получения вектора для сайленсинга *RsWOX4* амплифицировали участок, соответствующий первым 150 нуклеотидам кодирующей части гена вне гомеодомена, клонировали его в вектор ввода pDONR221, после чего переклонировали в вектор назначения pH7GWIWG2 (рисунок 14).

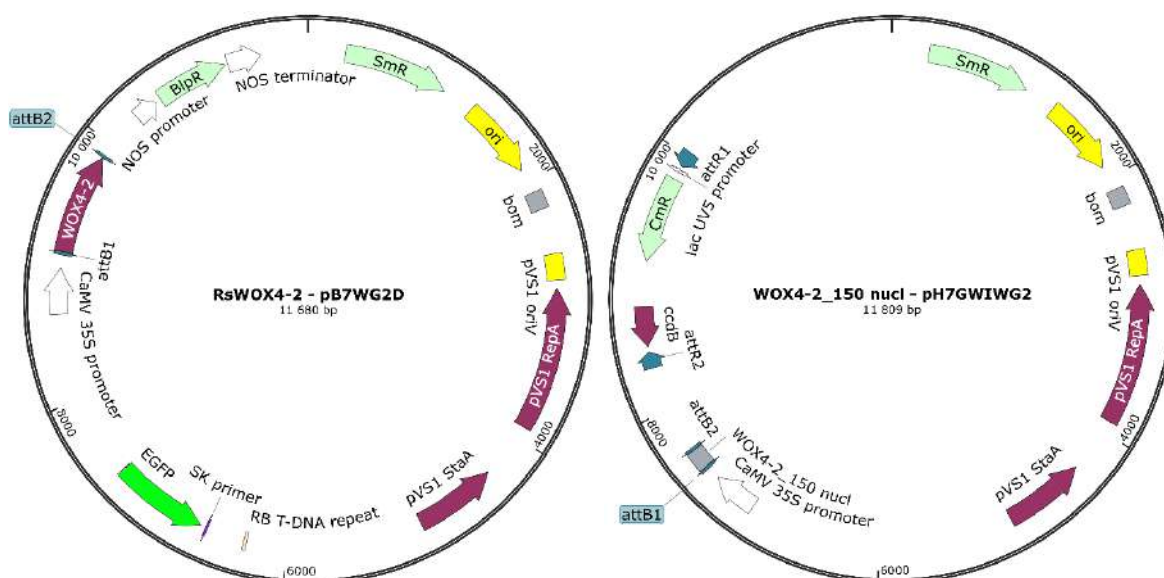


Рисунок 14. Карты плазмид на основе векторов назначения для сверхэкспрессии (слева) и для сайленсинга генов (справа).

Для дрожжевой одногибридной системы промоторные области генов были клонированы в вектор ввода pDONR207 с дальнейшим переклонированием в вектор pHisLeu, содержащим маркеры для селекции по гистидину и лейцину. Кодированная

последовательность гомеодомена ТФ *WOX4*, взаимодействие которой с промоторами изучали методом дрожжевой одногибридной системы, была клонирована в вектор pDONR207 и затем переклонирована в вектор pDEST22, содержащим маркер для селекции по триптофану.

Генетические конструкции, полученные в работе, перечислены в таблице 2 Приложения.

Трансформация бактерий

Полученными конструкциями были трансформированы химически компетентные клетки *Escherichia coli* штамма DH10B, полученные по протоколу Sambrook et al., 2006. Трансформацию *E. coli* проводили по протоколу, описанному Inoue et al., 1990, после чего бактерии высевали на селективную твердую среду LB с селективным антибиотиком в зависимости от вектора.

Плазмидную ДНК отдельных колоний бактерий выделяли с помощью набора реактивов Plasmid Miniprep (Евроген), затем плазмиды проверяли на наличие целевой вставки с помощью постановки ПЦР с праймерами к генам интереса.

Для получения растений со сверхэкспрессией изучаемых генов *RsCLE41*, *RsWOX4*, *RsWOX14* или использованного в качестве контроля гена глюкуронидазы (*GUS*) проводили трансформацию химически компетентных клеток *Agrobacterium rhizogenes* штамма Arqua плазмидами, несущими целевые вставки, по протоколу Inoue et al., 1990. Полученными штаммами *A. rhizogenes* трансформировали растения.

Трансформация растений с помощью *Agrobacterium rhizogenes*

Для получения композитных растений с трансгенными корнями использовали штаммы *A. rhizogenes*, несущие конструкции для сверхэкспрессии генов *RsCLE41*, *RsWOX4*, *RsWOX14*, которые регулируют развитие камбия, и штамм, несущий конструкцию для сверхэкспрессии репортерного гена *GUS*, использующуюся в качестве контроля. Конструкции были получены на основе вектора pB7WG2D (рисунок 14).

Для трансформации 7-дневных асептических проростков редиса отрезали нижнюю часть гипокотилия и наносили суспензию *A. rhizogenes* на раневой участок. Трансформированные растения помещали для кокультивации с бактериями на среду MS на 3 дня, затем трансформанты переносили на среду MS с цефотаксимом (500 мг/л) для уничтожения бактерий. Первые корни, индуцированные *A. rhizogenes*, удаляли, так как они были нетрансгенными или химерными. После образования большого

количества придаточных корней растения помещали на стерильный фильтр, находящийся на чашке Петри с MS0 и цефотаксимом.

Через 3 недели проводили отбор трансгенных корней путем детекции свечения репортерного белка GFP (Green Fluorescent Protein) в синем свете. Растения с трансгенными корнями пересаживали в горшки с вермикулитом и выращивали в теплице, через 2 недели выращивания на вермикулите растения пересаживали в горшки с почвой. Через 30 дней (стадия товарной спелости корнеплода; Сазанова, 1985) проводили сбор корней для дальнейшего анализа.

Световая микроскопия

Для приготовления препаратов растительный материал (корни контрольных и трансгенных растений, корни растений на разных стадиях развития) инкубировали в буфере для фиксации (3% параформальдегид; 0,5% глутаральдегид; 0,2% Tween20; 0,2% TritonX-100; 10% DMSO в буфере TBS (50 mM PIPES, 5 mM MgSO₄, 5 mM EGTA, pH 6,9)), затем обесцвечивали этиловым спиртом с концентрацией от 10% до 90% с шагом 10% по 30-60 минут, далее проводили обесцвечивание спиртом с концентрацией от 90% до 10%, затем помещали корни в буфер TBS.

Для получения срезов фрагменты корня фиксировались в 3% агарозе. Поперечные и продольные срезы корней из зафиксированного материала получали с помощью микротомы с вибрирующим лезвием Leica VT1200S. Толщина полученных срезов составляла 50 мкм с шагом 1 мкм, амплитуда 1 мм.

Срезы корней окрашивали 2% толуидиновым синим, затем изучали их с помощью полуавтоматизированного микроскопа LEICA DM500 при 10x, 20x и 40x увеличении.

2.2.3. Количественный анализ экспрессии генов

Для изучения эффекта сверхэкспрессии камбиального регулятора *RsCLE41* проводилось секвенирование транскриптомов растений редиса со сверхэкспрессией гена *RsCLE41* и контрольных растений со сверхэкспрессией гена *GUS*.

Кроме того, для изучения эффекта сверхэкспрессии *RsCLE41* и его мишени *RsWOX4* проводили количественный анализ экспрессии отдельных генов с помощью ПЦР-РВ.

РНК-секвенирование транскриптомов редиса и анализ транскриптомных данных

Для проведения РНК-секвенирования суммарную РНК из растений и проростков редиса выделяли модифицированным фенол-хлороформным методом (Siebert, Chenchik, 1993). кДНК синтезировали с помощью набора Mint-2 («Евроген», Россия). Для подготовки библиотек для секвенирования использовали набор NEBNext® Ultra™ DNA Library Prep Kit для Illumina (New England Biolabs).

Очистку сырых ридов в формате fastq от митохондриальной, пластидной и рибосомной ДНК редиса проводили с помощью инструмента bbdduk из пакета bbtools (v. 38.96) (<https://jgi.doe.gov/data-and-tools/bbtools/>). Очищенные и отфильтрованные по качеству риды обрезали с помощью Trimmomatic v. 0.40 (Bolger et al., 2014) с параметрами «HEADCROP:15 CROP:95». Контроль качества ридов проводили с помощью MultiQC v.1.12 (Ewels et al., 2016).

Отфильтрованные риды были выровнены на последовательность референсного генома *R. sativus* Rs1.0 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCA_000801105.2) с использованием HISAT2 v. 2.01.2 (Kim et al., 2015). Затем риды подсчитывали с помощью Stringtie (Pertea et al., 2015) с использованием референсного генома *R. sativus* Rs1.0. Дифференциальную экспрессию между опытными и контрольными образцами анализировали с помощью пакета DESeq2 (v. 1.28.1) для R v. 3.6.2 (Love et al., 2014). Гены со значением $p\text{-value adjusted} < 0,05$ и $\log\text{FoldChange} > 1$ считались дифференциально экспрессирующимися. Для анализа обогащения генов GO использовался пакет GSEABase v.1.50 (<https://rdrr.io/bioc/GSEABase/>) для R.

ПЦР-РВ

Для анализа экспрессии генов с помощью ПЦР-РВ выделяли тотальную РНК из корней редиса. Растительный материал измельчали в жидком азоте, экстрагировали РНК с помощью реагента Trizol (Invitrogen) в течение 5 мин. при температуре 25°C, очищали смесь от остатков ткани путем центрифугирования на скорости 13000 об/мин при +4°C, затем проводили очистку хлороформом и осаждение РНК изопропанолом в течение 20 мин. Осадок трижды промывали холодным 80% этанолом, сушили под воздушным потоком в ламинаре и растворяли в стерильной деионизованной воде.

Очистку РНК от примесей геномной ДНК проводили с помощью фермента ДНКазы А (Thermo Fisher Scientific) в течение 30 мин при 37°C, затем удаляли ДНКазу с помощью сорбента DNA Removal Reagent (Thermo Fisher Scientific).

Концентрацию РНК измеряли на спектрофотометре Nanodrop (Thermo Fisher Scientific) при длине волны 260 нм. В соответствии с показаниями прибора

рассчитывали необходимое количество РНК для поставки обратной транскрипции, исходя из того, что концентрация РНК в пробах должна быть примерно равной. На одну реакцию обратной транскрипции использовали примерно 500 нг РНК.

Обратную транскрипцию РНК проводили с помощью dT-18 праймеров (Евроген) и обратной транскриптазы RevertAid (Thermo Fisher Scientific), на одну реакцию использовали 100 ед. обратной транскриптазы и 10мкМ праймеров dT-18. Полученные пробы кДНК разводили стерильной деионизованной водой до конечного объема 100 мкл и хранили при температуре -20°C .

Количественную оценку уровней экспрессии проводили, измеряя относительный уровень экспрессии изучаемого гена по отношению к уровню экспрессии референсного гена с помощью метода ПЦР-РВ. В качестве референсных генов были использованы гены убиквитина (*UBI*) и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (*GAPDH*), которые характеризуются стабильным уровнем экспрессии в различных тканях редиса (Dodueva et al., 2013).

Был использован набор реагентов для проведения ПЦР-РВ в присутствии красителя Eva Green (Синтол). ПЦР проводили в следующих условиях: 1 цикл - 10 сек при 94°C ; 45 циклов - 15 сек при 94°C , 30 сек при 52°C и 30 сек при 72°C , далее поэтапное повышение температуры от 72°C до 95°C с шагом 5 сек по $0,5^{\circ}\text{C}$. Последовательности праймеров приведены в таблице 1 Приложения. Реакции ПЦР-РВ проводили на амплификаторе CFX96 с термоциклером C1000 (BioRad); данные по расчету пороговых циклов (Ct) получали с помощью программы CFX-Manager (BioRad).

Оценку экспрессии генов для каждой пробы проводили в трех аналитических повторностях, данные по которым затем усредняли. Обработку результатов проводили с помощью метода $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ (Livak and Schmittgen, 2001). Данные количественной оценки экспрессии генов представляли в относительных единицах, рассчитанных при сравнении с уровнями экспрессии референсных генов *UBI* и *GAPDH*. Специфичность ПЦР-амплификации подтверждали по кривой плавления ($72-95^{\circ}\text{C}$). Статистическую обработку полученных результатов проводили в программе R (<http://www.rproject.org/>).

2.2.4. Анализ взаимодействий ТФ-ДНК

Для поиска мишеней ТФ WOX4 был применен метод дрожжевой одногибридной системы (Davies, 2013), который позволяет оценить взаимодействие между ДНК и белком, то есть возможность связывания гомеодомена ТФ с промотором предполагаемого гена-мишени.

Трансформация дрожжей

Для применения дрожжевой одногибридной системы трансформацию дрожжей проводили по протоколу, описанному Gietz and Schiestl (2007).

Получение компетентных клеток *Sacharomyces cerevisiae* штамма Y2H Gold (Clontech), любезно предоставленного коллегами из Государственного Университета Оклахомы (США), проводилось следующим образом. Клетки высевали на твердую среду YPD (pH 6,0) (10 г дрожжевого экстракта, 20 г пептона, 20 г глюкозы, 20 г агара на 1 литр dH₂O) из стока и выращивали при 30°C в течение 3 дней. Затем единичную колонию помещали в жидкую среду YPD (без агара) и инкубировали при 30°C на шейкере (200 об/мин) в течение ночи. На следующий день 1 мл ночной культуры разводили в 10 мл жидкой среды YPD и инкубировали при 30°C на шейкере (200 об/мин) в течение 3 часов. Культуру осаждали центрифугированием в течение 2 минут при скорости 4000 об/мин, супернатант сливали, затем промывали осадок стерильной водой. Осадок ресуспендировали в 450 мкл 0,1 М ацетата лития, затем инкубировали получившуюся суспензию при 30°C в течение 20 мин.

Затем для трансформации к 50 мкл суспензии клеток *S. cerevisiae* добавляли плазмиды (по 500 нг), содержащие последовательность гомеодомена ТФ и участки промоторных областей генов, 20 мкл балластной ДНК (5 мг/мл) и 276 мкл раствора для трансформации (240 мкл 50% полиэтиленгликоля, 36 мкл 1М ацетата лития), тщательно ресуспендировали и инкубировали в течение 30 минут при 30°C. Затем пробирки с суспензиями помещали на водяную баню с температурой 42°C на 20 минут. Далее проводили центрифугирование при скорости 5000 об/мин в течение 30 секунд. Затем из пробирок отбирали супернатант, осадки ресуспендировали в 100 мкл стерильной воды, высевали на чашку с селективной средой DDO (pH=5,9) (1,74 г смеси Yeast nitrogen base (Sigma), 5 г (NH₄)₂SO₄, 20 г глюкозы, 20 г агара, 0,68 г смеси “Yeast Synthetic Drop-out Medium Supplements without leucine and tryptophan” (Sigma, Y0750) в 1 литре дистиллированной воды). Чашки инкубировали в течение 3 дней при 30°C.

Дрожжевая одногибридная система

Постановку экспериментов с использованием дрожжевой одногибридной системы проводили по протоколу, описанному Davies (2013). Полученные после трансформации колонии дрожжей ресуспендировали в 50 мкл воды, измеряли плотность суспензии с помощью iMark™ Microplate Absorbance Reader (Bio-Rad), затем разводили водой для достижения одинаковой оптической плотности и высевали на селективные среды, в качестве которых использовали DDO (1,74 г смеси Yeast nitrogen base (Sigma), 5 г (NH₄)₂SO₄, 20 г глюкозы, 20 г агара, 0,68 г смеси “Yeast Synthetic Drop-out Medium Supplements without leucine and tryptophan” (Sigma, Y0750) и TDO (1,74 г смеси Yeast nitrogen base (Sigma), 5 г (NH₄)₂SO₄, 20 г глюкозы, 20 г агара, 0,68 г смеси “Yeast Synthetic Drop-out Medium Supplements without leucine, tryptophan and histidine” (Sigma, Y2146) с различными концентрациями 3-амино-1,2,4-триазола (3-AT). Для анализа каждого из вариантов взаимодействий на среды высевалось по 4 колонии дрожжей, несущих плазмиды.

Анализировали рост колоний дрожжей, трансформированных плазмидами, содержащими последовательности сайтов связывания промоторов и гомеодомена, а также контрольными плазмидами (не содержащими данных последовательностей). При наличии взаимодействий гомеодоменов ТФ с промоторами генов-кандидатов в опыте колонии росли лучше, чем в контроле.

2.2.5. Статистическая обработка данных

Статистическую обработку, а также построение графиков, осуществляли с помощью пакета R v. 4.0.2 (<http://www.rproject.org/>). Для визуализации данных использовали пакет «ggplot2» (Wickham, 2016). Сравнение количественных показателей проводили с использованием t-критерия Стьюдента (Clogg et al., 1995).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

Общая схема эксперимента по анализу роли меристемных регуляторов в ходе развития корня у редиса представлена на рисунке 15.

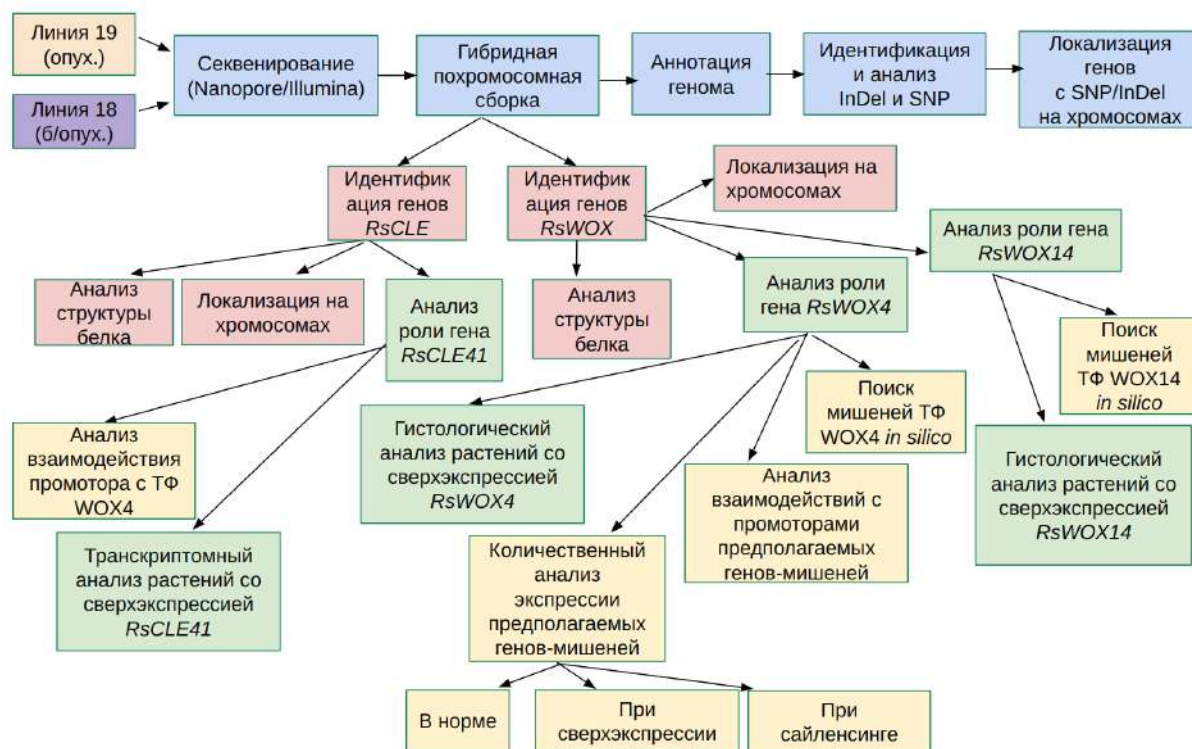


Рисунок 15. Основные этапы работы. Разными цветами выделены этапы, выполненные в ходе решения различных задач работы: №1 (синий), №2 (красный), №3 (зеленый), №4 (желтый).

3.1. Анализ геномов двух линий генетической коллекции редиса, контрастных по способности к спонтанному опухолеобразованию

К настоящему моменту геном редиса секвенирован и аннотирован (Kitashiba et al., 2014; Xu et al., 2023). В базах данных доступны секвенированные сборки геномов редиса (см. таблицу 3), а также необработанные данные секвенирования отдельных генотипов редиса.

Секвенирование генома редиса ранее проводили для нескольких сортов азиатской и европейской селекции и двух изолятов (Kitashiba et al., 2014, Kim et al., 2016, Li et al., 2021, Zhang et al., 2021, Xu et al., 2023). Нами впервые проведено секвенирование двух родственных высокоинбредных линий европейского редиса,

контрастно различающихся по способности к спонтанному опухолеобразованию (Kuznetsova et al., 2024a), что важно в данной работе. Линии также различаются и по другим признакам (форме корнеплода, росту, опушенности листа и т.д.); таким образом, данные сравнительного секвенирования могут быть в дальнейшем использованы для изучения их генетического контроля. Для идентификации различий по последовательностям генов между опухолевой и безопухолевой линиями проводились следующие этапы анализа: оценка качества сборки геномов линий редиса; идентификация генов с InDel и SNP; получение данных о функциях генов, содержащих значимые SNP и InDel у опухолевой линии 19.

3.1.1. Оценка качества сборки геномов линий редиса

Для идентификации SNP и InDel в генах, являющихся кандидатами на участие в процессе опухолеобразования, нами была осуществлена гибридная сборка (сборка с комбинированием данных, полученных с помощью технологий секвенирования Illumina и Oxford Nanopore) геномов двух близкородственных линий, контрастных по признаку «опухолеобразование» (линии 18 и 19 из генетической коллекции редиса СПбГУ).

В результате оценки качества сборки с помощью программы BUSCO (<https://busco.ezlab.org/>) были получены следующие показатели:

1) Геном линии 19: число единичных копий ядерных генов 92,4%, число дублированных последовательностей 6,4%, общий показатель 98,8, что свидетельствует о низком содержании фрагментированных или неполных последовательностей и отсутствии загрязнений последовательностями из других филогенетических доменов;

2) Геном линии 18: число единичных копий генов 92,2%, число дублированных последовательностей 6,4%, общий показатель 98,6, что свидетельствует о низком содержании фрагментированных или неполных последовательностей и отсутствии загрязнений последовательностями из других филогенетических доменов.

Кроме того, был проведен сравнительный анализборок геномов линий 18 и 19 с другими сборками геномов редиса (из базы данных NCBI datasets) по показателям качества. Было установлено, что они варьируют от 93.8 до 98.9 BUSCOs, таким

образом, собранные в настоящей работе геномы по качеству не уступают имеющимся в базе данных (таблица 3).

Таблица 3. Характеристика доступных сборок геномов редиса из базы NCBI. Зеленым цветом выделены сборки, полученные в ходе настоящей работы.

№	GCA/GCF	Год	Метод сборки	Уровень сборки	Технология секвенирования	BUSCOs
1	Линия 19 СПбГУ	2022	Canu/RagTag	Хромосомы	Nanopore; Illumina	98.8
2	Линия 18 СПбГУ	2022	SOAPdenovo v. 1.05/ RagTag	Хромосомы	Illumina	96.8
3	Сорт GCF_0008 01105.1	2015	Newbler v. 1.2.3	Скаффолды	Illumina; PacBio; Sanger; 454	97.6
3	Сорт GCA_0021 97605.1	2017	SOAPdenovo v. 1.05	Хромосомы	Illumina HiSeq	97.4
4	Изолят GCA_0197 05855.1	2021	MECAT v. 1.0	Хромосомы	PacBio RSII; Illumina	98.7
5	Изолят GCA_0197 05875.1	2021	MECAT v. 1.0	Хромосомы	PacBio RSII; Illumina	98.5
6	Изолят GCA_0197 05955.1	2021	MECAT v. 1.0	Хромосомы	PacBio RSII; Illumina HiSeq X Ten	98.9
7	Моноизолят т GCA_0197 05955.1	2020	Нет данных	Хромосомы	PacBio и Hi-C	98.7
8	Сорт Аокуби GCA_0010 47155.1	2015	Newbler v. 2.7; SSPACE v. 2.0	Скаффолды	454; Illumina	96.7
9	Сорт Аокуби S-h GCA_0007 15565.1	2014	SOAPdenovo2 r223; GapCloser v. 1.10; SSPACE v. 2.0	Скаффолды	Illumina HiSeq2000	93.8

3.1.2. Идентификация генов, содержащих однонуклеотидные замены (SNP), инсерции и делеции (InDel) у опухолевой линии

При анализе последовательностей геномов линий 18 и 19 генетической коллекции редиса у линии 19 были выявлены многочисленные (сотни тысяч) SNP и InDel (рисунок 16). Для дальнейшего анализа нами были выбраны те SNP и InDel, которые: 1) Были в гомозиготном состоянии; 2) Находились в кодирующих областях генов или в положениях $-1-20$ 5'-нетранслируемой области (5'-UTR); 3) Приводили к сдвигу рамки считывания и, вероятно, к появлению нефункционального продукта гена. Такие SNP и InDel мы назвали значимыми. Большинство идентифицированных SNP и InDel локализуется в начале или середине соответствующих генов, что приводило к нарушению их функции. Все гены, содержащие замены у 19 линии, являются функциональными, что подтверждается данными транскриптомного анализа опухолей редиса по сравнению с боковыми корнями (Tkachenko et al., 2021a, b).

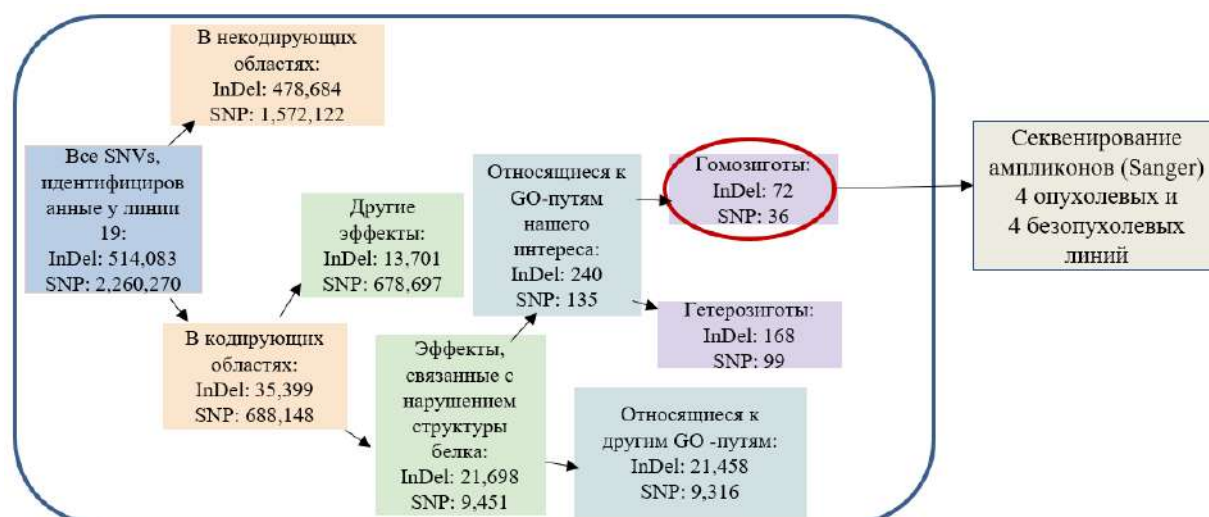


Рисунок 16. SNV, выявленные на различных этапах настоящего исследования. Значимые SNV, исследуемые в данной работе, отмечены красным кругом.

К генам со значимыми InDel у опухолеобразующей линии редиса были отнесены 72 гена. Они содержали **InDel** в их кодирующих областях, приводящие к различным вариантам нарушения рамки считывания, таким как: сдвиг рамки считывания (57 генов), сдвиг рамки считывания и потеря старт-кодона (10 генов), сдвиг рамки считывания и приобретение стоп-кодона (5 генов). Функциональная характеристика генов с значимыми InDel представлена в таблице 4.

Кроме того, к генам со значимыми **SNP** у опухолеобразующей линии редиса было отнесено 36 генов, **SNP** в которых приводят к различным вариантам сдвига рамки

считывания, таким как: приобретение стоп-кодона (23 гена), потеря стоп-кодона (10 генов), потеря старт-кодона (3 гена). Характеристики генов, различающихся по однонуклеотидным заменам у опухолевой и безопухолевой линий коллекции, представлены в таблице 5.

Кроме того, при анализе SNP различных генотипов редиса было показано (рисунок 17), что линии генетической коллекции кластеризуются филогенетически ближе к европейским линиям редиса (Dongby102, Long Scarlet и WK10024), доступным для анализа в базе NCBI, что мы и ожидали получить при анализе линий, выделенных из сорта Сакса европейской селекции.

Гены, в которых были обнаружены InDel и SNP, были нами локализованы на хромосомах редиса (рисунки 18, 19). В целом, SNP и InDel распределены на хромосомах редиса линии 19 достаточно равномерно.

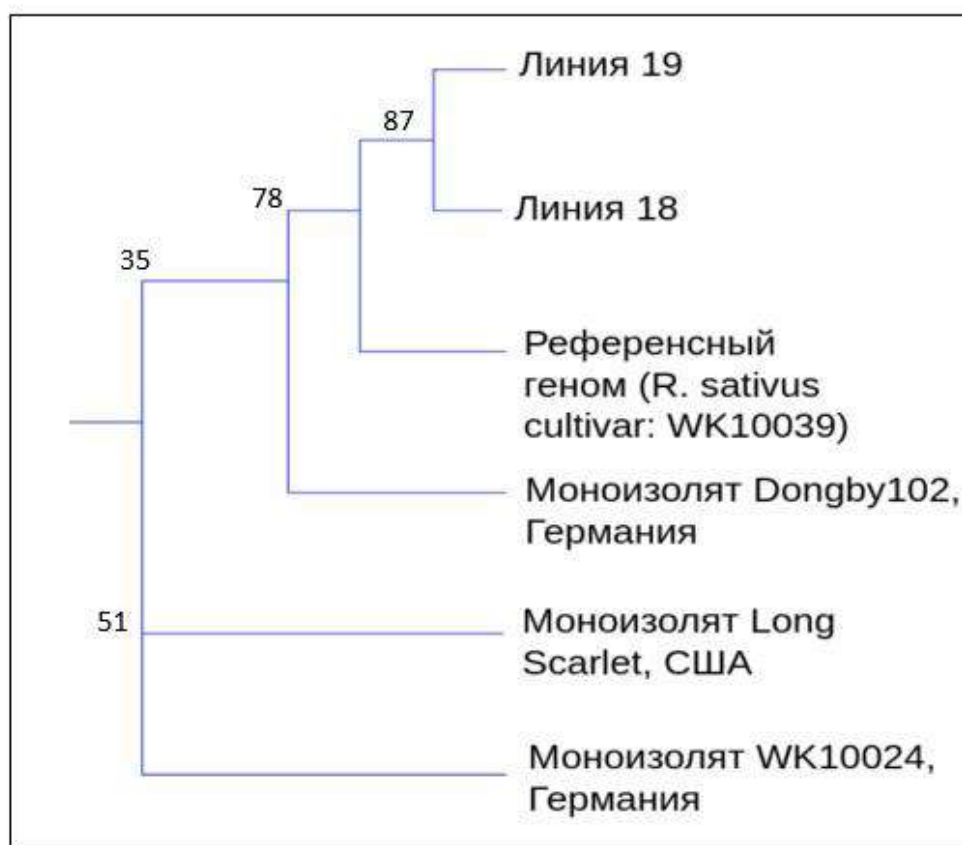


Рисунок 17. Филогенетическое древо разных форм редиса, геномы которых были секвенированы, построенное по алгоритму Neighbor-joining.

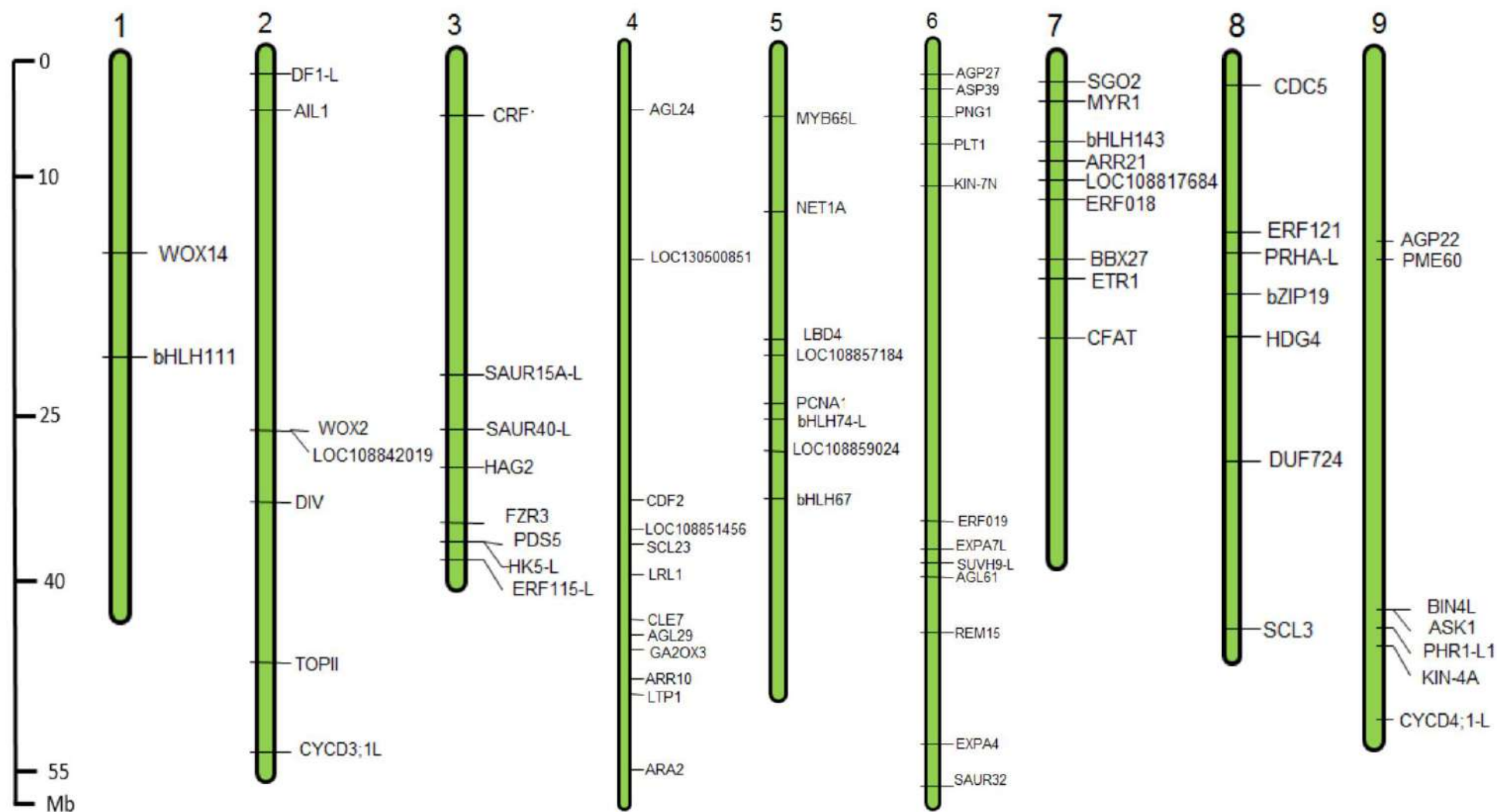


Рисунок 18. Расположение генов, содержащих InDel у опухолевой линии 19, на хромосомах редиса.

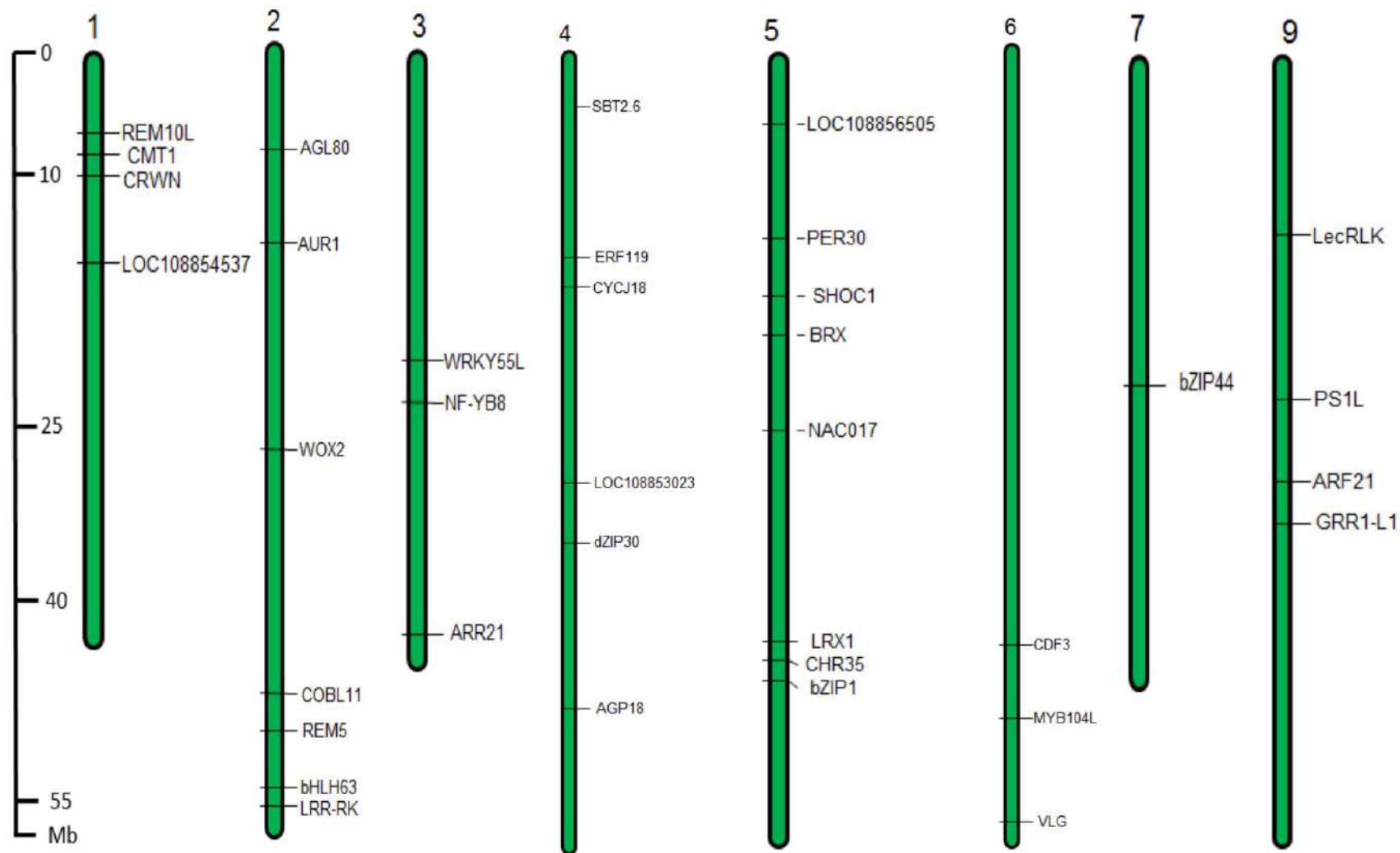


Рисунок 19. Расположение генов, содержащих SNP у опухолевой линии 19, на хромосомах редиса. На хромосоме 8 не было локализовано генов с SNP, поэтому она отсутствует на рисунке.

3.1.3. Проверка наличия SNP и InDel у опухолевой линии с помощью секвенирования ампликонов

Среди всех генов со значимыми SNP и InDel нами для дальнейшего изучения были выбраны гены, которые относятся к следующим путям генной онтологии (GO):

1. Пути GO, имеющие отношение к клеточному циклу, регуляции деления, построения и роста клеток: “пролиферация популяций клеток” (GO:0008283), “регуляция клеточного цикла” (GO:0007346; GO:0010564; GO:0000278; GO:0051726), “репликация ДНК на матрице ДНК” (GO:0006261), “эндоредупликация ДНК” (GO:0042023), “цитокинез” (GO:0000910; GO:0000911), “организация цитоскелета” (GO:0000226), “компонент клеточной стенки” (GO:0009828; GO:0009505), “многомерный рост клеток” (GO:0009825), “заякоренный компонент мембраны” (GO:0031225).

2. Пути GO, имеющие отношение к контролю активности меристем: “инициация меристем” (GO:0010014), “регуляция роста меристем” (GO:0010075), “регуляция структурной организации меристем” (GO:0009933);

3. Пути GO, имеющие отношение к метаболизму фитогормонов и фитогормональному сигналингу: “ЦК-активируемый сигнальный путь” (GO:0009736), “метаболизм ЦК” (GO:0009690), “биосинтез ГК” (GO:0009686), “катаболизм ГК” (GO:0045487), “ауксин-активируемый сигнальный путь” (GO:0009734), “ответ на ауксин” (GO:0009733), “ответ на ЦК” (GO:0009735), “ответ на ГК” (GO:0009739);

4. Пути GO, имеющие отношение к регуляции экспрессии генов: “ДНК-связывающие ТФ” (GO:0003700), “метилирование ДНК” (GO:0006306), “метилирование гистонов по лизину” (GO:0034968), “метилирование гистонов по H3-K9” (GO:0051567).

5. Пути GO, имеющие отношение к органогенезу: “развитие корня” (GO:0048364), “развитие бокового корня” (GO:0048527), “формирование границ семядолей” (GO:0090451).

В литературных источниках были описаны эффекты выключения функции на генотип/фенотип растений для гомологов некоторых генов, InDel и SNP в которых были выявлены нами у опухолевой линии редиса. Эти эффекты представлены в таблицах 4 и 5.

Так, мутации в генах, относящихся к путям регуляции клеточного цикла и роста клеток, имели следующие эффекты у арабидопсиса.

Мутация в гене *CDC5*, контролирующем регуляцию клеточного цикла, приводила к ускоренной гибели клеток и повышенной восприимчивости растений к возбудителям (Palma et al., 2007; Lin et al., 2007).

У мутанта по гену *NET1A*, контролирующему организацию цитоскелета, отмечался ускоренный рост клеток корня (Deeks et al., 2012).

У растений с нокдауном по *sgo2*, в норме регулиующему когезию и сегрегацию сестринских хроматид в мейозе, не отмечалось мейотических или вегетативных дефектов и снижения фертильности (Cromer et al., 2013; Zamariola et al., 2013). Двойные мутанты *Sgo1* и *sgo2* имели преждевременное разделение сестринских хроматид в анафазе I и были стерильны (Zamariola et al., 2014).

У мутантов по гену *PDS5*, в норме контролирующему репарацию ДНК, наблюдались нарушения гомологичной рекомбинации и репарации ДНК, следствием чего являлись дефекты развития и снижение фертильности (Pradillo et al., 2015)

Мутации в генах, имеющих отношение к контролю активности меристем:

Мутант по гену *KIN-4A*, контролирующему развитие клеточной стенки, имел более короткие корни и стебли соцветий и измененную ориентацию микрофибрилл целлюлозы в стенках волокна, что приводило к снижению механической прочности волокна. Более низкая скорость роста стебля соцветия растяжением наряду с уменьшенной толщиной стенок приводила к формированию механически более слабых стеблей (Zhu et al., 2015). Согласно имеющимся данным, линия 19 характеризуется более низким ростом растений по сравнению с линией 18 (Бузовкина, Лутова, 2007), что может быть связано с заменой в этом гене, но для выяснения того, связан этот ген с опухолообразованием или ростом растений, нужны дополнительные исследования.

У мутанта по гену *MYB65*, который в норме регулирует рост тканей посредством снижения пролиферации клеток, отмечалось снижение уровней экспрессии генов алейронового слоя семян (Alonso-Peral et al., 2010). Двойной мутант *myb33 myb65* характеризовался наличием дефектов развития пыльника, что приводило к мужской стерильности (Millar et al., 2005).

Мутации в генах, имеющих отношение к метаболизму фитогормонов и фитогормональному сигналингу:

Мутация в гене *HK5*, в норме негативно регулирующем ETR1-зависимый сигналинг АБК, определяет сверхчувствительность корней к АБК и этилену, сниженное закрытие устьиц в ответ на различные стрессовые воздействия, а также

повышенную чувствительность к патогенам и повышенную толерантность к высокой солености (Iwama et al., 2007; Desikan et al., 2008; Pham and Desikan, 2012).

У мутанта по *ETRI* не наблюдалось видимого фенотипа в ответе на этилен, а двойные мутанты *Ers1 etrl* демонстрировали конститутивный фенотип ответа на этилен (Qu et al., 2007).

У мутанта по гену *AGL24*, контролирующему ответ на гиббереллины, наблюдалась задержка цветения (Yu et al., 2002).

У арабидопсис описаны также мутации в генах - регуляторах экспрессии, в которых у опухолевой линии редиса были выявлены InDel.

Так, мутация в гене, кодирующем гистонметилтрансферазу *suvh9*, вела к нарушению сайленсинга генов из-за деконденсации хромоцентров и последующей депрессии ДНК-метилованных генов и мобильных элементов (Liu et al., 2016).

Мутация в *GT-2* (гомологе *DF1-L* редиса), подавляющем рост корневых волосков, не приводила к видимому фенотипу в нормальных условиях роста, но двойные мутанты *gtl1-1 dfl-1* имели увеличенную длину корневых волосков (Shibata et al., 2018) и меньшее количество вырабатываемой ими слизи (Vasilevski et al., 2012, Voiniciuc et al., 2015).

Проростки, мутантные по гену *bZIP19*, который в норме контролирует процессы аккумуляции цинка в корнях, при росте на обедненной цинком среде формировали корни меньшей длины (Inaba et al., 2015).

Мутации в генах *MYR1* и *CDF2*, регулирующих фотопериодический контроль цветения (Fornara et al., 2009, Zhao et al., 2011), вызывали раннее зацветание.

