

УДК 573.2,576.324,004.932.2

МОДЕЛИРОВАНИЕ МОРФОДИНАМИКИ НА РАННИХ СТАДИЯХ ЭМБРИОГЕНЕЗА РАСТЕНИЯ

© 2012 г. С.В. Николаев¹, Н.А. Колчанов^{1,7,8}, С.К. Голушко², Ж.-К. Палаки³,
О. Урбан⁴, Е.В. Амелина², А.В. Юрченко⁵, К.С. Голушко⁵, У.С. Зубаирова¹,
А.В. Пененко⁶, А. Трубую⁴

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск,
Россия, e-mail: nikolaev@bionet.nsc.ru;

² Конструкторско-технологический институт вычислительной техники СО РАН,
Новосибирск, Россия;

³ Национальный институт сельскохозяйственных исследований –
Версальский исследовательский центр, Париж, Франция;

⁴ Национальный институт сельскохозяйственных исследований –
Центр в Жуи-эн-Жозэс, Париж, Франция;

⁵ Институт вычислительных технологий СО РАН, Новосибирск, Россия;

⁶ Институт вычислительной математики и математической геофизики СО РАН,
Новосибирск, Россия;

⁷ НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия;

⁸ Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,
Новосибирск, Россия

Поступила в редакцию 15 июля 2012 г. Принята к публикации 31 августа 2012 г.

Целью работы было изучение динамики формы (морфодинамики) на ранних стадиях развития зародыша *Arabidopsis thaliana*. В ходе работы была отработана последовательность использования информационных технологий – конвейер процедур – от получения стеков конфокальных снимков и реконструкции по ним трехмерных моделей зародыша до клонального анализа и расчетов механического поведения клеток растущего зародыша. В статье приведены описание конвейера и предварительные результаты.

Ключевые слова: биология развития, эмбриогенез, морфодинамика, морфогенез, зародыш растения, конфокальная микроскопия, анализ изображений, клеточная линия, механика клетки, метод конечных элементов, моделирование.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из фундаментальных проблем современной биологии является изучение регуляции формообразования (морфогенеза) в процессе роста организма. Ключевым этапом такого изучения является реконструкция последовательности стадий преобразования формы.

На ранних стадиях эмбриогенеза из одной клетки развивается зародыш, имеющий округлую форму. По мере роста и деления клеток зародыш претерпевает морфологические изменения, приводящие к появлению плоскостей симметрии. В

результате к моменту прорастания он приобретает все черты молодого проростка. Клетки объединены в ткани и органы, которые составляют корешок, гипокотиль и семядоли (рис. 1).

Некоторые аспекты морфогенеза зародыша достаточно подробно изучены путем экспертного анализа снимков зародышей на разных стадиях развития. Однако ясно, что для понимания механики процессов развития зародышей растений требуется более детальная картина, которую можно получить с привлечением информационных технологий, таких, как методы автоматизированной обработки

экспериментальных данных, математического и численного моделирования, решения обратных и полуобратных задач.

Постановка конкретных задач при изучении морфодинамики зародыша растения определяет последовательность информационных технологий (конвейер процедур), применяемых на этих этапах. В данной статье описан конвейер процедур для реконструкции клеточных линий и изучения механики деформирования стенок клеток на ранних стадиях морфодинамики зародыша.

Схема конвейера

На рис. 2 приведена схема потока данных между процедурами конвейера. Описание этих процедур составляет основное содержание статьи. Некоторые из них широко известны, описано их применение для решения биологических задач, другие процедуры были либо адаптированы для биологических задач, либо явились оригинальной разработкой. И те и другие приведены в соответствующих частях