Кроме того, имеются литературные данные и по нарушению работы генов, SNP в гомологах которых выявлены нами у опухолевой линии редиса (данные представлены в таблице 5). Большинство из них кодирует транскрипционные факторы.

Так, у мутанта по *bZIP44* отмечалось снижение скорости прорастания семян после набухания, которое не влияло на общую скорость прорастания (Iglesias-Fernandez et al., 2013). Мутанты по гену *CDF3*, ответственному за фотопериодический контроль цветения (Fornara et al., 2009), а также по гену *ARR21*, активирующему ARR А-типа в ответ на ЦК, не обладали видимым фенотипом (Horak et al., 2003).

Кроме того, мутант по гену *CRWN*, ответственному за метилирование гистонов, характеризовался фенотипом умеренной карликовости и скручивания листьев. У него также формировались розетки листьев меньшего размера (Choi et al., 2019).

У мутанта по гену-регулятору ориентации делений *PSI* формировались диплоидные пыльцевые зерна из-за дефектов II деления мейоза (d'Erfurth et al., 2008).

Мутант по гену *LRX1*, регулирующему рост бокового корня, имел неравномерное развитие корневых волосков (Schaufelberger et al., 2019).

Итак, у опухолевой линии редиса был выявлен ряд функционально значимых нарушений в важных регуляторных генах. Гены, в которых у опухолевой линии 19 были выявлены InDel или SNP, приводящие к потере функций, важны для разных аспектов регуляции развития растений, и потеря их функции может привести к аномалиям морфогенеза или нарушению ответа на средовые факторы. К настоящему моменту нет литературных данных о том, мутации в каких из исследуемых генов могут приводить к эктопическим клеточным делениям, ведущим к формированию опухолей. Возможно, что по отдельности эти мутации не вызывают опухолевого эффекта, а в совокупности, вероятно, могут приводить к образованию опухолей. Большинство выявленных генов представлены у редиса, геном которого триплицирован по сравнению с арабидопсис, несколькими копиями, что также не позволяет с уверенностью считать их регуляторами опухолеобразования. Данная часть работы представляет задел для дальнейших исследований в этом направлении. Продолжением этой работы может быть проверка сцепления определенных InDel и SNP с признаком «опухолеобразование» с помощью генетического анализа, а также проверка функций отдельных выявленных генов с помощью их сверхэкспрессии, сайленсинга, редактирования.

Таблица 4. Гены линии 19, в которых обнаружены инсерции/делеции (InDel).

№	Ген	Хромосома	InDel; часть гена	Id гомолога в базе NCBI	Функция	Кол-во гомологов у редиса	Ссылка
Контроль клеточного цикла, рост и деление клеток							
1	<i>CFAT</i>	7	с.868_871del AGGA p.Arg 290fs середина	LOC108815961	Биосинтез лигнина.	2	Dexter et al., 2007
2	<i>CYCD3;1L</i>	2	с.967delC p.Arg323fs середина	LOC130508373	Контроль клеточного цикла при переходе G1/S; активация в ответ на ЦК; пролиферация эпидермальных клеток листьев и плотность устьиц; регуляция вторичного роста корня.	2	Dewitte and Murray, 2003; Menges et al., 2006; Dewitte et al., 2007; Elsner et al., 2012; Randall et al., 2015; Han et al., 2022
3	<i>SGO2</i>	7	с.391_392ins CT p.Phe131 начало	LOC108814355	Когезия и сегрегация сестринских хроматид в мейозе.	1	Cromer et al., 2013; Zamariola et al., 2013
4	<i>CYCD4;1-L</i>	9	с.591_592delC A p.Lys199fs середина	LOC108828557	Активация перехода G1/S в ответ на ЦК; митотическое деление клеток; активация клеточного цикла в АМК; продвижение зародышевого корня.	3	Kono et al., 2003; Masubelele et al., 2005; Nieuwland et al., 2009; Strzalka et al., 2015
5	<i>KIN-7N</i>	6	с.234_237del GATT p.Ile7 9fs	LOC108807218	Связывание АТФ; моторная функция микротрубочек.	2	Day et al., 2009

			начало				
6	<i>PDS5</i>	3	c.1delA p.Me t1fs начало	LOC108845796	Репарация ДНК; когезия сестринских хроматид в митозе.	1	Pradillo et al., 2015
7	<i>EXPA7L</i>	6	c.375_376ins TAAT p.Gly 126fs начало	LOC108810873	Ослабление клеточных стенок из-за нарушения связи между микрофибриллами целлюлозы и глюканами матрикса; удлинение корневых волосков.	3	Cho et al., 2002; Lin et al., 2011
8	<i>EXPA4</i>	6	c.1delA p.Me t1fs начало	LOC108813883	Ослабление клеточных стенок из-за нарушения связи между микрофибриллами целлюлозы и глюканами матрикса; образование синцития.	3	Jamil et al., 2019; Liu et al., 2021
9	<i>LTP1</i>	4	c.1dupA p.M et1fs начало	LOC108853879	Перенос липидов через мембраны; отложение воска и кутина в клеточных стенках и секреторных тканях; связывание кальмодулина.	1	Potocka et al., 2012; Wang et al., 2016b
10	<i>LOC108817 684</i>	7	c.148dupT p. Cys50fs начало	LOC108817684	Биосинтез ксилоглюканов.	1	Sampedro et al., 2017
11	<i>PME60</i>	9	c.2861_2862i nsCCTC p.Th r955fs конец	LOC108826705	Модификация клеточных стенок посредством деметилэтерификации пектина.	1	Coculo and Lionetti, 2022
12	<i>KIN-4A</i>	9	c.61dupA p.П e21fs начало	LOC108827664	Отложение микрофибрилл целлюлозы; механика клеточной стенки во время удлинения клетки.	2	Zhong et al., 2002; Kong et al., 2015; Zhu et al., 2015
13	<i>LOC108859 024</i>	5	c.2410delG p. Glu804fs конец	LOC108859024	Ген с неизвестной функцией - вероятно, регулятор клеточного цикла	1	Heyndrickx and Vandepoele, 2012
14	<i>FZR3</i>	3	c.353dupA p. Gln119fs начало	LOC108844659	Контроль активности убиквитинлигазы и субстратной специфичности комплекса, стимулирующего анафазу.	3	Larson-Rabin et al., 2009; Dangarh et al., 2020

15	<i>NETIA</i>	5	c.1664_1665delTT p.Val555fs середина	LOC108862024	Ассоциация с F-актином на плазматической мембране и плазмодесмах; реакция на патоген-ассоциированный стресс; ингибирование роста корней.	1	Deeks et al., 2012; Hawkins et al., 2014
16	<i>PCNA1</i>	5	c.154_155insGC p.Leu52fs с начало	LOC108832540	Контроль репликации ДНК за счет повышения технологичности полимеразы при удлинении ведущей цепи.	3	Strzalka and Aggarwal, 2013; Qian et al., 2019
17	<i>WOX14</i>	1	c.135_136insTC p.Phe46fs начало	LOC108853278	Функционирует в организующем центре меристемы побега, поддерживая стволовые клетки в недифференцированном состоянии. Вместе с WOX4 действуют ниже РХУ, независимо регулируя пролиферацию сосудов растений.	1	Hirakawa et al., 2010; Etchells et al., 2013; Zhang et al., 2016b
18	<i>HAG2</i>	3	c.909_910delGG p.Ala304fs середина	LOC108847241	Модификация гистонов; контроль клеточного цикла, времени цветения, реакции на условия окружающей среды, гормонального сигналинга и эпигенетических процессов.	2	Chen and Tian, 2007; Pfluger and Wagner, 2007
19	<i>BIN4L</i>	9	c.96_100delTTCAT p.Cys32fs начало	LOC130499962	Организация хроматина и прохождение циклов эндоредупликации.	3	Breuer et al., 2007
20	<i>MYB65L</i>	5	c.195_196insAGGCTGGGTGCCT p.Leu66fs начало	LOC108862100	Ингибирование роста тканей за счет снижения пролиферации клеток; запрограммированная гибель клеток белок-запасающих вакуолей в алейроновом слое при прорастании семян; развитие пыльника и тапетума.	1	Gocal et al., 2001; Millar et al., 2005; Alonso-Peral et al., 2010.
21	<i>DUF724</i>	8	c.25dupA p.Thr9fs начало	LOC108820138	Полярный рост клеток.	2	Cao et al., 2010
22	<i>AGP22</i>	9	c.1_1delGAMet p.Met1fs начало	LOC108826274	Дифференцировка, эмбриогенез и запрограммированная гибель клеток.	3	Schultz et al., 2000; Pereira et al., 2014

23	<i>AGP27</i>	6	c.111_112delT C p.Pro38fs середина	LOC108809107	Дифференцировка, эмбриогенез и программированная гибель клеток.	1	Pereira et al., 2014
Контроль активности меристем							
24	<i>LBD4</i>	5	c.17dupG p.G ly7fs начало	LOC108857433	Гистогенез флоэмы/ксилемы; регуляция радиального роста через контроль размера клеток и делений клеток камбия.	1	Smit et al., 2020; Ye et al., 2021; Turley and Etchells, 2022
25	<i>ASK1</i>	9	c.535_536dupTT p.Leu17 9fs середина	LOC108827710	Регуляция развития меристем; ответ на осмотический стресс.	2	Dornelas et al., 2000; Dong et al., 2020
26	<i>LOC130500851</i>	4	c.654delT p. Ala219fs конец	LOC130500851	Инициация бокового корня и регенерация побега.	2	Johnson et al., 2011
27	<i>REM15</i>	6	c.2917dupT p .Cys973fs конец	LOC108808545	Развитие цветка.	1	Mantegazza et al., 2014
28	<i>PLT1</i>	6	c.177_178ins TA p.Asp60fs начало	LOC108829093	Спецификация покоящегося центра корня и колумеллы; формирование ниши стволовых клеток во время эмбриогенеза; модуляция полярного транспорта ауксина через регуляцию распределения генов <i>PIN</i> . Компонент этилен-активируемого сигнального пути. Поддержание теломер.	1	Shimotohno et al., 2018; Xiong et al., 2020
Регуляция экспрессии генов							
29	<i>WOX2</i>	2	c.860delG p.Glu865fs конец	LOC108841333	Формирование эмбрионального паттерна.	1	Chung et al., 2016; Hassani et al., 2022
30	<i>ERF121</i>	8	c.428_429delA	LOC108837093	Регуляция экспрессии генов стрессовыми факторами	6	Zlobin et al., 2021

			G p.Lys143fs конец		и компонентами путей передачи сигнала при стрессе.		
31	<i>ARR21</i>	7	c.599delT p.Leu200fs середина	LOC108815221	Регулятор ответа В-типа, участвующий в системе передачи сигнала от His на Asp по типу фосфореле. Активирует RR А-типа в ответ на ЦК.	2	Horák et al., 2003; Brenner et al., 2012; Hill et al., 2013
32	<i>SCL23</i>	4	c.97delT p.Ser33fs начало	LOC108848776	Формирование клеток оболочки сосудистого пучка.	1	Cui et al., 2014
33	<i>ERF115-L</i>	3	c.232_235delAGCT p.Ser78fs начало	LOC108846562	Активация фитосульфокина; ограничение скорости деления клеток покоящегося центра, активен при повреждении окружающих ствольных клеток. Протеолитическая мишень комплекса APC/C-FZR1.	3	Heymann et al., 2016; Zhang et al., 2016a; Johnson et al., 2018; Canher et al., 2020; Hoermayer et al., 2020; Lakehal et al., 2020
34	<i>bHLH143</i>	7	c.182_183dupAA p.Val62fs начало	LOC108817725	Развитие сосудов.	1	Jorgensen et al., 2012
35	<i>MYR1</i>	7	c.291_294delCCC p.Pro98fs начало	LOC108815809	Подавляет цветение и удлинение органов при снижении интенсивности света; подавляет ГК-зависимые реакции и влияет на уровень ГК.	1	Thelander et al., 2002; Zhao et al., 2011; Zhao and Beers, 2013
36	<i>PHR1-L1</i>	9	c.262_263insTG p.Ser88fs начало	LOC108824019	Ответ на дефицит фосфора; транспорт углеводов.	1	Sun et al., 2016; Spies et al., 2022
37	<i>CDF2</i>	4	c.378delA p.Glu127fs	LOC108849692	Контроль фотопериодической реакции цветения через подавление <i>CONSTANS</i> .	2	Imaizumi et al., 2005; Fornara et al.,

			середина				2009; Sun et al., 2015
38	ARR10	4	c.865_866delG C p.Ala289fs середина	LOC108830348	Активация ARR А-типа в ответ на ЦК. Формирование каллуса, поддержание идентичности АМП, первичное развитие корня, регуляция метаболизма антоцианов, биосинтеза хлорофилла, роста семян; реакция на дефицит воды.	1	Cortleven et al., 2016; Nguyen et al., 2016; Meng et al., 2017; Zubo et al., 2017; Rong et al., 2018; Xie et al., 2018a
39	bZIP19	8	c.763_764dupG A p.Asp255fs середина	LOC108818944	Опосредует экспрессию переносчиков цинка ZIP3, ZIP4, ZIP5 и ZIP9 при росте в условиях дефицита цинка.	2	Assunção et al., 2010; Inaba et al., 2015; Lilay et al., 2019; Lilay et al., 2020
40	DIV	2	c.38_39dupTG p.Lys14fs начало	LOC108840441	Подавление биосинтеза АБК; ответ на ГК; ответ на салициловую кислоту; ответ на засоление.	4	Fang et al., 2018
41	AGL61	6	c.278_279delT G p.Met93fs середина	LOC108808389	Контроль дифференцировки клеток при развитии женского гаметофита.	2	Steffen et al., 2008
42	AGL29	4	c.1dupA p.Met 1fs начало	LOC108850931	Развитие пыльцы.	2	Verelst et al., 2007
43	bHLH67	5	c.632_633insT p.Thr212fs середина	LOC108860648	Адаптация к холоду.	2	Gao et al., 2017
44	HDG4	8	c.1189_1190del GC p.Ala397fs середина	LOC108820851	Идентичность субэпидермальных клеток в ходе постэмбрионального развития.	2	Nakamura et al., 2006; Bhatia et al., 2021

45	<i>SCL3</i>	8	c.100delA p.Ile34fs начало	LOC130499224	Ответ на ГК.	1	Zentella et al., 2007; Zhang et al., 2011
46	<i>AGL24</i>	4	c.246_247insC p.Tyr83fs начало	LOC108852002	Переход к цветению в ответ на яровизацию; определение судьбы соцветия в апикальных меристемах; передача сигналов через рецептор-подобные киназы. При связывании с SOC1 опосредует влияние ГК на цветение в условиях короткого дня и регулирует экспрессию <i>LFY</i> .	1	Michaels, et al., 2003; Yu et al., 2004; Lee et al., 2008; Torti and Fornara, 2012
47	<i>bHLH74-L</i>	5	c.1020delT p.Tyr340fs середина	LOC108856918	Элонгация клеток; связывание с хроматиновой областью <i>FT</i> , что способствует его экспрессии и цветению в ответ на синий свет. Компонент модуля miR396a - bHLH74, регулирующего формирование корня у проростков арабидопсис.	2	Bao et al., 2014
48	<i>AIL1</i>	2	c.1039_1040insTT p.Tyr347fs середина	LOC130498742	Контроль меристем побега и цветка; инициация цветения; развитие семязачатков; идентичность органов цветка; пролиферация клеток; регуляция экспрессии генов стрессовыми факторами.	4	Horstman et al., 2014
49	<i>ERF018</i>	7	c.-1_1insCAG начало	LOC108835321	Деление клеток; ответ на воздействие насекомых; этилен-активируемый сигнальный путь; гистогенез флоэмы/ксилемы; реакция на поранение; активация экспрессии генов биосинтеза жасмонатов.	3	Etchells et al., 2012; Nieminen et al., 2015; Huang et al., 2021
50	<i>DF1-L</i>	2	c.709_710delC p.Pro237fs середина	LOC108848832	Подавление роста корневых волосков; синтез слизи в семенной кожуре.	4	Vasilevski et al., 2012; Voiniciuc et al., 2015; Shibata et al., 2018
51	<i>LRL1</i>	4	c.206delG p.Glu69fs начало	LOC108852215	Аккумуляция липидов в условиях дефицита элементов питания; удлинение корневых волосков.	2	Karas et al., 2009; Lin et al., 2015; Hidayati et al., 2019

52	ERF019	6	c.458_459delA p.Lys153fs середина	LOC108809887	Ответ на засуху; этилен-активируемый сигнальный путь; ответ на грибную инфекцию.	2	Scarpeci et al., 2017; Huang et al., 2019; Lu et al., 2020
53	bHLH111	1	c.1delA p.Met1fs начало	LOC108829884	Биосинтез антоцианов; экспрессируется в ответ на дефицит азота	1	Silva et al., 2019; Li et al., 2021
54	CRF1	3	c.252_253insG p.Thr85fs начало	LOC108846019	Вероятная мишень <i>CLE41</i> ; компонент сигналинга ЦК; развитие семядолей, листьев и зародышей; регуляция экспрессии генов стрессовыми факторами и компонентами путей передачи сигнала при стрессе.	1	Cutcliffe et al., 2011; Wickramasuriya and Dunwell., 2015; Huo et al., 2020
55	CDC5	8	c.1494_1495insTT p.Ala499fs середина	LOC108830943	Регуляция защитных реакций посредством контроля транскрипции; сплайсинг мРНК; контроль клеточного цикла; развитие АМП; контроль врожденного иммунитета растений.	4	Lin et al., 2007b; Palma et al., 2007; Zhang et al., 2013
56	PRHA-L	8	c.714dupG p.Ser239fs середина	LOC108821801	Ответ на ауксин; реакция на патогены.	2	Plesch et al., 1997
57	SUVH9-L	6	c.865delG p.Glu289fs середина	LOC108835120	Сайленсинг транспозонов; РНК-направленное метилирование ДНК.	2	Johnson et al., 2008; Kuhlmann and Mette, 2012; Johnson et al., 2014; Liu et al., 2014; Liu et al., 2016
58	TOP11	2	c.680delG p.Arg561fs конец	LOC130508706	Контроль топологических состояний ДНК путем временного разрыва и последующего воссоединения нитей ДНК.	1	Martinez-Garcia et al., 2018; Martinez-Garcia et al., 2021
59	BBX27	7	c.690dupT p.Ser	LOC108816763	Фотопериодический контроль цветения на коротком	1	Gangappa et al.,

			r231fs середина		дне.		2014; Lyu et al., 2020
Органогенез							
60	<i>ARA2</i>	4	c.926_927insT G p.Arg310fs середина	LOC108854961	Закладка и развитие боковых корней независимо от ауксина и АБК.	1	Coates et al., 2006; Nibau et al., 2011; Gibbs and Coates, 2014
Метаболизм и сигналинг фитогормонов							
61	<i>CLE7</i>	4	c.1_2delAT p .Met1fs начало	LOC108853737	Сигнальный пептид, синтезируется в ответ на дефицит азота. Экспрессируется в сосудистой сети и перицикле, подавляет формирование боковых корней.	1	Araya et al., 2014; Kang et al., 2022
62	<i>SAUR15A-L</i>	3	c.1dupA p.M et1fs начало	LOC108846677	Формирование боковых и придаточных корней в ответ на ауксин.	1	Yun et al., 2020; Li et al., 2022
63	<i>SAUR32</i>	6	c.365_366del AA p.Lys122 fs середина	LOC108809074	Ответ на ауксин; подавляет рост клеток гипокотыля.	2	Park et al., 2007
64	<i>SAUR40-L</i>	3	c.543delA p. Lys181fs середина	LOC108846468	Ответ на ауксин.	1	Qiu et al., 2013
65	<i>GA2OX3</i>	4	c.827_834del CACCATTTG p.Ala276fs середина	LOC130510497	Компонент сигнального пути ГК.	1	Sakai et al., 2003
66	<i>LOC108857184</i>	5	c.72dupT p.P ro25fs начало	LOC108857184	Ген с неизвестной функцией, вероятно, ЦК-активируемый	1	
67	<i>HK5-L</i>	3	c.2573delA p.	LOC108844370	Негативная регуляция ETR1-зависимого сигнального	3	Desikan et al., 2008;

			Asn858fs середина		пути АБК и этилена; ингибирует удлинение корня; открывание/закрывание устьиц в замыкающих клетках АБК-независимым путем; контроль выработки АФК в ответ на стресс.		Mira-Rodado et al., 2012; Pham and Desikan, 2012; Huo et al., 2020
68	<i>ETR1</i>	7	c.77dupT p.Leu26fs начало	LOC108817715	Двухкомпонентный негативный регулятор передачи сигналов этилена. Контроль прорастания семян, контроль АМК.	1	Qu and Schaller, 2004; O'Malley et al., 2005; Bisson and Groth, 2010; Bakshi et al., 2015; Bakshi et al., 2018; Harkey et al., 2018; Li et al., 2019; Zdarska et al., 2019; Schott-Verdugo et al., 2019
Другие функции							
69	<i>LOC108842019</i>	2	c.716_717ins AT p.Leu240fs середина	LOC108842019	Предполагаемая рецепторная киназа.	2	Rodriguez-Furlan et al., 2022
70	<i>PNG1</i>	6	c.1773_1779 delGCCGCC A p.Pro592fs конец	LOC108813526	Контроль качества белка.	2	Diepold et al., 2007
71	<i>LOC108851456</i>	4	c.383_384del TT p.Phe128fs середина	LOC108851456	Связывание ионов металлов; репликация ДНК.	1	Ronceret et al., 2005
72	<i>ASP39</i>	6	c.387_388ins C p.Lys130fs середина	LOC108812392	Синтез фитохелатинов и гомофитохелатинов, связывающих тяжелые металлы. Деградация конъюгатов глутатиона.	1	Vatamaniuk et al., 2004

Таблица 5. Гены линии 19, в которых обнаружены однонуклеотидные замены (SNP).

№	Ген	Хромосома	Id гомолога в базе NCBI	SNP	Функция	Кол-во гомологов у редиса	Ссылка
Контроль клеточного цикла							
1	<i>CYC18</i>	4	LOC108830438	c.718T>C p.Ter240Argext* конец	Деление клеток; регуляция циклин-зависимой протеинсерин/треонинкиназной активности; фазовый переход митотического клеточного цикла.	1	Abrahams et al., 2001
2	<i>PSIL</i>	9	LOC108861742	c.1297G>T p.Glu433* середина	Ориентация веретена деления во втором делении мейоза, образование тетрады микроспор.	1	d'Erfurth et al., 2008
3	<i>AURI</i>	2	LOC108819297	c.1168C>T p.Arg390* конец	Цитокинез; формирование центров организации микротрубочек.	2	Kawabe et al., 2005; Van Damme et al., 2011
4	<i>bZIP1</i>	5	LOC108825955	c.64C>T p.Arg22* начало	Пространственный контроль цитокинеза за счет правильной сборки фрагмопласта.	1	Müller et al., 2019; Romanowski et al., 2021
5	<i>LRX1</i>	5	LOC108836486	c.1638C>A p.Tyr546* середина	Морфогенез клеток, в том числе корневых волосков, через формирование и сборку клеточной стенки и/или поляризацию роста.	3	Baumberger et al., 2003; Draeger et al., 2015; Schaufelberger et al., 2019; Herger et al., 2020
6	<i>AGP18</i>	4	LOC108807296	c.578C>A p.Ser193* середина	Дифференцировка, эмбриогенез, запрограммированная гибель клеток.	3	Demasa-Arévalo and Vielle-Calzada, 2013; Farquharson, 2013
7	<i>COBL11</i>	2	LOC108841217	c.574A>T p.Arg192*	Формирование и развитие пыльцевых трубок.	1	Brady et al., 2007; Li et al., 2013

				середина			
Метаболизм и сигналинг фитогормонов							
8	<i>GRR1-L1</i>	9	LOC1088250 13	с.665A>T р.Ter222Leuext *середина	Рецепция ауксина; ответ на ауксин.	3	Thelander et al., 2002; Dharmasiri et al., 2005
Регуляция экспрессии генов							
9	<i>CHR35</i>	5	LOC1088626 54	с.2327T>A р.Leu776* конец	Эпигенетический контроль РНК-направляемого метилирования ДНК.	1	Cho et al., 2016
10	<i>CMT1</i>	1	LOC1088073 43	с.902G>C р.Ter301Ser* середина	Метилирование CpXpG; сайленсинг генов.	1	Yadav et al., 2018
11	<i>WOX2</i>	2	LOC1088413 33	с.802A>T р.Arg402* конец	Формирование эмбрионального паттерна.	1	Chung et al., 2016; Hassani et al., 2022
12	<i>bZIP44</i>	7	LOC1088141 36	с.415T>C р.Ter139Glnext *середина	Регуляция прорастания семян посредством ослабления микропилярного эндосперма и разрыва семенной оболочки.	2	Iglesias-Fernández et al., 2013
13	<i>ARF21</i>	9	LOC1088221 18	с.487A>T р.Lys163* середина	Ответ на ауксин.	1	Hagen and Guilfoyle, 2002
14	<i>NAC017</i>	5	LOC1088563 30	с.2T>C р.Met1 начало	Ответ на стресс.	1	Meng et al., 2019
15	<i>MYB104L</i>	6	LOC1088105 75	с.448C>T р.Gln150* середина	Микрогаметогенез, развитие поляризованных микроспор.	1	Oh et al., 2020
16	<i>NF-YB8</i>	3	LOC1088444 81	с.566A>T р.Ter189Leuext	Контроль времени цветения; биосинтез флавоноидов.	1	Wei et al., 2017; Wang et al., 2021

				* середина			
17	WRKY55L	3	LOC130509746	с.363G>A р.Trp121* середина	Регуляция старения листьев через контроль накопления салициловой кислоты и АФК.	2	Wang et al., 2020b
18	ERF119	4	LOC108833429	с.841T>G р.Ter281Gluext *середина	Регуляции экспрессии генов факторами стресса и компонентами путей передачи стресс-опосредованного сигнала; образование вторичной клеточной стенки.	3	Kavas et al., 2015; Seyfferth et al., 2018
19	ARR21	3	LOC108846809	с.1694C>G р.Ser565* конец	Регулятор ответа В-типа, участвующий в системе передачи сигнала от His на Asp по типу фосфореле. Активирует ARR А-типа в ответ на ЦК.	2	Horák et al., 2003; Brenner et al., 2012; Hill et al., 2013;
20	REM5	2	LOC130494531	с.392G>T р.Ter131Leut* середина	Везикулярный транспорт.	2	Paul et al., 2014
21	bHLH63	2	LOC108824102	с.487A>T р.Lys163* середина	Эпигенетическая регуляция цветения: активация экспрессии <i>FT</i> , цветение в ответ на синий свет. Подавление врожденного иммунного ответа.	2	Radoeva et al., 2019
22	AGL80	2	LOC108815229	с.432A>G р.Ter144Trp* середина	Пролиферация клеток эндосперма.	1	Wolff et al., 2011; Sun et al., 2020a
23	SHO1	5	LOC130500734	с.20T>A р.Leu7 * начало	Биосинтез ГК; прорастание семян; дифференцировка элементов ксилемы, лигнификация вторичной клеточной стенки.	1	Frei dit Frey et al., 2010; Liu et al., 2010; Yan et al., 2014; Gutierrez-Beltran et al., 2015a,b; 2021
24	CDF3	6	LOC108813543	с.984G>A р.Trp328*	Фотопериодический контроль цветения через подавление <i>CONSTANS</i> ; повышение эффективности	1	Renau-Morata et al., 2017; Krahmer et al.,

				середина	использования азота; увеличивает производство биомассы и урожайность в условиях стресса, вызванного засолением.		2019; Domínguez-Figueroa et al., 2020
25	<i>dZIP30</i>	4	LOC108848413	с.240T>A р.Cys80* начало	ГФ, репрессор репродуктивного развития, размера меристемы и роста растений. Взаимодействует с регуляторами развития меристемы и гинцея (WUS, NEC1, KNAT1, KNAT2, HAT1, BEL1 и NGA1).	1	Lozano-Sotomayor et al., 2016
Контроль активности меристем							
26	<i>REM10L</i>	1	LOC108857973	с.604A>T р.Lys202* середина	Развитие цветка.	2	Mantegazza et al., 2014; Yamasaki et al., 2017
27	<i>BRX</i>	5	LOC108850063	с.946T>A р.Ter316Arg* середина	Пролиферация и удлинение клеток корня и побега; контроль протофлоэмы; взаимодействие между сигналингом ИУК и брассиностероидов; ЦК-опосредованное ингибирование инициации боковых корней.	1	Mouchel et al., 2004; Rodriguez-Villalon et al., 2014; Breda et al., 2017
Другие функции							
28	<i>PER30</i>	5	LOC108862038	с.2T>C р.Met1 начало	Окисление токсичных восстановителей; биосинтез и деградация лигнина, суберинизация, катаболизм ауксинов, реакция на экзогенные стрессы.	1	Showalter et al., 2010
29	<i>CRWN</i>	1	LOC108806851	с.8G>A р.Trp3* начало	Организация структуры ядра.	1	Wang et al., 2013a; Choi et al., 2019
30	<i>LRR-RK</i>	2	LOC108842145	с.1526T>A р.Leu509* середина	Кодирует белок с серин/треонин/тирозинкиназной активностью.	1	Xun et al., 2020
31	<i>LecRLK</i>	9	LOC108824077	с.107G>T р.Ter36Leuext	Развитие растений, ответ на стресс.	1	Wang et al., 2014, Sun et al., 2020b

				середина			
32	<i>SBT2.6</i>	4	LOC108849971	с.2442C>G р.Тур814* конец	Протеолиз; активируется в ответ на eoCLE40.	1	Stührwohldt et al., 2020
33	<i>LOC108853023</i>	4	LOC108853023	с.87T>A р.Тур29* начало	Участник убиквитин-зависимых процессов катаболизма.	2	Kosarev et al., 2002
34	<i>VLG</i>	6	LOC130496156	с.309C>G р.Тур103* начало	Гаметогенез	1	D'Ippólito et al., 2017
35	<i>LOC108856505</i>	5	LOC108856505	с.1354C>T р.Arg452* конец	Ответ на гипоксию.	1	Giuntoli et al., 2014
36	<i>LOC108854537</i>	1	LOC108854537	с.3G>A р.Met1 начало	Нет данных	1	

Из-за большого количества идентифицированных InDels и SNP в настоящее время невозможно сделать точные предположения о роли каждой из идентифицированных замен в спонтанном опухолеобразовании. Согласно данным транскриптомного анализа корнеплодов и спонтанных опухолей инбредной линии редиса, все 108 генов с SNV у опухолевой линии 19 экспрессировались в корнеплодах редиса (Tkachenko et al., 2021a). Более того, пять генов с такими SNV, выявленными в данном исследовании, оказались в числе дифференциально экспрессирующихся: в опухолях были повышены уровни экспрессии регулятора клеточного цикла *RsPCNA1* и гена с неизвестной функцией *LOC108817684*, тогда как уровни экспрессии гомологов гена ответа на ауксин *RsSAUR32*, камбий-ассоциированных генов ответа на этилен *RsERF018* и *RsERF019*, а также гена *RsLRR-RK*, кодирующего рецептороподобную протеинкиназу, были снижены (Tkachenko et al., 2021a).

С целью более детального изучения выявленных InDels и SNP результаты, полученные с использованием инструментов биоинформатики, были подтверждены секвенированием кодирующих последовательностей генов, содержащих SNP и InDel, у опухолевых (12, 13, 14, 16, 19, 20, 21, 32) и безопухолевых (3, 5, 6, 8, 9, 18, 23, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 37, 39) линий генетической коллекции редиса. Для этого соответствующие гены амплифицировали, а последовательности секвенировали по Сэнгеру. Для такой проверки были в первую очередь были выбраны гены, 1) для гомологов которых в литературе описана роль в контроле развития меристем; 2) которые локализовались на хромосомах вне теломерных областей; 3) SNV в которых располагались ближе к началу гена.

В результате у большинства опухолевых линий было подтверждено наличие InDel в гене *RsERF018* (рисунок 20). У остальных генов InDel/SNP были либо идентифицированы только у линии 19, либо присутствовал полиморфизм, не ассоциированный с признаком «опухолеобразование».

Ген *RsERF018*, гомолог которого у арабидопсиса контролирует реакцию на этилен и деление клеток камбия (Etchell et al., 2012), у шести из восьми опухолевых (12, 13, 14, 19, 20 и 21), а также у двух безопухолевых линий (26 и 27) содержит вставку CAG перед старт-кодоном, тогда как у опухолевых линий 16 и 32, а также у большинства безопухолевых линий (у 10 из 15) данная вставка отсутствовала (рисунок 20). Без вставки 5'-UTR-область содержала последовательность AAA непосредственно перед старт-кодоном, что должно приводить к высокой эффективности трансляции (Kim et al., 2014). Поэтому вставка CAG между старт-кодоном и AAA-

последовательностью (рисунок 20) должна приводить к значительному снижению количества транслируемого белка, как это было показано на арабидопсисе (Kim et al., 2014).

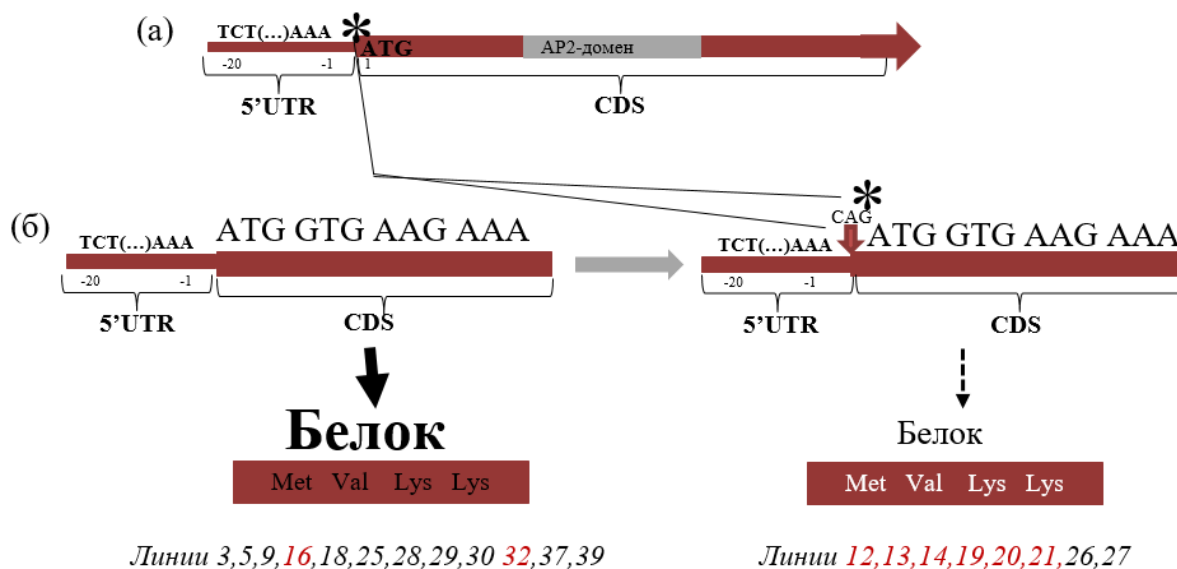


Рисунок 20. Схематическое изображение инсерции (отмечена звездочкой), обнаруженной в гене *RsERF018*. (а) Схема гена *ERF18*. Вставка расположена на границе 5'-UTR и старт-кодона. (б) Инсерция в 5'-UTR гена *RsERF018* у линий редиса и ее возможные последствия. Аминокислотный состав белка, синтезируемого при трансляции нормальной последовательности, отмечен черным цветом, а белок, синтезируемый при трансляции в случае CAG-вставки, - белым. Номера опухолевых линий редиса выделены красным цветом.

Согласно литературным данным, ТФ WOX4 подавляет активность нескольких ТФ, относящихся к семейству ERF (*RsERF018*, *RsERF019* и *RsERF1*), которые активируются при действии этилена и участвуют в пролиферации клеток (Etchell et al., 2012). Поскольку *RsERF018* является одной из предполагаемых мишеней ТФ WOX4 у редиса и важным регулятором камбия, дополнительное изучение его функций и проверка предположения о роли его как возможного консервативного регулятора спонтанного опухолеобразования является перспективной задачей дальнейших исследований в данной области.

Кроме того, интересным результатом данного исследования является обнаружение InDel и SNP у генов системы WOX-CLAVATA - *RsWOX14*, *RsWOX2* и *RsCLE7* (рисунок 21).

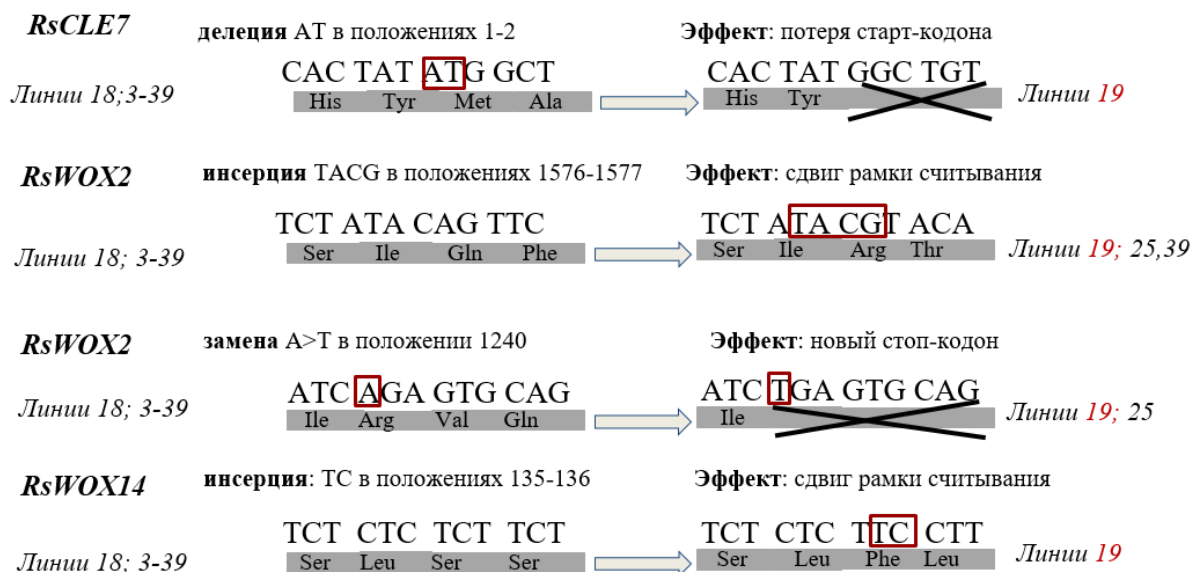


Рисунок 21. Схематическое изображение генов *RsCLE7*, *RsWOX2*, *RsWOX14* без замен и вставок (левая часть рисунка) и с заменами/вставками (правая часть рисунка) и их вероятных продуктов. Для каждого SNV указан его тип и влияние на белковый продукт гена. InDel и SNP отмечены красной рамкой. Номера опухолевых линий редиса выделены красным цветом.

У арабидопсиса ген *WOX14* является регулятором баланса камбия и ксилемы и действует совместно с *WOX4* (Etchells et al., 2013). Ген *WOX2* известен как регулятор раннего эмбриогенеза и формирования каллуса (Hassani et al., 2022). Ген *CLE7* у арабидопсиса также является регулятором каллусообразования и регенерации (Kang et al., 2022). Поскольку спонтанные опухоли на корнеплодах редиса возникают из камбия и развиваются как недифференцированные каллусоподобные структуры (Lebedeva et al., 2015), эти гены рассматривались нами как перспективные кандидаты на роль регуляторов опухолеобразования. Однако полученные по ним результаты оказались не слишком обнадеживающими: проверка биоинформатических данных с помощью секвенирования ампликонов позволила подтвердить наличие замен/вставок у линии 19 и отсутствие их у 18 линии, однако присутствия данных InDel и SNP у других опухолевых линий не наблюдалось и корреляции этих инделов с признаком «опухолеобразование» выявлено не было (рисунок 21).

Гены *RsWOX14*, *RsWOX2* и *RsCLE7* представлены в геноме редиса одной копией, но гомозиготность по мутациям с потерей функции в них не приводит к снижению жизнеспособности 19 линии редиса. Согласно имеющимся данным, единичная мутация в каждом из этих генов не вызывает серьезных аномалий развития у зрелых растений арабидопсиса (Etchell et al., 2013).

Таким образом, среди всех выявленных генов с SNP и InDel наиболее перспективным кандидатом на роль консервативного регулятора опухолеобразования является *RsERF018*. В дальнейшем потребуются секвенирование и менее перспективных генов, не взятых нами в первоначальный анализ, для которых у линии 19 были выявлены функционально значимые SNP и InDel, у других опухолевых линий генетической коллекции редиса.

3.2. Идентификация, анализ последовательностей генов *RsWOX* и *RsCLE* редиса и предсказание доменной структуры кодируемых ими белков

Система WOX-CLAVATA у растений представляет собой пример сложно организованного консервативного модуля, регулирующего активность меристем и ряд других процессов в растительном организме. Она включает в себя сигнальные пептиды CLE, их рецепторы – протеинкиназы с лейцин-богатыми повторами, а также мишени пептидов CLE – гомеодоменсодержащие ТФ WOX (Stahl and Simon, 2009; Lee and Torii, 2012). Наша работа посвящена изучению роли меристемных регуляторов в развитии запасающего корня; в этом процессе система WOX-CLAVATA играет важную роль, регулируя активность латеральной меристемы - камбия - и его производных, а также, вероятно, контролируя формирование эктопических очагов меристематической активности в опухолях. Таким образом, важной частью данной работы была идентификация и анализ последовательностей генов, принадлежащих к этой системе.

Поскольку геном редиса по сравнению с геномом арабидопсис триплицирован (Jeong et al., 2016), обычно для каждого гена *AtWOX* или *AtCLE* имеются по 2-3 гомолога у редиса: например, в геноме редиса имеется 3 гена-гомолога *AtWUS*, 5 генов - гомологов *AtWOX13*. Внутри каждой из таких групп гены характеризуются большим сходством: например, сходство генов *RsWOX4-1* и *RsWOX4-2* достигает 95%.

3.2.1. Идентификация и хромосомная локализация генов *RsWOX*; анализ структуры белков *RsWOX* у редиса

Всего в геноме редиса мы идентифицировали 24 гена *RsWOX* (значительная часть их была идентифицирована ранее в референсном геноме редиса в работе Aliaga et al., 2019) и 52 гена *RsCLE*. Особое внимание в работе было уделено генам *RsWOX4* (2 гена), *RsWOX14* (1 ген) и *RsCLE41* (2 гена), гомологи которых у арабидопсис играют центральную роль в регуляции активности камбия.

Филогенетическое древо генов *WOX* редиса представлено на рисунке 22. Синим цветом отмечены гены *RsWOX4*, красным - *RsWOX14*.

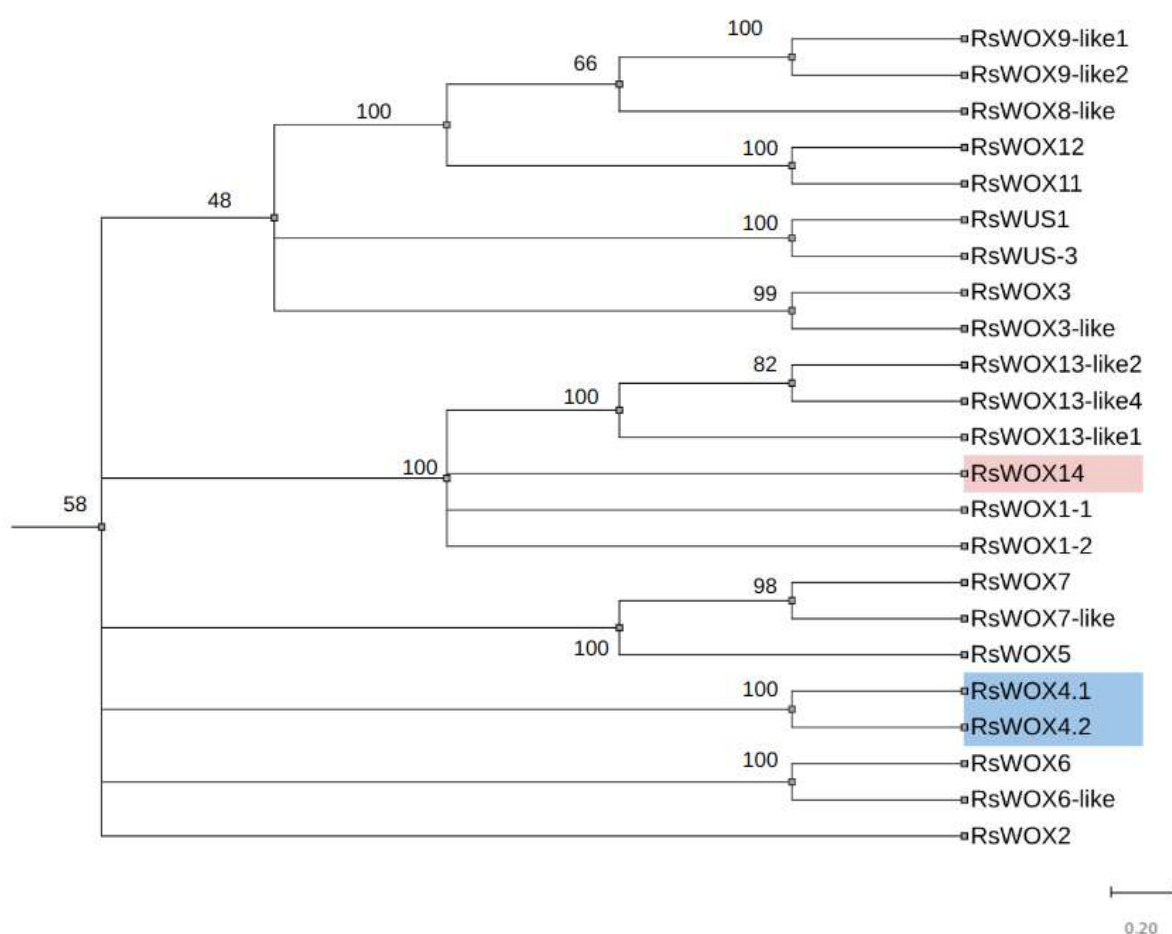


Рисунок 22. Филогенетическое древо генов *RsWOX*, построенное с помощью алгоритма Neighbor-joining. Цветом отмечены гены, представляющие интерес для данной работы.