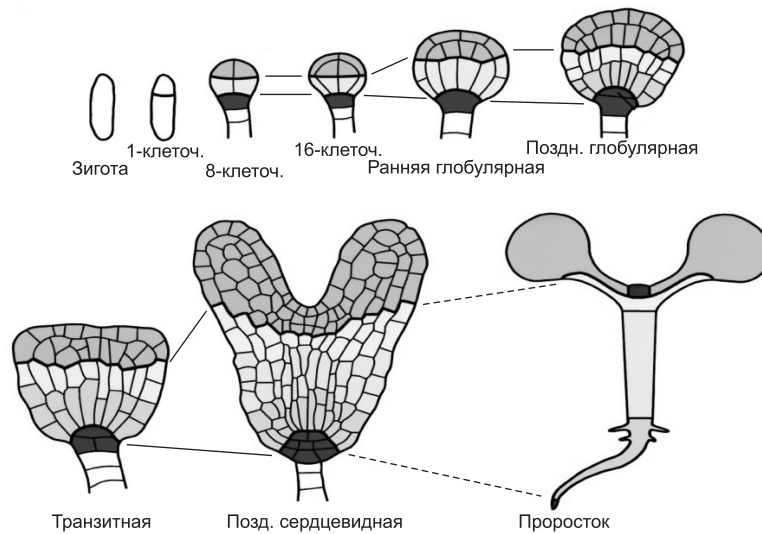


Рис. 1. Схематическое изображение стадий развития зародыша *Arabidopsis thaliana* до проростка (адаптировано из: Laux *et al.*, 2004).

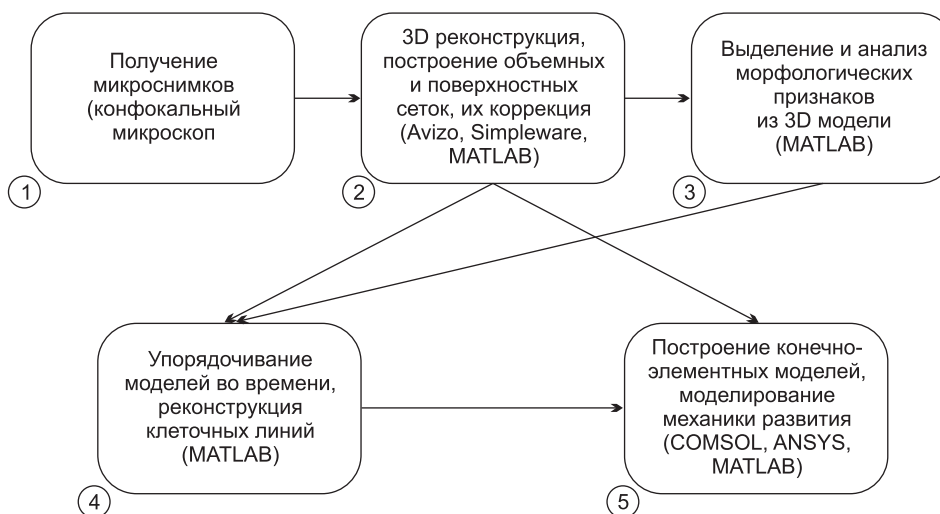


Рис. 2. Схема потока данных между процедурами конвейера.

статьи. Следующий раздел посвящен некоторым деталям формирования изображения в контексте реконструкции клеточного строения ткани и основным шагам пространственной реконструкции, дается представление о клональном дереве и его трассировке. Затем следует раздел, посвященный моделированию механики клеточной стенки, там же в контексте метода конечных элементов рассматривается задача построения сеточного представления геометрии зародыша. Описание экспериментов и методов подготовки образцов и получения снимков не является предметом данной статьи.

Реконструкция клеточного строения растительной ткани

3D реконструкция растительных клеток. Задача 3D реконструкции клеток состоит в построении пространственного образа для каждой клетки в поле изображения. Исходными данными для такого построения является набор изображений последовательных срезов некоторого объема образца. При использовании конфокальной микроскопии эти срезы являются виртуальными – изображение получается сканированием лазерным лучом некоторой фокальной плоскости внутри прозрачного объекта. Сигнал флюоресценции собирается от каждого элементарного объема, вокселя (*voxel*), и хранится вместе с его координатами. Для наблюдения клетки необходимо, чтобы воксели в пределах одной структуры (например, ядра) были отличимы от вокселей, принадлежащих другой структуре, например, клеточной стенке (Truernit *et al.*, 2008). В зависимости от того, какую субклеточную структуру надо наблюдать, используются различные флюоресцентные метки. Для выделения границ областей, например клеток, на изображении (сегментации изображения) часто используют «алгоритм водораздела» (*watershed transformation*) как с точками инициации, так и без них (Гонсалес, Вудс, 2006). В качестве точки инициации внутри клетки может быть взята, например, центроид клеточного ядра, если оно детектируется. В настоящее время имеется много программ, реализующих данные алгоритмы сегментации. Стэки сегментированных изображений являются основой для построения пространственной геометрии образца (Pawley,

2006). В данной работе трехмерная реконструкция проводилась с использованием пакета Avizo (<http://www.3dvisual.com.au/html/avizo.html>).