Также нами было изучено строение последовательностей белков *RsWOX4-1*, *RsWOX4-2* и *RsWOX14* редиса (рисунок 23). У них был идентифицирован гомеодомен – ДНК-связывающий домен всех гомеодомен-содержащих ТФ. Кроме того, у

RsWOX4-1 и RsWOX4-2, которые относятся к современной ветви белков WOX (Haecker et al., 2004), был выявлен ряд других доменов, влияющих на регуляцию экспрессии генов-мишеней. В частности, RsWOX4-1 и RsWOX4-2 содержат WUS-боксы, который необходим для транскрипционной репрессии генов-мишеней и который у WOX белков арабидопсиса связывается с корепрессором TOPLESS (Martin-Arevalillo et al., 2017). В то же время, второго репрессивного домена, который есть у многих WOX, – EAR-домена (van der Graaff et al., 2009) – у белков RsWOX4, как и у соответствующего ТФ арабидопсиса, нет. У белков RsWOX4-1 и RsWOX4-2 также имеются консервативный для ТФ эукариот кислый домен (acidic domain), необходимый для активации транскрипции (Ma and Ptashne, 1987), а также используемый некоторыми WOX белками для взаимодействия с другими ТФ (Su et al., 2020). Выявлена у них и консервативная для всех эукариот последовательность PEST - мишень для убиквитинирования и протеолиза, которая является признаком недолгоживущих белков.

Несмотря на то что гены *WOX4* и *WOX14* принадлежат к разным кладам: древней (*WOX14*) и современной (*WOX4*) (см. обзор Tvorogova et al., 2021), последовательности гомеодомена у них консервативны, что предполагает связывание их с одними и теми же мишенями. Вероятно, только наличие гомеодомена достаточно для положительной регуляции экспрессии их мишеней. Наличие у *WOX4* (в отличие от *WOX14*) WUS-боксы и EAR-домена важно для негативной регуляции посредством притягивания корепрессоров, что свидетельствует о том, что у *WOX4* могут быть и отдельные, характерные только для них "минус"-мишени. Таким образом, у *WOX4* и *WOX14* предполагается частичное перекрытие функций, а не полное их дублирование.

Кроме того, мы идентифицировали и локализовали на хромосомах и гены *RsWOX*, которые являются мишенями генов *RsCLE* и регуляторами развития меристем. Информация о локализации генов *RsWOX*, которых у редиса всего было идентифицировано 24, на хромосомах представлена в таблице 6 и на рисунке 24.

Таблица 6. Гены *RsWOX* и их хромосомная локализация.

№	Ген	Id	Хромосома	Координаты
1	<i>RsWUS1</i>	LOC108826423	9	25391638..25393659
2	<i>RsWUS-2</i>	LOC108860672	5	32134429..32136395
3	<i>RsWUS-3</i>	LOC108810506	6	25374911..25376943
4	<i>RsWOX1-1</i>	LOC108859792	5	7390678..7389734
5	<i>RsWOX1-2</i>	LOC108862713	5	7388589..7391154
6	<i>RsWOX2</i>	LOC108841333	2	21341442..21342606
7	<i>RsWOX3</i>	LOC108853017	4	36182105..36183709
8	<i>RsWOX3-like</i>	LOC108837685	3	11436310..11437644
9	<i>RsWOX4-1</i>	LOC108857708	5	28767860..28769449
10	<i>RsWOX4-2</i>	LOC108820732	8	22263942..22265330
11	<i>RsWOX5</i>	LOC108860345	5	3995650..3996669
12	<i>RsWOX6</i>	LOC108825323	9	33082008..33082440
13	<i>RsWOX6-like</i>	LOC108808383	6	37791476..37794151
14	<i>RsWOX7</i>	LOC108816831	7	5878921..5879361
15	<i>RsWOX7-like</i>	LOC108841429	2	25782570..25783384
16	<i>RsWOX8-like</i>	LOC108808083	6	20653111..20655047
17	<i>RsWOX9-like1</i>	LOC108810630	6	48266564..48268968
18	<i>RsWOX9-like2</i>	LOC108846840	3	18165462..18167903
19	<i>RsWOX11</i>	LOC108812707	6	2916296..2919135
20	<i>RsWOX12</i>	LOC108815129	7	1948016..1952302
21	<i>RsWOX13-like1</i>	LOC108843060	2	38230366..38231894
22	<i>RsWOX13-like2</i>	LOC108854890	4	1228814..1230202
23	<i>RsWOX13-like3</i>	LOC108820866	8	8201772..8202881
24	<i>RsWOX14-like</i>	LOC108853278	1	9049502..9051017

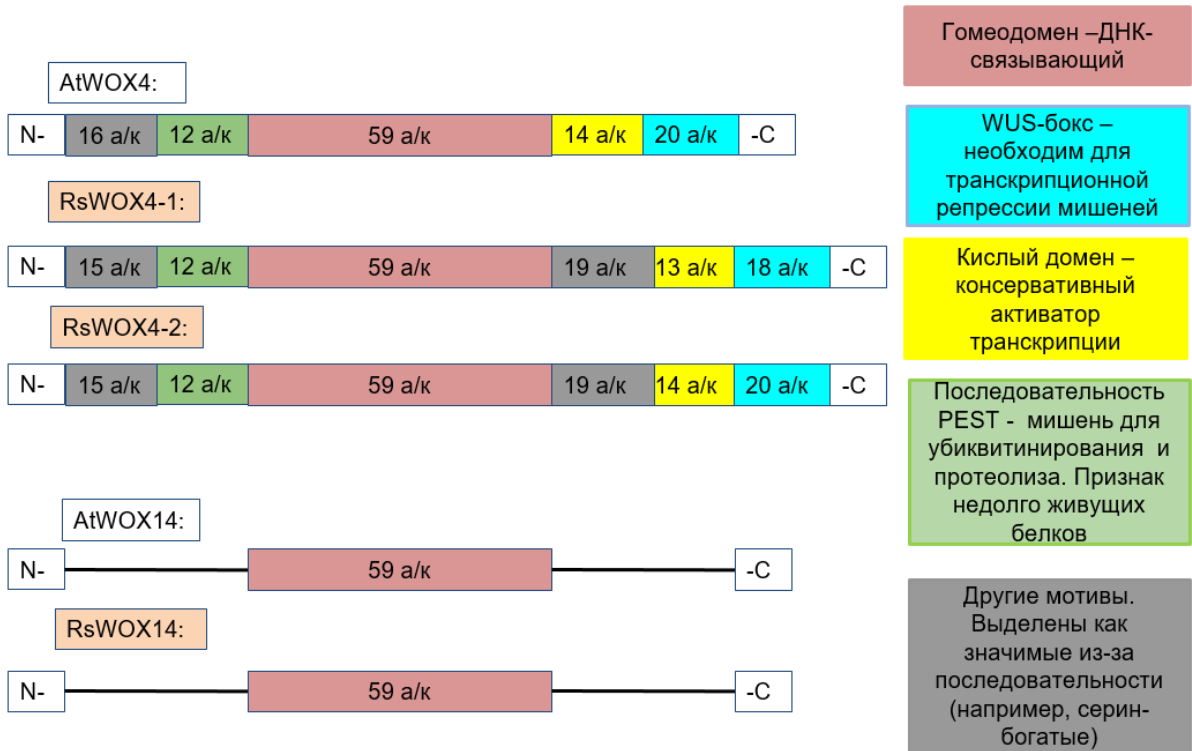


Рисунок 23. Домены белков WOX4 и WOX14 редиса и арабидопсиса.

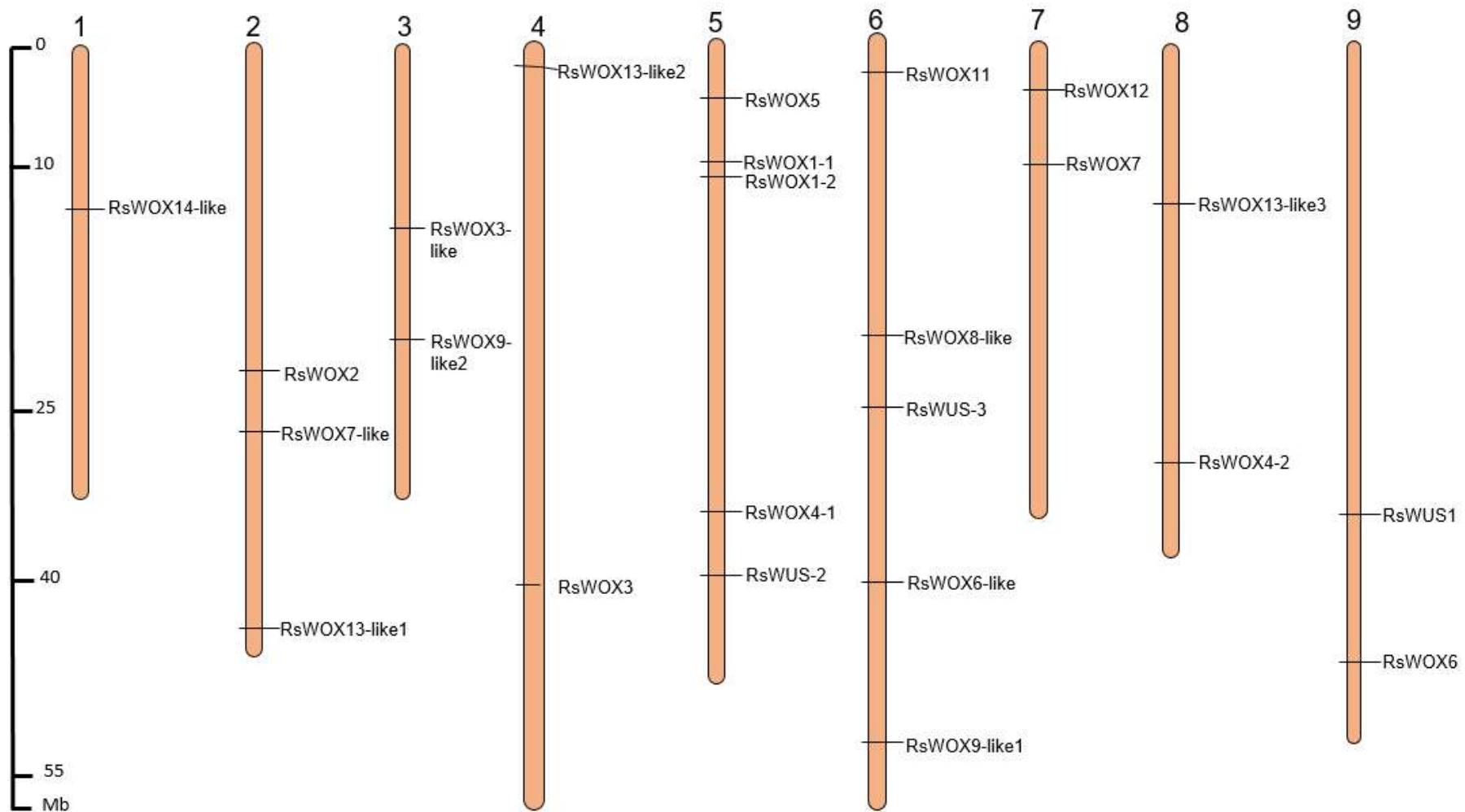


Рисунок 24. Расположение генов *RsWOX* на хромосомах редиса.

3.2.2. Идентификация и хромосомная локализация генов *RsCLE*; анализ структуры белков *RsCLE* у редиса

Кроме того, у редиса было идентифицировано 52 гена *RsCLE*, в том числе гены, относящиеся к группе *TDIF*. У арабидопсиса имеется 33 гена *AtCLE* (Strabala et al., 2008), то есть в среднем для каждого гена *AtCLE* было идентифицировано по два гомолога *RsCLE*. Некоторые из выявленных генов *RsCLE* были аннотированы ранее в работе Gancheva et al., 2016.

Интересно, что помимо гомологов *AtCLE* нами было идентифицировано 2 уникальных мультидоменных *RsCLE* (рисунок 25), гомологи которых есть у *Brassica* (Han et al., 2020), но отсутствуют у *Arabidopsis*; их функции неизвестны (Kuznetsova et al., 2024a).

Среди всех генов *RsCLE* интерес для нас представляли *RsCLE41* и *RsCLE42* из группы *TDIF* (рисунок 25).

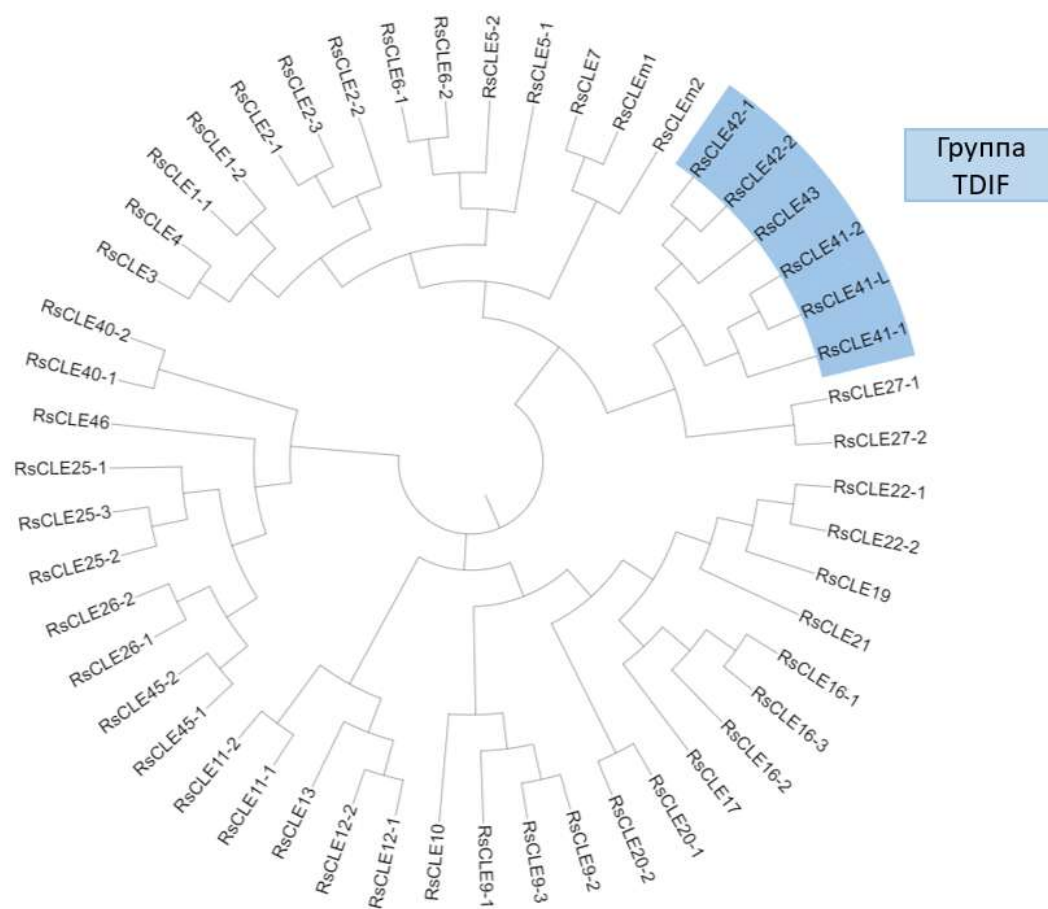


Рисунок 25. Филогенетическое древо генов *CLE* редиса, построенное с помощью алгоритма Neighbor-joining. Цветом отмечен сектор, соответствующий генам группы *TDIF* – регуляторам развития камбия.

К группе TDIF (или группе В), участвующей в регуляции активности камбия, у арабидопсис относятся 3 гена: *AtCLE41*, *AtCLE42* и *AtCLE44* (Ito et al., 2006; Yaginuma et al., 2011), у редиса же - 6 генов (*RsCLE41-1*, *RsCLE41-2*, *RsCLE41-L*, *RsCLE42-1*, *RsCLE42-2*, *RsCLE43*). Пептиды этой группы отличаются от остальных CLE-пептидов по аминокислотному составу CLE-домена (рисунки 26, 27): в консервативных положениях 5, 10 и 11 CLE-домена у них, в отличие от пептидов группы А, находятся серин, изолейцин и серин соответственно.

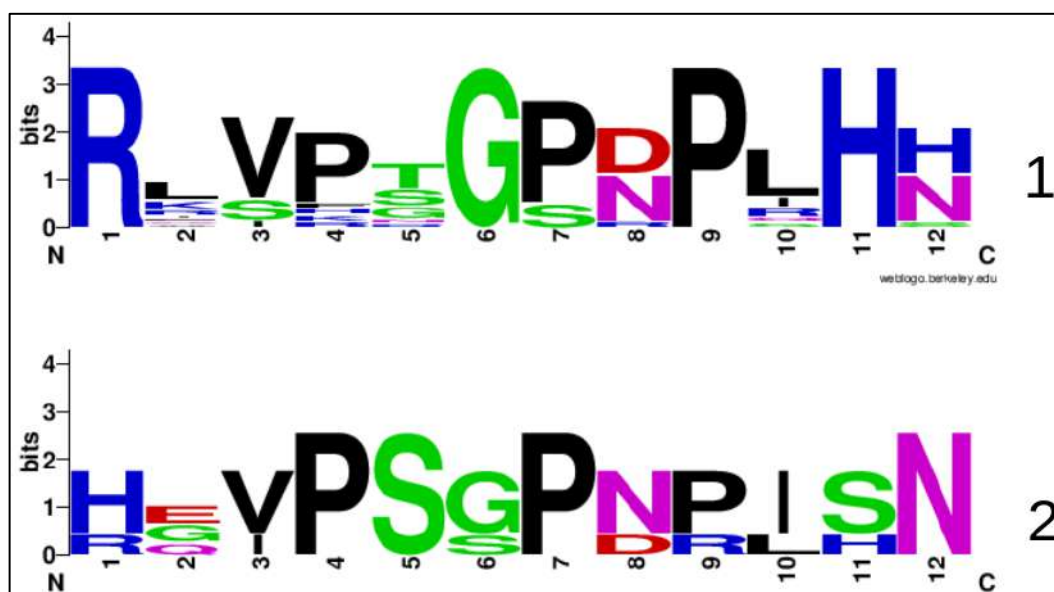


Рисунок 26. Мотивы аминокислотных последовательностей CLE-домена у пептидов 1) группы А; 2) группы В.

Проанализировав последовательности CLE-доменов у всех идентифицированных нами пептидов группы В, мы отметили, что состав CLE-домена пептида *RsCLE43* отличается от состава CLE-домена остальных представителей этой группы по аминокислотам в следующих положениях: аргинин-1, глутамин-2, изолейцин-3, серин-6, аспарагиновая кислота-8, лейцин-9, гистидин-10 (рисунок 27). У арабидопсис гены *CLE41/44* и *CLE42* кодируют функциональные пептиды группы TDIF, регулирующие активность камбия и развитие проводящей системы, тогда как пептид *CLE43* является нефункциональным.

Species/Abbrv				*	*	*				*		
1. RsCLE41-1	H	E	V	P	S	G	P	N	P	I	S	N
2. RsCLE41-2	H	E	V	P	S	G	P	N	P	I	S	N
3. RsCLE41-L	H	E	L	P	S	G	P	N	P	I	S	N
4. RsCLE42-1	H	G	V	P	S	G	P	N	P	I	S	N
5. RsCLE42-2	H	G	V	P	S	G	P	N	P	I	S	N
6. RsCLE43	R	K	I	P	S	S	P	D	R	L	H	N

Рисунок 27. CLE-домены продуктов генов *RsCLE*, принадлежащих к группе TDIF.

У редиса также были выявлены два гена, которых нет у арабидопсис, – они были названы нами *RsCLEm1* и *RsCLEm2*, поскольку кодируют мультидоменные пептиды CLE: в составе каждого из них имеется по 8 CLE-доменов. Гены, кодирующие мультидоменные пептиды CLE, имеются также у *Brassica napus* (Han et al., 2019). В задачи данной работы не входило изучение функций этих генов, оно планируется в дальнейшем.

Кроме того, мы локализовали гены *RsCLE* на хромосомах редиса: данные представлены в таблице 7 и на рисунке 28. Интересным является тот факт, что на 9 хромосоме был обнаружен кластер *RsCLE*-генов, что, возможно, связано с тем, что здесь имели место дубликации.

Таблица 7. Гены *RsCLE* и их локализация на хромосомах.

№	Ген	Id	Хромосома	Координаты
1	<i>RsCLE1-1</i>	LOC108841390	2	3191415..3192147
2	<i>RsCLE1-2</i>	LOC108843041	2	3197975..3198516
3	<i>RsCLE2-1</i>	LOC108821700	8	13271037..13271432
4	<i>RsCLE2-2</i>	LOC108853569	4	6882809..6883161
5	<i>RsCLE2-3</i>	LOC108853568	4	6891416..6891719
6	<i>RsCLE3</i>	LOC108824362	1	607138..607689
7	<i>RsCLE4</i>	LOC108853505	4	37230512..37230914
8	<i>RsCLE5-1</i>	LOC108846750	3	19875811..19876403
9	<i>RsCLE5-2</i>	LOC108811152	6	47131282..47131923
10	<i>RsCLE6-1</i>	LOC108846750	3	19875811..19876403
11	<i>RsCLE6-2</i>	LOC108853458	4	37280842..37281463
12	<i>RsCLE7</i>	LOC108853737	4	37245967..3724644
13	<i>RsCLE9-1</i>	LOC108831381	8	4812048..4812772

14	<i>RsCLE9-2</i>	LOC108821573	8	4812324..4812844
15	<i>RsCLE9-3</i>	LOC108810044	6	35921594..35922686
16	<i>RsCLE10</i>	LOC108826236	9	2423342..2424998
17	<i>RsCLE11-1</i>	LOC108857705	1	22097302..22097985
18	<i>RsCLE11-2</i>	LOC108821365	8	24037054..24037712
19	<i>RsCLE12-1</i>	LOC108840313	2	6241832..6242663
20	<i>RsCLE12-2</i>	LOC108826002	9	2066133..2067263
21	<i>RsCLE13</i>	LOC108826513	9	5380674..5381240
22	<i>RsCLE16-1</i>	LOC108850391	4	15636111..15636434
23	<i>RsCLE16-2</i>	LOC108808008	6	19256776..19257099
24	<i>RsCLE16-3</i>	LOC108825322	9	33079361..33080497
25	<i>RsCLE17</i>	LOC108846339	9	3546645..3549159
26	<i>RsCLE19</i>	LOC130503403	6	9074418..9074865
27	<i>RsCLE20-1</i>	LOC108860579	5	21410155..21410896
28	<i>RsCLE20-2</i>	LOC108858161	1	2412807..2413362
29	<i>RsCLE21</i>	LOC108860201	5	32912076..32912755
30	<i>RsCLE22-1</i>	LOC108818245	7	3709257..3710007
31	<i>RsCLE22-2</i>	LOC108846157	3	26138832..26139918
32	<i>RsCLE25-1</i>	LOC108833148	9	32051111..32054680
33	<i>RsCLE25-2</i>	LOC108851777	4	12718828..12720994
34	<i>RsCLE25-3</i>	LOC108809875	6	16707003..16708424
35	<i>RsCLE26-1</i>	LOC108840632	2	5203217..5205554
36	<i>RsCLE26-2</i>	LOC108836893	9	2944703..2946116
37	<i>RsCLE27-1</i>	LOC108810763	6	17738367..17739088
38	<i>RsCLE27-2</i>	LOC108837461	4	13849353..13849910
39	<i>RsCLE40-1</i>	LOC108816739	7	3541867..3542573
40	<i>RsCLE40-2</i>	LOC108846890	3	26030539..26031690
41	<i>RsCLE41-1</i>	LOC108857555	5	12821672..12822454
42	<i>RsCLE41-2</i>	LOC108857305	5	34479291..34479891
43	<i>RsCLE41-L</i>	LOC130512782	5	35284491..35285276
44	<i>RsCLE42-1</i>	LOC108855008	4	39036056..39036736
45	<i>RsCLE42-2</i>	LOC108837535	6	48711791..48712456
46	<i>RsCLE43</i>	LOC130511469	1	11388890..11389614
47	<i>RsCLE45-1</i>	LOC108841040	2	5633117..5633932
48	<i>RsCLE45-2</i>	LOC108826373	9	2629261..2630076
50	<i>RsCLE46</i>	LOC108826060	9	5928323..5929081
51	<i>RsCLEm1</i>	LOC108807713	6	6757266..6757976
52	<i>RsCLEm2</i>	LOC108858878	5	35811497..35812612

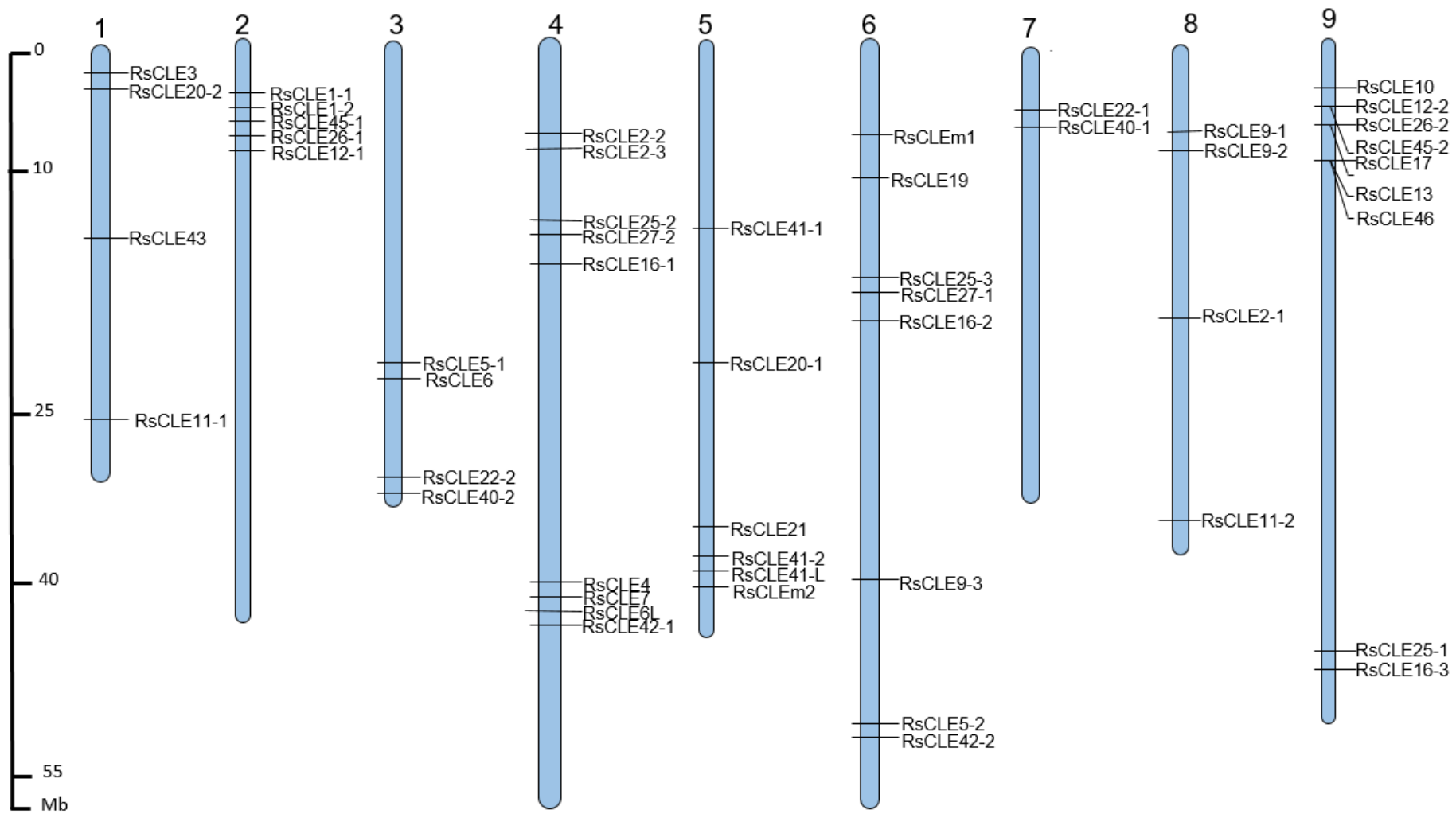


Рисунок 28. Расположение генов *R_sCLE* на хромосомах редиса.

3.3. Изучение влияния генов *RsWOX4*, *RsWOX14* и *RsCLE41* на развитие корнеплода и экспрессию генов редиса

Для изучения роли компонентов систем WOX-CLAVATA в развитии запасающего корня у редиса мы исследовали функции генов *RsWOX4*, *RsWOX14* и *RsCLE41*, гомологи которых у арабидопсис и древесных растений регулируют активность камбия и формирование проводящей системы. Для этого мы изучили эффекты сверхэкспрессии соответствующих генов на фенотип корня и профиль экспрессии предполагаемых генов-мишеней.

3.3.1. Транскриптомный анализ корней редиса со сверхэкспрессией *RsCLE41*

По ранее полученным в нашей лаборатории данным, сверхэкспрессия *RsCLE41* оказывает влияние на фенотип растений редиса, вызывая увеличение диаметра корня и нижней части стебля, а также снижение количества одревесневших элементов стелы (Gancheva et al., 2016; Ганчева и др., 2018). Поскольку пептид CLE41, как и другие CLE-пептиды семейства TDIF, является важным регулятором деления клеток сосудистой меристемы (про)камбия и предотвращает дифференцировку ксилемы, мы продолжили исследования роли этого гена и провели транскриптомный анализ корней редиса со сверхэкспрессией *RsCLE41*. Мы проанализировали дифференциальную экспрессию генов в корнях редиса первичного строения, несущих конструкции *p35S:RsCLE41-1*, с использованием РНК-секвенирования. Анализ транскриптомных данных выявил в общей сложности 62 гена, дифференциально экспрессирующихся (рисунок 29) в корнях редиса со сверхэкспрессией *RsCLE41-1* по сравнению с контрольными корнями со сверхэкспрессией гена *GUS*, среди которых 38 генов повышали уровни экспрессии, а 24 – понижали (Kuznetsova et al., 2022). На рисунке 30 представлена схема, отражающая влияние сверхэкспрессии *RsCLE41-1* на экспрессию генов-мишеней и факт взаимодействий между компонентами генных сетей. Линиями показаны предсказанные взаимодействия между компонентами данной генной сети. Если компоненты сети не соединены линиями, это означает, что они, вероятно, не взаимодействуют и не регулируются совместно.



Рисунок 29. Дифференциально экспрессирующиеся гены в корнях *35S:RsCLE41-1* по сравнению с контролем.

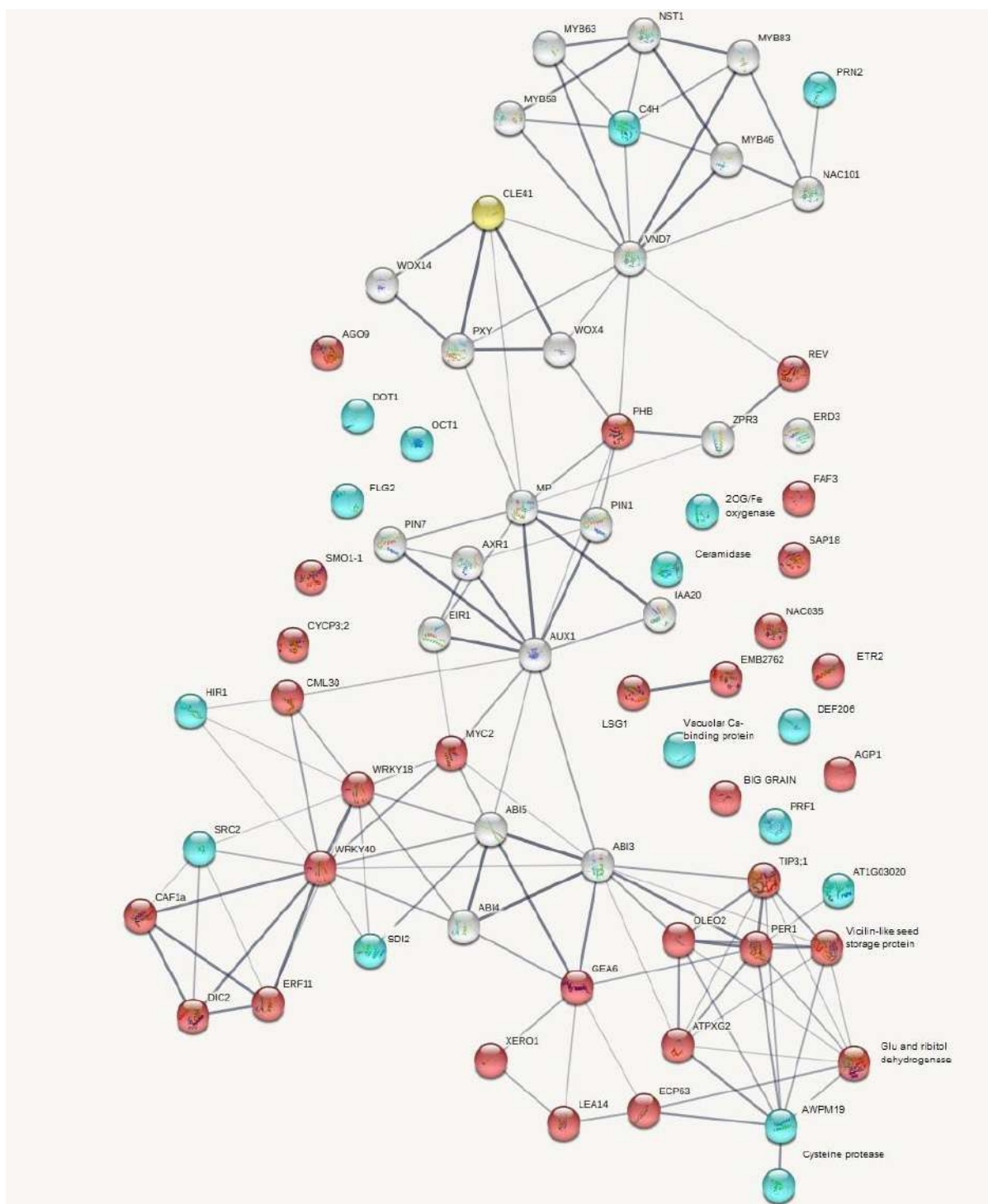


Рисунок 30. Схема, отражающая изменения уровней экспрессии генов-мишеней *RsCLE41-1* у растений со сверхэкспрессией *RsCLE41-1*. Красным цветом выделены гены-мишени, повышающие уровни экспрессии при *RsCLE41oe*. Синим цветом выделены гены, снижающие уровни экспрессии при *RsCLE41oe*. Белым цветом выделены другие участники сигнальной сети. Желтым цветом выделен ген *RsCLE41-1*. Линиями показаны белок-белковые взаимодействия, предсказанные для белковых продуктов данных генов. Схема построена с помощью программы String (<https://string-db.org/>).

Среди всех генов нас заинтересовали участники спецификации ксилемы, так как большое количество генов из этой группы продемонстрировали дифференциальную экспрессию. Данные по генам, снижающим уровни своей экспрессии, оказались ожидаемыми, так как *RsCLE41*, как известно, подавляет дифференцировку сосудов. Так, среди генов со сниженным уровнем экспрессии преобладали стресс-регулируемые гены, в особенности гены ответа на патогены (*RsDEFL206*, *RsHIR1*), а также некоторые гены, связанные с детерминацией клеток ксилемы (*RsC4H*, *RsPRN2*) и защитой от засухи (*RsRDL5*, *RsDOT1*). Среди генов, повышающих уровни экспрессии, в основном были выявлены гены устойчивости к дегидратации: связанные с поздним эмбриогенезом, ответом на АБК и ауксин-зависимой судьбой клеток ксилемы. Мы предполагаем, что такой неожиданный результат связан с тем, что сверхэкспрессия *RsCLE41* приводит к изменению программы спецификации сосудов, следствием чего является дегидратация.

Таким образом, на основе полученных данных нами были сделано предположение о том, что, вероятно, сверхэкспрессия *RsCLE41-1* приводит к активации путей, помогающих растениям повысить свою устойчивость к засухе (Kuznetsova et al., 2022). Эти пути более характерны для позднего эмбриогенеза, однако, как мы предполагаем, в условиях сверхэкспрессии *RsCLE41-1* они могут активироваться также – в частности, за счет снижения уровней экспрессии генов, регулирующих программу развития сосудов.

Среди полученного нами списка генов, дифференциально экспрессирующихся в корнях растений со сверхэкспрессией *RsCLE41-1*, не было выявлено *WOX4* и *WOX14*, известных мишеней TDIF. Возможно, это связано с тем, что у редиса, в отличие от арабидопсиса, действуют другие пути их регуляции, однако это всего лишь предположение. Кроме того, вероятно, сигнальные пути в разных частях растения могут быть направлены на разные мишени. Полученные нами транскриптомные данные отражают изменения экспрессии генов в корнях со сверхэкспрессией *RsCLE41-1* в ходе первичного роста. Возможно, у растений, находящихся на стадии развития, при которой происходит вторичный рост, сигналинг происходит по-другому.

3.3.2. Изучение влияния сверхэкспрессии *RsWOX4* и *RsWOX14* на развитие корня редиса

Полученные в ходе решения предыдущих задач данные позволили перейти к исследованию влияния сверхэкспрессии мишени *RsCLE41* - *RsWOX4*, а также его партнера *RsWOX14*, на развитие корня. Известно, что у арабидопсис ген *AtWOX4* является центральным позитивным регулятором пролиферации клеток камбия (Wang et al., 2020a; Fisher et al., 2019), следовательно, его гомологи у редиса могут влиять на развитие запасающего корня, формирующегося под влиянием активности этой меристемы.

По литературным данным (Ji et al., 2010), сверхэкспрессия *AtWOX4* приводит к избыточной активности камбия и пролиферации ксилемы и флоэмы. В наших экспериментах мы ожидали увидеть на редисе схожие результаты, которые могут привести к усилению вторичного роста корня.

Для проверки этого предположения мы трансформировали проростки редиса штаммами *A. rhizogenes*, несущими генетические конструкции со сверхэкспрессией гена *RsWOX4-2* и со сверхэкспрессией гена *RsWOX14*, и проанализировали гистологическое строение корней соответствующих композитных растений.

У растений со сверхэкспрессией *RsWOX4-2*, в отличие от контрольных растений со сверхэкспрессией *GUS* (рисунок 31), в корнях можно было наблюдать измененное строение стелы - комплекса тканей, лежащих внутри осевых органов сосудистых растений, под первичной корой: она триархная (состоящая из трех лучей первичной ксилемы), а не диархная (состоящая из двух лучей), как у контрольных растений, то есть у нее увеличено число полюсов первичной ксилемы. Также у растений со сверхэкспрессией *RsWOX4-2* было отмечено увеличение количества сосудов, что, вероятно, свидетельствует о повышенной активности камбия и появлении большего числа проводящих элементов (Kuznetsova et al., 2024b). Этот эффект является ожидаемым и хорошо соотносится с данными по сверхэкспрессии *WOX4* у других растений (Kucukoglu et al., 2017; Wang et al., 2020a).

Изменение пространственной структуры стелы является довольно неожиданным эффектом и может свидетельствовать о том, что от активности *WOX4* первоначально зависит закладка и пространственная ориентация прокамбия и проваскулярных тканей в формирующемся корне первичного строения.

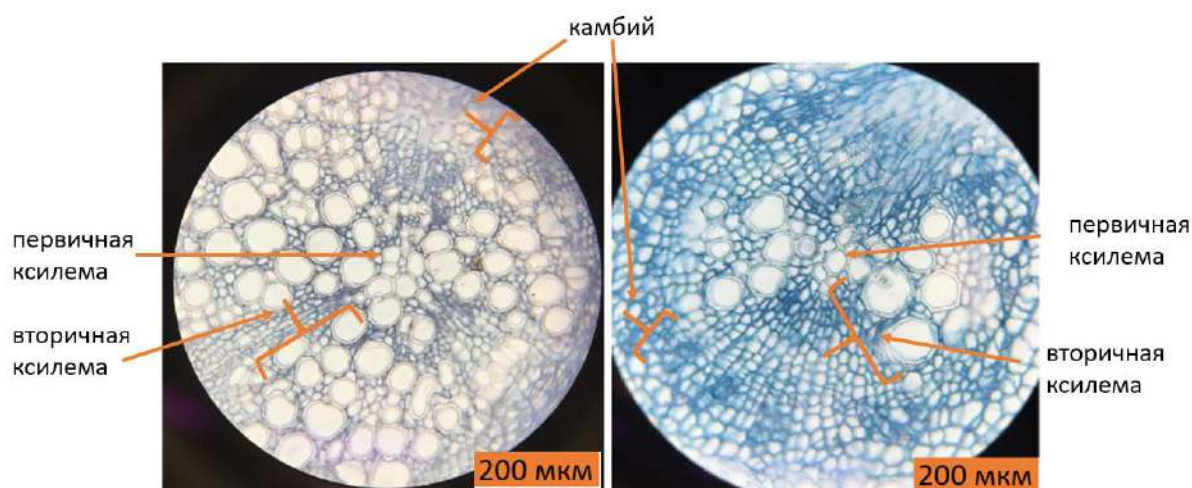


Рисунок 31. Влияние сверхэкспрессии гена *RsWOX4* на развитие корня (слева - срез корня со сверхэкспрессией *RsWOX4*, стела триархная; справа - со сверхэкспрессией *GUSoe* (контроль), стела диархная).

ТФ *WOX14* является предполагаемым партнером и “дублером” *WOX4* (Etchells et al., 2013), поэтому при сверхэкспрессии *RsWOX14* мы ожидали увидеть сходные со сверхэкспрессией *RsWOX4* эффекты на развитие корня. Кроме того, *WOX14*, в отличие от *WOX4*, способствует дифференцировке и лигнификации сосудистых клеток в стеблях соцветий арабидопсиса (Denis et al., 2017), следовательно, повышение уровня его экспрессии у редиса могло способствовать увеличению количества лигнифицированных элементов ксилемы.

На рисунке 32 представлены срезы корней со сверхэкспрессией *RsWOX14*. Здесь мы наблюдали эффект, сходный с эффектом сверхэкспрессии *RsWOX4*: нарушение общего строения проводящей системы и формирование триархной стелы вместо диархной. В то же время, столь сильного увеличения количества сосудов в корнях растений со сверхэкспрессией *RsWOX14* не наблюдалось (рисунки 32, 33; Kuznetsova et al., 2024b), что свидетельствует о том, что именно *RsWOX4* является центральным регулятором активности камбия.

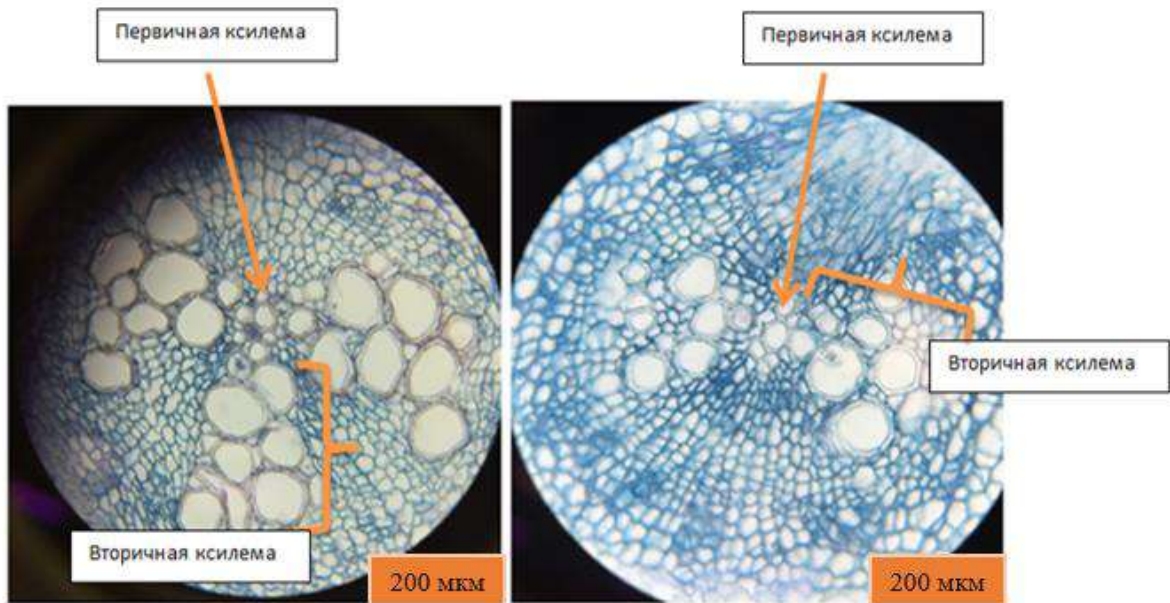


Рисунок 32. Поперечный срез корней редиса со сверхэкспрессией гена *RsWOX14* (слева) и контроль (справа).