Набор трехмерных моделей для зародышей на разных стадиях развития дает материал для постановки и решения разнообразных биологических задач, таких, как реконструкция клеточных линий, являющихся основой роста и морфогенеза зародыша, и изучение морфодинамики растущего зародыша.

Клеточные линии и алгоритмы их реконструкции. Под клеточной линией (или клоном) для некоторой клетки будем подразумевать множество потомков данной клетки, появившихся в процессе развития организма. Изучение клеточных линий (клональный анализ) началось с описания Уитманном (Whitmann) паттернов клеточных делений эмбриона пиявки в XIX в. Реконструкция клеточных линий является одной из основных задач при изучении развития организма, в частности морфогенеза, и все чаще применяется при исследовании стволовых клеток и новообразований в организме.

Трассировка (отслеживание) линий дает информацию о числе потомков для данной клетки, их местоположении и статусе дифференцировки. Для такой трассировки в настоящее время имеется несколько экспериментальных подходов, например, в статье К. Kretzschmar с соавт. (2012). Так, полное «генеалогическое дерево» для клеток нематоды *Caenorhabditis elegans* было определено с использованием микроскопии Номарского (Sulston *et al.*, 1983). Современная цейтраферная микросъемка в нескольких фокальных плоскостях позволила записывать клеточные линии в оцифрованном виде, что стимулировало разработку автоматизированных методик клонального анализа. Автоматическое построение клеточной линии для *C. elegans* было описано в работе Z. Bao с соавт. (2006), а для раннего развития рыбки zebrafish (до стадии 1000 клеток) была реконструирована полная клеточная линия (Olivier *et al.*, 2010).

Следует отметить, что для растений реконструкцию клеточных линий облегчает отсутствие миграции клеток и апоптоза (Fernandez *et al.*, 2010).

Алгоритмы реконструкции клеточных линий. В соответствии с определением Buckingham с соавт. (2011) целью клонального анализа

является построение полного «4D изображения» клеток *in vivo*. Разработка алгоритмов для реконструкции клеточных линий на основе имеющихся 4D данных является нетривиальной задачей (Olivier *et al.*, 2010, Fernandez *et al.*, 2010). В общем случае алгоритм включает 3D реконструкцию клеток ткани в разные моменты времени с трассировкой индивидуальных клеток и визуальной верификацией, требующей больших затрат времени. Часто трассировка клеток затруднена из-за роста и деления клеток, их деформирования и движения, что стимулирует совершенствование алгоритмической базы. Например, **MARS-ALT-конвейер** (Fernandez *et al.*, 2010) представляет собой итеративный процесс построения надежной реконструкции клеточной линии. Каждый шаг этого процесса включает: 1) идентификацию «вручную» небольшого набора клеточных линий для каждой пары сегментированных изображений для последовательных моментов времени; 2) оценку деформирующего преобразования для этой пары изображений; 3) оценку нелинейного преобразования вокселей на векторном поле оптических плотностей с учетом погрешностей позиционирования; 4) уточнение поля деформации на основе интенсивности вокселей; 5) построение гипотетической клеточной линии на паре изображений; 6) дополнительное тестирование линий с использованием геометрических и топологических правил. **MARS-ALT алгоритм использовался** при построении клеточных линий для развития меристемы цветка на протяжении 70 часов.

Особенности реконструкции клеточных линий для зародыша растения. Для ранних стадий эмбрионального развития растения непрерывные наблюдения зародыша внутри семени на клеточном разрешении остаются в настоящее время нерешенной экспериментальной задачей. Для клонального анализа доступны данные о клеточном строении зародышей, фиксированных в некоторые моменты времени в процессе развития. В этой ситуации сложность задачи клонального анализа зависит от вариабельности клеточных линий между зародышами. В случае низкой вариабельности можно попытаться классифицировать коллекцию зародышей по стадиям развития и рассматривать упорядоченную коллекцию в качестве возрастной серии для «обобщенного» зародыша.

Отсутствие миграции клеток позволяет извлечь полезную для клонального анализа информацию из реконструированной сегментированной модели отдельного зародыша. Например, для зародыша арабидопсиса дикого типа паттерн клеточных делений известен и стабилен вплоть до стадии нескольких десятков клеток, и биологи растений могут реконструировать клональное дерево из 3D модели зародыша. Эта априорная информация полезна для формулировки решающих правил для распознавания клональных отношений, которыми пользуются эксперты. Для зародыша, состоящего из сотен клеток, клональный анализ «вручную» является чрезмерно трудоемким и может сопровождаться множеством ошибок. Поэтому автоматизация такой работы на основе решающих правил является актуальной задачей, так как ее решение позволило бы массово реконструировать клеточные линии и проводить сравнения между организмами дикого типа и организмами с разнообразными мутациями.

На рис. 3 приведен пример реконструкции клонального дерева, построенного с использованием алгоритма, разработанного при выполнении данного проекта. Решение о том, появились ли две рядом расположенные клетки в результате деления некоторой материнской клетки, или они принадлежат разным парам сестринских клеток, принимается на основе автоматического анализа деталей строения клеточных стенок. Описание алгоритма является предметом другой статьи и здесь не приводится.

Компьютерное моделирование механического поведения растительных клеток и тканей

Клетка как осмотическая ячейка. Несмотря на сложное строение клетки и наличие механически разнородных структур на мезоскопических масштабах (масштабы субклеточных структур – органелл), механическое поведение клетки в первом приближении определяется клеточной стенкой. В таком приближении клетка представляет собой упругую оболочку, заполненную жидкостью. Считается, что оболочка обладает свойством избирательной проницаемости: одни вещества, в том числе вода, могут свободно проходить через эту

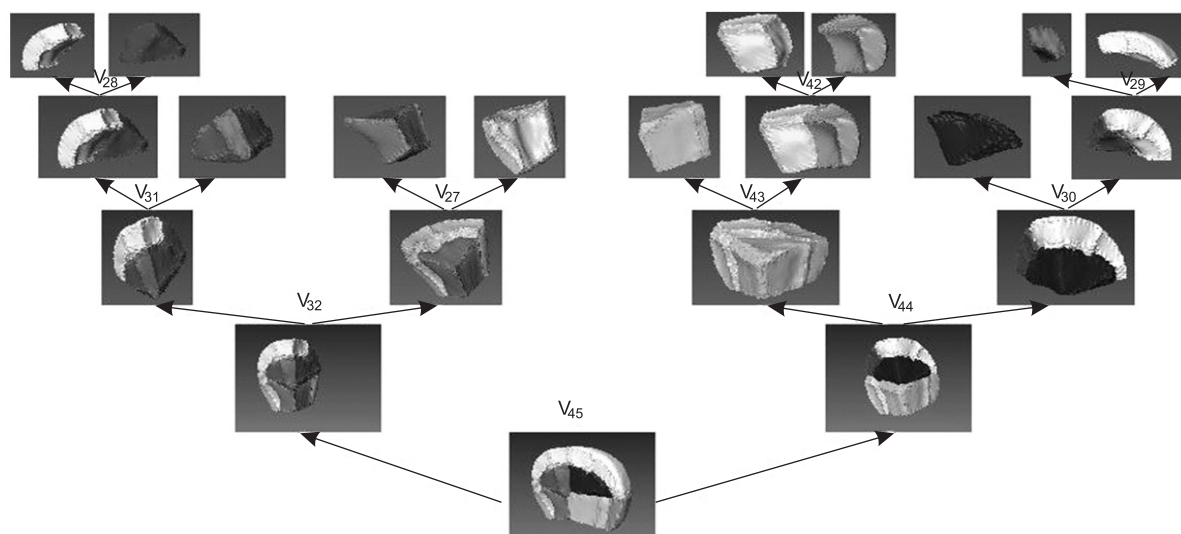


Рис. 3. Пример реконструкции части клонального дерева для зародыша арабидопсиса с использованием алгоритма, основанного на автоматической детекции морфологических особенностей клеточного строения.