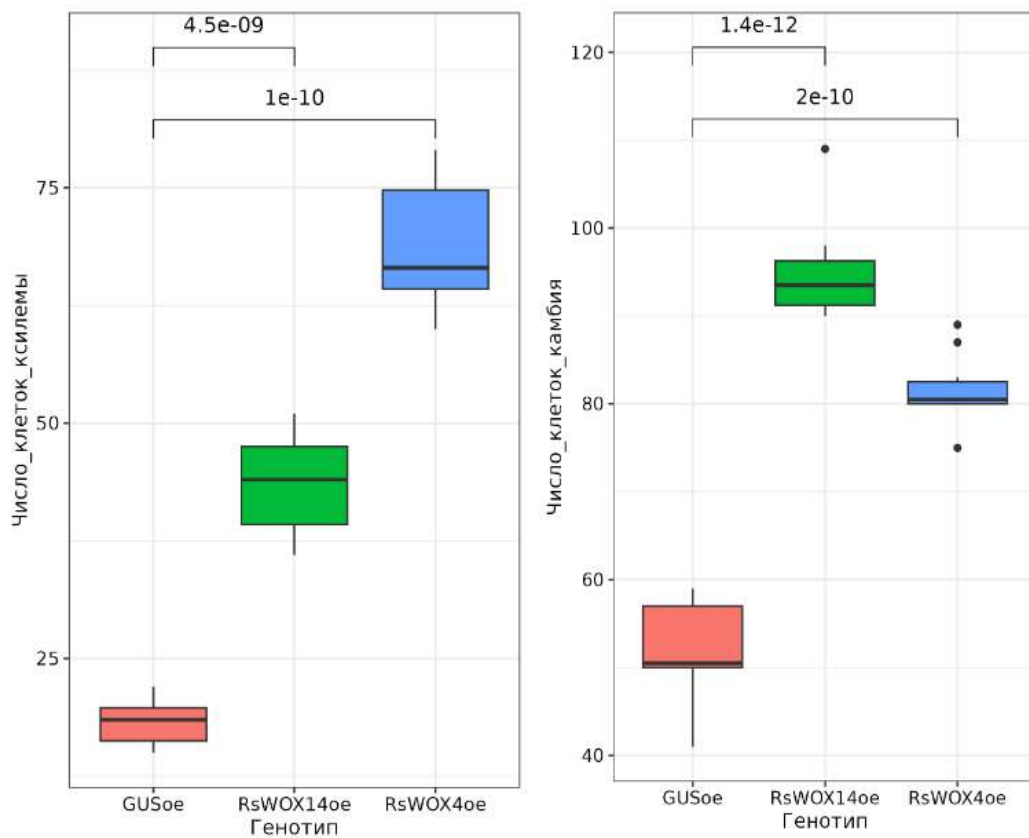


Рисунок 33. Влияние сверхэкспрессии генов *RsWOX4* и *RsWOX14* на количество клеток разных типов в стеле корня. В качестве контроля использовались трансгенные растения со сверхэкспрессией репортерного гена глюкуронидазы (*GUS*). Подсчет клеток проводился в секторе среза корня размером 200×200 мкм. Уровень значимости оценивали с помощью t-критерия Стьюдента.

У растений со сверхэкспрессией генов *RsWOX4-2* и *RsWOX14*, согласно полученным нами данным, наблюдалось увеличение клеток камбия: отмечалось большее число слоев клеток камбия и более мелкий их размер, что, вероятно, связано с усиленной пролиферацией камбия (см. рисунки 33, 34; Kuznetsova et al., 2024b).

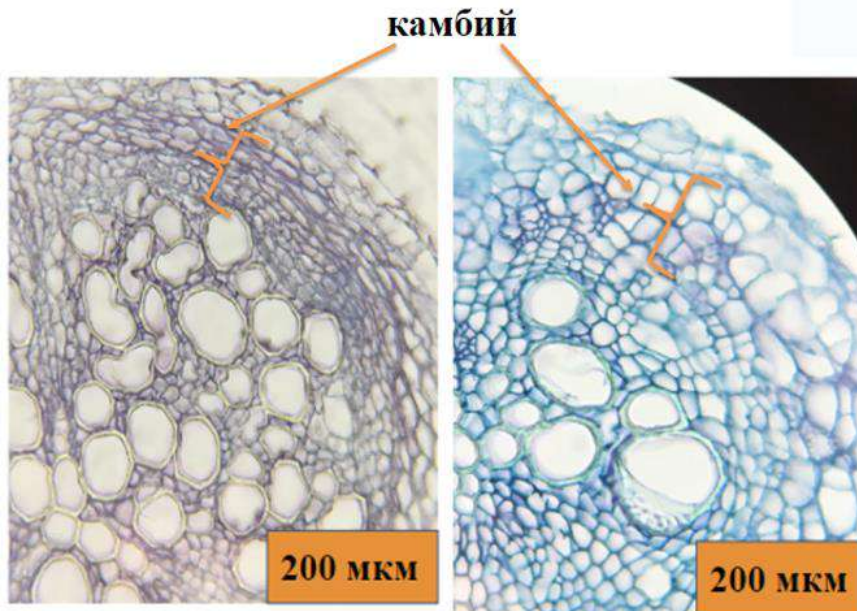


Рисунок 34. Сектор корня со сверхэкспрессией *RsWOX14* (слева) и *GUS* (контроль; справа).

Таким образом, у растений со сверхэкспрессией *RsWOX4* и *RsWOX14* мы выявили сходные эффекты: нарушение радиального паттерна тканей и увеличение количества сосудов. Полученные нами данные соотносятся с данными по сверхэкспрессии этих генов у других растений.

3.4. Поиск мишеней транскрипционных факторов RsWOX4 и RsWOX14

3.4.1. Поиск возможных мишеней ТФ RsWOX4 и RsWOX14 *in silico*

На сегодняшний день не было достоверно подтверждено связывание ТФ WOX4 или WOX14 с промоторами каких-либо генов-мишеней, и мы в данной работе решили провести поиск таких мишеней. В литературе имеются данные по мишеням WUS и WOX5, на основе которых были получена информация о консервативных сайтах связывания для всех ТФ WOX. Известными мишенями WUS и WOX5 являются:

- 1) гены биосинтеза ЦК (*IPT*, *LOG*) (Guo et al., 2010; Tokunaga et al., 2012);
- 2) гены ответа на ЦК (*ARR-A*) (Leibfried et al., 2005);
- 3) гены циклинов (*CYCD*) (Randall et al., 2015);
- 4) гены, контролирующие развитие камбия и проводящей системы (*HD-ZIPIII*, *ANT*, *PEAR*) (Smetana et al., 2019, Miyashima et al., 2019);
- 5) гены, кодирующие пептиды CLE (Schoof et al., 2000);
- 6) гены других ТФ, например, регулятор дифференцировки колумеллы *CDF4* (Pi et al., 2015).

Согласно литературным данным, у других растительных объектов, в частности, у деревьев, у которых тоже усилен вторичный рост, сверхэкспрессия *WOX4* влияла на уровни экспрессии генов сигналинга фитогормонов (*ARF2*, *ARF3*, *ARF7* и *ARF18*); ТФ, работающих в корне (*WOX5*, *LBD29* и *SCR*), а также генов *CYCD3*, *GRF1* и *TAA1*, ассоциированных с делением клеток, развитием корня и биосинтезом ИУК, соответственно (Wang et al., 2020a).

С помощью инструмента для предсказания взаимодействий *in silico* (STRING, <https://string-db.org/>) были построены генные сети, отражающие вероятные взаимодействия ТФ WOX4 и ТФ WOX14 с другими регуляторами активности камбия у арабидопсис (рисунки 35, 36; Kuznetsova et al., 2024b).

При исследовании литературных источников мы составили список генов-кандидатов и проверили наличие последовательностей для связывания ТФ WOX4 в промоторах этих генов. Всего мы выявили несколько вариантов таких последовательностей: ТААТ[G/C][G/C] (Lohmann et al., 2001); TCACGTGA (Busch et al., 2010). Среди кандидатов, содержащих подобные сайты в промоторах недалеко от

старт-кодона, были выделены следующие гены: *RsCLE41*, *RsCLE42*, *RsCLE22*, *RsHAM4*, *RsLOG3*, *RsLOG6*, *RsRR18*, *RsIAA28*, *RsYUC7*. В промоторах этих генов могут быть сайты связывания ТФ WOX4.

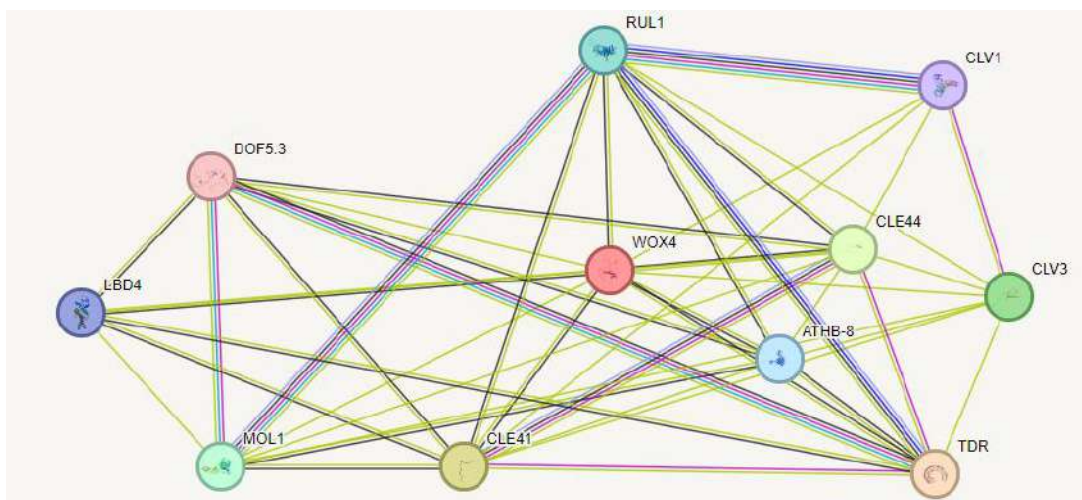


Рисунок 35. Предсказанные взаимодействия между WOX4 и его предполагаемыми мишенями, построенные с использованием программы STRING (<https://string-db.org/>). Линии разных цветов указывают на разные типы белок-белковых взаимодействий, предсказанных для белковых продуктов данных генов: цвет морской волны – известные взаимодействия на основе информации из баз данных; малиновый – известные экспериментально подтвержденные взаимодействия; зеленый – предсказанные взаимодействия между генами-соседями (gene neighborhood); красный – предсказанные взаимодействия на основе изучения слияния генов; синий – предсказанные взаимодействия на основе изучения совпадения генов (gene co-occurrence); светло-зеленый – другие типы взаимодействий, выявленные на основе интеллектуального анализа текста (textmining); черный – другие типы взаимодействий, выявленные с помощью ко-экспрессии; светло-фиолетовый – другие типы взаимодействий, выявленные на основе гомологии белков. Кружки разных цветов указывают на разные белковые продукты генов, в центре кружков помещена структура соответствующих белков.

Вероятными обнаруженными методом *in silico* мишенями ТФ WOX14 (рисунок 36) являются следующие гены:

1) *DOF5.3* – кодирует ТФ с доменом «цинковые пальцы» и специфически связывается с консенсусной последовательностью 5'-AA[AG]G-3' генов, способствующих радиальному росту ситовидных элементов протофлоэмы (Miyashima et al., 2019).

2) *LBD4*, контролирующей гистогенез флоэмы или ксилемы; наряду с другими *LBD* регулирует радиальный рост, контролируя размер клеток и деление клеток в камбии (Smit et al., 2020; Ye et al., 2021; Turley and Etchells, 2022).

3) *CLE41*, *CLE42*, *CLE44* - представители TDIF-пептидов с идентичной последовательностью, подавляют дифференцировку ствольных клеток растений (Etchells and Turner, 2010).

4) *CLV3* — один из трех генов *CLAVATA*, регулирующих размер АМП у арабидопсиса. Действует в паре с рецепторной киназой *CLAVATA1* (*CLV1*), контролируя баланс пролиферации/дифференцировки меристематических клеток. Регулирует развитие меристем побега и цветка (Fletcher et al., 1999; Fiers et al., 2005).

5) *PXY/TDR* - кодирует рецептороподобную протеинкиназу с лейцин-богатыми повторами. Действует вместе с пептидами *CLE41* и *CLE44* в качестве пары лиганд-рецептор в пути передачи сигнала, участвующем в регуляции поддержания и полярности прокамбия во время развития сосудистых тканей. Опосредует репрессию дифференцировки сосудистых элементов и способствует образованию клеток прокамбия и полярному делению, приводящему к формированию клеток флоэмы в листовых жилках (Fisher and Turner, 2007; Hirakawa et al., 2008).

6) *MOL1* и *RUL1* - кодируют протеинкиназы с лейцин-богатыми повторами – вероятные регуляторы развития камбия (Gursansky et al., 2016).

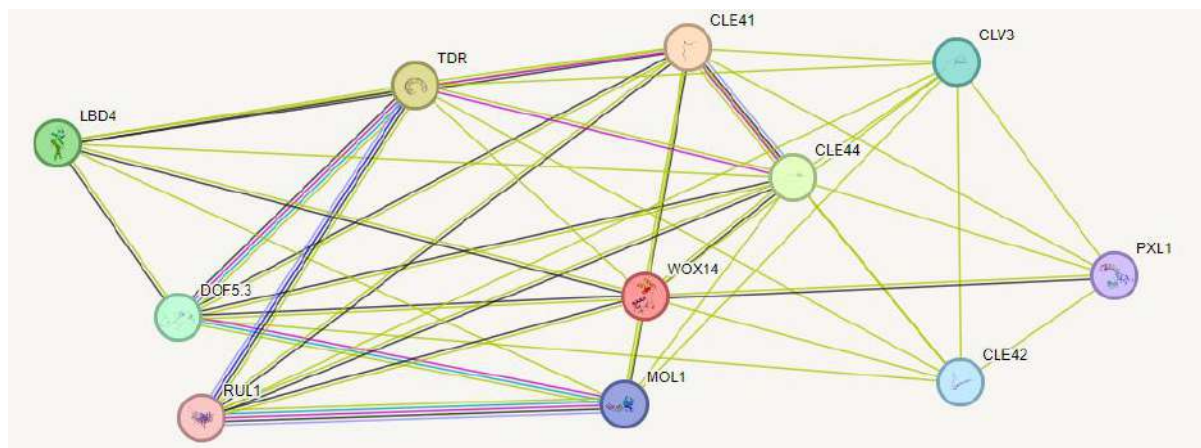


Рисунок 36. Генная сеть, отражающая взаимодействия между *WOX14* и его предсказанными мишенями, построенная с использованием программы STRING (<https://string-db.org/>). Описание совпадает с описанием рисунка 35.

Таким образом, важной частью работы является поиск мишеней ТФ *WOX4* среди предполагаемых генов-кандидатов, что было проведено нами с помощью ПЦР-РВ и дрожжевой одногибридной системы.

3.4.2. Количественный анализ экспрессии генов-кандидатов в норме, при сверхэкспрессии и при сайленсинге гена *RsWOX4-2*

Мишени ТФ *WOX4*, основного регулятора камбия, на данный момент неизвестны. Для проверки данных о мишенях *WOX4*, полученных *in silico*, мы количественный анализ уровней экспрессии генов - предполагаемых мишеней ТФ *RsWOX4*. Мы оценивали уровни экспрессии *RsWOX4-2* и его предполагаемых мишеней в корнях композитных растений со сверхэкспрессией и сайленсингом этого гена по сравнению с контрольными корнями, несущими конструкции со сверхэкспрессией *GUS*, методом ПЦР-РВ.

Была проанализирована экспрессия следующих генов:

- 1) Гены *WOX*: *RsWOX5*, *RsWOX9*, *RsWOX11*, *RsWOX12*, *RsWOX14*;
- 2) Гены *CLE*: *RsCLE41*, *RsCLE42*, *RsCLE12*, *RsCLE22*, *RsCLE2*;
- 3) Гены, кодирующие другие ТФ, участвующие в регуляции развития камбия: *RsHAM4*, *RsCYCD3-1*, *RsREV*, *RsHB8*;
- 4) Гены биосинтеза ЦК: *RsIPT1*, *RsIPT3-1*, *RsIPT3-3*, *RsIPT5*, *RsIPT7*, *RsIPT8*, *RsLOG1*, *RsLOG2*, *RsLOG3*, *RsLOG4*, *RsLOG5*, *RsLOG6*, *RsLOG8*;
- 5) Гены ответа на ЦК: *RsRR3*, *RsRR7*, *RsRR18*;
- 6) Гены ответа на ИУК: *RsIAA7*, *RsIAA28*;
- 7) Гены биосинтеза ИУК: *RsYUC1*, *RsYUC3*, *RsYUC4*, *RsYUC5*, *RsYUC7*, *RsYUC9*.

В результате были выявлены гены, уровни экспрессии которых при сверхэкспрессии и сайленсинге *RsWOX4-2* менялись «зеркально»: *RsCLE41*, *RsCLE42*, *RsYUC7*, *RsLOG3*, *RsRR18* (рисунок 37). Эти гены были выбраны нами в качестве кандидатов для дальнейших исследований. Кроме того, мы показали, что экспрессия ряда генов, в том числе *RsHAM4* и *RsIAA28*, повышалась при сверхэкспрессии *RsWOX4-2* и не менялась при его сайленсинге (Kuznetsova et al., 2024b).

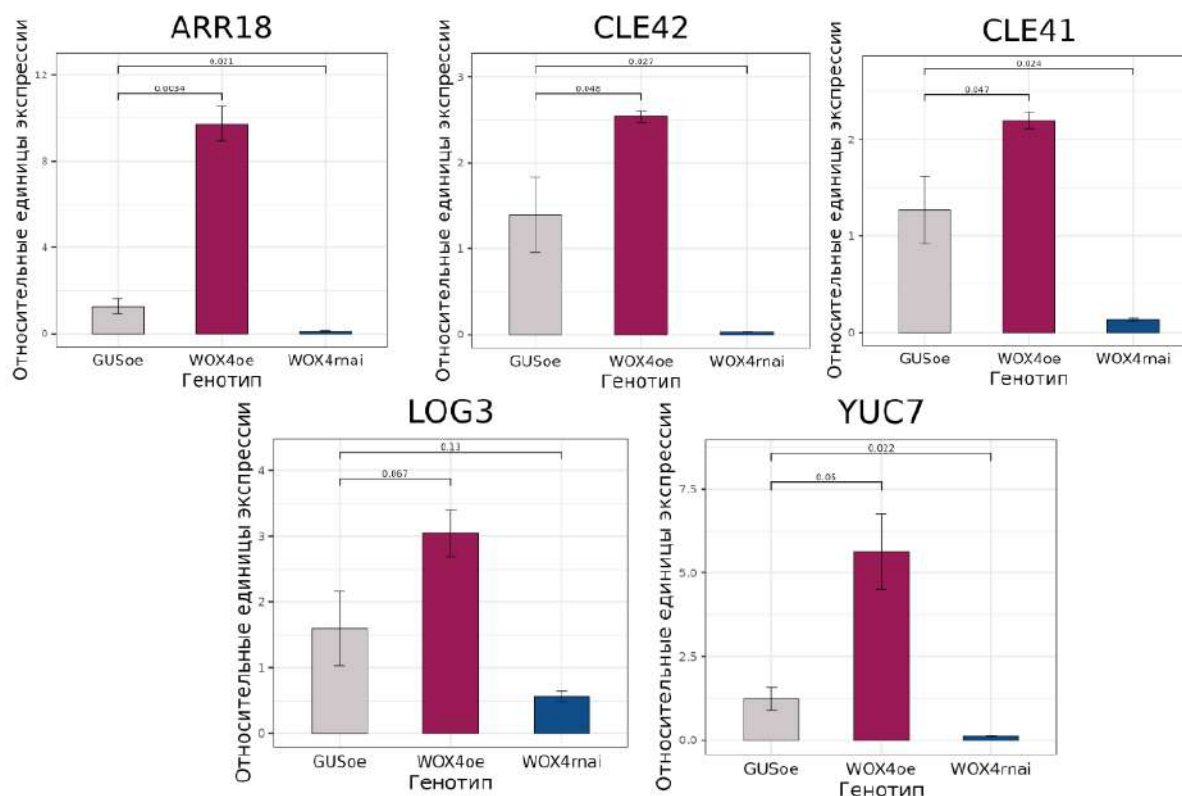


Рисунок 37. Изменения уровней экспрессии генов-кандидатов при сверхэкспрессии (малиновый цвет столбцов) и при сайленсинге (синий цвет столбцов) гена *RsWOX4* по сравнению с контролем - растениями со сверхэкспрессией гена *GUS*. Эксперимент проводился в трехкратной биологической повторности. Планки погрешности означают ошибку среднего. Уровень значимости оценивали с помощью t-критерия Стьюдента.

По литературным данным о функциях гомологов выявленных генов у арабидопсис, эти гены у редиса могут участвовать в контроле активности камбия. В частности, гомологи генов *RsCLE41*, *RsCLE42* кодируют сигнальные пептиды TDIF - регуляторы активности камбия (Ito et al., 2006), а гомолог гена *RsHAM4* – партнер и кофактор ТФ *WOX4* (Zhou et al., 2015). Гомологи генов *RsYUC7*, *RsLOG3*, *RsRR18*, *RsIAA28* кодируют, соответственно, ген биосинтеза ИУК (Won et al., 2011; Lee et al., 2012), ген биосинтеза ЦК (Kuroha et al., 2009), ингибитор передачи сигнала ЦК (Mason et al., 2004), ингибитор передачи сигнала BER (Liscum and Reed, 2002).

3.4.3. Анализ взаимодействия гомеодомена ТФ *RsWOX4* с промоторами генов-кандидатов с помощью дрожжевой одногибридной системы

Для проверки данных о возможных мишенях *RsWOX4*, полученных на предыдущем этапе, мы изучили взаимодействие промоторных областей выбранных нами генов-кандидатов с гомеодоменом *RsWOX4* с помощью дрожжевой одногибридной системы. Метод дрожжевой одногибридной системы (Davies, 2013) состоит в проверке взаимодействия ТФ, к которому присоединен активирующий домен, с изучаемым промотором, под контролем которого находится промотор дрожжей и репортерный ген. В случае взаимодействия ТФ с ДНК активирующий домен связывается с промотором дрожжей и запускает экспрессию репортерного гена, в результате чего наблюдается рост дрожжей на селективной среде.

В данной работе были проверены взаимодействия между гомеодоменом и участками промоторов генов *RsCLE41*, *RsCLE42*, *RsYUC7*, *RsLOG3*, *RsRR18*, содержащих консервативные сайты связывания для ТФ *WOX* (Lohmann et al., 2001; Busch et al., 2010), представляющие собой варианты мотива TAATG/CG/C. Взаимодействие ТФ и участка промотора считалось подтвержденным, если дрожжи, трансформированные сочетанием плазмид, несущих гомеодомен *WOX4* и участки промоторов проверяемых генов-мишеней, растут более интенсивно, чем контроль, трансформированный пустыми плазмидами.

Предполагаемые гены-мишени *WOX4*, выявленные в предыдущем эксперименте по ПЦР в реальном времени, имеют разнообразные функции, связанные с контролем фитогормонального гомеостаза в тканях растений.

Ген *LONELY GUY3 (LOG3)* арабидопсис кодирует ЦК-активирующий фермент, участвующий в заключительном этапе биосинтеза ЦК, и представляет собой фосфорибогидролазу, которая превращает неактивные ЦК в биологически активные формы в виде свободных оснований (Kuroha et al., 2009). Известно, что его экспрессия в молодых клетках ксилемы напрямую регулируется *TMO5* и *LHW*, которые, в свою очередь, являются мишенью гена *MP*, регулирующего, в том числе, и ТФ *WOX4* (Ohashi-Ito et al., 2013, Brackmann et al., 2018). Прямого взаимодействия между *WOX4* и *LOG3* в литературе показано не было, однако в наших экспериментах по количественному анализу генов со сверхэкспрессией *RsWOX4* ген *RsLOG3* показывал

статистически значимое увеличение уровня своей экспрессии, поэтому стал кандидатом на роль вероятной прямой мишени ТФ *WOX4*.

Ген *AtYUC7*, кодирующий индол-3-пируват-монооксигеназу, участвует в биосинтезе ауксина, а также в эмбриогенезе и развитии проростков. Необходим для формирования органов цветка и тканей сосудов. Он принадлежит к набору избыточных генов *YUCCA*, ответственных за биосинтез ауксинов в побегах. Также *AtYUC7* индуцируется в ответ на засуху (Won et al., 2011; Lee et al., 2012). Кроме того, известно, что *YUC7* участвует в индукции биосинтеза ИУК в меристеме боковых корней при передаче сигнала от корцептора брассиностероидов *BAK1*, индуцирующегося в условиях низкой доступности азота (Jia et al., 2019, 2020, 2021).

Ген *ARR18* кодирует ТФ - регулятор ответа типа В (*ARR-B*), который активирует некоторые регуляторы ответа типа А (*ARR-A*), например, *ARR22-ARR24*, в ответ на ЦК.

Пептиды *CLE41* и *CLE42*, которые относятся к группе *TDIF* и регулируют экспрессию *WOX4*, представляют собой компоненты системы *WOX-CLAVATA*, контролирующей баланс камбия и дифференцированных клеток (Hirakawa et al., 2010). Между ними и ТФ *WOX4* в камбии предполагается наличие обратной связи, как между *WUS* и *CLV3* в побеге, где ТФ *WUS* активирует экспрессию гена *CLV3* (Schoof et al., 2000).

В результате эксперимента с дрожжевой одногибридной системой было показано наличие взаимодействия только между гомеодоменом *WOX4* и ТААТСС-сайтом в промоторе гена *RsLOG3* (рисунок 38), регулирующего последний этап биосинтеза свободных ЦК (рисунок 39). В то же время, для промоторов генов *RsCLE41*, *RsCLE42*, *RsYUC7* и *RsARR18* взаимодействия с гомеодоменом *WOX4* методом дрожжевой одногибридной системы показано не было (Kuznetsova et al., 2024b).

Взаимодействие	pRsLOG3_ TAATCC	pARR18_ TAATCC	pARR18_ TAATCG; TAATCC; TAATCC	Контроль 2 (пустой вектор HISLEU)	Контроль 3*	
HD_ RsWOX4						
Контроль 1 (пустой вектор pDEST22)					pDEST22 + pAtLHY (контроль) 	pHisLeu+ NAM (контроль)

Рисунок 38. Визуализация результатов оценки взаимодействий участков промоторов генов *RsLOG3* и *RsARR18* и гомеодомена *RsWOX4* с помощью дрожжевой одногибридной системы. Взаимодействие считается подтвержденным, если дрожжи, трансформированные сочетанием плазмид, растут лучше, чем контроли (дрожжи, трансформированные плазмидами без вставок анализируемых фрагментов ДНК). Эксперимент был проведен в 4 повторностях, на рисунке представлены репрезентативные варианты. Зеленым цветом выделено подтвердившееся взаимодействие. Колонии росли на средах с различной концентрацией 3-АТ, на серии фотографий показан рост колоний на среде с 10 мМ 3-АТ (максимальная концентрация для данного эксперимента). *В качестве контроля 3 (положительный контроль) использовались плазмиды pHisLeu-pAtLHY и pDEST22-NAM, содержащие участки промотора и ТФ, соответственно, которые, по литературным данным, взаимодействуют друг с другом (Lopato et al., 2006).

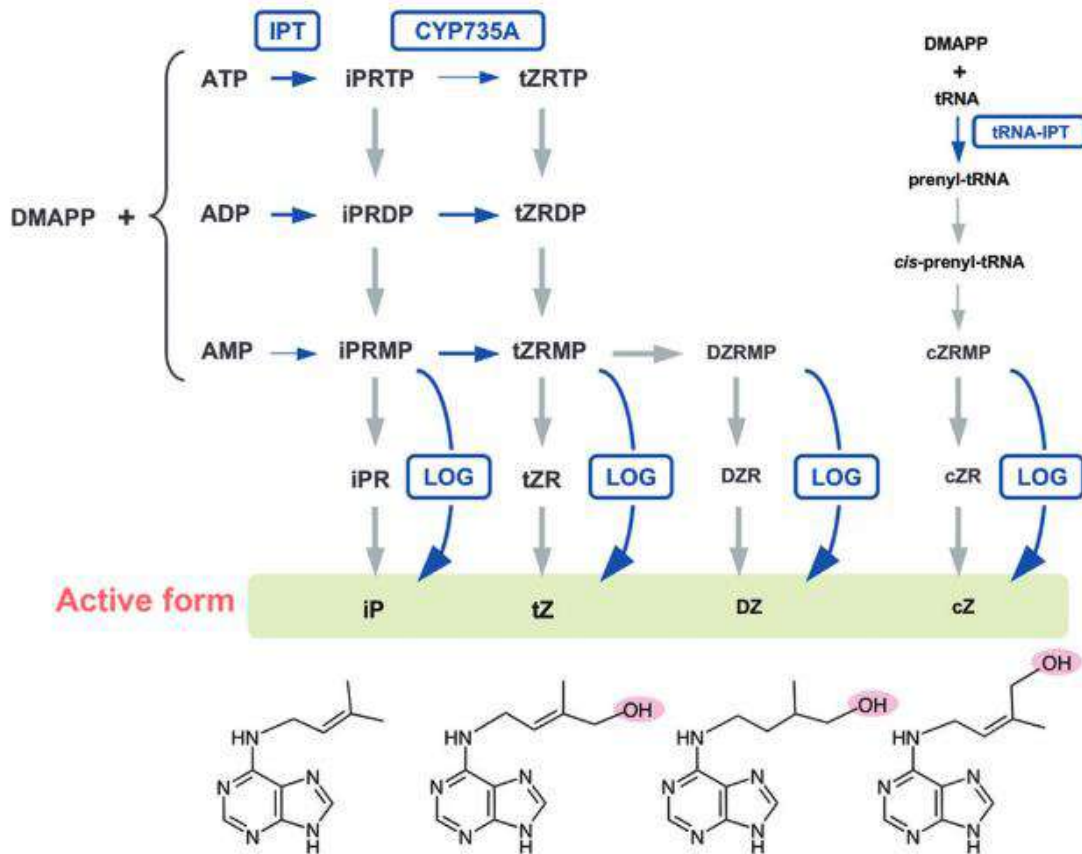


Рисунок 39. Регуляция биосинтеза цитокининов у растений (по Hirose, 2008).

Таким образом, мы впервые идентифицировали предполагаемую мишень ТФ *WOX4* среди генов биосинтеза ЦК. Известно, что ЦК играют роль в пролиферации клеток камбия: по литературным данным, потеря функции генов *IPT1*, *-3*, *-5* и *-7*, кодирующих изопентенилтрансферазу – фермент, действующий на первом этапе биосинтеза ЦК (до ферментов *LOG*), снижала активность камбия и утолщение корня (Matsumoto-Kitano et al., 2008). В работе Nieminen et al. (2008) также была показана важная роль ЦК в контроле активности камбия у тополя: гены, кодирующие рецепторы ЦК, преимущественно экспрессируются в делящихся камбиальных клетках стебля тополя. Известно также, что сверхэкспрессия гена *CYTOKININ OXIDASE*, кодирующего ЦК-деградирующий фермент, приводит к подавлению вторичного роста. Возможная роль гена *LOG3* в контроле активности камбия показана нами впервые.

3.5. Заключение: Идентификация регуляторов развития запасующего корня и спонтанных опухолей у редиса

При выполнении работы в рамках диссертации нами впервые было проведено секвенирование геномов двух инбредных линий генетической коллекции редиса, контрастных по способности к спонтанному опухолеобразованию. Между линиями был выявлен ряд различий, в том числе – связанных с потерей функций генов, которые могут быть вовлечены в регуляцию развития корня и/или активности меристем. Это первая масштабная работа по анализу геномов растений со спонтанным опухолеобразованием. Изучение влияния этих генов, выявленных в этом исследовании, на развитие корня и спонтанных опухолей поможет получить новые данные о механизмах контроля меристематической активности клеток у растений.

Была проделана работа по изучению роли компонентов «камбиальной» системы *WOX-CLAVATA* в развитии запасующего корня редиса. У редиса проведена идентификация, анализ расположения на хромосомах и анализ последовательностей генов, кодирующих компоненты систем *WOX-CLAVATA* – ТФ *WOX* и сигнальные пептиды *CLE*. Для отдельных представителей семейств генов *WOX* и *CLE* редиса, гомологи которых у арабидопсис являются ключевыми регуляторами развития камбия (то есть для *RsWOX4-2*, *RsWOX14* и *RsCLE41-1*), был проведен анализ эффектов сверхэкспрессии на развитие запасующего корня. Было выявлено влияние сверхэкспрессии *RsWOX4-2* и *RsWOX14* на формирование стелы корня редиса и

пролиферацию клеток камбия, что свидетельствует об их роли как возможных регуляторов развития запасяющего корня. С помощью ПЦР в реальном времени и транскриптомных исследований были получены данные о влиянии сверхэкспрессии *RsWOX4-2* и *RsCLE41-1* в корнях редиса на экспрессию целого ряда генов разных семейств, которые потенциально могут быть их прямыми мишенями «камбиальной» системы WOX-CLAVATA. Для ТФ *RsWOX4-2* также проведен поиск мишеней с помощью дрожжевой одногибридной системы, при этом выявлено связывание белка *RsWOX4-2* с промотором гена *RsLOG3*, регулирующего биосинтез ЦК. Это первые данные о прямой мишени ТФ WOX4, позволяющие установить связь между активностью системы WOX-CLAVATA и уровнем ЦК в камбии.

Наша работа позволила получить ряд новых данных относительно механизмов развития запасяющего корня (хозяйственно значимый признак), в частности связать систему WOX-CLAVATA, регулирующую активность камбия и вторичный рост корня, с ЦК (через прямую мишень ТФ WOX4 – ген *LOG3*). Проведенное нами секвенирование геномов опухолевой и безопухолевой линий редиса позволило выявить ряд различий, детальный анализ которых открывает возможность для выявления механизмов опухолеобразования у растений (признак, изучение которого важно для выявления ранее неизвестных системных регуляторов пролиферации клеток у растений).

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное нами исследование было посвящено изучению двух разных, хотя и взаимосвязанных, признаков развития корня у модельной корнеплодной культуры – редиса посевного: 1. Спонтанных опухолей на корне определенных инбредных линий редиса из генетической коллекции СПбГУ и 2. Запасающего корня у редиса.

При образовании запасяющих корней и опухолеобразовании могут быть использованы сходные механизмы, включающие в себя меристемные регуляторы, задействованные в контроле активности меристем. Согласно ранее полученным данным, в формировании запасяющего корня и опухолей редиса принимает участие одна и та же латеральная меристема – камбий (Lebedeva et al., 2015). Более того, в строении спонтанных опухолей у редиса выявлен ряд черт, характерных для меристем, - таких, как разграничение зон активной пролиферации клеток и зон их дифференцировки; максимумы концентрации ауксина, совпадающие с зонами экспрессии гена *RsWOX5* – регулятора апикальных меристем корня (Lebedeva et al., 2015); усиленная экспрессия генов клеточного цикла и меристем-специфичных генов (Лутова и др., 2008; Tkachenko et al., 2021a). С этой точки зрения опухоли представляют собой особый тип нерегулярных (факультативных) вторичных меристем, происходящих из камбия, и их можно считать аномалией вторичного роста и «обратной стороной» формирования запасяющего корня. Наличие в генетической коллекции СПбГУ многочисленных опухолевых линий редиса разного происхождения свидетельствует о том, что в селекционном процессе редиса могли отбираться формы с нарушением контроля пролиферации клеток корня, которое может приводить к усилению вторичного утолщения корня, а при наличии определенного генетического фона – к опухолеобразованию. Таким образом, изучение опухолевых форм может помочь в понимании направления селекции при создании корнеплодных культур (Бузовкина, Лутова, 2007).

Характерной чертой контроля развития растений является использование одних и тех же «блоков» взаимодействующих генов и их продуктов (так называемых регуляторных модулей) в разных программах развития (см. обзор Kuznetsova et al., 2023). Таким образом, ряд сходных механизмов может быть задействован в развитии спонтанных опухолей и запасяющего корня редиса. Одним из наиболее важных регуляторных модулей, играющих ключевую роль в контроле активности разнообразных меристем, является модуль *WOX-CLAVATA*, включающий в себя

пептидные фитогормоны CLE, их рецепторы и их мишени – гены, кодирующие ТФ WOX. В связи с этим, именно «камбиальным» компонентам модуля WOX-CLAVATA было уделено особое внимание в нашем исследовании.

Спонтанные опухоли растений развиваются без участия инфекционного агента или внешнего индуктора, за счет мутаций или эпигенетических изменений (Dodueva et al., 2021). Согласно литературным данным, изучение спонтанных опухолей растений позволило выявить ряд новых системных регуляторов деления клеток растений. Это важно, так как, несмотря на консервативность основных механизмов регуляции клеточного цикла, системный контроль клеток растений построен по иному принципу, чем у животных, в связи с чем спонтанные опухоли растений довольно редки (Doonan, Sablowski, 2010; Dodueva et al., 2021). Немалый прогресс в выявлении новых механизмов системного контроля деления клеток растений был достигнут при изучении многогенных опухолевых мутантов арабидопсис, у которых были идентифицированы гены, потеря функции которых приводит к опухолеобразованию у растений, – это ряд генов, связанных с формированием клеточной стенки и клеточной адгезией (Krupkova, Schmulling, 2009), контролем клеточного цикла (Bellec et al., 2002) или ремоделингом хроматина (Mao et al., 2006).

В генетической коллекции СПбГУ имеются инбредные линии редиса со спонтанным опухолеобразованием на корнеплоде (Бузовкина, Лутова, 2007), при скрещивании которых опухолеобразование ведет себя как моногенный рецессивный признак (Нарбут и др., 1995; Matveeva et al., 2004). Сравнительное изучение таких линий, как и изучение опухолевых мутантов арабидопсис, может быть использовано для выявления регуляторов спонтанного опухолеобразования и системного контроля деления клеток растений. Именно такие две контрастные родственные линии, одна из которых формирует опухоли, в отличие от другой, были взяты нами в анализ. На первом этапе наших исследований мы предполагаем единую природу опухолеобразования у разных опухолевых линий коллекции. По литературным данным, мутаций, приводящих к опухолеобразованию у растений, очень мало. В связи с этим нелогично предполагать, что несколько неаллельных мутаций с одинаковым опухолевым фенотипом находятся в одной коллекции СПбГУ, тогда как в других мировых коллекциях корнеплодных культур нет ни одной опухолевой формы. Поскольку природа этой мутации может быть различной – инсерция/делеция/однонуклеотидная замена в кодирующей или промоторной части

гена, - то поиск такого вероятного гена-кандидата является сложной задачей, которая вряд ли может быть решена в рамках одной кандидатской диссертации.

Транскриптомный анализ спонтанных опухолей редиса выявил активацию большого количества генов, действующих на всех этапах клеточного цикла (Tkachenko et al., 2021a), что предполагает наличие неизвестного вышележащего регулятора, который контролирует всю эту генную сеть. Таким образом, выявление генов, «нарушенных» у опухолевых линий, вероятно, позволит нам выявить такие регуляторы.

В данной работе нами впервые были осуществлены секвенирование и сборка геномов двух близкородственных линий генетической коллекции редиса СПбГУ, различающихся по способности к спонтанному опухолеобразованию, и проведен их сравнительный анализ, что относится к наиболее значимым результатам нашей работы. В результате у опухолевой линии было выявлено 72 гена с инсерциями или делециями (InDel) в их кодирующих областях, приводящими к сдвигу рамки считывания и, вероятно, синтезу нефункционального белкового продукта, а также 36 генов с однонуклеотидными заменами. Среди них оказался ряд важных регуляторных генов, действующих в разных программах развития растений. Мы проверили некоторые из них с помощью секвенирования ПЦР-фрагментов и подтвердили выявленные различия у шести из десяти проверенных генов. Изучаемые в работе линии разошлись на первом поколении инбридинга и отличаются по большому комплексу признаков. Таким образом, большое число выявленных различий по последовательностям генов открывает дальнейшие перспективы для исследований и для выяснения того, какие гены играют роль в опухолеобразовании, а какие ассоциированы с другими признаками.

Помимо поиска новых регуляторов системного контроля деления клеток, секвенирование используемых нами в работе линий редиса позволило осуществить хромосомную локализацию и анализ последовательностей генов, кодирующих компоненты систем WOX-CLAVATA, которые представляют для нас особый интерес. Всего в геноме у редиса выявлено 24 гена WOX (из них 3 – *RsWOX4-1*, *RsWOX4-2* и *RsWOX14* - являются гомологами камбиальных регуляторов, выявленных у других видов растений) и 52 гена *CLE* (из них 3 кодируют пептиды группы TDIF, регулирующие активность камбия). Хромосомная локализация генов исследуемых семейств, проведенная на основе полученных сборок геномов исследуемых линий, открывает перспективы для работ в области изучения генов, влияющих на развитие

камбия и проводящей системы, а также в изучении генов, контролирующих хозяйственно-важные признаки. В перспективе эти данные могут использоваться для генетического анализа и отбора генотипов редиса с новым сочетанием признаков.

Поскольку различия опухолевой и безопухолевой линий были выявлены по последовательностям большого количества регуляторных генов, предположительно задействованных в контроле активности меристем и развития корня, то круг поисков кандидатов на роль новых растительных «онкогенов» является довольно широким. Для его сужения требуются дальнейшие исследования с привлечением совместного анализа наследования выявленных молекулярных признаков с морфологическими нарушениями, а также расположения данных признаков на генетических картах.

Только генетический анализ совместного наследования с опухолеобразованием поможет выявить взаимосвязь этого признака с выявленными нами нуклеотидными различиями в генах с инсерциями/делециями и однонуклеотидными заменами. Таким образом, данная работа открывает новый пласт исследований в этой области, включающих как установление связи молекулярных отличий с размером корнеплода, так и установление отличий, связанных с опухолеобразованием. Особый интерес для дальнейших работ представляют близкородственные линии 19, 20 и 21, являющиеся перспективными для скрещиваний с линией 18 и последующего генетического анализа. Многие вопросы, изучение которых было начато в данной работе при секвенировании отдельных линий генетической коллекции редиса, требуют дальнейших исследований. В частности, перспективными являются аспекты, связанные с секвенированием других линий коллекции и выявлением генов-кандидатов, участвующих в других процессах, определяющих такие аномалии развития, как изгибы стебля, прорастание семян в стручке, израстание завязи, дефицит хлорофилла, карликовость.

Следующий блок задач нашей работы - изучение генетических механизмов, лежащих в основе развития запасяющего корня редиса. Эта работа имеет как практическое значение в связи с важным вкладом корнеплодных сельскохозяйственных культур в питание человека и животных, так и теоретическое значение - в отношении получения новых данных о механизмах регуляции латеральных и нерегулярных меристем корня.

В качестве объекта исследования были использованы инбредные линии из генетической коллекции редиса посевного (*R. sativus* var. *radicula* Pers.), созданной на кафедре генетики и биотехнологии СПбГУ. Редис является удобным модельным

объектом для изучения развития запасающего корня, поскольку обладает коротким жизненным циклом и тесным родством с *A. thaliana*. Кроме того, согласно имеющимся данным (Hoang et al., 2020), разные виды растений с запасающим корнем характеризуются изменением экспрессии одних и тех же регуляторных генов в ходе роста корнеплода, таким образом, данные, выявленные на редисе, могут быть использованы для селекции других корнеплодных культур.

В основе развития запасающего корня лежит активность латеральной меристемы камбия, которая зависит от работы определенных групп ТФ, баланса фитогормонов (главным образом – ИУК и ЦК) и функционирования камбиальной системы WOX-CLAVATA. Системы WOX-CLAVATA, которые включают в себя пептидные гормоны CLE, их рецепторы и их мишени - гены, кодирующие гомеодомен-содержащие ТФ WOX, представляют собой высоко консервативный регуляторный модуль, контролирующий поддержание стволовых клеток и различных меристемах (Kuznetsova et al., 2023).

Вместе с тем, исследования функций модуля WOX-CLAVATA в развитии запасающего корня в настоящее время находятся на начальном этапе. Ранее исследователями кафедры генетики СПбГУ были получены данные о ключевой роли пептида CLE41 в утолщении запасающего корня редиса (Gancheva et al., 2016; Ганчева и др., 2018). В данной работе эти исследования были продолжены. Среди основных результатов нашей работы следует отметить: 1) Выявление широкого круга мишеней RsCLE41 с помощью транскриптомного анализа корней со сверхэкспрессией соответствующего гена; 2) Изучение влияния ТФ-регуляторов камбия WOX4 и WOX14 на развитие корня редиса; 3) Выявление вероятных прямых мишеней ТФ WOX4, который является центральным регулятором активности камбия, с помощью дрожжевой одногибридной системы.

Полученные нами данных о новых мишенях сигнального пептида CLE41 среди генов, регулирующих лигнификацию сосудов и ответ на засуху, оказались довольно неожиданные – так, среди предполагаемых мишеней были выявлены гены, кодирующие LEA-белки, отвечающие за защиту клеток от дегидратации (Kuznetsova et al., 2022).

Было также показано, что сверхэкспрессия WOX4 и WOX14 изменяет структуру стелы корня редиса и вызывает увеличение слоев клеток камбия и число полюсов первичной ксилемы, что может способствовать усилению вторичного роста корня. В нашем эксперименте, однако, "традиционные" мишени TDIF, такие как WOX4 и

WOX14 (Etchells et al., 2013), не были идентифицированы как дифференциально экспрессирующиеся гены: их уровни экспрессии статистически значимо не менялись в корнях редиса со сверхэкспрессией *RsCLE41* по сравнению с контролем. Этот результат может объясняться предположением, что сигнальные пути в разных частях растения могут быть направлены на разные мишени, а также стадией развития растений, на которой проводился транскриптомный анализ.