оболочку, а для других оболочка является непроницаемой. Таким образом, клетка является осмотической ячейкой: в гипотонической среде она стремится разбухнуть, а в гипертонической среде – сжаться. В каждый момент времени тургорное давление уравнивается силой упругого натяжения клеточной оболочки. Далее будем считать, что механические свойства оболочки определяются клеточной стенкой, и что в условиях равновесия сила натяжения везде одинакова. Если в клетку поступает вода (при отличной от нуля разности водных потенциалов), то увеличиваются ее объем, площадь стенки и ее упругое натяжение.

Моделирование механического поведения стенки растительной клетки. Материал клеточной стенки состоит как минимум из двух фаз, чем схож с конструкционными композитами. Одну из фаз – волокна целлюлозы, образующие «скелет» стенки, по аналогии с композиционными материалами будем называть волокнами или наполнителем. Другая фаза, представленная в клеточной стенке сильно гидратированной матрицей из молекул гемицеллюлозы и/или пектина, заполняет пространство между волокнами и в терминологии композиционных материалов называется связующим материалом.

Целлюлозные волокна в клеточной стенке зрелых клеток формируют слои с различающейся от слоя к слою преимущественной ориентацией

волокон – так называемую вторичную клеточную стенку. В то же время в активно растущей ткани клетки разделены первичной клеточной стенкой, и волокна в матрице такой стенки не образуют какой-либо строго упорядоченной структуры. Таким образом, материал клеточной стенки является неоднородным и анизотропным. Для описания механических свойств первичной клеточной стенки можно использовать осредненные механические характеристики целлюлозного скелета в матрице. Для прогнозирования осредненных механических характеристик и построения физических соотношений, связывающих напряжения и деформации, можно применять различные структурные модели композиционного материала, например, описанные С.К. Голушко и Ю.В. Немировским (2008).

Предполагается, что в результате упругого деформирования под действием тургорного давления происходит увеличение размеров растительной клетки. Затем происходит релаксация механических напряжений клеточной стенки за счет разрыва части связей между молекулами-волокнами целлюлозы, что схоже с пластической деформацией при ослаблении материала. После этого материал клеточной стенки достраивается и упрочняется при дальнейшем увеличении объема клетки, что в целом схоже с поведением гиперупругих материалов. Возникающие циклы «упругое растяжение–ре-

лаксации» можно заменить непрерывным упругим деформированием при увеличивающейся нагрузке, что существенно упрощает математическую и численную модель процесса.

Даже при описанном упрощении модели аналитическое решение задачи об упругом деформировании клеток зародыша возможно только в случаях простой геометрии, т. е. на самых первых стадиях. Для более поздних стадий и, соответственно, сложных форм зародыша необходимо применять численные методы решения. Одним из универсальных методов дискретного представления геометрического объекта для последующего численного анализа является использование неструктурированных сеток, а наиболее развитым методом решения задач механики на неструктурированных сетках – метод конечных элементов.

О построении конечно-элементных моделей многоклеточных структур растительных тканей. Конечно-элементное моделирование включает несколько этапов. Первые два из них – создание геометрической модели и генерация сетки элементов.

В случаях моделирования объектов с относительно простой геометрией (например, зародышей растения на стадии до 4–8 клеток) можно эффективно использовать прямое геометрическое моделирование, например, с помощью САД-редакторов геометрии. В такой ситуации можно оперировать простыми геометрическими формами, комбинируя их для создания приближен-

ной геометрической модели (рис. 4, а). Другой подход заключается в использовании геометрии, построенной на основе экспериментальных данных по технологии, описанной в предыдущих разделах. В этом случае автоматически реконструируется геометрия и генерируется сетка элементов, что позволяет импортировать соответствующую модель непосредственно в систему компьютерного моделирования и анализа (САЕ систему) и использовать ее для расчета (рис. 4, б).

Алгоритмы построения сеток составляют раздел вычислительной геометрии и представлены в многочисленных руководствах, например у Ф. Препарата и М. Шеймос (1989). Качественно построенная сетка может с достаточно высокой точностью представлять геометрию природного объекта, в частности зародыша растения. Эта же сетка может быть использована как основа для построения конечно-элементной модели в системе компьютерного моделирования при решении краевых задач для систем дифференциальных уравнений в частных производных. В настоящее время существует множество пакетов, как коммерческих, так и для свободного использования, предназначенных для построения таких сеток. В настоящей работе использован пакет Simpleware (<http://www.simpleware.com>). Для обмена данными между пакетами Simpleware и САЕ-системами COMSOL и ANSYS использован формат STL (Standard Tessellation Language).

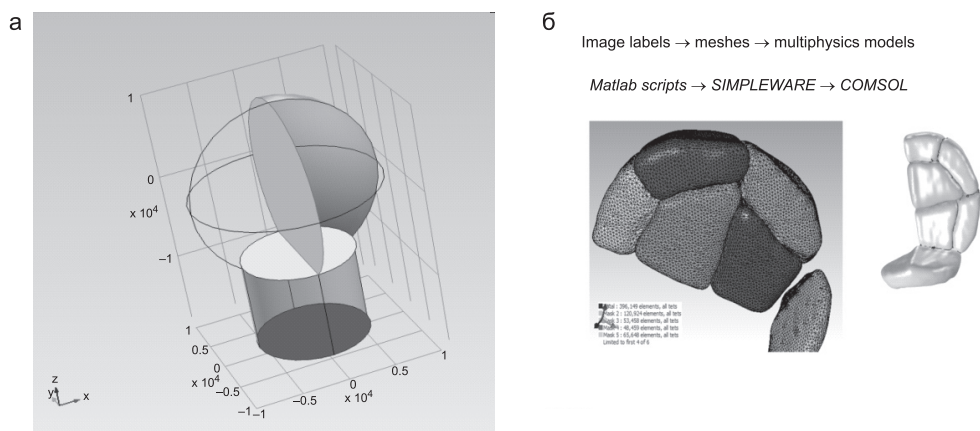


Рис. 4. Примеры построения геометрической модели зародыша с использованием редактора в пакете COMSOL 4.2 (а) на основе 3D реконструкции (б).

Применение компьютерного моделирования для интерпретации особенностей деформирования клеток. Анализ экспериментальных изображений различных стадий развития зародыша растения выявил ряд особенностей деформирования стенок его клеток, нуждающихся в объяснении.

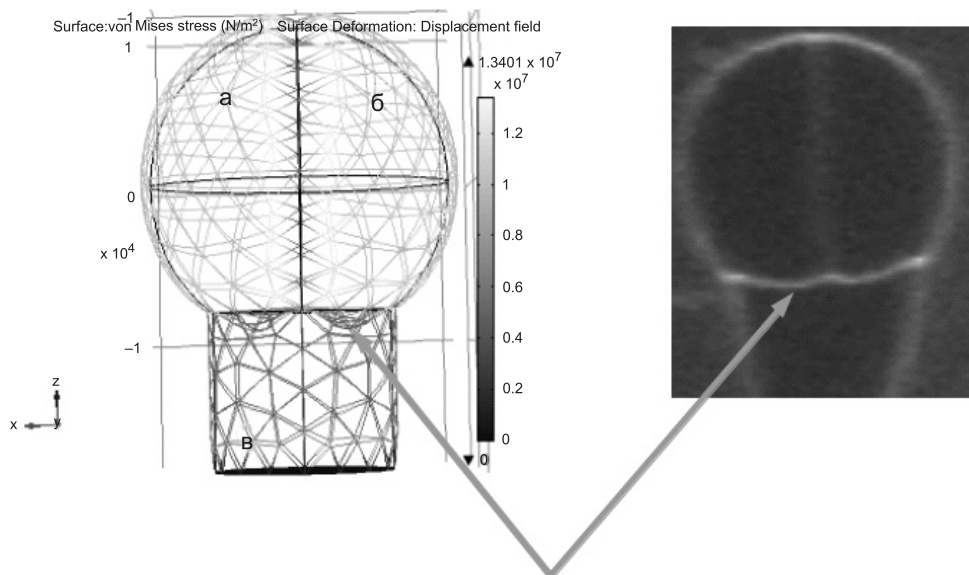
Для изучения возможных причин возникновения изгиба стенки между клетками зародыша и суспензором рассмотрена двухклеточная фаза развития зародыша и исследовано влияние на характер его деформирования различных механических параметров. Для этого в пакете COMSOL построена оболочечная конечно-элементная модель такой системы, и в качестве недеформированного состояния рассматривалась исходная геометрия зародыша. Параметры модели оценены на основании данных из известных источников (Chanliaud *et al.*, 2002). В качестве нагрузки рассмотрено избыточное давление в клетках зародыша и суспензоре с разницей всего 2,5 %.