Наконец, впервые была выявлена вероятная прямая мишень ТФ WOX4: показано, что этот важнейший ТФ - регулятор камбия - связывается с определенным участком промотора гена *RsLOG3*. Продуктом этого гена является фермент из группы фосфорибогидролаз, действующий на последнем этапе биосинтеза ЦК и высвобождающий активные ЦК из неактивных транспортных форм (Kuroha et al., 2009). Гомологи этого гена, согласно литературным данным (Ohashi-Ito et al., 2013, Brackmann et al., 2018), экспрессируются в ксилеме; о его роли в развитии камбия данных нет. ЦК важны для регуляции активности камбия (Brackmann et al., 2018) и утолщения запасяющего корня, в том числе у редиса (Jang et al., 2015); таким образом, именно путь WOX4-LOG3 может быть важен для ЦК-зависимой регуляции роста запасяющего корня.

Итак, в данной работе мы выявили гены-кандидаты на участие в процессах, связанных с особенностями развития корня редиса – вторичным ростом, приводящим к развитию запасяющего корня, и аномальной меристематической активностью, приводящей к спонтанному опухолеобразованию. Мы исследовали функции некоторых из них, в том числе - представляющих для нас особый интерес генов системы WOX-CLAVATA. Предполагаемая схема взаимодействия системы WOX-CLAVATA с другими регуляторами в запасяющем корне редиса, построенная на основе полученных нами и литературных данных, представлена на рисунке 40.

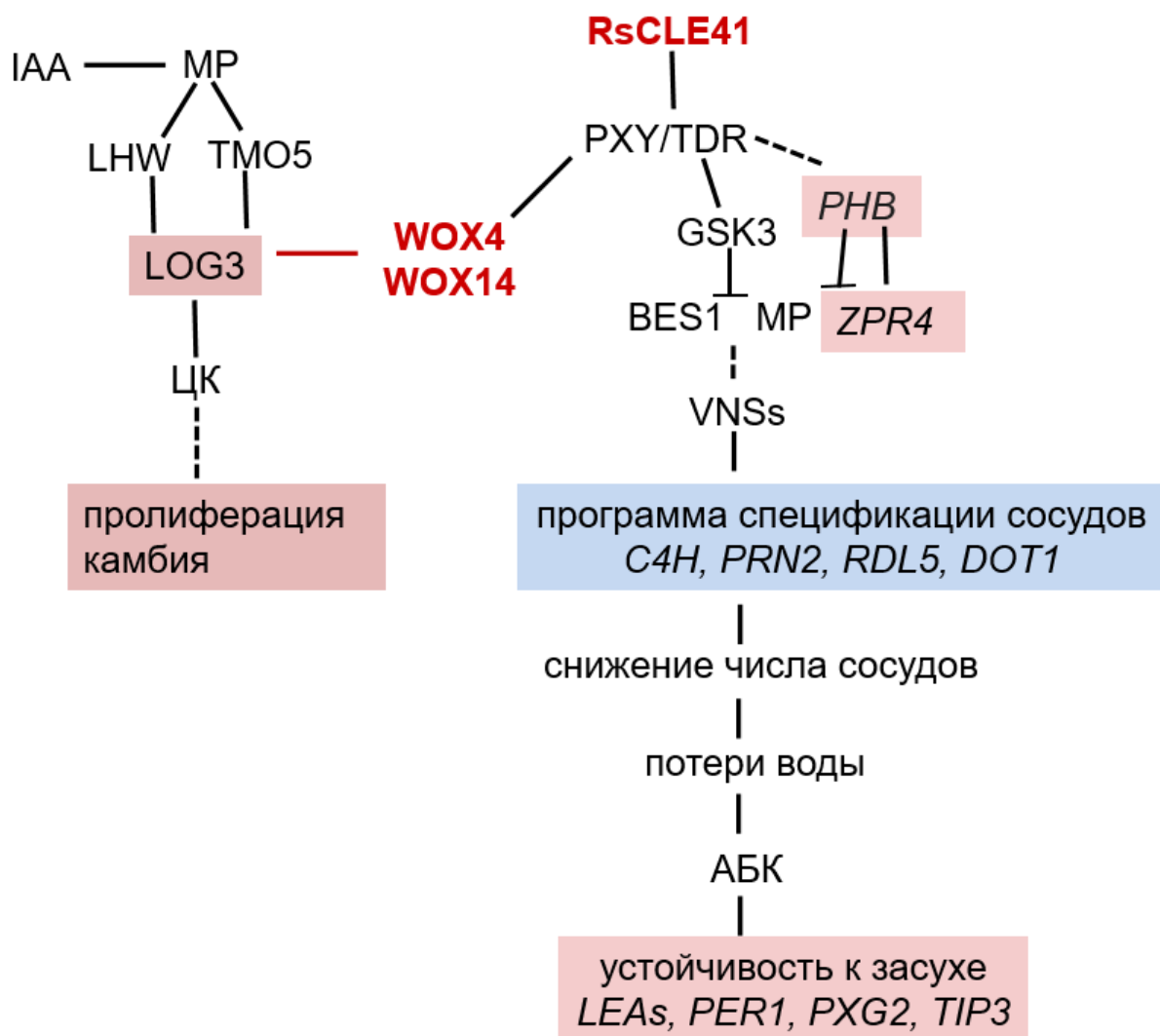


Рисунок 40. Схема участия компонентов системы WOX-CLAVATA в развитии запасающего корня редиса, составленная на основе полученных нами данных (выделены цветом).

Кроме того, перспективным представляется и вопрос о том, являются ли меристемные регуляторы, выявленные у редиса, консервативными в ходе развития корня и у других видов рода *Brassica*, а также и у других родов растений, и могли ли они сыграть роль в процессе доместикации редиса и корнеплодных культур вообще.

Таким образом, настоящая работа является важной для понимания механизмов развития запасающего корня (хозяйственно значимый признак) и спонтанных опухолей (признак, изучение которого важно для выявления ранее неизвестных системных регуляторов пролиферации клеток у растений). Полученные нами результаты являются перспективными для использования в селекции корнеплодных культур на урожайность.

ВЫВОДЫ

1. Получены сборки и аннотации геномов двух родственных инбредных линий генетической коллекции редиса СПбГУ, контрастно различающихся по способности к спонтанному опухолеобразованию.
2. У опухолеобразующей линии генетической коллекции редиса СПбГУ по сравнению с безопухолевой линией выявлены 36 генов с однонуклеотидными заменами (SNP) и 72 гена с инсерциями/делециями (InDel), предположительно влияющими на структуру кодируемых белков.
3. В ядерном геноме редиса идентифицировано 24 гена *RsWOX* и 52 гена *RsCLE*, определена их хромосомная локализация.
4. По результатам транскриптомного анализа выявлены новые предполагаемые мишени действия сигнального пептида *RsCLE41*: гены, ассоциированные с поздним эмбриогенезом, реакцией на дефицит воды и ауксин-зависимой детерминацией судьбы клеток ксилемы.
5. Показано, что сверхэкспрессия генов *RsWOX14* и *RsWOX4* вызывает изменение строения стелы корня и увеличение числа клеток вторичной ксилемы.
6. Выявлены следующие вероятные мишени транскрипционного фактора *RsWOX4*: *RsCLE41*, *RsCLE42*, *RsYUC7*, *RsLOG3*, *RsRR18*. В промоторах этих генов обнаружены консервативные сайты связывания транскрипционного фактора семейства *WOX*.
7. Выявлено взаимодействие транскрипционного фактора *RsWOX4* с сайтом ТААТСС в промоторе гена *RsLOG3*, регулирующего биосинтез цитокининов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бузовкина И.С., Кнешке И., Лутова Л.А. Генетический анализ признака «чувствительность к цитокинину» у редиса *in vitro* // Генетика. 1993. Т. 29. С. 995-1001.
2. Бузовкина И.С., Лутова Л.А. Генетическая коллекция инбредных линий редиса: история и перспективы // Генетика. 2007. Т. 10. С. 1411–1423.
3. Ганчева М.С., Додуева И.Е., Лутова Л.А. Роль пептида CLE41 в развитии запасающей паренхимы корня у представителей рода *Raphanus* // Физиология растений. 2018. Т. 65. С. 279.
4. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию (Национальный список). Том 1 «Сорта растений» (официальное издание). – Москва: ФГБНУ «Росинформагротех», 2021. – 719 с.
5. Додуева И.Е., Ганчева М.С., Осипова М.А., Творогова В.Е., Лутова Л.А. Латеральные меристемы высших растений: фитогормональный и генетический контроль // Физиология растений. 2014. Т. 61, № 5. С. 611-631.
6. Додуева И.Е., Лебедева М.А., Лутова Л.А. Фитопатогены и молекулярная мимикрия // Генетика. 2022. Т. 58, № 6. С. 642-660.
7. Додуева И.Е., Творогова В.Е., Азарахш М., Лебедева М.А., Лутова Л.А. Стволовые клетки растений: единство и многообразие // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016. Т. 20. С. 441.
8. Ильина Е.Л., Додуева И.Е., Иванова Н.М., Лутова Л.А. Изучение реакции на цитокинины *in vitro* у инбредных линий редиса (*Raphanus sativus*) с генетически детерминированным опухолеобразованием // Физиология растений. 2006. Т. 4. С. 575-584.
9. Кузнецова К.А., Додуева И.Е., Паутов А.А., Крылова Е.Г., Лутова Л.А. Генетический контроль развития запасающего корня // Физиология растений. 2020. Т. 67. С. 589-605.
10. Кузнецова К. А., Ефремова Е. П., Бузовкина И. С., Додуева И. Е., Лутова Л. А. Станислава Иосифовна Нарбут - создательница первой в России генетической коллекции редиса // Экологическая генетика. 2023. Т. 21, № 2. С. 168-182.
11. Лутова Л.А., Додуева И.Е. Роль меристемоспецифичных генов растений в формировании генетических опухолей // Онтогенез. 2007. Т. 38, № 6. С.420-433.
12. Матвеева Т.В., Додуева И.Е., Вуд Д., Бузовкина И.С., Лутова Л.А., Нестер Ю. Изучение роли фитогормонов в процессе опухолеобразования у редиса // Генетика. 2000. Т. 36. С. 203-208.
13. Нарбут С.И., Войлоков А.В., Кириллова Г.А. Генетическая характеристика линий редиса *Raphanus sativus* var. *radicula* pers // Вестник ЛГУ. 1985. Т. 24. С. 75–78.
14. Нарбут С.И., Войлоков А.В., Рахман М.И., и др. Биометрический анализ частоты спонтанного опухолеобразования у инбредных линий редиса // Генетика. 1995. Т. 31, № 9. С. 1268–1272.

15. Нарбут С.И. Генетическая коллекция инбредных линий редиса // Генетика. 1966. Т. 5. С. 89-100.
16. Нарбут С.И. Генетическая опухоль у редиса, полученная при инбридинге // Вестник ЛГУ. 1967. Т. 15. С. 144-149.
17. Паутов А.А. Морфология и анатомия вегетативных органов растений // СПб: изд-во СПбГУ, 2012. с.335.
18. Пермякова Н.В., Шумный В.К., Дейнеко Е.В. Агробактериальная трансформация растений: перенос фрагментов векторной ДНК в растительный геном // Генетика. 2009. Т.45, № 3. С. 305–317.
19. Сазанова Л.В. *Raphanus L.* - редька, редис/ Культурная флора СССР. Т. XVIII. Корнеплодные растения. Л., Агропромиздат. 1985, с. 186 - 316.
20. Aboul-Maaty N.A.-F., Oraby H.A.-S. Extraction of high-quality genomic DNA from different plant orders applying a modified CTAB-based method // Bull Nat Res Cent. 2019. Vol. 43, № 25.
21. Abrahams S, Cavet G, Oakenfull EA, et al. A novel and highly divergent *Arabidopsis* cyclin isolated by complementation in budding yeast // Biochimica et Biophysica Acta. 2001. Vol. 1539, № 1-2. P. 1-6.
22. Adeyemo OS, Hyde PT, Setter TL. Identification of *FT* family genes that respond to photoperiod, temperature and genotype in relation to flowering in cassava (*Manihot esculenta*, Crantz) // Plant Reprod. 2019. Vol. 32, № 2. P. 181-191.
23. Agusti J, Herold S, Schwarz M, Sanchez P, Ljung K, Dun EA, Brewer PB, Beveridge CA, Sieberer T, Sehr EM, Greb T. Strigolactone signaling is required for auxin-dependent stimulation of secondary growth in plants // Proc Natl Acad Sci U S A. 2011. Vol. 108, № 50. P. 20242-7.
24. Ahuja M.R. A hypothesis and evidence concerning the genetic components controlling tumor formation in *Nicotiana* // Molecular and General Genetics. 1968. Vol. 103. P. 176-184.
25. Ahuja M.R. Genetic control of phytohormones in tumor and non-tumor genotypes in *Nicotiana* // Indian Journal of Experimental Biology. 1971. Vol. 9. P. 60-68
26. Ahuja M.R. Genetic tumors in *Nicotiana* and other plants // Q Rev Biol. 1998. Vol. 73, № 4, P. 439–459.
27. Akiyoshi DE, Morris RO, Hinz R, Mischke BS, Kosuge T, Garfinkel DJ, Gordon MP, Nester EW. Cytokinin/auxin balance in crown gall tumors is regulated by specific loci in the T-DNA // Proc Natl Acad Sci U S A. 1983. Vol. 80, № 2. P. 407-11.
28. Aliaga Fandino AC, Kim H, Rademaker JD, Lee JY. Reprogramming of the cambium regulators during adventitious root development upon wounding of storage tap roots in radish (*Raphanus sativus L.*) // Biol Open. 2019. Vol. 8, № 3. P. bio039677.
29. Ali MA, Azeem F, Li H, Bohlmann H. Smart Parasitic Nematodes Use Multifaceted Strategies to Parasitize Plants // Front Plant Sci. 2017. Vol. 4, № 8. P.1699.
30. Alonso-Peral MM, Li J, Li Y, Allen RS, Schnippenkoetter W, Ohms S, White RG, Millar AA. The microRNA159-regulated *GAMYB-like* genes inhibit growth and promote programmed cell death in *Arabidopsis* // Plant Physiol. 2010. Vol. 154, № 2. P.757-71.

31. Alvarez-Buylla ER, García-Ponce B, Sánchez MP, Espinosa-Soto C, García-Gómez ML, Piñeyro-Nelson A, Garay-Arroyo A. *MADS-box* genes underground becoming mainstream: plant root developmental mechanisms // *New Phytol.* 2019. Vol. 223, № 3. P.1143-1158.
32. Ames I.H., Mistretta P.W. Auxin: its role in genetic tumor induction // *Plant Physiology.* 1975. Vol. 56. P. 744-746.
33. Ames I.H. The influence of cytokinin on genetic tumor formation // *Journal of Botany.* 1972. Vol. 50. P. 2235-2238.
34. Anzola JM, Sieberer T, Ortbauer M, Butt H, Korbei B, Weinhofer I, Müllner AE, Luschnig C. Putative *Arabidopsis* transcriptional adaptor protein (PROPORZ1) is required to modulate histone acetylation in response to auxin // *Proc Natl Acad Sci. USA.* 2010. Vol. 107. P.10308–10313.
35. Aoki S, Syono K. Synergistic function of rolB, rolC, ORF13 and ORF14 of TL-DNA of *Agrobacterium rhizogenes* in hairy root induction in *Nicotiana tabacum* // *Plant Cell Physiol.* 1999. Vol. 40. P.252–256.
36. Araya T, von Wirén N, Takahashi H. CLE peptides regulate lateral root development in response to nitrogen nutritional status of plants // *Plant Signal Behav.* 2014. Vol. 9, № 7. P.e29302.
37. Arguello-Astorga G, Lopez-Ochoa L, Kong LJ, Orozco BM, Settlege SB, Hanley-Bowdoin L. A novel motif in geminivirus replication proteins interacts with the plant retinoblastoma-related protein // *J Virol.* 2004. Vol. 78. P. 4817–4826.
38. Ascencio-Ibáñez JT, Sozzani R, Lee TJ, Chu TM, Wolfnger RD, Cella R, Hanley-Bowdoin L. Global analysis of *Arabidopsis* gene expression uncovers a complex array of changes impacting pathogen response and cell cycle during geminivirus infection // *Plant Physiol.* 2008. Vol. 148. P. 436–454.
39. Assunção AG, Herrero E, Lin YF, Huettel B, Talukdar S, Smaczniak C, Immink RG, van Eldik M, Fiers M, Schat H, Aarts MG. *Arabidopsis thaliana* transcription factors bZIP19 and bZIP23 regulate the adaptation to zinc deficiency // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010. Vol. 107, №22. P. 10296-301.
40. Atta R., Laurens L., BoucheronDubuisson E., Guivarch A., Carnero E., Giraudat-Pautot V., Rech P., Chriqui D. Pluripotency of *Arabidopsis* xylem pericycle underlies shoot regeneration from root and hypocotyl explants grown in vitro // *Plant J.* 2009. V. 57. P. 626–644.
41. Baima S, Possenti M, Matteucci A, Wisman E, Altamura MM, Ruberti I, Morelli G. The *Arabidopsis* ATHB-8 HD-zip protein acts as a differentiation-promoting transcription factor of the vascular meristems // *Plant Physiol.* 2001. Vol. 126, № 2. P.643-55.
42. Bakshi A, Piya S, Fernandez JC, Chervin C, Hewezi T, Binder BM. Ethylene Receptors Signal via a Noncanonical Pathway to Regulate Abscisic Acid Responses // *Plant Physiol.* 2018. Vol. 176, № 1. P. 910-929.
43. Bakshi A, Wilson RL, Lacey RF, Kim H, Wuppalapati SK, Binder BM. Identification of Regions in the Receiver Domain of the ETHYLENE RESPONSE1 Ethylene Receptor of *Arabidopsis* Important for Functional Divergence // *Plant Physiol.* 2015. Vol. 169, № 1. P. 219-32.

44. Bao M, Bian H, Zha Y, Li F, Sun Y, Bai B, Chen Z, Wang J, Zhu M, Han N. miR396a-Mediated basic helix-loop-helix transcription factor bHLH74 repression acts as a regulator for root growth in *Arabidopsis* seedlings // *Plant Cell Physiol*. 2014. Vol. 55, №7. P.1343-53.
45. Bardaji L, Pérez-Martínez I, Rodríguez-Moreno L, Rodríguez-Palenzuela P, Sundin GW, Ramos C, Murillo J. Sequence and role in virulence of the three plasmid complement of the model tumor-inducing bacterium *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* NCPPB 3335 // *PLoS One*. 2011. Vol. 6, № 10. P. e25705.
46. Barry GF, Rogers SG, Fraley RT, Brand L. Identification of a cloned cytokinin biosynthetic gene // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1984. Vol. 81, № 15. P. 4776-80.
47. Baumberg N, Doesseger B, Guyot R, Diet A, Parsons RL, Clark MA, Simmons MP, Bedinger P, Goff SA, Ringli C, Keller B. Whole-genome comparison of leucine-rich repeat extensins in *Arabidopsis* and rice. A conserved family of cell wall proteins forms a vegetative and a reproductive clade // *Plant Physiol*. 2003. Vol. 131, № 3. P. 1313-26.
48. Baum S.F., Dubrovsky J.G., Rost T.L. Apical organization and maturation of the cortex and vascular cylinder in *Arabidopsis thaliana* (*Brassicaceae*) roots // *Am. J. Bot*. 2002. V. 89. P. 908–920.
49. Beeckman T., Burssens S., Inzé D. The peri-cell-cycle in *Arabidopsis* // *J. Exp. Bot*. 2001. V. 52. P. 403–411.
50. Bellec Y, Harrar Y, Butaeye C, Darnet C, Bellini C, Faure J-D. Pasticcino 2 is a protein tyrosine phosphatase-like involved in cell proliferation and differentiation in *Arabidopsis* // *Plant J*. 2002. Vol. 32. P. 713–722.
51. Bennett T, Hines G, van Rongen M, Waldie T, Sawchuk MG, Scarpella E, Ljung K, Leyser O. Connective Auxin Transport in the Shoot Facilitates Communication between Shoot Apices // *PLoS Biol*. 2016. Vol. 14, № 4. P. e1002446.
52. Betekhtin A., Siwińska D., Hasterok R., Dodueva I., Ilina E., Lutova L. Cytological and Histological Analysis of Radish Root Tumors; Proceedings of the VII Meeting of Russian Society of Plant Physiologists, International Conference “Plant Physiology—Fundamentals of Ecology and Biotechnology Innovation”; Nizhny Novgorod, Russia. 4–10 July 2011.
53. Bhatia S, Kumar H, Mahajan M, Yadav S, Saini P, Yadav S, Sahu SK, Sundaram JK, Yadav RK. A cellular expression map of epidermal and subepidermal cell layer-enriched transcription factor genes integrated with the regulatory network in *Arabidopsis* shoot apical meristem // *Plant Direct*. 2021. Vol. 5, № 3. P. e00306.
54. Bishopp A, Help H, El-Showk S, Weijers D, Scheres B, Friml J, Benková E, Mähönen AP, Helariutta Y. A mutually inhibitory interaction between auxin and cytokinin specifies vascular pattern in roots // *Curr Biol*. 2011. Vol. 21, № 11. P. 917-26.
55. Bisson MM, Groth G. New insight in ethylene signaling: autokinase activity of ETR1 modulates the interaction of receptors and EIN2 // *Mol Plant*. 2010. Vol. 3, №5. P. 882-9.
56. Bogani P, Lio P, Intriери MC, Buiatti M. A physiological and molecular analysis of the genus *Nicotiana* // *Mol Phylogenet Evol*. 1997. Vol. 7. P. 62–70.

57. Boher P, Soler M, Sánchez A, Hoede C, Noirot C, Paiva JAP, Serra O, Figueras M. A comparative transcriptomic approach to understanding the formation of cork // *Plant Mol Biol*. 2018. Vol. 96, №1-2. P.103-118.
58. Boivin S, Fonouni-Farde C, Frugier F. How Auxin and Cytokinin Phytohormones Modulate Root Microbe Interactions // *Front Plant Sci*. 2016. Vol. 7. P.1240.
59. Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: A Flexible Trimmer for Illumina Sequence Data // *Bioinformatics*. 2014. Vol. 30. P.2114–2120.
60. Bonke M, Thitamadee S, Mähönen AP, Hauser MT, Helariutta Y. APL regulates vascular tissue identity in *Arabidopsis* // *Nature*. 2003. Vol. 426, № 696. P.181-6.
61. Bouton S, Leboeuf E, Mouille G, Leydecker MT, Talbotec J, Granier F, Lahaye M, Höfte H, Truong HN. QUASIMODO1 encodes a putative membrane-bound glycosyltransferase required for normal pectin synthesis and cell adhesion in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. 2002. Vol. 14. P.2577–2590.
62. Brackmann K, Qi J, Gebert M, Jouannet V, Schlamp T, Grünwald K, Wallner ES, Novikova DD, Levitsky VG, Agustí J, Sanchez P, Lohmann JU, Greb T. Spatial specificity of auxin responses coordinates wood formation // *Nat Commun*. 2018. Vol. 9, №1. P. 875.
63. Brady SM, Song S, Dhugga KS, Rafalski JA, Benfey PN. Combining expression and comparative evolutionary analysis. The *COBRA* gene family // *Plant Physiol*. 2007. Vol. 143, №1. P.172-87.
64. Breda AS, Hazak O, Hardtke CS. Phosphosite charge rather than shootward localization determines OCTOPUS activity in root protophloem // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017. Vol. 114, №28. P.E5721-E5730.
65. Brenner WG, Ramireddy E, Heyl A, Schmülling T. Gene regulation by cytokinin in *Arabidopsis* // *Front Plant Sci*. 2012. Vol. 3. P.8.
66. Breuer C, Stacey NJ, West CE, Zhao Y, Chory J, Tsukaya H, Azumi Y, Maxwell A, Roberts K, Sugimoto-Shirasu K. BIN4, a novel component of the plant DNA topoisomerase VI complex, is required for endoreduplication in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. 2007. Vol. 19, №11. P.3655-68.
67. Burkart RC, Strotmann VI, Kirschner GK, Akinci A, Czempik L, Dolata A, Maizel A, Weidtkamp-Peters S, Stahl Y. PLETHORA-WOX5 interaction and subnuclear localization control *Arabidopsis* root stem cell maintenance // *EMBO Rep*. 2022. Vol. 23, №6. P.e54105.
68. Busch W, Miotk A, Ariel FD, Zhao Z, Forner J, Daum G, Suzaki T, Schuster C, Schultheiss SJ, Leibfried A, Haubeiss S, Ha N, Chan RL, Lohmann JU. Transcriptional control of a plant stem cell niche // *Dev Cell*. 2010. Vol. 18, №5. P.849-61.
69. Cabrera J, Fenoll C, Escobar C. Genes co-regulated with LBD16 in nematode feeding sites inferred from in silico analysis show similarities to regulatory circuits mediated by the auxin/cytokinin balance in *Arabidopsis* // *Plant Signal Behav*. 2015. Vol. 10, №3. P. e990825.
70. Canher B, Heyman J, Savina M, Devendran A, Eekhout T, Vercauteren I, Prinsen E, Matosevich R, Xu J, Mironova V, De Veylder L. Rocks in the auxin stream: Wound-induced auxin accumulation and *ERF115* expression synergistically drive stem cell

- regeneration // Proc Natl Acad Sci USA. 2020. Vol. 117, №28. P.16667-16677.
71. Cao X, Yang KZ, Xia C, Zhang XQ, Chen LQ, Ye D. Characterization of *DUF724* gene family in *Arabidopsis thaliana* // Plant Mol Biol. 2010. Vol. 72, №1-2. P.61-73.
 72. Capone I, Spano L, Cardarelli M, Bellincampi D, Petit A, Costantino P. Induction and growth properties of carrot roots with different complements of *Agrobacterium rhizogenes* TDNA // Plant Molecular Biology. 1989. Vol. 13. P. 43-52.
 73. Carbonnel S, Cornelis S, Hazak O. The CLE33 peptide represses phloem differentiation via autocrine and paracrine signaling in *Arabidopsis* // Commun Biol. 2023. Vol. 6, №1. P.588.
 74. Chalupowicz L, Weinthal D, Gaba V, Sessa G, Barash I, Manulis-Sasson S. Polar auxin transport is essential for gall formation by *Pantoea agglomerans* on *Gypsophila* // Mol Plant Pathol. 2013. Vol. 14, №2. P.185-90.
 75. Chalupowicz L, Barash I, Schwartz M, Aloni R, Manulis S. Comparative anatomy of gall development on *Gypsophila paniculata* induced by bacteria with different mechanisms of pathogenicity // Planta. 2006. Vol. 224, №2. P.429-37.
 76. Chanclud E, Morel JB. Plant hormones: a fungal point of view // Mol Plant Pathol. 2016. Vol. 17. P.1289–1297.
 77. Chen K, Dorlhac de Borne F, Sierro N, Ivanov NV, Alouia M, Koechler S, Otten L. Organization of the TC and TE cellular T-DNA regions in *Nicotiana otophora* and functional analysis of three diverged TE-6b genes // Plant J. 2018. Vol. 94, №2. P.274-287.
 78. Chen K, Otten L. Natural *Agrobacterium* Transformants: Recent Results and Some Theoretical Considerations // Front Plant Sci. 2017. Vol. 8. P.1600.
 79. Chen ZJ, Tian L. Roles of dynamic and reversible histone acetylation in plant development and polyploidy // Biochim Biophys Acta. 2007. Vol. 1769, № 5-6. P.295-307.
 80. Chickarmane VS, Gordon SP, Tarr PT, Heisler MG, Meyerowitz EM. Cytokinin signaling as a positional cue for patterning the apical-basal axis of the growing *Arabidopsis* shoot meristem // Proc Natl Acad Sci U S A. 2012. Vol. 109, №10. P.4002-7.
 81. Cho EJ, Choi SH, Kim JH, Kim JE, Lee MH, Chung BY, Woo HR, Kim JH. A Mutation in Plant-Specific SWI2/SNF2-Like Chromatin-Remodeling Proteins, DRD1 and DDM1, Delays Leaf Senescence in *Arabidopsis thaliana* // PLoS One. 2016. Vol. 11, №1. P. e0146826.
 82. Cho HT, Cosgrove DJ. Regulation of root hair initiation and expansin gene expression in *Arabidopsis* // Plant Cell. 2002. Vol. 14, №12. P. 3237-53.
 83. Choi J, Strickler SR, Richards EJ. Loss of CRWN Nuclear Proteins Induces Cell Death and Salicylic Acid Defense Signaling // Plant Physiol. 2019. Vol. 179, №4. P.1315-1329.
 84. Chowdhury MR, Ahamed MS, Mas-Ud MA, Islam H, Fatamatuzzohora M, Hossain MF, Billah M, Hossain MS, Matin MN. Stomatal development and genetic expression in *Arabidopsis thaliana* L // Heliyon. 2021. Vol. 7, №8. P. e07889.
 85. Chung K, Sakamoto S, Mitsuda N, Suzuki K, Ohme-Takagi M, Fujiwara S. WUSCHEL-RELATED HOMEBOX 2 is a transcriptional repressor involved in

- lateral organ formation and separation in *Arabidopsis* // Plant Biotechnol (Tokyo). 2016. Vol. 33, №4. P.245-253.
86. Cissé OH, Almeida JM, Fonseca A, Kumar AA, Salojärvi J, Overmyer K, Hauser PM, Pagni M. Genome sequencing of the plant pathogen *Taphrina deformans*, the causal agent of peach leaf curl // MBio. 2013. Vol. 4. P. e00055–e113.
 87. Clark E, Manulis S, Ophir Y, Barash I, Gafni Y. Cloning and characterization of *iaaM* and *iaaH* from *Erwinia herbicola* pathovar *gypsophila* // Phytopathology. 1993. Vol. 83. P.234–240.
 88. Clark E., Vigodsky-Haas H., Gafni Y. Characteristics in tissue culture of hyperplasias induced by *Erwinia herbicola* pathovar *gypsophila* // Physiological and Molecular Plant Pathology. 1989. Vol. 35. P.383-390.
 89. Clogg C. C., Petkova E., Haritou A. Statistical methods for comparing regression coefficients between models // American Journal of Sociology. 1995. Vol. 100, №5. P. 1261–1293.
 90. Coates JC, Laplaze L, Haseloff J. Armadillo-related proteins promote lateral root development in *Arabidopsis* // Proc Natl Acad Sci U S A. 2006. Vol. 103, №5. P.1621-6.
 91. Coculo D, Lionetti V. The Plant Invertase/Pectin Methyltransferase Inhibitor Superfamily // Front Plant Sci. 2022. Vol. 13. P.863892.
 92. Corbesier L, Vincent C, Jang S, Fornara F, Fan Q, Searle I, Giakountis A, Farrona S, Gissot L, Turnbull C, Coupland G. FT protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of *Arabidopsis* // Science. 2007. Vol. 316, №5827. P.1030-3.
 93. Cortleven A, Marg I, Yamburenko MV, Schlicke H, Hill K, Grimm B, Schaller GE, Schmülling T. Cytokinin Regulates the Etioplast-Chloroplast Transition through the Two-Component Signaling System and Activation of Chloroplast-Related Genes // Plant Physiol. 2016. Vol. 172, № 1. P.464-78.
 94. Cromer L, Jolivet S, Horlow C, Chelysheva L, Heyman J, De Jaeger G, Koncz C, De Veylder L, Mercier R. Centromeric cohesion is protected twice at meiosis, by SHUGOSHINs at anaphase I and by PATRONUS at interkinesis // Curr Biol. 2013. Vol. 23, №21. P. 2090-9.
 95. Cui H, Kong D, Liu X, Hao Y. SCARECROW, SCR-LIKE 23 and SHORT-ROOT control bundle sheath cell fate and function in *Arabidopsis thaliana* // Plant J. 2014. Vol. 78, № 2. P.319-27.
 96. Cui H., Hao Y., Kovtun M., Stolc V., Deng X.W., Sakakibara H., Kojima M. Genome-wide direct target analysis reveals a role for SHORT-ROOT in root vascular patterning through cytokinin homeostasis // Plant Physiol. 2011. Vol. 157. P. 1221–1231.
 97. Cutcliffe JW, Hellmann E, Heyl A, Rashotte AM. CRFs form protein-protein interactions with each other and with members of the cytokinin signalling pathway in *Arabidopsis* via the CRF domain // J Exp Bot. 2011. Vol. 62, № 14. P. 4995-5002.
 98. d'Erfurth I, Jolivet S, Froger N, Catrice O, Novatchkova M, Simon M, Jenczewski E, Mercier R. Mutations in *AtPSI* (*Arabidopsis thaliana* parallel spindle 1) lead to the production of diploid pollen grains // PLoS Genet. 2008. Vol. 4, № 11. P. e1000274.

99. D'Ippólito, S., Arias, L. A., Casalongué, C. A., Pagnussat, G. C., & Fiol, D. F. The DC1-domain protein VACUOLELESS GAMETOPHYTES is essential for development of female and male gametophytes in *Arabidopsis* // *The Plant journal: for cell and molecular biology*. 2017. Vol. 90, № 2. P. 261–275.
100. Da Costa M, Bach L, Landrieu I, Bellec Y, Catrice O, Brown S, De Veylder L, Lippens G, Inzé D, Faure JD. *Arabidopsis PASTICCINO2* is an antiphosphatase involved in regulation of cyclin-dependent kinase A // *Plant Cell*. 2006. Vol. 18, № 6. P.1426-37.
101. Dangarh P, Pandey N, Vinod PK. Modeling the Control of Meiotic Cell Divisions: Entry, Progression, and Exit // *Biophys J*. 2020. Vol. 119, № 5. P.1015-1024.
102. Davies S. E. W. Transcription factor interactions at the promoter of the *Arabidopsis* circadian clock gene *LHY*. PhD thesis, University of Warwick. 2013.
103. Day RC, Müller S, Macknight RC. Identification of cytoskeleton-associated genes expressed during *Arabidopsis* syncytial endosperm development // *Plant Signal Behav*. 2009. Vol. 4, № 9. P.883-6.
104. De Almeida E.J., Gheysen G. Nematode-induced endoreduplication in plant host cells: why and how? // *Mol. Plant–Microbe Interact*. 2013. Vol. 26. P. 17–24.
105. De Buck S., de Wilde C., van Montagu M., Depicker A. Determination of the T-DNA transfer and the T-DNA integration frequencies upon cocultivation of *Arabidopsis thaliana* root explants // *Mol. Plant–Microbe Interact*. 2000. Vol. 13. P. 658–665.
106. De Rybel B., Vassileva V., Parizot B., Demeulenaere M., Grunewald W., Audenaert D., van Campenhout J., Overvoorde P., Jansen L., Vanneste S., Möller B., Wilson M., Holman T., van Isterdael G., Brunoud G., Vuylsteke M., Vernoux T., de Veylder L., Inzé D., Weijers D., Bennett M.J., Beeckman T. A novel Aux/IAA28 signaling cascade activates GATA23-dependent specification of lateral root founder cell identity // *Curr. Biol*. 2010. Vol. 20. P. 1697– 1706.
107. Deeks MJ, Calcutt JR, Ingle EK, Hawkins TJ, Chapman S, Richardson AC, Mentlak DA, Dixon MR, Cartwright F, Smertenko AP, Oparka K, Hussey PJ. A superfamily of actin-binding proteins at the actin-membrane nexus of higher plants // *Curr Biol*. 2012. Vol. 22, № 17. P.1595-600.
108. Dekhuijzen HM, Overeem JC. The role of cytokinins in clubroot formation // *Physiol Plant Pathol*. 1971. Vol. 1. P. 151–161.
109. De Lillo E, Monfreda R. Salivary secretions of eriophyoids (Acari: Eriophyoidea): first results of an experimental model // *Exp App Acarol*. 2004. Vol. 34. P.291–306
110. Demesa-Arévalo E, Vielle-Calzada JP. The classical arabinogalactan protein AGP18 mediates megaspore selection in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. 2013. Vol. 25, № 4. P. 1274-87.
111. Denis E, Kbir N, Mary V, Claisse G, Conde E Silva N, Kreis M, Deveaux Y. WOX14 promotes bioactive gibberellin synthesis and vascular cell differentiation in *Arabidopsis* // *Plant J*. 2017. Vol. 90, № 3. P.560-572.
112. Deom CM, Mills-Lujan K. Toward understanding the molecular mechanism of a geminivirus C4 protein // *Plant Signal Behav*. 2015. Vol. 10. P. e1109758.

113. Depuydt S, De Veylder L, Holsters M, Vereecke D. Eternal youth, the fate of developing *Arabidopsis* leaves upon *Rhodococcus fascians* infection // *Plant Physiol.* 2009. Vol. 149, № 3. P. 1387-98.
114. Depuydt S, Doležal K, Van Lijsebettens M, Moritz T, Holsters M, Vereecke D. Modulation of the hormone setting by *Rhodococcus fascians* results in ectopic KNOX activation in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* 2008. Vol. 146. P. 1267–1281.
115. Desikan R, Horák J, Chaban C, Mira-Rodado V, Witthöft J, Elgass K, Grefen C, Cheung MK, Meixner AJ, Hooley R, Neill SJ, Hancock JT, Harter K. The histidine kinase AHK5 integrates endogenous and environmental signals in *Arabidopsis* guard cells // *PLoS One.* 2008. Vol. 3, № 6. P. e2491.
116. De Smet I, Vanneste S., Inzé D., Beeckman T. Lateral root initiation or the birth of a new meristem // *Plant Mol. Biol.* 2006. Vol. 60. P. 871–887.
117. Dessaux Y., Petit A., Tempe J., Demarez M., Legrain C., Wiame J.M. Arginine catabolism in *Agrobacterium* strains: role of the Ti plasmid // *Journal of Bacteriology.* 1986. Vol. 166. P. 44-50.
118. Devos S, Vissenberg K, Verbelen J-P, Prinsen E. Infection of Chinese cabbage by *Plasmodiophora brassicae* leads to a stimulation of plant growth: impacts on cell wall metabolism and hormone balance // *New Phytol.* 2005. Vol. 166. P. 241–250.
119. Dewitte W, Murray JA. The plant cell cycle // *Annu Rev Plant Biol.* 2003. Vol. 54. P. 235-64.
120. Dewitte W, Scofield S, Alcasabas AA, Maughan SC, Menges M, Braun N, Collins C, Nieuwland J, Prinsen E, Sundaresan V, Murray JA. *Arabidopsis* CYCD3 D-type cyclins link cell proliferation and endocycles and are rate-limiting for cytokinin responses // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007. Vol. 104, № 36. P. 14537-42.
121. Dexter R, Qualley A, Kish CM, Ma CJ, Koeduka T, Nagegowda DA, Dudareva N, Pichersky E, Clark D. Characterization of a petunia acetyltransferase involved in the biosynthesis of the floral volatile isoeugenol // *Plant J.* 2007. Vol. 49, № 2. P. 265-75.
122. Dharmasiri N, Dharmasiri S, Weijers D, Lechner E, Yamada M, Hobbie L, Ehrismann JS, Jürgens G, Estelle M. Plant development is regulated by a family of auxin receptor F box proteins // *Dev Cell.* 2005. Vol. 9, № 1. P. 109-19.
123. Diepold A, Li G, Lennarz WJ, Nürnberger T, Brunner F. The *Arabidopsis* *AtPNGI* gene encodes a peptide: N-glycanase // *Plant J.* 2007. Vol. 52, № 1. P. 94-104.
124. Di Giacomo E, Iannelli MA, Frugis G. TALE and Shape: How to Make a Leaf Different // *Plants (Basel).* 2013. Vol. 2, № 2. P. 317-42.
125. Dodueva I, Lebedeva M, Lutova L. Dialog between Kingdoms: Enemies, Allies and Peptide Phytohormones // *Plants (Basel).* 2021. Vol. 10, № 11. P. 2243.
126. Dodueva I.E., Ilyina E.L., Arkhipova T.N., Frolova N.V., Monakhova V.A., Kudoyarova G.R., Lutova L.A. Influence of *Agrobacterium tumefaciens ipt* and *Agrobacterium rhizogenes rolC* genes on spontaneous tumor formation and endogenous cytokinins content in radish (*Raphanus sativus*) inbred lines // *Transgenic Plant Journal.* 2008. Vol. 2. P. 45-53.
127. Dodueva I.E., Kiryushkin A.S., Yurlova E.V., Osipova M.A., Buzovkina I.S., Lutova L.A. Effect of Cytokinins on Expression of Radish *CLE* Genes // *Russ. J. Plant Physiol.* 2013. Vol. 60. P. 388–395.

128. Dodueva IE, Lebedeva MA, Kuznetsova KA, Gancheva MS, Paponova SS, Lutova LL. Plant tumors: a hundred years of study // *Planta*. 2020. Vol. 251, № 4. P. 82.
129. Doehlemann G, Wahl R, Horst RJ, Voll L, Usadel B, Poree F, Stitt M, Pons-Kuehnemann J, Sonnewald U, Kahmann R. Reprogramming a maize plant: transcriptional and metabolic changes induced by the fungal biotroph *Ustilago maydis* // *Plant J*. 2008. Vol. 56. P. 181–195.
130. Domínguez-Figueroa J, Carrillo L, Renau-Morata B, Yang L, Molina RV, Marino D, Canales J, Weih M, Vicente-Carbajosa J, Nebauer SG, Medina J. The *Arabidopsis* Transcription Factor CDF3 Is Involved in Nitrogen Responses and Improves Nitrogen Use Efficiency in Tomato // *Front Plant Sci*. 2020. Vol. 11. P. 601558.
131. Dong L, Wang Z, Liu J, Wang X. AtSK11 and AtSK12 Mediate the Mild Osmotic Stress-Induced Root Growth Response in *Arabidopsis* // *Int J Mol Sci*. 2020. Vol. 21, № 11. P. 3991.
132. Doonan JH, Sablowski R. Walls around tumours - why plants do not develop cancer // *Nat Rev Cancer*. 2010. Vol. 10, № 11. P. 794-802.
133. Dornelas MC, Van Lammeren AA, Kreis M. *Arabidopsis thaliana* SHAGGY-related protein kinases (AtSK11 and 12) function in perianth and gynoecium development // *Plant J*. 2000. Vol. 21, № 5. P. 419-29.
134. Dowd CD, Chronis D, Radakovic ZS, Siddique S, Schmülling T, Werner T, Kakimoto T, Grundler FMW, Mitchum MG. Divergent expression of cytokinin biosynthesis, signaling and catabolism genes underlying differences in feeding sites induced by cyst and root-knot nematodes // *Plant J*. 2017. Vol. 92, № 2. P. 211-228.
135. Draeger C, Ndinyanka Fabrice T, Gineau E, Mouille G, Kuhn BM, Moller I, Abdou MT, Frey B, Pauly M, Bacic A, Ringli C. *Arabidopsis* leucine-rich repeat extensin (LRX) proteins modify cell wall composition and influence plant growth // *BMC Plant Biol*. 2015. Vol. 15. P. 155.
136. Dubrovina A.S., Kiselev K.V., Veselova M.V., Isaeva G.A., Fedoreyev S.A., Zhuravlev Y.N. Enhanced resveratrol accumulation in rolB transgenic cultures of *Vitis amurensis* correlates with unusual changes in CDPK gene expression // *Plant Physiology*. 2009. Vol. 166. P. 1194-1206.
137. Dubrovsky J.G., Doerner P.W., Colón-Carmona A., Rost T.L. Pericycle cell proliferation and lateral root initiation in *Arabidopsis* // *Plant Physiol*. 2000. Vol. 124. P. 1648–1657.
138. Dubrovsky J.G., Sauer M., Napsucially-Mendivil S., Ivanchenko M.G., Friml J., Shishkova S., Celenza J., Benková E. Auxin acts as a local morphogenetic trigger to specify lateral root founder cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2008. Vol. 105. P. 8790–8794.
139. Elsner J, Michalski M, Kwiatkowska D. Spatiotemporal variation of leaf epidermal cell growth: a quantitative analysis of *Arabidopsis thaliana* wild-type and triple cyclinD3 mutant plants // *Ann Bot*. 2012. Vol. 109, № 5. P. 897-910.
140. Emery J.F., Floyd S.K., Alvarez J., Eshed Y., Hawker N.P., Izhaki A., Baum S.F., Bowman J.L. Radial patterning of *Arabidopsis* shoots by class III HD-ZIP and KANADI genes // *Curr. Biol*. 2003. Vol. 13. P. 1768– 1774.

141. Eserman LA, Jarret RL, Leebens-Mack JH. Parallel evolution of storage roots in morning glories (*Convolvulaceae*) // BMC Plant Biol. 2018. Vol. 18, № 1. P. 95.
142. Etchells JP, Provost CM, Mishra L, Turner SR. WOX4 and WOX14 act downstream of the PXY receptor kinase to regulate plant vascular proliferation independently of any role in vascular organization // Development. 2013. Vol. 140, № 10. P. 2224-34.
143. Etchells JP, Provost CM, Turner SR. Plant vascular cell division is maintained by an interaction between PXY and ethylene signaling // PLoS Genet. 2012. Vol. 8, № 11. P. e1002997.
144. Etchells JP, Turner SR. The PXY-CLE41 receptor ligand pair defines a multifunctional pathway that controls the rate and orientation of vascular cell division // Development. 2010. Vol. 137, № 5. P. 767-74.
145. Eves-Van Den Akker S, Lilley CJ, Yusup HB, Jones JT, Urwin PE. Functional C-TERMINALLY ENCODED PEPTIDE (CEP) plant hormone domains evolved de novo in the plant parasite *Rotylenchulus reniformis* // Mol Plant Pathol. 2016. Vol. 17, № 8. P. 1265-75.
146. Ewels P., Magnusson M., Lundin S., Käller M. MultiQC: Summarize Analysis Results for Multiple Tools and Samples in a Single Report // Bioinformatics. 2016. Vol. 32. P. 3047–3048.
147. Fang Q, Wang Q, Mao H, Xu J, Wang Y, Hu H, He S, Tu J, Cheng C, Tian G, Wang X, Liu X, Zhang C, Luo K. AtDIV2, an R-R-type MYB transcription factor of *Arabidopsis*, negatively regulates salt stress by modulating ABA signaling // Plant Cell Rep. 2018. Vol. 37, № 11. P. 1499-1511.
148. Farquharson KL. Mirror, Mirror on the Wall: A Role for AGP18 in Functional Megaspore Selection // Plant Cell. 2013. Vol. 25, № 4. P. 1190.
149. Faure JD, Vittorioso P, Santoni V, Fraiser V, Prinsen E, Barlier I, Van Onckelen H, Caboche M, Bellini C. The *PASTICCINO* genes of *Arabidopsis thaliana* are involved in the control of cell division and differentiation // Development. 1998. Vol. 125. P. 909–918.
150. Felsenstein J. CONFIDENCE LIMITS ON PHYLOGENIES: AN APPROACH USING THE BOOTSTRAP // Evolution. 1985. Vol. 39, № 4. P. 783-791.
151. Ferguson B.J., Indrasumunar A., Hayashi S., Lin M.H., Lin Y.H., Reid D.E., Gresshoff P.M. Molecular analysis of legume nodule development and autoregulation // J. Integr. Plant Biol. 2010. Vol. 52. P. 61–76.
152. Fernández-Piñán S, Boher P, Soler M, Figueras M, Serra O. Transcriptomic analysis of cork during seasonal growth highlights regulatory and developmental processes from phellogen to phellem formation // Sci Rep. 2021. Vol. 11, № 1. P. 12053.
153. Fernie AR, Yan J. De Novo Domestication: An Alternative Route toward New Crops for the Future // Mol Plant. 2019. Vol. 12, № 5. P. 615-631.
154. Fiers M, Golemic E, Xu J, van der Geest L, Heidstra R, Stiekema W, Liu CM. The 14-amino acid CLV3, CLE19, and CLE40 peptides trigger consumption of the root meristem in *Arabidopsis* through a CLAVATA2-dependent pathway // Plant Cell. 2005. Vol. 17, № 9. P. 2542-53.
155. Fiers M, Hause G, Boutilier K, Casamitjana-Martinez E, Weijers D, Offringa R, van der Geest L, van Lookeren Campagne M, Liu CM. Mis-expression of the CLV3/ESR-

- like gene *CLE19* in *Arabidopsis* leads to a consumption of root meristem // *Gene*. 2004. Vol. 327, № 1. P. 37-49.
156. Firon N, LaBonte D, Villordon A, Kfir Y, Solis J, Lapis E, Perlman TS, Doron-Faigenboim A, Hetzroni A, Althan L, Adani Nadir L. Transcriptional profiling of sweetpotato (*Ipomoea batatas*) roots indicates down-regulation of lignin biosynthesis and up-regulation of starch biosynthesis at an early stage of storage root formation // *BMC Genomics*. 2013. Vol.14. P. 460.
157. Fischer U, Kucukoglu M, Helariutta Y, Bhalerao RP. The Dynamics of Cambial Stem Cell Activity // *Annu Rev Plant Biol*. 2019. Vol. 70. P. 293-319.
158. Fisher K, Turner S. PXY, a receptor-like kinase essential for maintaining polarity during plant vascular-tissue development // *Curr Biol*. 2007. Vol. 17, № 12. P. 1061-6.
159. Fletcher JC, Brand U, Running MP, Simon R, Meyerowitz EM. Signaling of cell fate decisions by *CLAVATA3* in *Arabidopsis* shoot meristems // *Science*. 1999. Vol. 283, № 5409. P. 1911-4.
160. Fornara F, Panigrahi KC, Gissot L, Sauerbrunn N, Rühl M, Jarillo JA, Coupland G. *Arabidopsis* DOF transcription factors act redundantly to reduce *CONSTANS* expression and are essential for a photoperiodic flowering response // *Dev Cell*. 2009. Vol. 17, № 1. P. 75-86.
161. Forzani C, Aichinger E, Sornay E, Willemsen V, Laux T, Dewitte W, Murray JA. *WOX5* suppresses *CYCLIN D* activity to establish quiescence at the center of the root stem cell niche // *Curr Biol*. 2014. Vol. 24, № 16. P. 1939-44.
162. Frank M, Guivarc'h A, Krupková E, Lorenz-Meyer I, Chriqui D, Schmölling T. Tumorous shoot development (TSD) genes are required for co-ordinated plant shoot development // *Plant J*. 2002. Vol. 29, № 1. P. 73-85.
163. Frei dit Frey N, Muller P, Jammes F, Kizis D, Leung J, Perrot-Rechenmann C, Bianchi MW. The RNA binding protein Tudor-SN is essential for stress tolerance and stabilizes levels of stress-responsive mRNAs encoding secreted proteins in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. 2010. Vol. 22, № 5. P. 1575-91.
164. Frémont N, Rieffer M, Stolz A, Schmölling T. The *Arabidopsis TUMOR PRONE5* gene encodes an acetylornithine aminotransferase required for arginine biosynthesis and root meristem maintenance in blue light // *Plant Physiol*. 2013. Vol. 161. P. 1127–1140.
165. Fu X, Su H, Liu S, Du X, Xu C, Luo K. Cytokinin signaling localized in phloem noncell-autonomously regulates cambial activity during secondary growth of *Populus* stems // *New Phytol*. 2021. Vol. 230, № 4. P. 1476-1488.
166. Gaion, L.A., Carvalho, R.F. Long-Distance Signaling: What Grafting has Revealed? // *J Plant Growth Regul*. 2018. Vol. 37. P. 694–704.
167. Gancheva MS, Dodueva IE, Lebedeva MA, Tvorogova VE, Tkachenko AA, Lutova LA. Identification, expression, and functional analysis of *CLE* genes in radish (*Raphanus sativus* L.) storage root // *BMC Plant Biol*. 2016. Vol. 16. Suppl. 1. P. 7.
168. Gangappa SN, Botto JF. The BBX family of plant transcription factors // *Trends Plant Sci*. 2014. Vol. 19, № 7. P. 460-70.
169. Gao B, Allen R, Maier T, Davis EL, Baum TJ, Hussey RS. The parasitome of the

- phytonematode *Heterodera glycines* // Mol Plant Microbe Interact. 2003. Vol. 16, № 8. P. 720-6.
170. Gao H, Wang Z, Li S, Hou M, Zhou Y, Zhao Y, Li G, Zhao H, Ma H. Genome-wide survey of potato MADS-box genes reveals that StMADS1 and StMADS13 are putative downstream targets of tuberigen StSP6A // BMC Genomics. 2018. Vol. 19, № 1. P. 726.
171. Gao J, Wang T, Liu M, Liu J, Zhang Z. Transcriptome analysis of filling stage seeds among three buckwheat species with emphasis on rutin accumulation // PLoS One. 2017. Vol. 12, № 12. P. e0189672.
172. Gaudin V., Jouanin L. Expression of *Agrobacterium rhizogenes* auxin biosynthesis genes in transgenic tobacco plants // Plant Molecular Biology. 1995. Vol. 28. P. 123-36.
173. Geem KR, Kim J, Bae W, Jee MG, Yu J, Jang I, Lee DY, Hong CP, Shim D, Ryu H. Nitrate enhances the secondary growth of storage roots in *Panax ginseng* // J Ginseng Res. 2023. Vol. 47, № 3. P. 469-478.
174. Gelvin S.B. *Agrobacterium*-mediated plant transformation: the biology behind the "genejockeying" tool // Microbiology and molecular biology reviews. 2003. Vol. 67. P. 16-37.
175. Geng Y, Zhou Y. HAM Gene Family and Shoot Meristem Development. Front Plant Sci. 2021. Vol. 12. P. 800332.
176. Ghate TH, Sharma P, Kondhare KR, Hannapel DJ, Banerjee AK. The mobile RNAs, StBEL11 and StBEL29, suppress growth of tubers in potato // Plant Mol Biol. 2017. Vol. 93, № 6. P. 563-578.
177. Gibbs DJ, Coates JC. AtMYB93 is an endodermis-specific transcriptional regulator of lateral root development in *Arabidopsis* // Plant Signal Behav. 2014. Vol. 9, № 10. P. e970406.
178. Gietz RD, Schiestl RH. High-efficiency yeast transformation using the LiAc/SS carrier DNA/PEG method // Nat Protoc. 2007. Vol. 2, № 1. P. 31-4.
179. Giron D, Huguet E, Stone GN, Body M. Insect-induced effects on plants and possible effectors used by galling and leaf-mining insects to manipulate their host-plant // J Insect Physiol. 2016. Vol. 84. P. 70-89.
180. Giuntoli B, Lee SC, Licausi F, Kosmacz M, Oosumi T, van Dongen JT, Bailey-Serres J, Perata P. A trihelix DNA binding protein counterbalances hypoxia-responsive transcriptional activation in *Arabidopsis* // PLoS Biol. 2014. Vol. 12, № 9. P. e1001950.
181. Gocal GF, Sheldon CC, Gubler F, Moritz T, Bagnall DJ, MacMillan CP, Li SF, Parish RW, Dennis ES, Weigel D, King RW. GAMYB-like genes, flowering, and gibberellin signaling in *Arabidopsis* // Plant Physiol. 2001. Vol. 127, № 4. P. 1682-93.
182. Gonzali S., Novi G., Loreti E., Paolicchi F., Poggi A., Alpi A., Perata P. A turanose-insensitive mutant suggests a role for *WOX5* in auxin homeostasis in *Arabidopsis thaliana* // Plant J. 2005. Vol. 44. P. 633-645.
183. Goverse A, Overmars H, Engelbertink J, Schots A, Bakker J, Helder J. Both induction and morphogenesis of cyst nematode feeding cells are mediated by auxin // Mol Plant Microbe Interact. 2000. Vol. 13, № 10. P. 1121-9.

184. Grsic-Rausch S, Kobelt P, Siemens JM, Bischof M, Ludwig-Müller J. Expression and localization of nitrilase during symptom development of the clubroot disease in *Arabidopsis* // *Plant Physiol*. 2000. Vol. 122. P. 369–378.
185. Guoa R., Lia W., Wang X., Chen B., Huang Z., Liu T., Chen X., Xuhana X., Laia Z. Effect of photoperiod on the formation of cherry radish root // *Sci. Hort*. 2019. Vol. 244. P 193.
186. Guo X, Wang J, Gardner M, Fukuda H, Kondo Y, Etchells JP, Wang X, Mitchum MG. Identification of cyst nematode B-type CLE peptides and modulation of the vascular stem cell pathway for feeding cell formation // *PLoS Pathog*. 2017. Vol. 13, № 2. P. e1006142.
187. Guo Y, Han L, Hymes M, Denver R, Clark SE. CLAVATA2 forms a distinct CLE-binding receptor complex regulating *Arabidopsis* stem cell specification // *Plant J*. 2010. Vol. 63, № 6. P. 889-900.
188. Gursansky NR, Jouannet V, Grünwald K, Sanchez P, Laaber-Schwarz M, Greb T. MOL1 is required for cambium homeostasis in *Arabidopsis* // *Plant J*. 2016. Vol. 86, № 3. P. 210-20.
189. Gutiérrez-Beltran E, Bozhkov PV, Moschou PN. Tudor Staphylococcal Nuclease plays two antagonistic roles in RNA metabolism under stress // *Plant Signal Behav*. 2015a. Vol. 10, № 10. P. e1071005.
190. Gutierrez-Beltran E, Elander PH, Dalman K, Dayhoff GW 2nd, Moschou PN, Uversky VN, Crespo JL, Bozhkov PV. Tudor staphylococcal nuclease is a docking platform for stress granule components and is essential for SnRK1 activation in *Arabidopsis* // *EMBO J*. 2021. Vol. 40, № 17. P. e105043.
191. Gutierrez-Beltran E, Moschou PN, Smertenko AP, Bozhkov PV. Tudor staphylococcal nuclease links formation of stress granules and processing bodies with mRNA catabolism in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. 2015b. Vol. 27, № 3. P. 926-43.
192. Haecker A, Gross-Hardt R, Geiges B, Sarkar A, Breuninger H, Herrmann M, Laux T. Expression dynamics of *WOX* genes mark cell fate decisions during early embryonic patterning in *Arabidopsis thaliana* // *Development*. 2004. Vol. 131, № 3. P. 657-68.
193. Hagen G, Guilfoyle T. Auxin-responsive gene expression: genes, promoters and regulatory factors // *Plant Mol Biol*. 2002. Vol. 49, № 3-4. P. 373-85.
194. Hagen GL. Morphogenesis in a tobacco hybrid tumor // *Dev Biol*. 1962. Vol. 4. P. 569–579.
195. Hanley-Bowdoin L, Settlege SB, Robertson D. Reprogramming plant gene expression: a prerequisite to geminivirus DNA replication // *Mol Plant Pathol*. 2004. Vol. 15. P. 149–156
196. Han S, Khan MHU, Yang Y, Zhu K, Li H, Zhu M, Amoo O, Khan SU, Fan C, Zhou Y. Identification and comprehensive analysis of the *CLV3/ESR-related (CLE)* gene family in *Brassica napus* L // *Plant Biol (Stuttg)*. 2020. Vol. 22, № 4. P. 709-721.
197. Han SK, Herrmann A, Yang J, Iwasaki R, Sakamoto T, Desvoyes B, Kimura S, Gutierrez C, Kim ED, Torii KU. Deceleration of the cell cycle underpins a switch from proliferative to terminal divisions in plant stomatal lineage // *Dev Cell*. 2022. Vol. 57, № 5. P. 569-582.e6.
198. Harkey AF, Watkins JM, Olex AL, DiNapoli KT, Lewis DR, Fetrow JS, Binder BM,

- Muday GK. Identification of Transcriptional and Receptor Networks That Control Root Responses to Ethylene // *Plant Physiol.* 2018. Vol. 176, № 3. P. 2095-2118.
199. Hassani, S.B.; Trontin, J.-F.; Raschke, J.; Zoglauer, K.; Rupps, A. Constitutive Overexpression of a Conifer WOX2 Homolog Affects Somatic Embryo Development in *Pinus Pinaster* and Promotes Somatic Embryogenesis and Organogenesis in *Arabidopsis* Seedlings // *Front. Plant Sci.* 2022. Vol. 13. P. 838421.
200. Hawkins TJ, Deeks MJ, Wang P, Hussey PJ. The evolution of the actin binding NET superfamily // *Front Plant Sci.* 2014. Vol.5. P. 254.
201. Hazak O, Hardtke CS. CLAVATA 1-type receptors in plant development // *J Exp Bot.* 2016. Vol. 67, № 16. P. 4827-33.
202. Hearn DJ, O'Brien P, Poulsen TM. Comparative transcriptomics reveals shared gene expression changes during independent evolutionary origins of stem and hypocotyl/root tubers in *Brassica (Brassicaceae)* // *PLoS One.* 2018. Vol. 13, № 6. P. e0197166.
203. Heidstra R, Sabatini S. Plant and animal stem cells: similar yet different. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2014. Vol. 15, № 5. P. 301-12.
204. Helariutta Y., Fukaki H., Wysocka-Diller J., Nakajima K., Jung J., Sena G., Hauser M.T., Benfey P.N. The SHORT-ROOT gene controls radial patterning of the *Arabidopsis* root through radial signaling // *Cell.* 2000. Vol. 101. P. 555–567.
205. Helfer A., Clement B., Michler P., Otten L. The *Agrobacterium* oncogene AB-6b causes graft-transmissible enation syndrome in tobacco // *Plant Molecular Biology.* 2003. Vol. 52. P. 483- 493.
206. Hennion N, Durand M, Vriet C, Doidy J, Maurousset L, Lemoine R, Pourtau N. Sugars en route to the roots. Transport, metabolism and storage within plant roots and towards microorganisms of the rhizosphere // *Physiol Plant.* 2019. Vol. 165, № 1. P. 44-57.
207. Herger A, Gupta S, Kadler G, Franck CM, Boisson-Dernier A, Ringli C. Overlapping functions and protein-protein interactions of LRR-extensins in *Arabidopsis* // *PLoS Genet.* 2020. Vol. 16, № 6. P. e1008847.
208. Hewelt A., Prinsen E., Thomas M., Van Onckelen H., Meins F. Ectopic expression of maize knotted1 results in cytokinin-autotrophic growth of cultured tobacco tissues // *Planta.* 2000. Vol. 210. P. 884-889.
209. Heyman J, Cools T, Canher B, Shavialenka S, Traas J, Vercauteren I, Van den Daele H, Persiau G, De Jaeger G, Sugimoto K, De Veylder L. The heterodimeric transcription factor complex ERF115-PAT1 grants regeneration competence // *Nat Plants.* 2016. Vol. 2, № 11. P. 16165.
210. Heyndrickx KS, Vandepoele K. Systematic identification of functional plant modules through the integration of complementary data sources // *Plant Physiol.* 2012. Vol. 159, № 3. P. 884-901.
211. Hibino H. Biology and epidemiology of rice viruses // *Annu Rev Phytopathol.* 1996. Vol. 34. P. 249-74.
212. Hidayati NA, Yamada-Oshima Y, Iwai M, Yamano T, Kajikawa M, Sakurai N, Suda K, Sesoko K, Hori K, Obayashi T, Shimojima M, Fukuzawa H, Ohta H. Lipid remodeling regulator 1 (LRL1) is differently involved in the phosphorus-depletion

- response from PSR1 in *Chlamydomonas reinhardtii* // Plant J. 2019. Vol. 100, № 3. P. 610-626.
213. Hilbert M, Voll LM, Ding Y, Hofmann J, Sharma M, Zuccaro A. Indole derivative production by the root endophyte *Piriformospora indica* is not required for growth promotion but for biotrophic colonization of barley roots // New Phytol. 2012. Vol. 196. P. 520–534.
214. Hill K, Mathews DE, Kim HJ, Street IH, Wildes SL, Chiang YH, Mason MG, Alonso JM, Ecker JR, Kieber JJ, Schaller GE. Functional characterization of type-B response regulators in the *Arabidopsis* cytokinin response // Plant Physiol. 2013. Vol. 162, № 1. P. 212-24.
215. Hinsch J, Vrabka J, Oeser B, Novák O, Galuszka P, Tudzynski P. De novo biosynthesis of cytokinins in the biotrophic fungus *Claviceps purpurea* // Environ Microbiol. 2015. Vol. 17. P. 2935–2951.
216. Hirakawa Y, Bowman JL. A Role of TDIF Peptide Signaling in Vascular Cell Differentiation is Conserved Among Euphyllophytes // Front Plant Sci. 2015. Vol. 6. P. 1048.
217. Hirakawa Y, Kondo Y, Fukuda H. Regulation of vascular development by CLE peptide-receptor systems // J Integr Plant Biol. 2010. Vol. 52, № 1. P. 8-16.
218. Hirakawa Y, Shinohara H, Kondo Y, Inoue A, Nakanomyo I, Ogawa M, Sawa S, Ohashi-Ito K, Matsubayashi Y, Fukuda H. Non-cell-autonomous control of vascular stem cell fate by a CLE peptide/receptor system // Proc Natl Acad Sci U S A. 2008. Vol. 105, № 39. P. 15208-13.
219. Hirose N, Takei K, Kuroha T, Kamada-Nobusada T, Hayashi H, Sakakibara H. Regulation of cytokinin biosynthesis, compartmentalization and translocation // J Exp Bot. 2008. Vol. 59, № 1. P. 75-83.
220. Hirsch A.M., Bhuvaneshwari T.V., Torrey J.G., Bisseling T. Early nodulin genes are induced in alfalfa root outgrowths elicited by auxin transport inhibitors // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1989. Vol. 86. P. 1244–1248.
221. Hoang NV, Park C, Kamran M, Lee JY. Gene Regulatory Network Guided Investigations and Engineering of Storage Root Development in Root Crops // Front Plant Sci. 2020. Vol.11. P. 762.
222. Hoermayer L, Montesinos JC, Marhava P, Benková E, Yoshida S, Friml J. Wounding-induced changes in cellular pressure and localized auxin signalling spatially coordinate restorative divisions in roots // Proc Natl Acad Sci U S A. 2020. Vol. 117, № 26. P. 15322-15331.
223. Horák J., Brzobohatý B., Lexa M. Molecular and physiological characterisation of an insertion mutant in the *ARR21* putative response regulator gene from *Arabidopsis thaliana* // Plant Biol. 2003. Vol. 5. P. 245–254.
224. Horstman A, Willemsen V, Boutilier K, Heidstra R. AINTEGUMENTA-LIKE proteins: hubs in a plethora of networks // Trends Plant Sci. 2014. Vol. 19, № 3. P. 146-57.
225. Hough JS. Studies on the common spangle gall of oak. III. The importance of the stage in laminar extension of the host leaf // New Phytol; 1953. Vol. 52. P. 218–228.
226. Huang G, Dong R, Allen R, Davis EL, Baum TJ, Hussey RS. A root-knot nematode

- secretory peptide functions as a ligand for a plant transcription factor // *Mol Plant Microbe Interact.* 2006. Vol. 19, № 5. P. 463-70.
227. Huang PY, Zhang J, Jiang B, Chan C, Yu JH, Lu YP, Chung K, Zimmerli L. NINJA-associated ERF19 negatively regulates *Arabidopsis* pattern-triggered immunity // *J Exp Bot.* 2019. Vol. 70, № 3. P. 1033-1047.
228. Huang Y, Wang S, Wang C, Ding G, Cai H, Shi L, Xu F. Induction of jasmonic acid biosynthetic genes inhibits *Arabidopsis* growth in response to low boron // *J Integr Plant Biol.* 2021. Vol. 63, № 5. P. 937-948.
229. Huffman GA, White FF, Gordon MP, Nester EW. Hairy-root-inducing plasmid: physical map and homology to tumor-inducing plasmids // *J Bacteriol.* 1984. Vol. 157, № 1. P. 269-76.
230. Huo R, Liu Z, Yu X, Li Z. The Interaction Network and Signaling Specificity of Two-Component System in *Arabidopsis* // *Int J Mol Sci.* 2020. Vol. 21, № 14. P. 4898.
231. Iglesias-Fernández R, Barrero-Sicilia C, Carrillo-Barral N, Oñate-Sánchez L, Carbonero P. *Arabidopsis thaliana* bZIP44: a transcription factor affecting seed germination and expression of the mannanase-encoding gene *AtMAN7* // *Plant J.* 2013. Vol. 74, № 5. P. 767-80.
232. Ikeuchi M, Iwase A, Ito T, Tanaka H, Favero DS, Kawamura A, Sakamoto S, Wakazaki M, Tameshige T, Fujii H, Hashimoto N, Suzuki T, Hotta K, Toyooka K, Mitsuda N, Sugimoto K. Wound-inducible WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN 13 is required for callus growth and organ reconnection // *Plant Physiol.* 2022. Vol. 88, № 1. P. 425-441.
233. Imaizumi T, Schultz TF, Harmon FG, Ho LA, Kay SA. FKF1 F-box protein mediates cyclic degradation of a repressor of CONSTANS in *Arabidopsis* // *Science.* 2005. Vol. 309, № 5732. P. 293-7.
234. Inaba S, Kurata R, Kobayashi M, Yamagishi Y, Mori I, Ogata Y, Fukao Y. Identification of putative target genes of bZIP19, a transcription factor essential for *Arabidopsis* adaptation to Zn deficiency in roots // *Plant J.* 2015. Vol. 84, № 2. P. 323-34.
235. Inácio V., Lobato C., Graça J., Morais-Cecílio L. Cork Cells in Cork Oak Periderms Undergo Programmed Cell Death and Proanthocyanidin Deposition // *Tree Physiol.* 2021. Vol. 41. P. 1701–1713.
236. Inoue H, Nojima H, Okayama H. High efficiency transformation of *Escherichia coli* with plasmids // *Gene.* 1990. Vol. 96, № 1. P. 23-8.
237. Intrieri MC, Buiatti M. The horizontal transfer of *Agrobacterium rhizogenes* genes and the evolution of the genus *Nicotiana* // *Molecular Phylogenetics and Evolution.* 2001. Vol. 20. P. 100-110.
238. Inzé D, Follin A, Velten J, Velten L, Prinsen E, Rüdelsheim P, Van Onckelen H, Schell J, Van Montagu M. The *Pseudomonas savastanoi* tryptophan-2-monooxygenase is biologically active in *Nicotiana tabacum* // *Planta.* 1987. Vol. 172, № 4. P. 555-62.
239. Irani S, Trost B, Waldner M, Nayidu N, Tu J, Kusalik AJ, Todd CD, Wei Y, Bonham-Smith PC. Transcriptome analysis of response to *Plasmodiophora brassicae* infection in the *Arabidopsis* shoot and root // *BMC Genomics.* 2018. Vol. 19. P. 23.

240. Ito Y, Nakanomyo I, Motose H, Iwamoto K, Sawa S, Dohmae N, Fukuda H. Dodeca-CLE peptides as suppressors of plant stem cell differentiation // *Science*. 2006. Vol. 313, № 5788. P. 842-5.
241. Ivanov VB. The problem of stem cells in plants // *Ontogenez*. 2003. Vol. 34, № (4) . P 253-61. Russian.
242. Iwai H, Masaoka N, Ishii T, Satoh S. A pectin glucuronyl transferase gene is essential for intercellular attachment in the plant meristem // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002. Vol. 10. P. 16319–16324.
243. Iwama A, Yamashino T, Tanaka Y, Sakakibara H, Kakimoto T, Sato S, Kato T, Tabata S, Nagatani A, Mizuno T. AHK5 histidine kinase regulates root elongation through an ETR1-dependent abscisic acid and ethylene signaling pathway in *Arabidopsis thaliana* // *Plant Cell Physiol*. 2007. Vol. 48, № 2. P. 375-80.
244. Jamil HMA, Ahmed A, Irshad U, Al-Ghamdi AA, Elshikh MS, Alaraidh IA, Al-Dosary MA, Abbasi AM, Ahmad R. Identification and inoculation of fungal strains from *Cedrus deodara* rhizosphere involve in growth and alleviation of high nitrogen stress // *Saudi J Biol Sci*. 2020. Vol. 27, № 1. P. 524-534.
245. Jang G, Lee JH, Rastogi K, Park S, Oh SH, Lee JY. Cytokinin-dependent secondary growth determines root biomass in radish (*Raphanus sativus* L.) // *J Exp Bot*. 2015. Vol. 66, № 15. P. 4607-19.
246. Jasinski S, Piazza P, Craft J, Hay A, Woolley L, Rieu I, Phillips A, Hedden P, Tsiantis M. KNOX action in *Arabidopsis* is mediated by coordinate regulation of cytokinin and gibberellin activities // *Curr Biol*. 2005. Vol. 15, № 17. P. 1560-5.
247. Jeong YM, Kim N, Ahn BO, Oh M, Chung WH, Chung H, Jeong S, Lim KB, Hwang YJ, Kim GB, Baek S, Choi SB, Hyung DJ, Lee SW, Sohn SH, Kwon SJ, Jin M, Seol YJ, Chae WB, Choi KJ, Park BS, Yu HJ, Mun JH. Elucidating the triplicated ancestral genome structure of radish based on chromosome-level comparison with the *Brassica* genomes // *Theor Appl Genet*. 2016. Vol. 129, № 7. P. 1357-1372.
248. Jewaria PK, Hara T, Tanaka H, Kondo T, Betsuyaku S, Sawa S, Sakagami Y, Aimoto S, Kakimoto T. Differential effects of the peptides Stomagen, EPF1 and EPF2 on activation of MAP kinase MPK6 and the SPCH protein level // *Plant Cell Physiol*. 2013. Vol. 54, № 8. P. 1253-62.
249. Jia Z, Giehl RFH, Meyer RC, Altmann T, von Wirén N. Natural variation of BSK3 tunes brassinosteroid signaling to regulate root foraging under low nitrogen // *Nat Commun*. 2019. Vol. 10. P. 2378.
250. Jia Z, Giehl RFH, von Wirén N. Local auxin biosynthesis acts downstream of brassinosteroids to trigger root foraging for nitrogen // *Nat Commun*. 2021. Vol. 12, № 1. P. 5437.
251. Jia Z, Giehl RFH, von Wirén N. The root foraging response under low nitrogen depends on *DWARF1*-mediated brassinosteroid biosynthesis // *Plant Physiol*. 2020. Vol. 183. P. 998–1010.
252. Ji J, Strable J, Shimizu R, Koenig D, Sinha N, Scanlon MJ. WOX4 promotes procambial development // *Plant Physiol*. 2010. Vol. 152, № 3. P. 1346-56.
253. Jin Y.S., Seong E.S., Qu G.Z., Han W., Yoon B.S., Wang M.H. Cloning and morphological properties of *Nicgl;CYCD3;1* gene in genetic tumors from interspecific

- hybrid of *N. langsdorffii* and *N. glauca* // Plant Physiology. 2008. Vol. 165. P. 317-323.
254. Johnson KL, Kibble NA, Bacic A, Schultz CJ. A fasciclin-like arabinogalactan-protein (FLA) mutant of *Arabidopsis thaliana*, *fla1*, shows defects in shoot regeneration // PLoS One. 2011. Vol. 6, № 9. P. e25154.
255. Johnson LM, Du J, Hale CJ, Bischof S, Feng S, Chodavarapu RK, Zhong X, Marson G, Pellegrini M, Segal DJ, Patel DJ, Jacobsen SE. SRA- and SET-domain-containing proteins link RNA polymerase V occupancy to DNA methylation // Nature. 2014. Vol. 507, № 7490. P. 124-128.
256. Johnson LM, Law JA, Khattar A, Henderson IR, Jacobsen SE. SRA-domain proteins required for DRM2-mediated de novo DNA methylation // PLoS Genet. 2008. Vol. 4, № 11. P. e1000280.
257. Johnson RA, Conklin PA, Tjahjadi M, Missirian V, Toal T, Brady SM, Britt AB. SUPPRESSOR OF GAMMA RESPONSE1 Links DNA Damage Response to Organ Regeneration // Plant Physiol. 2018. Vol. 176, № 2. P. 1665-1675.
258. Johnston JC, Trione EJ. Cytokinin production by the fungi *Taphrina cerasi* and *T. deformans* // Can J Bot. 1974. Vol. 52. P. 1583–1589
259. Jorgensen RA, Dorantes-Acosta AE. Conserved Peptide Upstream Open Reading Frames are Associated with Regulatory Genes in Angiosperms // Front Plant Sci. 2012. Vol. 3. P. 191.
260. Jung CG, Hwang SG, Park YC, Park HM, Kim DS, Park DH, Jang CS. Molecular characterization of the cold- and heat-induced *Arabidopsis PXL1* gene and its potential role in transduction pathways under temperature fluctuations // J Plant Physiol. 2015. Vol. 176. P. 138-46.
261. Jung WY, Park HJ, Lee A, Lee SS, Kim YS, Cho HS. Identification of Flowering-Related Genes Responsible for Differences in Bolting Time between Two Radish Inbred Lines // Front Plant Sci. 2016. Vol. 7. P. 1844.
262. Jura-Morawiec, J.; Oskolski, A.; Simpson, P. Revisiting the Anatomy of the Monocot Cambium, a Novel Meristem // Planta. 2021. Vol. 254. P. 6.
263. Kageyama K, Asano T. Life cycle of *Plasmodiophora brassicae* // J Plant Growth Regul. 2009. Vol. 28. P. 203–211.
264. Kane NA, Jones CS, Vuorisalo T. Development of galls of *Alnus glutinosa* and *Alnus incana* (*Betulaceae*) caused by the eriophyid mite *Eriophyes laevis* (Nalepa) // Int J Plant Sci. 1997. Vol. 158. P. 13–23.
265. Kang, J.; Wang, X.; Ishida, T.; Grienenberger, E.; Zheng, Q.; Wang, J.; Zhang, Y.; Chen, W.; Chen, M.; Song, X.-F.; et al. A Group of CLE Peptides Regulates de Novo Shoot Regeneration in *Arabidopsis Thaliana* // New Phytol. 2022. Vol. 235. P. 2300–2312.
266. Karas B, Amyot L, Johansen C, Sato S, Tabata S, Kawaguchi M, Szczyglowski K. Conservation of lotus and *Arabidopsis* basic helix-loop-helix proteins reveals new players in root hair development // Plant Physiol. 2009. Vol. 151, № 3. P. 1175-85.
267. Kavas M, Kizildogan A, Gökdemir G, Baloglu MC. Genome-wide investigation and expression analysis of AP2-ERF gene family in salt tolerant common bean // EXCLI J. 2015. Vol. 14. P. 1187-206.

268. Kawabe A, Matsunaga S, Nakagawa K, Kurihara D, Yoneda A, Hasezawa S, Uchiyama S, Fukui K. Characterization of plant Aurora kinases during mitosis // *Plant Mol Biol*. 2005. Vol. 58, № 1. P. 1-13.
269. Kemper E., Waffenschmidt S., Weiler E.W., Raush T., Schroeder J. T-DNA-encoded auxin formation in crown gall cells // *Planta*. 1985. Vol. 163. P. 257-262.
270. Kim D., Langmead B., Salzberg S.L. HISAT: A Fast Spliced Aligner with Low Memory Requirements // *Nat. Methods*. 2015. Vol. 12. P. 357–360.
271. Kim J, Yang R, Chang C, Park Y, Tucker ML. The root-knot nematode *Meloidogyne incognita* produces a functional mimic of the *Arabidopsis* INFLORESCENCE DEFICIENT IN ABSCISSION signaling peptide // *J Exp Bot*. 2018. Vol. 69, № 12. P. 3009-3021.
272. Kim N, Jeong YM, Jeong S, Kim GB, Baek S, Kwon YE, Cho A, Choi SB, Kim J, Lim WJ, Kim KH, Park W, Kim JY, Kim JH, Yim B, Lee YJ, Chun BM, Lee YP, Park BS, Yu HJ, Mun JH. Identification of candidate domestication regions in the radish genome based on high-depth resequencing analysis of 17 genotypes // *Theor Appl Genet*. 2016. Vol. 129, № 9. P. 1797-814.
273. Kim, Y.; Lee, G.; Jeon, E.; Sohn, E.J.; Lee, Y.; Kang, H.; Lee, D.W.; Kim, D.H.; Hwang, I. The Immediate Upstream Region of the 5'-UTR from the AUG Start Codon Has a Pronounced Effect on the Translational Efficiency in *Arabidopsis thaliana* // *Nucleic Acids Res*. 2014. Vol. 42. P. 485–498.
274. Kim Y.S., Lee J.H., Yoon G.M., Cho H.S., Park S.W., Suh M.C., Choi D., Ha H.J., Liu J.R., Pai H.S. CHRK1, a chitinase-related receptor-like kinase in tobacco // *Plant Physiology*. 2000. Vol. 123. P. 905-915.
275. Kircher S, Schopfer P. Photosynthetic sucrose acts as cotyledon-derived long-distance signal to control root growth during early seedling development in *Arabidopsis* // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012. Vol. 109, № 28. P. 11217-21.
276. Kitakura S., Terakura S., Yoshioka Y., Machida C., Machida Y. Interaction between *Agrobacterium tumefaciens* oncoprotein 6b and a tobacco nucleolar protein that is homologous to TNP1 encoded by a transposable element of *Antirrhinum majus* // *Journal of plant research*. 2008. Vol. 121. P. 425-433.
277. Kitashiba H, Li F, Hirakawa H, Kawanabe T, Zou Z, Hasegawa Y, Tonosaki K, Shirasawa S, Fukushima A, Yokoi S, Takahata Y, Kakizaki T, Ishida M, Okamoto S, Sakamoto K, Shirasawa K, Tabata S, Nishio T. Draft sequences of the radish (*Raphanus sativus* L.) genome // *DNA Res*. 2014. Vol. 21, № 5. P. 481-90.
278. Kobelt P, Siemens J, Sacristan MD. Histological characterization of the incompatible interaction between *Arabidopsis thaliana* and the obligate biotrophic pathogen *Plasmodiophora brassicae* // *Mycol Res*. 2000. Vol. 2. P. 220–225.
279. Kondhare KR, Kumar A, Hannapel DJ, Banerjee AK. Conservation of polypyrimidine tract binding proteins and their putative target RNAs in several storage root crops // *BMC Genomics*. 2018. Vol. 19, № 1. P. 124.
280. Kondo Y, Hirakawa Y, Kieber JJ, Fukuda H. CLE peptides can negatively regulate protoxylem vessel formation via cytokinin signaling // *Plant Cell Physiol*. 2011. Vol. 52, № 1. P. 37-48.

281. Kondo Y, Ito T, Nakagami H, Hirakawa Y, Saito M, Tamaki T, Shirasu K, Fukuda H. Plant GSK3 proteins regulate xylem cell differentiation downstream of TDIF-TDR signaling // *Nat Commun*. 2014. Vol. 5. P. 3504.
282. Kong LJ, Orozco BM, Roe JL, Nagar S, Ou S, Feiler HS, Durfee T, Miller AB, Gruissem W, Robertson D, Hanley-Bowdoin L. A geminivirus replication protein interacts with the retinoblastoma protein through a novel domain to determine symptoms and tissue specificity of infection in plants // *EMBO J*. 2000. Vol. 19. P. 3485–3495.
283. Kong Z, Ioki M, Braybrook S, Li S, Ye ZH, Julie Lee YR, Hotta T, Chang A, Tian J, Wang G, Liu B. Kinesin-4 Functions in Vesicular Transport on Cortical Microtubules and Regulates Cell Wall Mechanics during Cell Elongation in Plants // *Mol Plant*. 2015. Vol. 8, № 7. P. 1011-23.
284. Kono A, Umeda-Hara C, Lee J, Ito M, Uchimiyama H, Umeda M. *Arabidopsis* D-type cyclin CYCD4;1 is a novel cyclin partner of B2-type cyclin-dependent kinase // *Plant Physiol*. 2003. Vol. 132, № 3. P.1315-21.
285. Kornet N, Scheres B. Members of the GCN5 histone acetyltransferase complex regulate PLETHORA-mediated root stem cell niche maintenance and transit amplifying cell proliferation in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. 2009. Vol. 21. P. 1070–1079.
286. Kosarev P, Mayer KF, Hardtke CS. Evaluation and classification of RING-finger domains encoded by the *Arabidopsis* genome // *Genome Biol*. 2002. Vol. 3, № 4. P. RESEARCH0016.
287. Krahmer J, Goraloglia GS, Kubota A, Zardilis A, Johnson RS, Song YH, MacCoss MJ, Le Bihan T, Halliday KJ, Imaizumi T, Millar AJ. Time-resolved interaction proteomics of the GIGANTEA protein under diurnal cycles in *Arabidopsis* // *FEBS Lett*. 2019. Vol. 593, № 3. P. 319-338.
288. Krogan NT, Marcos D, Weiner AI, Berleth T. The auxin response factor MONOPTEROS controls meristem function and organogenesis in both the shoot and root through the direct regulation of *PIN* genes // *New Phytol*. 2016. Vol. 212, № 1. P. 42-50.
289. Krupková E, Immerzeel P, Pauly M, Schmülling T. The *TUMOROUS SHOOT DEVELOPMENT2* gene of *Arabidopsis* encoding a putative methyltransferase is required for cell adhesion and coordinated plant development // *Plant J*. 2007. Vol. 50. P. 735–750.
290. Krupková E, Schmülling T. Developmental consequences of the tumorous shoot development1 mutation, a novel allele of the cellulose-synthesizing *KORRIGAN1* gene // *Plant Mol Biol*. 2009. Vol. 71, № 6. P. 641-55.
291. Ku AT, Huang YS, Wang YS, Ma D, Yeh KW. *IbMADS1* (*Ipomoea batatas MADS-box 1 gene*) is involved in tuberous root initiation in sweet potato (*Ipomoea batatas*) // *Ann Bot*. 2008. Vol. 102, № 1. P. 57-67.
292. Kubo M, Udagawa M, Nishikubo N, Horiguchi G, Yamaguchi M, Ito J, Mimura T, Fukuda H, Demura T. Transcription switches for protoxylem and metaxylem vessel formation // *Genes Dev*. 2005. Vol. 19, № 16. P. 1855-60.