На рис. 5 представлены результаты компьютерного моделирования деформации клеточных стенок зародыша (слева) в сравнении с изображением среза зародыша *A. thaliana* на стадии двух клеток (справа), полученным на

конфокальном микроскопе. Проведенные вычислительные эксперименты на оболочечной модели показали, что плоские межклеточные стенки оказываются очень чувствительными к разнице давлений в соседних клетках. Сравнение результатов вычислений с наблюдаемой формой клеточных стенок между клетками зародыша и клеткой суспензора позволяет предположить, что скорости роста клеток зародыша в данном случае превышают скорость роста клетки суспензора, что, в свою очередь, приводит к развитию в этих клетках большего тургорного давления.

Другой характерной деталью, обнаруженной на ряде снимков зародышей, является наличие своеобразных «гребешков» (рис. 6). Возникновение подобного «гребешка» на клеточной стенке наблюдается при численном моделировании деформирования оболочечной модели зародыша при избыточном давлении снаружи клеток. Это позволяет выдвинуть гипотезу о том, что зародыш к моменту съемки подвергался действию гиперосмотической среды (возможно, в процессе подготовки образца).

Выявление особенностей на изображениях, подобных тем, что описаны выше, и их интерпретация актуальны для корректного



Изгиб стенки между клеткой зародыша и суспензором

Рис. 5. Сравнение результатов моделирования равновесного состояния стенки в модели зародыша на стадии двух клеток с конфокальным микроизображением.

а, б – клетки зародыша, в – клетка суспензора.

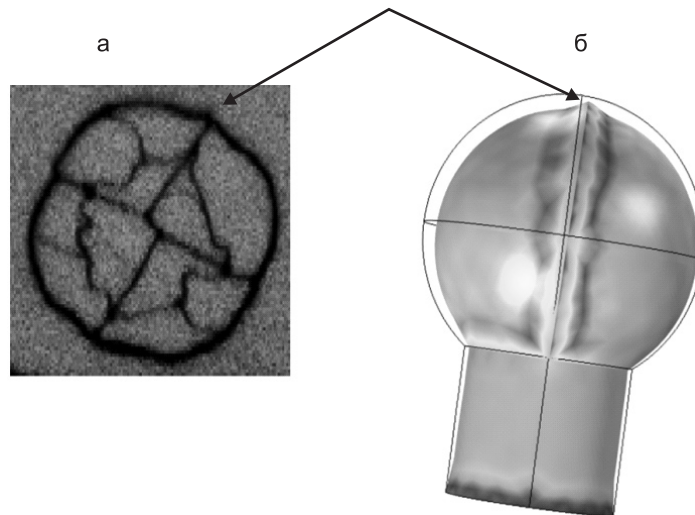


Рис. 6. Наблюдаемые (а) и расчетные (б) «гребешки» на микроизображении и математической модели зародыша.

использования геометрических параметров зародыша при формулировках биологически содержательных гипотез и выводов.

Механика морфодинамики одноклеточного зародыша арабидопсиса. Изучение различных стадий развития зародыша позволяет получить представление о деформации его формы и формы клеток, из которых он состоит, а также их характерных размеров. Так, из экспериментальных снимков видно, что на двух-, четырех- и восьмиклеточной стадиях форма зародыша остается близкой к сферической. При этом форма одноклеточного зародыша сразу после деления зиготы близка к полуэллипсоидальной, практически совпадающей по радиусу с клеткой-суспензором. Предварительные модельные расчеты показали, что деформирование полуэллипсоидальной клетки в сферическую со стенками из однородного изотропного материала под действием избыточного давления может происходить только с существенным увеличением объема исходной клетки. В то же время наблюдения показывают, что округление одноклеточного зародыша может происходить даже при незначительном увеличении исходного объема (примерно на 1/3 от начального).