293. Kucukoglu M, Nilsson J, Zheng B, Chaabouni S, Nilsson O. *WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN4 (WOX4)-like* genes regulate cambial cell division activity and secondary growth in *Populus* trees // *New Phytol.* 2017. Vol. 215, № 2. P. 642-657.
294. Kuhlmann M, Mette MF. Developmentally non-redundant SET domain proteins SUVH2 and SUVH9 are required for transcriptional gene silencing in *Arabidopsis thaliana* // *Plant Mol Biol.* 2012. Vol. 79, № 6. P. 623-33.
295. Kumar P, Ginzberg I. Potato Periderm Development and Tuber Skin Quality // *Plants (Basel).* 2022. Vol. 11, № 16. P. 2099.
296. Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets // *Mol Biol Evol.* 2016. Vol. 33, № 7. P. 1870-1874.
297. Kuroha T, Tokunaga H, Kojima M, Ueda N, Ishida T, Nagawa S, Fukuda H, Sugimoto K, Sakakibara H. Functional analyses of LONELY GUY cytokinin-activating enzymes reveal the importance of the direct activation pathway in *Arabidopsis* // *Plant Cell.* 2009. Vol. 21, № 10. P. 3152-69.
298. Kuznetsova K., Dodueva I., Gancheva M., Lutova L. Transcriptomic Analysis of Radish (*Raphanus sativus* L.) Roots with *CLE41* Overexpression // *Plants (Basel).* 2022. Vol. 11, № 16. P. 2163.
299. Kuznetsova KA, Dodueva IE, Lutova LA. The homeodomain of the *Raphanus sativus* WOX4 binds to the promoter of the *LOG3* cytokinin biosynthesis gene // *Ecological genetics.* 2024b. Vol. 22, № 1. P. 33–46.
300. Kuznetsova, K., Efremova, E., Dodueva, I., Lebedeva, M., Lutova, L. Functional Modules in the Meristems: “Tinkering” in Action // *Plants.* 2023. Vol. 12. P. 3661.
301. Kuznetsova, X.; Dodueva, I.; Afonin, A.; Gribchenko, E.; Danilov, L.; Gancheva, M.; Tvorogova, V.; Galynin, N.; Lutova, L. Whole-Genome Sequencing and Analysis of Tumour-Forming Radish (*Raphanus sativus* L.) Line // *Int. J. Mol. Sci.* 2024a. Vol. 25. P. 6236.
302. Kyndt T, Goverse A, Haegeman A, Warmerdam S, Wanjau C, Jahani M, Engler G, de Almeida Engler J, Gheysen G. Redirection of auxin flow in *Arabidopsis thaliana* roots after infection by root-knot nematodes // *J Exp Bot.* 2016. Vol. 67, № 15. P. 4559-70.
303. Lakehal A, Dob A, Rahnesan Z, Novák O, Escamez S, Alallaq S, Strnad M, Tuominen H, Bellini C. ETHYLENE RESPONSE FACTOR 115 integrates jasmonate and cytokinin signaling machineries to repress adventitious rooting in *Arabidopsis* // *New Phytol.* 2020. Vol. 228, № 5. P. 1611-1626.
304. Laplaze L., Benková E., Casimiro I., Maes L., Vanneste S., Swarup R., Weijers D., Calvo V., Parizot B., Herrera-Rodriguez M.B., Offringa R., Graham N., Doumas P., Friml J., Bogusz D., Beekman T., Bennett M. Cytokinins act directly on lateral root founder cells to inhibit root initiation // *Plant Cell.* 2007. Vol. 19. P. 3889–3900.
305. Larson-Rabin Z, Li Z, Masson PH, Day CD. *FZR2/CCS52A1* expression is a determinant of endoreduplication and cell expansion in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* 2009. Vol. 149, № 2. P. 874-84.
306. Latham JR, Saunders K, Pinner MS, Stanley J. Induction of plant cell division by beet curly top virus gene C4 // *Plant J.* 1997. Vol. 11. P. 1273–1283.
307. Lebedeva Osipova MA, Tvorogova VE, Vinogradova AP, Gancheva MS, Azarakhsh

- M, Ilina EL, Demchenko KN, Dodueva IE, Lutova LA. Initiation of spontaneous tumors in radish (*Raphanus sativus*): Cellular, molecular and physiological events // J Plant Physiol. 2015. Vol. 173. P. 97-104.
308. Lee C, Chronis D, Kenning C, Peret B, Hewezi T, Davis EL, Baum TJ, Hussey R, Bennett M, Mitchum MG. The novel cyst nematode effector protein 19C07 interacts with the *Arabidopsis* auxin influx transporter LAX3 to control feeding site development // Plant Physiol. 2011. Vol. 155, № 2. P. 866-80.
309. Lee J, Oh M, Park H, Lee I. SOC1 translocated to the nucleus by interaction with AGL24 directly regulates leafy // Plant J. 2008. Vol. 55, № 5. P. 832-43.
310. Lee J.H., Kim D.-M., Lim Y.P., Pai H.-S. The shooty callus induced by suppression of tobacco CHRK1 receptor-like kinase is a phenocopy of the tobacco genetic tumor // Plant Cell Reports. 2004. Vol. 23. P. 397-403.
311. Lee J.H., Takei K., Sakakibara H., Sun Cho H., Kim do M., Kim Y.S., Min S.R., Kim W.T., Sohn D.Y., Lim Y.P., Pai H.-S. CHRK1, a chitinase-related receptor-like kinase, plays a role in plant development and cytokinin homeostasis in tobacco // Plant Molecular Biology. 2003. Vol. 53. P. 877-890.
312. Lee JS, Torii KU. A tale of two systems: peptide ligand-receptor pairs in plant development // Cold Spring Harb Symp Quant Biol. 2012. Vol. 77. P. 83-9.
313. Lee M, Jung JH, Han DY, Seo PJ, Park WJ, Park CM. Activation of a flavin monooxygenase gene *YUCCA7* enhances drought resistance in *Arabidopsis* // Planta. 2012. Vol. 235, № 5. P. 923-38.
314. Lee R, Baldwin S, Kenel F, McCallum J, Macknight R. *FLOWERING LOCUS T* genes control onion bulb formation and flowering // Nat Commun. 2013. Vol. 4. P. 2884.
315. Lee ZH, Hirakawa T, Yamaguchi N, Ito T. The Roles of Plant Hormones and Their Interactions with Regulatory Genes in Determining Meristem Activity // Int J Mol Sci. 2019. Vol. 20, № 16. P. 4065.
316. Leibfried A, To JP, Busch W, Stehling S, Kehle A, Demar M, Kieber JJ, Lohmann JU. WUSCHEL controls meristem function by direct regulation of cytokinin-inducible response regulators // Nature. 2005. Vol. 438, № 7071. P. 1172-5.
317. Lev-Yadun S., Aloni R. Vascular Differentiation in Branch Junctions of Trees: Circular Patterns and Functional Significance // Trees. 1990. Vol. 4. P. 49–54.
318. Lewis-Jones LJ, Thorpe JP, Wallis GP. Genetic divergence in four species of the genus *Raphanus*: implications for the ancestry of the domestic radish *R. sativus* // Biol J Linn Soc. 1982. Vol. 18. P. 35–48.
319. Liebsch D, Sunaryo W, Holmlund M, Norberg M, Zhang J, Hall HC, Helizon H, Jin X, Helariutta Y, Nilsson O, Polle A, Fischer U. Class I KNOX transcription factors promote differentiation of cambial derivatives into xylem fibers in the *Arabidopsis* hypocotyl // Development. 2014. Vol. 141, № 22. P. 4311-9.
320. Lilay GH, Castro PH, Campilho A, Assunção AGL. The *Arabidopsis* bZIP19 and bZIP23 Activity Requires Zinc Deficiency - Insight on Regulation From Complementation Lines // Front Plant Sci. 2019. Vol. 9. P. 1955.
321. Lilay GH, Castro PH, Guedes JG, Almeida DM, Campilho A, Azevedo H, Aarts MGM, Saibo NJM, Assunção AGL. Rice F-bZIP transcription factors regulate the

- zinc deficiency response // *J Exp Bot.* 2020. Vol. 71, № 12. P. 3664-3677.
- 322.Li M, Liu C, Hepworth SR, Ma C, Li H, Li J, Wang SM, Yin H. SAUR15 interaction with BRI1 activates plasma membrane H⁺-ATPase to promote organ development of *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* 2022. Vol. 189, № 4. P. 2454-2466.
- 323.Li S, Ge FR, Xu M, Zhao XY, Huang GQ, Zhou LZ, Wang JG, Kombrink A, McCormick S, Zhang XS, Zhang Y. *Arabidopsis* COBRA-LIKE 10, a GPI-anchored protein, mediates directional growth of pollen tubes // *Plant J.* 2013. Vol. 74, № 3. P. 486-97.
- 324.Li X, Cheng Y, Wang M, Cui S, Guan J. Weighted gene coexpression correlation network analysis reveals a potential molecular regulatory mechanism of anthocyanin accumulation under different storage temperatures in 'Friar' plum // *BMC Plant Biol.* 2021. Vol. 21, № 1. P. 576.
- 325.Li X, Chen T, Li Y, Wang Z, Cao H, Chen F, Li Y, Soppe WJJ, Li W, Liu Y. ETR1/RDO3 Regulates Seed Dormancy by Relieving the Inhibitory Effect of the ERF12-TPL Complex on DELAY OF GERMINATION1 Expression // *Plant Cell.* 2019. Vol. 31, № 4. P. 832-847.
- 326.Li X, Wang J, Qiu Y, Wang H, Wang P, Zhang X, Li C, Song J, Gui W, Shen D, Yang W, Cai B, Liu L, Li X. SSR-Sequencing Reveals the Inter- and Intraspecific Genetic Variation and Phylogenetic Relationships among an Extensive Collection of Radish (*Raphanus*) Germplasm Resources // *Biology (Basel).* 2021. Vol. 10, № 12. P. 1250.
- 327.Lin C, Choi HS, Cho HT. Root hair-specific EXPANSIN A7 is required for root hair elongation in *Arabidopsis* // *Mol Cells.* 2011. Vol. 31, № 4. P. 393-7.
- 328.Lin Q, Ohashi Y, Kato M, Tsuge T, Gu H, Qu LJ, Aoyama T. GLABRA2 Directly Suppresses Basic Helix-Loop-Helix Transcription Factor Genes with Diverse Functions in Root Hair Development // *Plant Cell.* 2015. Vol. 27, № 10. P. 2894-906.
- 329.Lin T, Sharma P, Gonzalez DH, Viola IL, Hannapel DJ. The impact of the long-distance transport of a BEL1-like messenger RNA on development // *Plant Physiol.* 2013. Vol. 161, № 2. P. 760-72.
- 330.Lin Z, Yin K, Wang X, Liu M, Chen Z, Gu H, Qu LJ. Virus induced gene silencing of AtCDC5 results in accelerated cell death in *Arabidopsis* leaves // *Plant Physiol Biochem.* 2007a. Vol. 45, № 1. P. 87-94.
- 331.Lin Z, Yin K, Zhu D, Chen Z, Gu H, Qu LJ. AtCDC5 regulates the G2 to M transition of the cell cycle and is critical for the function of *Arabidopsis* shoot apical meristem // *Cell Res.* 2007b. Vol. 17, № 9. P. 815-28.
- 332.Liscum E, Reed JW. Genetics of Aux/IAA and ARF action in plant growth and development // *Plant Mol Biol.* 2002. Vol. 49, № 3-4. P. 387-400.
- 333.Littau VC, Black LM. Spontaneous tumors in sweet clover // *Am J Bot.* 1952. Vol. 39. P. 191-194.
- 334.Liu Q, Luo L, Zheng L. Lignins: Biosynthesis and Biological Functions in Plants // *Int J Mol Sci.* 2018. Vol. 19, № 2. P. 335.
- 335.Liu S, Jia J, Gao Y, Zhang B, Han Y. The AtTudor2, a protein with SN-Tudor domains, is involved in control of seed germination in *Arabidopsis* // *Planta.* 2010. Vol. 232, № 1. P. 197-207.

336. Liu W, Xu L, Lin H, Cao J. Two Expansin Genes, *AtEXPA4* and *AtEXPB5*, Are Redundantly Required for Pollen Tube Growth and *AtEXPA4* Is Involved in Primary Root Elongation in *Arabidopsis thaliana* // *Genes* (Basel). 2021. Vol. 12, № 2. P. 249.
337. Liu ZW, Shao CR, Zhang CJ, Zhou JX, Zhang SW, Li L, Chen S, Huang HW, Cai T, He XJ. The SET domain proteins SUVH2 and SUVH9 are required for Pol V occupancy at RNA-directed DNA methylation loci // *PLoS Genet*. 2014. Vol. 10, № 1. P. e1003948.
338. Liu ZW, Zhou JX, Huang HW, Li YQ, Shao CR, Li L, Cai T, Chen S, He XJ. Two Components of the RNA-Directed DNA Methylation Pathway Associate with MORC6 and Silence Loci Targeted by MORC6 in *Arabidopsis* // *PLoS Genet*. 2016. Vol.12, № 5. P. e1006026.
339. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method // *Methods*. 2001. Vol. 25. P. 402–408.
340. Lohmann JU, Hong RL, Hobe M, Busch MA, Parcy F, Simon R, Weigel D. A molecular link between stem cell regulation and floral patterning in *Arabidopsis* // *Cell*. 2001. Vol. 105, № 6. P. 793-803.
341. Lopes ST, Sobral D, Costa B, Perdiguero P, Chaves I, Costa A, Miguel CM. Phellem versus xylem: genome-wide transcriptomic analysis reveals novel regulators of cork formation in cork oak // *Tree Physiol*. 2020. Vol. 40, № 2. P. 129-141.
342. Lopez-Bucio J, Millán-Godínez M, Méndez-Bravo A, Morquecho-Contreras A, Ramírez-Chávez E, Molina-Torres J, Pérez-Torres A, Higuchi M, Kakimoto T, Herrera-Estrella L. Cytokinin receptors are involved in alkamide regulation of root and shoot development in *Arabidopsis* // *Plant Physiol*. 2007. Vol. 145. P. 1703–1713.
343. Lopato S, Bazanova N, Morran S, Milligan AS, Shirley N, Langridge P. Isolation of plant transcription factors using a modified yeast one-hybrid system // *Plant Methods*. 2006. Vol. 2. P. 3
344. Love J, Björklund S, Vahala J, Hertzberg M, Kangasjärvi J, Sundberg B. Ethylene is an endogenous stimulator of cell division in the cambial meristem of *Populus* // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009. Vol. 106, № 14. P. 5984-9.
345. Love M.I., Huber W., Anders S. Moderated Estimation of Fold Change and Dispersion for RNA-Seq Data with DESeq2 // *Genome Biol*. 2014. Vol. 15. P. 550.
346. Lozano-Sotomayor P, Chávez Montes RA, Silvestre-Vañó M, Herrera-Ubaldo H, Greco R, Pablo-Villa J, Galliani BM, Diaz-Ramirez D, Weemen M, Boutilier K, Pereira A, Colombo L, Madueño F, Marsch-Martínez N, de Folter S. Altered expression of the bZIP transcription factor DRINK ME affects growth and reproductive development in *Arabidopsis thaliana* // *Plant J*. 2016. Vol. 88, № 3. P. 437-451.
347. Lu W, Deng F, Jia J, Chen X, Li J, Wen Q, Li T, Meng Y, Shan W. The *Arabidopsis thaliana* gene *AtERF019* negatively regulates plant resistance to *Phytophthora parasitica* by suppressing PAMP-triggered immunity // *Mol Plant Pathol*. 2020. Vol. 21, № 9. P. 1179-1193.
348. Lv MF, Xie L, Song XJ, Hong J, Mao QZ, Wei TY, Chen JP, Zhang HM. Phloem-limited reoviruses universally induce sieve element hyperplasia and more flexible

- gateways, providing more channels for their movement in plants // *Sci Rep.* 2017. Vol. 7. P. 16467.
349. Lyu G, Li D, Li S. Bioinformatics analysis of *BBX* family genes and its response to UV-B in *Arabidopsis thaliana* // *Plant Signal Behav.* 2020. Vol. 15, № 9. P. 1782647.
350. Ma J, Ptashne M. Deletion analysis of GAL4 defines two transcriptional activating segments // *Cell.* 1987. Vol. 48, № 5. P. 847-53.
351. Malinowski R, Smith JA, Fleming AJ, Scholes JD, Rolfe SA. Gall formation in clubroot-infected *Arabidopsis* results from an increase in existing meristematic activities of the host but is not essential for the completion of the pathogen life cycle // *Plant J.* 2012. Vol. 71. P. 226–238.
352. Mantegazza O, Gregis V, Mendes MA, Morandini P, Alves-Ferreira M, Patreze CM, Nardeli SM, Kater MM, Colombo L. Analysis of the *arabidopsis REM* gene family predicts functions during flower development // *Ann Bot.* 2014. Vol. 114, № 7. P. 1507-15.
353. Mao Y, Pavangadkar KA, Thomashow MF, Triezenberg SJ. Physical and functional interactions of *Arabidopsis* ADA2 transcriptional coactivator proteins with the acetyltransferase GCN5 and with the cold-induced transcription factor CBF1 // *Biochim Biophys Acta.* 2006. Vol. 1759. P. 69–79.
354. Martin-Arevalillo R, Nanao MH, Larrieu A, Vinos-Poyo T, Mast D, Galvan-Ampudia C, Brunoud G, Vernoux T, Dumas R, Parcy F. Structure of the *Arabidopsis* TOPLESS corepressor provides insight into the evolution of transcriptional repression // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2017. Vol. 114, № 30. P. 8107-8112.
355. Martinez-Garcia M, Schubert V, Osman K, Darbyshire A, Sanchez-Moran E, Franklin FCH. TOPII and chromosome movement help remove interlocks between entangled chromosomes during meiosis // *J Cell Biol.* 2018. Vol. 217, № 2. P. 4070-4079.
356. Martinez-Garcia M, White CI, Franklin FCH, Sanchez-Moran E. The Role of Topoisomerase II in DNA Repair and Recombination in *Arabidopsis thaliana* // *Int J Mol Sci.* 2021. Vol. 22, № 23. P. 13115.
357. Masachis S, Segorbe D, Turrà D, Leon-Ruiz M, Fürst U, El Ghalid M, Leonard G, López-Berges MS, Richards TA, Felix G, Di Pietro A. A fungal pathogen secretes plant alkalizing peptides to increase infection // *Nat Microbiol.* 2016. Vol. 1, № 6. P. 16043.
358. Mason MG, Li J, Mathews DE, Kieber JJ, Schaller GE. Type-B response regulators display overlapping expression patterns in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* 2004. Vol. 135, № 2. P. 927-37.
359. Masubelele NH, Dewitte W, Menges M, Maughan S, Collins C, Huntley R, Nieuwland J, Scofield S, Murray JA. D-type cyclins activate division in the root apex to promote seed germination in *Arabidopsis* // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005. Vol. 102, № 43. P. 15694-9.
360. Matsumoto-Kitano M, Kusumoto T, Tarkowski P, Kinoshita-Tsujimura K, Václavíková K, Miyawaki K, Kakimoto T. Cytokinins are central regulators of cambial activity // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008. Vol. 105, № 50. P. 20027-31.
361. Matveeva T, Otten L. Opine biosynthesis in naturally transgenic plants: Genes and products // *Phytochemistry.* 2021. Vol. 189. P. 112813.

362. Matveeva T.V., Frolova N.V., Smets R., Dodueva I.E., Buzovkina I.S., Van Onckelen H., Lutova L.A. Hormonal control of tumor formation in radish // *Journal of Plant Growth Regulation*. 2004. Vol. 23. P. 37-43.
363. Mauriat M, Moritz T. Analyses of GA20ox- and GID1-over-expressing aspen suggest that gibberellins play two distinct roles in wood formation // *Plant J*. 2009. Vol. 58, № 6. P. 989-1003.
364. Meins F.J., Tomas M. Meiotic transmission of epigenetic changes in the cell-division factor requirement of plant cells // *Development*. 2003. Vol. 130. P. 6201-6208.
365. Menges M, Samland AK, Planchais S, Murray JA. The D-type cyclin CYCD3;1 is limiting for the G1-to-S-phase transition in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. 2006. Vol. 18, № 4. P. 893-906.
366. Meng WJ, Cheng ZJ, Sang YL, Zhang MM, Rong XF, Wang ZW, Tang YY, Zhang XS. Type-B ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATORS Specify the Shoot Stem Cell Niche by Dual Regulation of *WUSCHEL* // *Plant Cell*. 2017. Vol. 29, № 6. P. 1357-1372.
367. Meng X, Li L, De Clercq I, Narsai R, Xu Y, Hartmann A, Claros DL, Custovic E, Lewsey MG, Whelan J, Berkowitz O. ANAC017 Coordinates Organellar Functions and Stress Responses by Reprogramming Retrograde Signaling // *Plant Physiol*. 2019. Vol. 180, № 1. P. 634-653.
368. Meyerowitz EM. Plants compared to animals: the broadest comparative study of development // *Science*. 2002. Vol. 295, № 5559. P. 1482-5.
369. Michaels SD, Ditta G, Gustafson-Brown C, Pelaz S, Yanofsky M, Amasino RM. AGL24 acts as a promoter of flowering in *Arabidopsis* and is positively regulated by vernalization // *Plant J*. 2003. Vol. 33, № 5. P. 867-74.
370. Millar AA, Gubler F. The *Arabidopsis* *GAMYB-like* genes, *MYB33* and *MYB65*, are microRNA-regulated genes that redundantly facilitate anther development // *Plant Cell*. 2005. Vol. 17, № 3. P. 705-21.
371. Mills-Lujan K, Deom CM. Geminivirus C4 protein alters *Arabidopsis* development // *Protoplasma*. 2010. Vol. 239. P. 95-110.
372. Miransari M, Abrishamchi A, Khoshbakht K, Niknam V. Plant hormones as signals in arbuscular mycorrhizal symbiosis // *Crit Rev Biotechnol*. 2014. Vol. 34. P. 123-133.
373. Mira-Rodado V, Veerabagu M, Witthöft J, Teply J, Harter K, Desikan R. Identification of two-component system elements downstream of AHK5 in the stomatal closure response of *Arabidopsis thaliana* // *Plant Signal Behav*. 2012. Vol. 7, № 11. P. 1467-76.
374. Mitchum MG, Wang X, Wang J, Davis EL. Role of nematode peptides and other small molecules in plant parasitism // *Annu Rev Phytopathol*. 2012. Vol. 50. P. 175-95.
375. Miyashima S, Roszak P, Sevilem I, Toyokura K, Blob B, Heo JO, Mellor N, Help-Rinta-Rahko H, Otero S, Smet W, Boekschoten M, Hooiveld G, Hashimoto K, Smetana O, Siligato R, Wallner ES, Mähönen AP, Kondo Y, Melnyk CW, Greb T, Nakajima K, Sozzani R, Bishopp A, De Rybel B, Helariutta Y. Mobile PEAR transcription factors integrate positional cues to prime cambial growth // *Nature*. 2019. Vol. 565, № 7740. P. 490-494.

376. Moriuchi H., Okamoto C., Nishihama R., Yamashita I., Machida Y., Tanaka N. Nuclear localization and interaction of RolB with plant 14-3-3 proteins correlates with induction of adventitious roots by the oncogene *rolB* // *Plant Journal*. 2004. Vol. 38. P. 260-275.
377. Morrison EN, Emery RJ, Saville BJ. Phytohormone involvement in the *Ustilago maydis*—*Zea mays* pathosystem: relationships between abscisic acid and cytokinin levels and strain virulence in infected cob tissue // *PLoS One*. 2015. Vol. 10. P. e0130945.
378. Mouchel CF, Briggs GC, Hardtke CS. Natural genetic variation in *Arabidopsis* identifies BREVIS RADIX, a novel regulator of cell proliferation and elongation in the root // *Genes Dev*. 2004. Vol. 18, № 6. P. 700-14.
379. Müller S, Livanos P. Plant Kinesin-12: Localization Heterogeneity and Functional Implications // *Int J Mol Sci*. 2019. Vol. 20, № 17. P. 4213.
380. Murashige, T., Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiologia Plantarum*. 1962. Vol. 15. P. 473–497.
381. Naf U. Studies in tumor formation in *Nicotiana* hybrids. The classification of parents into two etiologically significant groups // *Growth*. 1958. Vol. 22. P. 167-180.
382. Nakamura M, Katsumata H, Abe M, Yabe N, Komeda Y, Yamamoto KT, Takahashi T. Characterization of the class IV homeodomain-Leucine Zipper gene family in *Arabidopsis* // *Plant Physiol*. 2006. Vol. 141, № 4. P. 1363-75.
383. Natarajan B, Kondhare KR, Hannapel DJ, Banerjee AK. Mobile RNAs and proteins: Prospects in storage organ development of tuber and root crops // *Plant Sci*. 2019. Vol. 284. P. 73-81.
384. Navarro C, Abelenda JA, Cruz-Oró E, Cuéllar CA, Tamaki S, Silva J, Shimamoto K, Prat S. Control of flowering and storage organ formation in potato by FLOWERING LOCUS T // *Nature*. 2011. Vol. 478, № 7367. P. 119-22.
385. Nguyen KH, Ha CV, Nishiyama R, Watanabe Y, Leyva-González MA, Fujita Y, Tran UT, Li W, Tanaka M, Seki M, Schaller GE, Herrera-Estrella L, Tran LS. *Arabidopsis* type B cytokinin response regulators ARR1, ARR10, and ARR12 negatively regulate plant responses to drought // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2016. Vol. 113, № 11. P. 3090-5.
386. Nibau C, Gibbs DJ, Bunting KA, Moody LA, Smiles EJ, Tubby JA, Bradshaw SJ, Coates JC. ARABIDILLO proteins have a novel and conserved domain structure important for the regulation of their stability // *Plant Mol Biol*. 2011. Vol. 75, № 1-2. P. 77-92.
387. Niehaus EM, Münsterkötter M, Proctor RH, Brown DW, Sharon A, Idan Y, Oren-Young L, Sieber CM, Novák O, Pěňčík A, Tarkowská D, Hromadová K, Freeman S, Maymon M, Elazar M, Youssef SA, El-Shabrawy ES, Shalaby AB, Houterman P, Brock NL, Burkhardt I, Tsavkelova EA, Dickschat JS, Galuszka P, Güldener U, Tudzynski B. Comparative "omics" of the *Fusarium fujikuroi* species complex highlights differences in genetic potential and metabolite synthesis // *Genome Biol Evol*. 2016. Vol. 8. P. 3574–3599.
388. Nieminen K, Blomster T, Helariutta Y, Mähönen AP. Vascular Cambium Development // *Arabidopsis Book*. 2015. Vol. 13. P. e0177.

389. Nieuwland J, Maughan S, Dewitte W, Scofield S, Sanz L, Murray JA. The D-type cyclin CYCD4;1 modulates lateral root density in *Arabidopsis* by affecting the basal meristem region // Proc Natl Acad Sci U S A. 2009. Vol. 106, № 52. P. 22528-33.
390. Noh SA, Lee HS, Huh EJ, Huh GH, Paek KH, Shin JS, Bae JM. SRD1 is involved in the auxin-mediated initial thickening growth of storage root by enhancing proliferation of metaxylem and cambium cells in sweetpotato (*Ipomoea batatas*) // J Exp Bot. 2010. Vol. 61, № 5. P. 1337-49.
391. Noy-Porat T, Cohen D, Mathew D, Eshel A, Kamenetsky R, Flaishman MA. Turned on by heat: differential expression of *FT* and *LFY-like* genes in *Narcissus tazetta* during floral transition // J Exp Bot. 2013. Vol. 64, № 11. P. 3273-84.
392. O'Malley RC, Rodriguez FI, Esch JJ, Binder BM, O'Donnell P, Klee HJ, Bleecker AB. Ethylene-binding activity, gene expression levels, and receptor system output for ethylene receptor family members from *Arabidopsis* and tomato // Plant J. 2005. Vol. 41, № 5. P. 651-9.
393. Ohashi-Ito K, Oda Y, Fukuda H. *Arabidopsis* VASCULAR-RELATED NAC-DOMAIN6 directly regulates the genes that govern programmed cell death and secondary wall formation during xylem differentiation // Plant Cell. 2010. Vol. 22, № 10. P. 3461-73.
394. Ohashi-Ito K, Oguchi M, Kojima M, Sakakibara H, Fukuda H. Auxin-associated initiation of vascular cell differentiation by LONESOME HIGHWAY // Development. 2013. Vol. 140, № 4. P. 765-9.
395. Oh SA, Hoai TNT, Park HJ, Zhao M, Twell D, Honys D, Park SK. MYB81, a microspore-specific GAMYB transcription factor, promotes pollen mitosis I and cell lineage formation in *Arabidopsis* // Plant J. 2020. Vol. 101, № 3. P. 590-603.
396. Osipova M.A., Mortier V., Demchenko K.N., Tsyganov V.E., Tikhonovich I.A., Lutova L.A., Dolgikh E.A., Goormachtig S. *WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN5* gene expression and interaction of CLE peptides with components of the systemic control add two pieces to the puzzle of autoregulation of nodulation // Plant Physiol. 2012. Vol. 158. P. 1329–1341.
397. Otten L. The *Agrobacterium* Phenotypic Plasticity (Plast) Genes // Curr Top Microbiol Immunol. 2018. Vol. 418. P. 375-419.
398. Palma K, Zhao Q, Cheng YT, Bi D, Monaghan J, Cheng W, Zhang Y, Li X. Regulation of plant innate immunity by three proteins in a complex conserved across the plant and animal kingdoms // Genes Dev. 2007. Vol. 21, № (12):1484-93.
399. Palomares-Rius JE, Escobar C, Cabrera J, Vovlas A, Castillo P. Anatomical alterations in plant tissues induced by plant-parasitic nematodes // Front Plant Sci. 2017. Vol. 8. P. 1987.
400. Paponova SS, Chetverikov PE, Pautov AA, Yakovleva OV, Zukof SN, Vishnyakov AE, Sukhareva SI, Krylova EG, Dodueva IE, Lutova LA. Gall mite *Fragariocoptes setiger* (*Eriophyoidea*) changes leaf developmental program and regulates gene expression in the leaf tissues of *Fragaria viridis* (*Rosaceae*) // Ann App Biol. 2017. Vol. 172. P. 33–46.
401. Paredes AR, Persson S, Ehrhardt DW, Somerville CR. Genetic evidence that cellulose synthase activity influences microtubule cortical array organization // Plant Physiol.

2008. Vol. 147. P. 1723–1734.
402. Parizot B., Laplaze L., Ricaud L., Boucheron Dubuisson E., Bayle V., Bonke M., de Smet I., Poethig S.R., Helariutta Y., Haseloff J., Chriqui D., Beeckman T., Nussaume L. Diarch symmetry of the vascular bundle in *Arabidopsis* root encompasses the pericycle and is reflected in distich lateral root initiation // *Plant Physiol.* 2008. Vol. 146. P. 140–148.
403. Park, J.-E., Kim, Y.-S., Yoon, H.-K., Park, C.-M. Functional characterization of a small auxin-up RNA gene in apical hook development in *Arabidopsis* // *Plant Science.* 2007. Vol. 172, № 1. P. 150–157.
404. Paul P, Simm S, Mirus O, Scharf KD, Fragkostefanakis S, Schleiff E. The complexity of vesicle transport factors in plants examined by orthology search // *PLoS One.* 2014. Vol. 9, № 5. P. e97745.
405. Pelagio-Flores R, Ortiz-Castro R, López-Bucio J. *dhm1*, an *Arabidopsis* mutant with increased sensitivity to alkamides shows tumorous shoot development and enhanced lateral root formation // *Plant Mol Biol.* 2013. Vol. 81, № 6. P. 609-25.
406. Pereira AM, Masiero S, Nobre MS, Costa ML, Solís MT, Testillano PS, Sprunck S, Coimbra S. Differential expression patterns of arabinogalactan proteins in *Arabidopsis thaliana* reproductive tissues // *J Exp Bot.* 2014. Vol. 65, № 18. P. 5459-71.
407. Perteu M., Perteu G.M., Antonescu C.M., Chang T.-C., Mendell J.T., Salzberg S.L. StringTie Enables Improved Reconstruction of a Transcriptome from RNA-Seq Reads // *Nat. Biotechnol.* 2015. Vol. 33. P. 290–295.
408. Pfister B, Zeeman SC. Formation of starch in plant cells // *Cell Mol Life Sci.* 2016. Vol. 73, № 14. P. 2781-807.
409. Pflüger J, Wagner D. Histone modifications and dynamic regulation of genome accessibility in plants // *Curr Opin Plant Biol.* 2007 Vol. 10, № 6. P. 645-52.
410. Pham J, Desikan R. Modulation of ROS production and hormone levels by AHK5 during abiotic and biotic stress signaling // *Plant Signal Behav.* 2012. Vol. 7, № 8. P. 893-7.
411. Pi L, Aichinger E, van der Graaff E, Llavata-Peris CI, Weijers D, Hennig L, Groot E, Laux T. Organizer-Derived WOX5 Signal Maintains Root Columella Stem Cells through Chromatin-Mediated Repression of *CDF4* Expression // *Dev Cell.* 2015. Vol. 33, № 5. P. 576-88.
412. Pin PA, Benlloch R, Bonnet D, Wremerth-Weich E, Kraft T, Gielen JJ, Nilsson O. An antagonistic pair of FT homologs mediates the control of flowering time in sugar beet // *Science.* 2010. Vol. 330, № 6009. P. 1397-400.
413. Piroux N, Saunders K, Page A, Stanley J. Geminivirus pathogenicity protein C4 interacts with *Arabidopsis thaliana* shaggy-related protein kinase AtSKeta, a component of the brassinosteroid signalling pathway // *Virology.* 2007. Vol. 362, № 2. P. 428-40.
414. Pitzschke A., Hirt H. New insights into an old story: *Agrobacterium*-induced tumour formation in plants by plant transformation // *EMBO Journal.* 2010. Vol. 29. P. 1021-1032.

415. Plesch G, Störmann K, Torres JT, Walden R, Somssich IE. Developmental and auxin-induced expression of the *Arabidopsis prha* homeobox gene // *Plant J.* 1997. Vol. 12, № 3. P. 635-47.
416. Potocka I, Baldwin TC, Kurczynska EU. Distribution of lipid transfer protein 1 (LTP1) epitopes associated with morphogenic events during somatic embryogenesis of *Arabidopsis thaliana* // *Plant Cell Rep.* 2012. Vol. 31, № 11. P. 2031-45.
417. Pradillo M, Knoll A, Oliver C, Varas J, Corredor E, Puchta H, Santos JL. Involvement of the Cohesin Cofactor PDS5 (SPO76) During Meiosis and DNA Repair in *Arabidopsis thaliana* // *Front Plant Sci.* 2015. Vol. 6. P. 1034.
418. Qian J, Chen Y, Xu Y, Zhang X, Kang Z, Jiao J, Zhao J. Interactional similarities and differences in the protein complex of PCNA and DNA replication factor C between rice and *Arabidopsis* // *BMC Plant Biol.* 2019. Vol. 19, № 1. P. 257.
419. Qiu T, Chen Y, Li M, Kong Y, Zhu Y, Han N, Bian H, Zhu M, Wang J. The tissue-specific and developmentally regulated expression patterns of the *SAUR41* subfamily of small auxin up RNA genes: potential implications // *Plant Signal Behav.* 2013. Vol. 8, № 8. P.e25283.
420. Qu G., Heo S., Yoon B.-S., Wang M.H. The effects of exogenous hormones on genetic tumor formation in *Nicotiana* hybrids // *EXCLI Journal.* 2006. Vol. 5. P. 33-41.
421. Qu X, Hall BP, Gao Z, Schaller GE. A strong constitutive ethylene-response phenotype conferred on *Arabidopsis* plants containing null mutations in the ethylene receptors ETR1 and ERS1 // *BMC Plant Biol.* 2007. Vol.7. P. 3.
422. Qu X, Schaller GE. Requirement of the histidine kinase domain for signal transduction by the ethylene receptor ETR1 // *Plant Physiol.* 2004. Vol. 136, № 2. P. 2961-70.
423. Radoeva T, Lokerse AS, Llavata-Peris CI, Wendrich JR, Xiang D, Liao CY, Vlaar L, Boekschoten M, Hooiveld G, Datla R, Weijers D. A Robust Auxin Response Network Controls Embryo and Suspensor Development through a Basic Helix Loop Helix Transcriptional Module // *Plant Cell.* 2019. Vol. 31, № 1. P. 52-67.
424. Ragni L, Nieminen K, Pacheco-Villalobos D, Sibout R, Schwechheimer C, Hardtke CS. Mobile gibberellin directly stimulates *Arabidopsis* hypocotyl xylem expansion // *Plant Cell.* 2011. Vol. 23, № 4. P. 1322-36.
425. Randall RS, Miyashima S, Blomster T, Zhang J, Elo A, Karlberg A, Immanen J, Nieminen K, Lee JY, Kakimoto T, Blajicka K, Melnyk CW, Alcasabas A, Forzani C, Matsumoto-Kitano M, Mähönen AP, Bhalerao R, Dewitte W, Helariutta Y, Murray JA. AINTEGUMENTA and the D-type cyclin CYCD3;1 regulate root secondary growth and respond to cytokinins // *Biol Open.* 2015. Vol. 4, № 10. P. 1229-36.
426. Rantong G., Gunawardena A.H.L.A.N. Programmed Cell Death: Genes Involved in Signaling, Regulation, and Execution in Plants and Animals // *Botany.* 2015. Vol. 93. P. 193–210.
427. Reineke G, Heinze B, Schirawski J, Buettner H, Kahmann R, Basse CW. Indole-3-acetic acid (IAA) biosynthesis in the smut fungus *Ustilago maydis* and its relevance for increased IAA levels in infected tissue and host tumour formation // *Mol Plant Pathol.* 2008. Vol. 9. P. 339–355.

428. Renau-Morata B, Molina RV, Carrillo L, Cebolla-Cornejo J, Sánchez-Perales M, Pollmann S, Domínguez-Figueroa J, Corrales AR, Flexas J, Vicente-Carbajosa J, Medina J, Nebauer SG. Ectopic Expression of *CDF3* Genes in Tomato Enhances Biomass Production and Yield under Salinity Stress Conditions // *Front Plant Sci.* 2017. Vol. 8. P. 660.
429. Ren SC, Song XF, Chen WQ, Lu R, Lucas WJ, Liu CM. CLE25 peptide regulates phloem initiation in *Arabidopsis* through a CLERK-CLV2 receptor complex // *J Integr Plant Biol.* 2019. Vol. 61, № 10. P. 1043-1061.
430. Riou-Khamlichi C, Huntley R, Jacquard A, Murray JA. Cytokinin activation of *Arabidopsis* cell division through a D-type cyclin // *Science.* 1999. Vol. 283, № 5407. P. 1541-4.
431. Rodríguez-Furlan C, Campos R, Toth JN, Van Norman JM. Distinct mechanisms orchestrate the contra-polarity of IRK and KOIN, two LRR-receptor-kinases controlling root cell division // *Nat Commun.* 2022. Vol. 13, № 1. P. 235.
432. Rodríguez K, Perales M, Snipes S, Yadav RK, Diaz-Mendoza M, Reddy GV. DNA-dependent homodimerization, sub-cellular partitioning, and protein destabilization control WUSCHEL levels and spatial patterning // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016. Vol. 113, № 41. P. E6307-E6315.
433. Rodríguez-Villalon A, Gujas B, Kang YH, Breda AS, Cattaneo P, Depuydt S, Hardtke CS. Molecular genetic framework for protophloem formation // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014. Vol. 111, № 31. P. 11551-6.
434. Romanowski A, Furniss JJ, Hussain E, Halliday KJ. Phytochrome regulates cellular response plasticity and the basic molecular machinery of leaf development // *Plant Physiol.* 2021. Vol. 186, № 2. P. 1220-1239.
435. Ronceret A, Guillemot J, Lincker F, Gadea-Vacas J, Delorme V, Bechtold N, Pelletier G, Delseny M, Chabouté ME, Devic M. Genetic analysis of two *Arabidopsis* DNA polymerase epsilon subunits during early embryogenesis // *Plant J.* 2005. Vol. 44, № 2. P. 223-36.
436. Rong XF, Sang YL, Wang L, Meng WJ, Zou CH, Dong YX, Bie XM, Cheng ZJ, Zhang XS. Type-B ARRs Control Carpel Regeneration Through Mediating AGAMOUS Expression in *Arabidopsis* // *Plant Cell Physiol.* 2018. Vol. 59, № 4. P. 756-764.
437. Roumagnac P, Granier M, Bernardo P, Deshoux M, Ferdinand R, Galzi S, Fernandez E, Julian C, Abt I, Filloux D, Mesléard F, Varsani A, Blanc S, Martin DP, Peterschmitt M. Alfalfa Leaf Curl Virus: an Aphid-Transmitted Geminivirus // *J Virol.* 2015. Vol. 89, № 18. P. 9683-8.
438. Ruzicka K., Simásková M., Duclercq J., Petrásek J., Zazimalová E., Simon S., Friml J., van Montagu M.C., Benková E. Cytokinin regulates root meristem activity via modulation of the polar auxin transport // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009. Vol. 106. P. 4284-4299.
439. Saito M, Kondo Y, Fukuda H. BES1 and BZR1 Redundantly Promote Phloem and Xylem Differentiation // *Plant Cell Physiol.* 2018. Vol. 59, № 3. P. 590-600.
440. Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees // *Mol Biol Evol.* 1987. Vol. 4, № 4. P. 406-425.

441. Sakai M, Sakamoto T, Saito T, Matsuoka M, Tanaka H, Kobayashi M. Expression of novel rice *gibberellin 2-oxidase* gene is under homeostatic regulation by biologically active gibberellins // *J Plant Res.* 2003. Vol. 116, № 2. P. 161-4.
442. Sambrook, J.; Russell, D. W. Preparation and Transformation of Competent *E. coli* Using Calcium Chloride // *Cold Spring Harb Protoc.* 2006. pdb. prot3932.
443. Sampedro J, Valdivia ER, Fraga P, Iglesias N, Revilla G, Zarra I. Soluble and Membrane-Bound β -Glucosidases Are Involved in Trimming the Xyloglucan Backbone // *Plant Physiol.* 2017. Vol. 173, № 2. P. 1017-1030.
444. Savina MS, Pasternak T, Omelyanchuk NA, Novikova DD, Palme K, Mironova VV, Lavrekha VV. Cell Dynamics in WOX5-Overexpressing Root Tips: The Impact of Local Auxin Biosynthesis // *Front Plant Sci.* 2020. Vol. 11. P. 560169.
445. Scarpeci TE, Frea VS, Zanol MI, Valle EM. Overexpression of *AtERF019* delays plant growth and senescence, and improves drought tolerance in *Arabidopsis* // *J Exp Bot.* 2017. Vol. 68, № 3. P. 673-685.
446. Schaller GE, Bishopp A, Kieber JJ. The yin-yang of hormones: cytokinin and auxin interactions in plant development // *Plant Cell.* 2015. Vol. 27, № 1. P. 44-63.
447. Schaufelberger M, Galbier F, Herger A, de Brito Francisco R, Roffler S, Clement G, Diet A, Hörtensteiner S, Wicker T, Ringli C. Mutations in the *Arabidopsis* ROL17/isopropylmalate synthase 1 locus alter amino acid content, modify the TOR network, and suppress the root hair cell development mutant *lrx1* // *J Exp Bot.* 2019. Vol. 70, № 8. P. 2313-2323.
448. Scheres B., Wolkenfelt H., Willemsen V., Terlouw M., Lawson E., Dean C., Weisbeek P. Embryonic origin of the *Arabidopsis* primary root and root meristem initials // *Development.* 1994. Vol. 120. P. 2475–2487.
449. Schlegel J, Denay G, Wink R, Pinto KG, Stahl Y, Schmid J, Blümke P, Simon RG. Control of *Arabidopsis* shoot stem cell homeostasis by two antagonistic CLE peptide signalling pathways // *Elife.* 2021. Vol. 10. P. e70934.
450. Schlereth A, Möller B, Liu W, Kientz M, Flipse J, Rademacher EH, Schmid M, Jürgens G, Weijers D. MONOPTEROS controls embryonic root initiation by regulating a mobile transcription factor // *Nature.* 2010. Vol. 464, № 7290. P. 913-6.
451. Schoof H, Lenhard M, Haecker A, Mayer KF, Jürgens G, Laux T. The stem cell population of *Arabidopsis* shoot meristems is maintained by a regulatory loop between the *CLAVATA* and *WUSCHEL* genes // *Cell.* 2000. Vol. 100, № 6. P. 635-44.
452. Schott-Verdugo S, Müller L, Classen E, Gohlke H, Groth G. Structural Model of the ETR1 Ethylene Receptor Transmembrane Sensor Domain // *Sci Rep.* 2019. Vol. 9, № 1. P. 8869.
453. Schultz CJ, Johnson KL, Currie G, Bacic A. The classical arabinogalactan protein gene family of *Arabidopsis* // *Plant Cell.* 2000. Vol. 12, № 9. P. 1751-68.
454. Schultz JC, Edger PP, Body MJA, Appel HM. A galling insect activates plant reproductive programs during gall development // *Sci Rep.* 2019. Vol. 9. P. 1833.
455. Schwelm A, Fogelqvist J, Knaust A, Jülke S, Lilja T, Bonilla-Rosso G, Karlsson M, Shevchenko A, Dhandapani V, Choi SR, Kim HG, Park JY, Lim YP, Ludwig-Müller J, Dixelius C. The *Plasmodiophora brassicae* genome reveals insights in its life cycle and ancestry of chitin synthases // *Sci Rep.* 2015. Vol. 5. P. 11153.

456. Searle I.R., Men A.E., Laniya T.S., Buzas D.M., Iturbe-Ormaetxe I., Carroll B.J., Gresshoff P.M. Long-distance signaling in nodulation directed by a CLAVATA1-like receptor kinase // *Science*. 2003. Vol. 299. P. 109–112.
457. Sehr EM, Agusti J, Lehner R, Farmer EE, Schwarz M, Greb T. Analysis of secondary growth in the *Arabidopsis* shoot reveals a positive role of jasmonate signalling in cambium formation // *Plant J*. 2010. Vol. 63, № 5. P. 811-22.
458. Serra O, Mähönen AP, Hetherington AJ, Ragni L. The Making of Plant Armor: The Periderm // *Annu Rev Plant Biol*. 2022. Vol. 73. P. 405-432.
459. Seyfferth C, Wessels B, Jokipii-Lukkari S, Sundberg B, Delhomme N, Felten J, Tuominen H. Ethylene-Related Gene Expression Networks in Wood Formation // *Front Plant Sci*. 2018. Vol. 9. P. 272.
460. Shen Q, Liu Y, Naqvi NI. Fungal effectors at the crossroads of phytohormone signaling // *Curr Opin Microbiol*. 2018. Vol. 46. P. 1–6.
461. Shibata M, Breuer C, Kawamura A, Clark NM, Rymen B, Braidwood L, Morohashi K, Busch W, Benfey PN, Sozzani R, Sugimoto K. GTL1 and DF1 regulate root hair growth through transcriptional repression of *ROOT HAIR DEFECTIVE 6-LIKE 4* in *Arabidopsis* // *Development*. 2018. Vol. 145, № 3. P. dev159707.
462. Shi D, Lebovka I, López-Salmerón V, Sanchez P, Greb T. Bifacial cambium stem cells generate xylem and phloem during radial plant growth // *Development*. 2019. Vol. 146, № 1. P. dev171355.
463. Shimotohno A, Heidstra R, Blilou I, Scheres B. Root stem cell niche organizer specification by molecular convergence of PLETHORA and SCARECROW transcription factor modules // *Genes Dev*. 2018. Vol. 32, № 15-16. P. 1085-1100.
464. Shorthouse JD, Wool D, Raman A. Gall-inducing insects— nature’s most sophisticated herbivores // *Basic Appl Ecol*. 2005. Vol. 6. P. 407–411.
465. Showalter AM, Keppler B, Lichtenberg J, Gu D, Welch LR. A bioinformatics approach to the identification, classification, and analysis of hydroxyproline-rich glycoproteins // *Plant Physiol*. 2010. Vol. 153, № 2. P. 485-513.
466. Siddique S, Radakovic ZS, De La Torre CM, Chronis D, Novák O, Ramireddy E, Holbein J, Matera C, Hütten M, Gutbrod P, Anjam MS, Rozanska E, Habash S, Elashry A, Sobczak M, Kakimoto T, Strnad M, Schmülling T, Mitchum MG, Grudler FM. A parasitic nematode releases cytokinin that controls cell division and orchestrates feeding site formation in host plants // *Proc Natl Acad Sci*. 2015. Vol. 112. P. 12669–12674.
467. Sieberer T, Hauser MT, Seifert GJ, Luschnig C. PROPORZ1, a putative *Arabidopsis* transcriptional adaptor protein, mediates auxin and cytokinin signals in the control of cell proliferation // *Curr Biol*. 2003. Vol. 13. P. 837–842.
468. Siebert PD, Chenchik A. Modified acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform RNA extraction method which greatly reduces DNA contamination // *Nucleic Acids Res*. 1993. Vol. 21, № 8. P. 2019-20.
469. Silva DAD, Tsai SM, Chiorato AF, da Silva Andrade SC, Esteves JAF, Recchia GH, Morais Carbonell SA. Analysis of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) transcriptome regarding efficiency of phosphorus use // *PLoS One*. 2019. Vol. 14, № 1. P. e0210428.

470. Smetana O, Mäkilä R, Lyu M, Amiryousefi A, Sánchez Rodríguez F, Wu MF, Solé-Gil A, Leal Gavarrón M, Siligato R, Miyashima S, Roszak P, Blomster T, Reed JW, Broholm S, Mähönen AP. High levels of auxin signalling define the stem-cell organizer of the vascular cambium // *Nature*. 2019. Vol. 565, № 7740. P. 485-489.
471. Smith H.H. The inheritance of genetic tumors in *Nicotiana* hybrids // *Journal of Heredity*. 1988. Vol. 79. P. 277-283.
472. Smit ME, McGregor SR, Sun H, Gough C, Bågman AM, Soyars CL, Kroon JT, Gaudinier A, Williams CJ, Yang X, Nimchuk ZL, Weijers D, Turner SR, Brady SM, EtcHELLS JP. A PXY-Mediated Transcriptional Network Integrates Signaling Mechanisms to Control Vascular Development in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. 2020. Vol. 32, № 2. P. 319-335.
473. Smyczynski C, Roudier F, Gissot L, Vaillant E, Grandjean O, Morin H, Masson T, Bellec Y, Geelen D, Faure JD. The C terminus of the immunophilin PASTICCINO1 is required for plant development and for interaction with a NAC-like transcription factor // *J Biol Chem*. 2006. Vol. 281, № 35. P. 25475-84.
474. Spies FP, Raineri J, Miguel VN, Cho Y, Hong JC, Chan RL. The *Arabidopsis* transcription factors AtPHL1 and AtHB23 act together promoting carbohydrate transport from pedicel-silique nodes to seeds // *Plant Sci*. 2022. Vol. 315. P. 111133.
475. Stahl Y, Simon R. Is the *Arabidopsis* root niche protected by sequestration of the CLE40 signal by its putative receptor ACR4? // *Plant Signal Behav*. 2009. Vol. 4, № 7. P. 634-5.
476. Steffen JG, Kang IH, Portereiko MF, Lloyd A, Drews GN. AGL61 interacts with AGL80 and is required for central cell development in *Arabidopsis* // *Plant Physiol*. 2008. Vol. 148, № 1. P. 259-68.
477. Strabala TJ. *CLE* genes in plant development: Gain-of-function analyses, pleiotropy, hypermorphia and neomorphy // *Plant Signal Behav*. 2008. Vol. 3, № 7. P. 457-9.
478. Strzalka W, Aggarwal C. *Arabidopsis thaliana*: proliferating cell nuclear antigen 1 and 2 possibly form homo- and hetero-trimeric complexes in the plant cell // *Plant Signal Behav*. 2013. Vol. 8, № 7. P. e24837.
479. Strzalka WK, Aggarwal C, Krzeszowiec W, Jakubowska A, Sztatelman O, Banas AK. *Arabidopsis* PCNAs form complexes with selected D-type cyclins // *Front Plant Sci*. 2015. Vol. 6. P. 516.
480. Stührwohldt N, Ehinger A, Thellmann K, Schaller A. Processing and Formation of Bioactive CLE40 Peptide Are Controlled by Posttranslational Proline Hydroxylation // *Plant Physiol*. 2020. Vol. 184, № 3. P. 1573-1584.
481. Suer S., Agusti J., Sanchez P., Schwarz M., Greb T. WOX4 imparts auxin responsiveness to cambium cells in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. 2011. Vol. 23. P. 3247-3259.
482. Sugimoto K., Jiao Y., Meyerowitz E.M. *Arabidopsis* regeneration from multiple tissues occurs via a root development pathway // *Dev. Cell*. 2010. Vol. 18. P. 463-471.
483. Sun L, Song L, Zhang Y, Zheng Z, Liu D. *Arabidopsis* PHL2 and PHR1 Act Redundantly as the Key Components of the Central Regulatory System Controlling

- Transcriptional Responses to Phosphate Starvation // *Plant Physiol.* 2016. Vol. 170, № 1. P. 499-514.
484. Sun S, Yi C, Ma J, Wang S, Peirats-Llobet M, Lewsey MG, Whelan J, Shou H. Analysis of Spatio-Temporal Transcriptome Profiles of Soybean (*Glycine max*) Tissues during Early Seed Development // *Int J Mol Sci.* 2020a. Vol. 21, № 20. P. 7603.
485. Sun Z, Guo T, Liu Y, Liu Q, Fang Y. The Roles of *Arabidopsis* CDF2 in Transcriptional and Posttranscriptional Regulation of Primary MicroRNAs // *PLoS Genet.* 2015. Vol. 11, № 10. P. e1005598.
486. Sun Y, Qiao Z, Muchero W, Chen JG. Lectin Receptor-Like Kinases: The Sensor and Mediator at the Plant Cell Surface // *Front Plant Sci.* 2020b. Vol. 11. P. 596301.
487. Su YH, Zhou C, Li YJ, Yu Y, Tang LP, Zhang WJ, Yao WJ, Huang R, Laux T, Zhang XS. Integration of pluripotency pathways regulates stem cell maintenance in the *Arabidopsis* shoot meristem // *Proc Natl Acad Sci USA.* 2020. Vol. 117, № 36. P. 22561-22571.
488. Sørensen JL, Benfeld AH, Wollenberg RD, Westphal K, Wimmer R, Nielsen MR, Nielsen KF, Carere J, Covarell L, Beccari G, Powell J, Yamashino T, Kogler H, Sondergaard TE, Gardiner DM. The cereal pathogen *Fusarium pseudograminearum* produces a new class of active cytokinins during infection // *Mol Plant Pathol.* 2018. Vol. 19. P. 1140–1154.
489. Takei K, Sakakibara H, Sugiyama T. Identification of genes encoding adenylate isopentenyltransferase, a cytokinin biosynthesis enzyme, in *Arabidopsis thaliana* // *J Biol Chem.* 2001. Vol. 276, № 28. P. 26405-10.
490. Tameshige T, Ikematsu S, Torii KU, Uchida N. Stem development through vascular tissues: EPFL-ERECTA family signaling that bounces in and out of phloem // *J Exp Bot.* 2017. Vol. 68, № 1. P. 45-53.
491. Tanaka E, Koga H, Mori M, Mori M. Auxin production by the rice blast fungus and its localization in host tissue // *J Phytopathol.* 2011. Vol. 159. P. 522–530.
492. Taya Y, Tanaka Y, Nishimura S. 5'-AMP is a direct precursor of cytokinin in *Dictyostelium discoideum* // *Nature.* 1978. Vol. 271, № 5645. P. 545-7.
493. Teixeira R.T., Fortes A.M., Bai H., Pinheiro C., Pereira H. Transcriptional Profiling of Cork Oak Phellogenetic Cells Isolated by Laser Microdissection // *Planta.* 2018. Vol. 247. P. 317–338.
494. Teixeira RT, Fortes AM, Pinheiro C, Pereira H. Comparison of good- and bad-quality cork: application of high-throughput sequencing of phellogenetic tissue // *J Exp Bot.* 2014. Vol. 65, № 17. P. 4887-905.
495. Tepfer D. Transformation of several species of higher plants by *Agrobacterium rhizogenes*: sexual transmission of the transformed genotype and phenotype // *Cell.* 1984. Vol. 37, № 3. P. 959-67.
496. Terakura S., Ueno Y., Tagami H., Kitakura S., Machida C., Wabiko H., Aiba H., Otten L., Tsukagoshi H., Nakamura K., Machida Y. An oncoprotein from the plant pathogen agrobacterium has histone chaperone-like activity // *Plant Cell.* 2007. Vol. 19. P. 2855-2865.
497. Testone G, Bruno L, Condello E, Chiappetta A, Bruno A, Mele G, Tartarini A, Spanò

- L, Innocenti AM, Mariotti D, Bitonti MB, Giannino D. Peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] KNOPE1, a class 1 KNOX orthologue to *Arabidopsis* BREVIPEDICELLUS/KNAT1, is misexpressed during hyperplasia of leaf curl disease // *J Exp Bot.* 2008. Vol. 59. P. 389–402.
498. Thelander M, Fredriksson D, Schouten J, Hoge JH, Ronne H. Cloning by pathway activation in yeast: identification of an *Arabidopsis thaliana* F-box protein that can turn on glucose repression // *Plant Mol Biol.* 2002. Vol. 49, № 1. P. 69-79.
499. Tian H, Wabnik K, Niu T, Li H, Yu Q, Pollmann S, Vanneste S, Govaerts W, Rolcık J, Geisler M, Friml J, Ding Z. WOX5-IAA17 feedback circuit-mediated cellular auxin response is crucial for the patterning of root stem cell niches in *Arabidopsis* // *Mol Plant.* 2014. Vol. 7, № 2. P. 277-89.
500. Tkachenko A, Dodueva I, Tvorogova V, Predeus A, Pravdina O, Kuznetsova K, Lutova L. Transcriptomic Analysis of Radish (*Raphanus sativus* L.) Spontaneous Tumor // *Plants (Basel).* 2021a. Vol. 10, № 5. P. 919.
501. Tkachenko AA, Gancheva MS, Tvorogova VE, et al. Transcriptome analysis of crown gall in radish (*Raphanus sativus* L.) inbred lines // *Ann Appl Biol.* 2021b. Vol. 178. P. 527–548.
502. Tokunaga H, Kojima M, Kuroha T, Ishida T, Sugimoto K, Kiba T, Sakakibara H. *Arabidopsis* *lonely guy* (*LOG*) multiple mutants reveal a central role of the LOG-dependent pathway in cytokinin activation // *Plant J.* 2012. Vol. 69, № 2. P. 355-65.
503. Tonn N, Greb T. Radial plant growth. *Curr Biol.* 2017. Vol. 27, № 17. P. R878-R882.
504. Torii KU. Stomatal development in the context of epidermal tissues // *Ann Bot.* 2021. Vol. 128, № 2. P. 137-148.
505. Torti S, Fornara F. AGL24 acts in concert with SOC1 and FUL during *Arabidopsis* floral transition // *Plant Signal Behav.* 2012. Vol. 7, № 10. P. 1251-4.
506. Tsai IJ, Tanaka E, Masuya H, Tanaka R, Hirooka Y, Endoh R, Sahashi N, Kikuchi T. Comparative genomics of Taphrina fungi causing varying degrees of tumorous deformity in plants // *Genome Biol Evol.* 2014. Vol. 6. P. 861–872.
507. Tsavkelova E, Oeser B, Oren-Young L, Israeli M, Sasson Y, Tudzynski B, Sharon A. Identification and functional characterization of indole-3-acetamide-mediated IAA biosynthesis in plant associated *Fusarium* species // *Fungal Genet Biol.* 2012. Vol. 49. P. 48–57.
508. Turesson H, Andersson M, Marttila S, Thulin I, Hofvander P. Starch biosynthetic genes and enzymes are expressed and active in the absence of starch accumulation in sugar beet tap-root // *BMC Plant Biol.* 2014. Vol. 14. P. 104.
509. Turley EK, Etchells JP. Laying it on thick: a study in secondary growth // *J Exp Bot.* 2022. Vol. 73, № (3):665-679.
510. Tvorogova VE, Krasnoperova EY, Potsenkovskaia EA, Kudriashov AA, Dodueva IE, Lutova LA. [What Does the WOX Say? Review of Regulators, Targets, Partners] // *Mol Biol (Mosk).* 2021. Vol. 55, № 3. P. 362-391. Russian.
511. Ullrich C.I., Aloni R. Vascularization is a general requirement for growth of plant and animal tumours // *J Exp Bot.* 2000. Vol. 51. P. 1951–1960.
512. Ullrich CI, Aloni R, Saeed MEM, Ullrich W, Efferth T. Comparison between tumors in plants and human beings: Mechanisms of tumor development and therapy with

- secondary plant metabolites // *Phytomedicine*. 2019. Vol. 64. P. 153081.
513. Untergasser A., Cutcutache I., Koressaar T., Ye J., Faircloth B.C., Remm M., Rozen S.G. Primer3—New Capabilities and Interfaces // *Nucleic Acids Res.* 2012. Vol. 40. P. e115.
514. Van Damme D, De Rybel B, Gudesblat G, Demidov D, Grunewald W, De Smet I, Houben A, Beeckman T, Russinova E. *Arabidopsis* α Aurora kinases function in formative cell division plane orientation // *Plant Cell*. 2011. Vol. 23, № 11. P. 4013-24.
515. van der Graaff E, Laux T, Rensing SA. The WUS homeobox-containing (WOX) protein family // *Genome Biol.* 2009. Vol. 10, № 12. P. 248.
516. Vanstaden J, Nicholson RID. Cytokinins and mango flower malformation II: the cytokinin complement produced by *Fusarium moniliforme* and the ability of the fungus to incorporate [8-¹⁴C] adenine into cytokinins // *Physiol Mol Plant Pathol*. 1989. Vol. 35. P. 423-431.
517. Vasilevski A, Giorgi FM, Bertinetti L, Usadel B. LASSO modeling of the *Arabidopsis thaliana* seed/seedling transcriptome: a model case for detection of novel mucilage and pectin metabolism genes // *Mol Biosyst.* 2012. Vol. 8, № 10. P. 2566-74.
518. Vatamaniuk OK, Mari S, Lang A, Chalasani S, Demkiv LO, Rea PA. Phytochelatin synthase, a dipeptidyltransferase that undergoes multisite acylation with gamma-glutamylcysteine during catalysis: stoichiometric and site-directed mutagenic analysis of *arabidopsis thaliana* PCS1-catalyzed phytochelatin synthesis // *J Biol Chem*. 2004. Vol. 279, № 21. P. 22449-60.
519. Verelst W, Twell D, de Folter S, Immink R, Saedler H, Münster T. MADS-complexes regulate transcriptome dynamics during pollen maturation // *Genome Biol.* 2007. Vol. 8, № 11. P. R249.
520. Veselov D, Langhans M, Hartung W, Aloni R, Feussner I, Götz C, Veselova S, Schlomski S, Dickler C, Bächmann K, Ullrich CI. Development of *Agrobacterium tumefaciens* C58-induced plant tumors and impact on host shoots are controlled by a cascade of jasmonic acid, auxin, cytokinin, ethylene and abscisic acid // *Planta*. 2003. Vol. 216, № 3. P. 512-22.
521. Voiniciuc C, Yang B, Schmidt MH, Günl M, Usadel B. Starting to gel: how *Arabidopsis* seed coat epidermal cells produce specialized secondary cell walls // *Int J Mol Sci*. 2015. Vol. 16, № 2. P. 3452-73.
522. Walbot V, Skibbe DS. Maize host requirements for *Ustilago maydis* tumor induction // *Sex Plant Reprod*. 2010. Vol. 23. P. 1-13.
523. Wallner ES, López-Salmerón V, Belevich I, Poschet G, Jung I, Grünwald K, Sevilem I, Jokitalo E, Hell R, Helariutta Y, Agustí J, Lebovka I, Greb T. Strigolactone- and Karrikin-Independent SMXL Proteins Are Central Regulators of Phloem Formation // *Curr Biol*. 2017. Vol. 27, № 8. P. 1241-1247.
524. Wang D, Chen Y, Li W, Li Q, Lu M, Zhou G, Chai G. Vascular Cambium: The Source of Wood Formation // *Front Plant Sci*. 2021a. Vol. 12. P. 700928.

525. Wang H, Dittmer TA, Richards EJ. *Arabidopsis* CROWDED NUCLEI (CRWN) proteins are required for nuclear size control and heterochromatin organization // BMC Plant Biol. 2013a. Vol. 13. P. 200.
526. Wang H, Xie Y, Liu W, Tao G, Sun C, Sun X, Zhang S. Transcription factor LkWOX4 is involved in adventitious root development in *Larix kaempferi* // Gene. 2020a. Vol. 758. P. 144942.
527. Wang H, Yang J, Zhang M, Fan W, Firon N, Pattanaik S, Yuan L, Zhang P. Altered Phenylpropanoid Metabolism in the Maize Lc-Expressed Sweet Potato (*Ipomoea batatas*) Affects Storage Root Development // Sci Rep. 2016a. Vol. 6. P. 18645.
528. Wang H., Sun Y., Chang J., Zheng F., Pei H., Yi Y., Chang C., Dong C.-H. Regulatory function of *Arabidopsis* lipid transfer protein 1 (LTP1) in ethylene response and signaling // Plant. Mol. Biol. 2016b. Vol. 91. P. 471–484.
529. Wang J, Li G, Li C, Zhang C, Cui L, Ai G, Wang X, Zheng F, Zhang D, Larkin RM, Ye Z, Zhang J. NF-Y plays essential roles in flavonoid biosynthesis by modulating histone modifications in tomato // New Phytol. 2021b. Vol. 229, № 6. P. 3237-3252.
530. Wang M.H., Doonan J.H., Sastry G.R.K. Cloning and characterization of the unusual cyclin gene from an amphidiploid of *Nicotiana glauca* – *Nicotiana langsdorfii* hybrid // Biochimica et Biophysica Acta. 1999. Vol. 1489. P. 399-404.
531. Wang X, Allen R, Ding X, Goellner M, Maier T, de Boer JM, Baum TJ, Hussey RS, Davis EL. Signal peptide-selection of cDNA cloned directly from the esophageal gland cells of the soybean cyst nematode *Heterodera glycines* // Mol Plant Microbe Interact. 2001. Vol. 14, № 4. P. 536-44.
532. Wang Y, Bouwmeester K, Beseh P, Shan W, Govers F. Phenotypic analyses of *Arabidopsis* T-DNA insertion lines and expression profiling reveal that multiple L-type lectin receptor kinases are involved in plant immunity // Mol Plant Microbe Interact. 2014. Vol. 27, № 12. P. 1390-402.
533. Wang Y, Cui X, Yang B, Xu S, Wei X, Zhao P, Niu F, Sun M, Wang C, Cheng H, Jiang YQ. WRKY55 transcription factor positively regulates leaf senescence and the defense response by modulating the transcription of genes implicated in the biosynthesis of reactive oxygen species and salicylic acid in *Arabidopsis* // Development. 2020b. Vol. 147, № 16. P. dev189647.
534. Wang Y, Pan Y, Liu Z, Zhu X, Zhai L, Xu L, Yu R, Gong Y, Liu L. De novo transcriptome sequencing of radish (*Raphanus sativus* L.) and analysis of major genes involved in glucosinolate metabolism // BMC Genomics. 2013b. Vol. 14, № 1. P. 836.
535. Wei Q, Ma C, Xu Y, Wang T, Chen Y, Lü J, Zhang L, Jiang CZ, Hong B, Gao J. Control of chrysanthemum flowering through integration with an aging pathway // Nat Commun. 2017. Vol. 8, № 1. P. 829.
536. Wei T, Li Y. Rice Reoviruses in Insect Vectors // Annu Rev Phytopathol. 2016. Vol. 54. P. 99-120.
537. Wickham H. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis // Cham: Springer International Publishing. 2016. 260 p.
538. Wickramasuriya AM, Dunwell JM. Global scale transcriptome analysis of *Arabidopsis* embryogenesis *in vitro* // BMC Genomics. 2015. Vol. 16, № (1). P. 301.

539. Woerlen N, Allam G, Popescu A, Corrigan L, Pautot V, Hepworth SR. Repression of *BLADE-ON-PETIOLE* genes by KNOX homeodomain protein BREVIPEDICELLUS is essential for differentiation of secondary xylem in *Arabidopsis* root // *Planta*. 2017. Vol. 245, № 6. P. 1079-1090.
540. Wolff P, Weinhofer I, Seguin J, Roszak P, Beisel C, Donoghue MT, Spillane C, Nordborg M, Rehmsmeier M, Köhler C. High-resolution analysis of parent-of-origin allelic expression in the *Arabidopsis* Endosperm // *PLoS Genet*. 2011. Vol. 7, № 6. P. e1002126.
541. Won C, Shen X, Mashiguchi K, Zheng Z, Dai X, Cheng Y, Kasahara H, Kamiya Y, Chory J, Zhao Y. Conversion of tryptophan to indole-3-acetic acid by TRYPTOPHAN AMINOTRANSFERASES OF ARABIDOPSIS and YUCCAs in *Arabidopsis* // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011. Vol. 108, № 45. P. 18518-23.
542. Wunderling A, Ripper D, Barra-Jimenez A, Mahn S, Sajak K, Targem MB, Ragni L. A molecular framework to study periderm formation in *Arabidopsis* // *New Phytol*. 2018. Vol. 219, № 1. P. 216-229.
543. Xiao W, Molina D, Wunderling A, Ripper D, Vermeer JEM, Ragni L. Pluripotent Pericycle Cells Trigger Different Growth Outputs by Integrating Developmental Cues into Distinct Regulatory Modules // *Curr Biol*. 2020. Vol. 30, № 22. P. 4384-4398.e5.
544. Xie M, Chen H, Huang L, O'Neil RC, Shokhirev MN, Ecker JR. A B-ARR-mediated cytokinin transcriptional network directs hormone cross-regulation and shoot development // *Nat Commun*. 2018a. Vol. 9, № 1. P. 1604.
545. Xie Y, Xu L, Wang Y, Fan L, Chen Y, Tang M, Luo X, Liu L. Comparative proteomic analysis provides insight into a complex regulatory network of taproot formation in radish (*Raphanus sativus* L.) // *Hortic Res*. 2018b. Vol. 5. P. 51.
546. Xiong F, Zhang BK, Liu HH, Wei G, Wu JH, Wu YN, Zhang Y, Li S. Transcriptional Regulation of *PLETHORA1* in the Root Meristem Through an Importin and Its Two Antagonistic Cargos // *Plant Cell*. 2020. Vol. 32, № 12. P. 3812-3824.
547. Xu L, Wang Y, Dong J, Zhang W, Tang M, Zhang W, Wang K, Chen Y, Zhang X, He Q, Zhang X, Wang K, Wang L, Ma Y, Xia K, Liu L. A chromosome-level genome assembly of radish (*Raphanus sativus* L.) reveals insights into genome adaptation and differential bolting regulation // *Plant biotechnology journal*. 2023. Vol. 21, № 5. P. 990–1004.
548. Xun Q, Wu Y, Li H, Chang J, Ou Y, He K, Gou X, Tax FE, Li J. Two receptor-like protein kinases, MUSTACHES and MUSTACHES-LIKE, regulate lateral root development in *Arabidopsis thaliana* // *New Phytol*. 2020. Vol. 227, № 4. P.1157-1173.
549. Yadav NS, Khadka J, Domb K, Zemach A, Grafi G. CMT3 and SUVH4/KYP silence the exonic Eevelknievel retroelement to allow for reconstitution of CMT1 mRNA // *Epigenetics Chromatin*. 2018. Vol. 11, № 1. P. 69.
550. Yadav RK, Perales M, Gruel J, Ohno C, Heisler M, Girke T, Jönsson H, Reddy GV. Plant stem cell maintenance involves direct transcriptional repression of differentiation program // *Mol Syst Biol*. 2013. Vol. 9. P. 654.
551. Yaginuma H., Hirakawa Y., Kondo Y., Ohashi-Ito K., Fukuda H. A novel function of TDIF-related peptides: promotion of axillary bud formation // *Plant Cell Physiol*.

2011. Vol. 52, № 8. P. 1354-1364.
552. Yamada T, Tsukamoto H, Shiraishi T, Nomura T, Oku H. Detection of indoleacetic acid biosynthesis in some species of *Taphrina* causing hyperplastic diseases in plants // *Ann Phytopathol Soc Jpn.* 1990. Vol. 56. P. 532–540.
553. Yamaguchi YL, Ishida T, Sawa S. CLE peptides and their signaling pathways in plant development // *J Exp Bot.* 2016. Vol. 67, № 16. P. 4813-4826.
554. Yamamoto R, Fujioka S, Demura T, Takatsuto S, Yoshida S, Fukuda H. Brassinosteroid levels increase drastically prior to morphogenesis of tracheary elements // *Plant Physiol.* 2001. Vol. 125, № 2. P. 556-63.
555. Yamasaki Y, Gao F, Jordan MC, Ayele BT. Seed maturation associated transcriptional programs and regulatory networks underlying genotypic difference in seed dormancy and size/weight in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *BMC Plant Biol.* 2017. Vol. 17, № 1. P. 154.
556. Yan C, Yan Z, Wang Y, Yan X, Han Y. Tudor-SN, a component of stress granules, regulates growth under salt stress by modulating GA20ox3 mRNA levels in *Arabidopsis* // *J Exp Bot.* 2014. Vol. 65, № 20. P. 5933-44.
557. Yang J, An D, Zhang P. Expression profiling of cassava storage roots reveals an active process of glycolysis/gluconeogenesis // *J Integr Plant Biol.* 2011. Vol. 53, № 3. P. 193-211.
558. Yan Z, Zhao J, Peng P, Chihara RK, Li J. BIN2 functions redundantly with other *Arabidopsis* GSK3-like kinases to regulate brassinosteroid signaling // *Plant Physiol.* 2009. Vol. 150. P. 710–721.
559. Ye L, Wang X, Lyu M, Siligato R, Eswaran G, Vainio L, Blomster T, Zhang J, Mähönen AP. Cytokinins initiate secondary growth in the *Arabidopsis* root through a set of *LBD* genes // *Curr Biol.* 2021. Vol. 31, № 15. P. 3365-3373.e7.
560. Yin H, Li M, Lv M, Hepworth SR, Li D, Ma C, Li J, Wang SM. SAUR15 Promotes Lateral and Adventitious Root Development via Activating H⁺-ATPases and Auxin Biosynthesis // *Plant Physiol.* 2020. Vol. 184, № 2. P. 837-851.
561. Yordanov YS, Regan S, Busov V. Members of the LATERAL ORGAN BOUNDARIES DOMAIN transcription factor family are involved in the regulation of secondary growth in *Populus* // *Plant Cell.* 2010. Vol. 22, № (11):3662-77.
562. Yu H, Ito T, Wellmer F, Meyerowitz EM. Repression of AGAMOUS-LIKE 24 is a crucial step in promoting flower development // *Nat Genet.* 2004. Vol. 36, № 2. P. 157-61.
563. Yu H, Xu Y, Tan EL, Kumar PP. AGAMOUS-LIKE 24, a dosage-dependent mediator of the flowering signals // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002. Vol. 99, № 25. P. 16336-41.
564. Yu R, Wang Y, Xu L, Zhu X, Zhang W, Wang R, Gong Y, Limera C, Liu L. Transcriptome profiling of root microRNAs reveals novel insights into taproot thickening in radish (*Raphanus sativus* L.) // *BMC Plant Biol.* 2015. Vol. 15. P. 30.
565. Zaki H.E.M., Takahata Y., Yokoi S. Analysis of the morphological and anatomical characteristics of roots in three radish (*Raphanus sativus* L.) cultivars that differ in root shape // *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 2012. Vol. 87. P. 172.
566. Zamariola L, De Storme N, Tiang CL, Armstrong SJ, Franklin FC, Geelen D. SGO1

- but not SGO2 is required for maintenance of centromere cohesion in *Arabidopsis thaliana* meiosis // Plant Reprod. 2013. Vol. 26, № 3. P. 197-208.
567. Zamariola L, De Storme N, Vannerum K, Vandepoele K, Armstrong SJ, Franklin FC, Geelen D. SHUGOSHINs and PATRONUS protect meiotic centromere cohesion in *Arabidopsis thaliana* // Plant J. 2014. Vol. 77, № 5. P. 782-94.
568. Zdarska M, Cuyacot AR, Tarr PT, Yamoune A, Szmitkowska A, Hrdinová V, Gelová Z, Meyerowitz EM, Hejácíko J. ETR1 Integrates Response to Ethylene and Cytokinins into a Single Multistep Phosphorelay Pathway to Control Root Growth // Mol Plant. 2019. Vol. 12, № 10. P. 1338-1352.
569. Zentella R, Zhang ZL, Park M, Thomas SG, Endo A, Murase K, Fleet CM, Jikumaru Y, Nambara E, Kamiya Y, Sun TP. Global analysis of DELLA direct targets in early gibberellin signaling in *Arabidopsis* // Plant Cell. 2007. Vol. 19, № 10. P. 3037-57.
570. Zhang F, May A, Irish VF. Type-B ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATORS Directly Activate WUSCHEL // Trends Plant Sci. 2017. Vol. 22, № 10. P. 815-817.
571. Zhang H, Lin X, Han Z, Wang J, Qu LJ, Chai J. SERK Family Receptor-like Kinases Function as Co-receptors with PXY for Plant Vascular Development // Mol Plant. 2016c. Vol. 9, № 10. P. 1406-1414.
572. Zhang J, Eswaran G, Alonso-Serra J, Kucukoglu M, Xiang J, Yang W, Elo A, Nieminen K, Damén T, Joung JG, Yun JY, Lee JH, Ragni L, Barbier de Reuille P, Ahnert SE, Lee JY, Mähönen AP, Helariutta Y. Transcriptional regulatory framework for vascular cambium development in *Arabidopsis* roots // Nat Plants. 2019. Vol. 5, № 10. P. 1033-1042.
573. Zhang J, Xie S, Cheng J, Lai J, Zhu JK, Gong Z. The Second Subunit of DNA Polymerase Delta Is Required for Genomic Stability and Epigenetic Regulation // Plant Physiol. 2016b. Vol. 171, № 2. P. 1192-208.
574. Zhang S, Xie M, Ren G, Yu B. CDC5, a DNA binding protein, positively regulates posttranscriptional processing and/or transcription of primary microRNA transcripts // Proc Natl Acad Sci USA. 2013. Vol. 110, № 43. P. 17588-93.
575. Zhang Y, Wen C, Liu S, Zheng L, Shen B, Tao Y. Shade avoidance 6 encodes an *Arabidopsis* flap endonuclease required for maintenance of genome integrity and development // Nucleic Acids Res. 2016a. Vol. 44, № 3. P. 1271-84.
576. Zhang X, Liu T, Wang J, Wang P, Qiu Y, Zhao W, Pang S, Li X, Wang H, Song J, Zhang W, Yang W, Sun Y, Li X. Pan-genome of *Raphanus* highlights genetic variation and introgression among domesticated, wild, and weedy radishes // Mol Plant. 2021. Vol. 14, № 12. P. 2032-2055.
577. Zhang ZL, Ogawa M, Fleet CM, Zentella R, Hu J, Heo JO, Lim J, Kamiya Y, Yamaguchi S, Sun TP. Scarecrow-like 3 promotes gibberellin signaling by antagonizing master growth repressor DELLA in *Arabidopsis* // Proc Natl Acad Sci U S A. 2011. Vol. 108, № 5. P. 2160-5.
578. Zhao C, Beers E. Alternative splicing of Myb-related genes *MYR1* and *MYR2* may modulate activities through changes in dimerization, localization, or protein folding // Plant Signal Behav. 2013. Vol. 8, № 11. P. e27325.
579. Zhao C, Hanada A, Yamaguchi S, Kamiya Y, Beers EP. The *Arabidopsis* Myb genes *MYR1* and *MYR2* are redundant negative regulators of flowering time under decreased

- light intensity // *Plant J.* 2011. Vol. 66, № 3. P. 502-15.
580. Zhong R, Burk DH, Morrison WH 3rd, Ye ZH. A kinesin-like protein is essential for oriented deposition of cellulose microfibrils and cell wall strength // *Plant Cell.* 2002. Vol. 14, № 12. P. 3101-17.
581. Zhou Y, Liu X, Engstrom EM, Nimchuk ZL, Pruneda-Paz JL, Tarr PT, Yan A, Kay SA, Meyerowitz EM. Control of plant stem cell function by conserved interacting transcriptional regulators // *Nature.* 2015. Vol. 517, № 7534. P. 377-80.
582. Zhu C, Ganguly A, Baskin TI, McClosky DD, Anderson CT, Foster C, Meunier KA, Okamoto R, Berg H, Dixit R. The fragile Fiber1 kinesin contributes to cortical microtubule-mediated trafficking of cell wall components // *Plant Physiol.* 2015. Vol. 167, № 3. P. 780-92.
583. Zhu S, Gao F, Cao X, Chen M, Ye G, Wei C, Li Y. The rice dwarf virus P2 protein interacts with ent-kaurene oxidases in vivo, leading to reduced biosynthesis of gibberellins and rice dwarf symptoms // *Plant Physiol.* 2005. Vol. 139. P. 1935–1945.
584. Zlobin N, Lebedeva M, Monakhova Y, Ustinova V, Taranov V. An ERF121 transcription factor from *Brassica oleracea* is a target for the conserved TAL-effectors from different *Xanthomonas campestris pv. campestris* strains // *Mol Plant Pathol.* 2021. Vol. 22, № 5. P. 618-624.
585. Zubo YO, Blakley IC, Yamburenko MV, Worthen JM, Street IH, Franco-Zorrilla JM, Zhang W, Hill K, Raines T, Solano R, Kieber JJ, Loraine AE, Schaller GE. Cytokinin induces genome-wide binding of the type-B response regulator ARR10 to regulate growth and development in *Arabidopsis* // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2017. Vol. 114, № 29. P. E5995-E6004.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор благодарит своего научного руководителя, Додуеву Ирину Евгеньевну, за высокий профессионализм, мудрое руководство и неоценимую помощь в процессе подготовки диссертации. Выражаю особую благодарность Лутовой Людмиле Алексеевне за доверие и возможность выполнять работу в лаборатории геномной и клеточной инженерии растений кафедры генетики и биотехнологии СПбГУ. Благодарю весь коллектив лаборатории геномной и клеточной инженерии растений, в особенности Ганчеву Марию Семеновну, Творогову Варвару Евгеньевну, Лебедеву Марию Александровну, Поценковскую Элину Андреевну за обучение новым методам, ценные советы и рекомендации в ходе выполнения работы. Спасибо Бузовкиной Ирине Сергеевне за критическое прочтение работы. Автор благодарен Романович Анне Эдуардовне и Машарскому Алексею Эльвиновичу за секвенирование образцов. Спасибо Данилову Лаврентию Глебовичу, Афонину Алексею Михайловичу, Грибченко Эмме Сергеевне, Павловой Полине Антоновне, Tess С. Kovalevski за помощь в обработке и анализе биоинформатических данных. Благодарю Паутова Анатолия Александровича и Трухманову Гули Рузмаматовну за помощь в получении гистологических срезов корней. За поддержку в период выполнения и написания работы от всей души благодарю свою семью.

Работа выполнена при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках соглашения № 075-15-2022-322 от 22.04.2022 на создание и развитие Научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего». В работе использовано оборудование ресурсного центра научного парка СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий».

ПРИЛОЖЕНИЕ

Таблица 1. Праймеры, использованные в работе.

Праймер	Последовательность
Праймеры для изучения влияния сверхэкспрессии и потери функции генов	
RsWOX4 HD F	TGGAGACGCACTCGGGAGG
Rs WOX4 HD R	GTGACGATGTTGTTGTTGTTTTCG
RsWOX4 CDS F	ATGAAGGTAGATGAGTTTTCCAATGGGT
RsWOX4 CDS R	TCAACTACTTTCAGGGTACAATGGG
RsWOX4 RNi F	TGTAGAGAAGGGGGAGTTAGTGGAA
RsWOX4 RNi R	GGAGTAAGAAGGAGGAGGAGAGCA
RsWOX14 CDS F	ATGGAGAAAGAGAGCCAAAACGGTG
RsWOX14 CDS R	TCACAGTCTATACGAATTGAACT
Праймеры для изучения взаимодействий с помощью дрожжевой одногибридной системы	
RsCLE41-like F	TATTCTCATACTCTGCTGCTGCTGCT
RsCLE41-like R	ATAGGATTAGGTCCAGAAGGAACTTC
pRsCLE41 s1 F	ATCGGATCGGATATTCGTTTCCCC
pRsCLE41 s2 F	ATCACTGGATCTCTTCTCCCATACAC
pRsCLE41 s2 R	CGCATATTCCCCTTTGGTAAAAG
pRsCLE42 s1 F	GTTCTGACACTATTGCCGTTCTT
pRsCLE42 s1 R	TGCGTTGTCTTATGGTTAGAGCG
pRsCLE42 s2 F	TTCGCTCCACACTCTCTCTTTTG
pRsCLE42 s2 R	TCTCTCCATGACAAGATTTAACG
pRsCLE42 s3 F	CTCTCTCTCTACCAGGAAGAACACTC
pRsCLE42 s3 R	TGATGTGAGGAGATCGCATCAC
pRsLOG3 s1 F	CGATGACCAGCATGACAAGA
pRsLOG3 s1 R	AACAGTTTTAAGGTTTCTTTGAGCAC
pRsLOG3 s2 F	TTTTTAGGAAAGCCTCGCAA
pRsLOG3 s2 R	TTCTTGTCATGCTGGTCATCG
pRsYUC7 s1 F	GCACATTTAGAAGTCAAATCCAAGG
pRsYUC7 s1 R	TGCGAGGACGAGTTTTAGGG
pRsYUC7 s2 F	GCGAAGTTGTAGAAAGGTAGAAACGA
pRsYUC7 s2 R	CTAGCAGCGGCATTTGTGAA
pRsARR18 s1-2 F	CCAACAATAAGGAAAGAAAGAGAGG

pRsARR18 s1-2 R	AGGAGGCAGTCCAAAAAGAG
pRsARR18 s3 F	TCCAACACAATGTTTCCGTTTT
pRsARR18 s3 R	TGACCTGATTCATACCACCATCC
pRsARR18 s4-6 F	CCCAATAATCCGCACGAAAA
pRsARR18 s4-6 R	CCTTTTACGATTGAATGGTTAGTT
Праймеры для секвенирования последовательностей генов с InDel/SNP	
RsCYCD4;1 indel1-2 F	GGTTGGAGATCCTCAGTTTGTGT
RsCYCD4;1 indel1-2 R	CCTTTGGTTGTGCTGGCTATC
RsCYCD4;1 indel 3 F	GCTCAGACTTATGTTCAACAACACC
RsCYCD4;1 indel3 R	TTTTCAACCTCTCATCAGACATCATAC
RsLBD4 indel1 F	TCCTGTTTACGGTTGCGTAGGT
RsLBD4 indel1 R	ATGCCCTTGTTGTCCTGTGG
RsCLE7 indel1 F	TTTTCTTAATTTCAATTGTTTCCACATC
RsCLE7 indel1 R	AGATCGTTGCTCTCACCATCTTT
RsCYCD3 indel1 F	GTTGATCCCTTTGACCCTCTTT
RsCYCD3 indel1 R	CGTGACTCTTGCGTTTCTTGG
RsWOX2 indel1 F	TGGACATCAATAAAGAAGGAGGAGA
RsWOX2 indel1 R	TTTGCCACCAAACGACAAC
RsWOX2 indel2 F	GCAGAGGTTGTCGCAGAGG
RsWOX2 indel2 R	TCAGGGTCATGGCAGTTCA
RsBRX indel1 F	CGTCGGGTCAGATTCAGGT
RsBRX indel1 R	GGCTTTGTATTCTCTCTCTGTTCTGCT
RsBRX indel2 F	ATCACATTCGCTTCGCTTCC
RsBRX indel2 R	TCTCTGTTCTGCTCCCACCAC
RsCYCD4;1CDS F	ATGGCAGACAATCTGGAAGTGAAGA
RsCYCD4;1 CDS R	TTAGGAAAGATGTGTATGGGAAGAAG
RsCYCD3;1 CDS F	GAAAAACCAAACGATACAGAAGATAAA
RsCYCD3;1 CDS R	TACCCTTCACACATGACAGAGCAAAGT
RsCLE2-2 cds F	ATGGCTAAGTTAAGTTTTACTTTCTG
RsCLE2-2 cds R	CTAGTGATGTTGTGGGTCGGGTC
Праймеры для количественной оценки экспрессии генов	
RsWOX5 F	AGGTGGAACCCTACGGTGA
RsWOX5 R	GAGAGAGGCAAAAACGCAGT
RsWOX9 F	GCCAAGCATGTTCAAGTCCAAA

RsWOX9 R	GAGCCCTAATCCTTCTGATCTCCTC
RsWOX11 F	ATGGACCAAGAACAAACACCACATA
RsWOX11 R	GAGCATCTTTCGTATCCTTACGGT
RsWOX12 F	GGATCGTCACAAAaCCCTACTGG
RsWOX12 R	GCTTCTCTGGAGGCGACAGC
RsCLE42-1 F	ATGAGATCACACAGCACaATTTTACTT
RsCLE42-1 R	CTACCTATTTGAGATGGGATTTGG
RsCLE12-like F	ATTCTGGTTATTGTTCTGTGGCTGTCT
RsCLE12-like R	CTAGGATCAATTTTCATCTCCAACATC
RsCLE22-like F	CTAGAAAGCATCTGACTACTGTTGC
RsCLE22-like R	GAGGATTAGGTCCAGTAAAACTCTTCTC
RsIPT8 R	TCAGGCGGATAAACTCCGAAGTACC
RsIPT8 F	ATTGCTGCTTCTCTGGGTGGAT
RsLOG2 F	ATGGAAGAGACAAAATCAAGATTCAG
RsLOG2 R	ACGAAATGGTGGGCGAGTTGG
RsLOG7 F	GGTGGGTCTTCTTAACCTGGATGG
RsLOG7 R	CCTCGTGTTGTGGAACCAACTC
RsLOG6 F	GGTTGGTTTATTAATGTTGATGGATAT
RsLOG6 R	CCTCTAATTTCTCAAACAACCTCTTATGC
RsHB8 F	ATGGAGTGTGCCAGAAGTTCTTCG
RsHB8 R	ACTGCTTCGTTGAATCCTTTGCT
RsIPT1 F	CCGAGCGATACGATCCGAAG
RsIPT1 R	ATCGTACCCGCTCTCCTC
RsIPT3-1 F	GGCAAACCTCTCAGTTGAATCTGTT
RsIPT3-1 R	ACAATTCTTCTCTGTCTCCCACATTC
RsIPT3-3 F	GGCGAATCTCTCAGTTGAAAGCAT
RsIPT3-3 R	TGTCTCTCATGTTTAAGAACGGTTC
RsIPT7 F	ATGAAGTTCTCAATCTCAGCAATGAAGC
RsIPT7 R	GAGCAAGTGGTGAGGCACGC
RsLOG1 F	GTTCAAGAGAATATGTGTGTTTTGTGG
RsLOG1 R	ACAATGATATGACGAGCAGTTGGTG
RsLOG3 F	TGTGTCTTCTGTGGAAGCAGCCAAG
RsLOG3 R	GCAGAGAGTTGTAGTATCCATCAACATT
RsLOG4 F	GTGGAAGCAGCCAAGGCAAGA

RsLOG4 R	TATCCATCAACATTGAGCAAACCCAC
RsLOG5 F	TTCAAGAGGGTTTGTGTGTTCTGT
RsLOG5 R	CATCATCAACGGCTTTATCAATG
RsLOG6 F	GGTTGGTTTATTAAATGTTGATGGATAT
RsLOG6 R	CCTCTAATTTCTCAAACAACCTTTATGC
RsYUC1 F	ATCCTCGTACACGGTCCCATCATC
RsYUC1 R	CCATCCATAAACTTTGCTCCATTTTTTGT
RsYUC3 F	GACATTTTCTCCCGTCGCTGC
RsYUC3 R	GCACCAAACAATCCTTTCCTCGT
RsYUC4 F	CGTAGCGGCTTGTTTATCAAACC
RsYUC4 R	CTTTCACTGCTTGCGTCACTCTAATTT
RsYUC5 F	ACGGTCCAGTTATCATCGGAGCC
RsYUC5 R	TCCTTTCCTCGTGAATCCAGCC
RsYUC7 F	TTACCCAATCTACCCTTCCCCGA
RsYUC7 R	AAGATACTCAAACCTCGCAAGAACCG
RsYUC9 F	TGCCAATTACCAAAAATGCCCTTC
RsYUC9 R	GCAAATATACTCCATCTCCTCTCCG
RsGAPDH F	TCTCTTCGGTGAGAAGCCAGTCA
RsGAPDH R	TCAAGTGAGCAGCAGCCTTGTC
RsUBQ F	ACTTGGTCCTCAGGCTTCGTGGT
RsUBQ R	AAAGATCAACCTCTGCTGGTCCG
RsCYCU2-2 F	TTCTGTTCTCGGTGGGGTTC
RsCYCU2-2 R	GCTGGTGGTGGTGATGATGTT
RsXero1 F	GGTGGTGGTGGTTTGAGTGG
RsXero1 R	TGATGCCTTTCTTCTCGTGGT
RsDC-8 F	CGAGGCAGGAGAAGAAGCA
RsDC-8 R	TCCCTAACGCACCCCTTACC
RERF11 F	GAGACCCGACCAAGAAAACC
RsERF11 R	CGAATCAGCAGAGGAGAAACATC
RsOLE F	TGGCTATGGTGGTGGTTATGG
RsOLE R	CGGGCTGAAGATCAGGAAAA
RsWRKY40 F	ACGACAACCTGCTTTGGTGGA
RsWRKY40 R	TTTCTTGGGAGGACTGACTTGG
RsBGR F	ACCACGGGAAACAACACGAA

RsBGR R	TCCTCCATAACTCGGCTCTCAC
RsP8B6 F	AGGTGGGACTGGAGGCAAA
RsP8B6 R	CTCGGCGTCTTCCTTGTCAG
RsMYC2 F	CAAAGGAAAGCCCAAACAGAGA
RsMYC2 R	TACCCGCCAACCCAGCAC
RsDEF206 F	GCTTCACTATTCTCGTGCTTGTC
RsDEF206 R	GGAGGAGTTGGGTATTTGGCTTT
RsDOT1 F	CTGGCATCGGCATAGGTCTC
RsDOT1 R	CACCACCACCTCCTCTTCCA
RsCCT1 F	AATGGCGTGGACAAGTAGGG
RsCCT1 R	CGTAGGCAAAGGGCAAGAGA
RsPLP2 F	GCTGGTGATGTTTCAGTGGATG
RsPLP2 R	CCGTTTTCTTCTGCTTTTGGT
RsRDL5 F	CGTTGGTTATCGGCTTGGTT
RsRDL5 R	GTCACTGCTCCTTCCTTCCTC
RsPROF1 F	ATCTCCTGTGCGATGTGGAA
RsPROF1 R	TCCCTTTTTGCCTCTGATGAC
RsSRC2 F	CAACGGCAAGACCAAAGGA
RsSRC2 R	CCTGGAAGAGGCGGGTATG
RsC4H F	CGTCTCTTCACCCAATCTCACC
RsC4H R	ACTCCCACCCTTCCCTGTTC

Приложение 2. Конструкции, полученные в работе.

Исходная ДНК для встраивания в вектор	Вектор ввода	Вектор назначения	Конечная конструкция	Использование конструкции
RsWOX4_cds	pDONR 221	pB7WG2D	pB7WG2D-RsWOX4_cds	Исследование влияния сверхэкспрессии <i>RsWOX4</i> на развитие корня
RsWOX4_part_of_cds		pH7GWIWG2	pH7GWIWG2-RsWOX4_part_of_cds	Изучение влияния РНК-интерференции <i>RsWOX4</i> на развитие корня
RsWOX14_cds		pB7WG2D	pB7WG2D-RsWOX4_cds	Изучение влияния сверхэкспрессии <i>RsWOX14</i> на развитие корня
HD_WOX4	pDONR 207	pDEST22	HD_WOX4-pDEST22	Изучение взаимодействий ТФ-ДНК с помощью дрожжевой одногибридной системы
pCLE41		pHisLeu	pCLE41-pHisLeu	
pCLE42			pCLE42-pHisLeu	
pLOG3			pLOG3-pHisLeu	
pRR18			pRR18-pHisLeu	
pYUC7			pYUC7-pHisLeu	