Как отмечалось, у клетки существуют возможности по упрочнению и ослаблению своих стенок, в том числе локальному. Кроме того, клетка может строить целлюлозный скелет стенки с преобладанием волокон, ориентирован-

ных в одном из направлений, в результате чего возникает анизотропия механических свойств стенки на макроуровне, схожая с анизотропией волокнистых композиционных материалов. Было предположено, что изменение механических свойств отдельных участков клеточной стенки зародыша обуславливает наблюдаемые особенности ростовой деформации клетки. С учетом этого поставлена задача определения механических характеристик материала стенки, позволяющих обеспечить переход формы клетки от исходного к деформированному состоянию под действием тургорного давления. Подобная задача ставилась, например, авторами работы (Fayant *et al.*, 2010) при моделировании апикального роста пыльцевой трубки. По аналогии в настоящей работе для поиска законов распределения механических характеристик материала оболочки, представляющая зародыш, разбита на слои с помощью плоскостей, перпендикулярных оси вращения, после чего осуществлен поиск требуемых параметров для каждого из слоев. При этом для эффективных механических характеристик материала использованы соотношения из работы В.В. Болотина и Ю.Н. Новичкова (1980), а для решения задачи линейного упругого деформирования применен комплекс программ ANSYS Mechanical™ с трехмерными (объемными) конечными элементами.

На основании данных, полученных с помощью конфокального изображения (рис. 7, а),

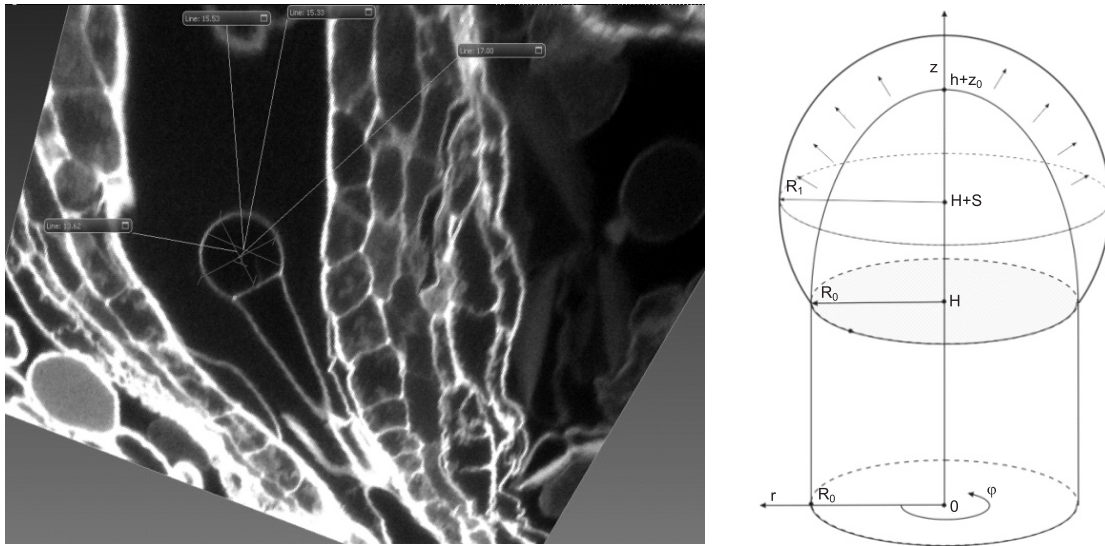


Рис. 7. Данные конфокального изображения зародыша и геометрическая модель.

оценены размеры конечного состояния клетки и построена геометрическая модель одноклеточного зародыша с исходной и конечной формами (рис. 7, б). Модель построена в виде оболочки вращения в цилиндрической системе координат, суспензор задается в виде цилиндрической оболочки, мембрана (стенка между суспензором и зародышем) – в виде круга, а исходная форма клетки зародыша – в виде полуэллипсоида вращения. Форма клетки зародыша после деформирования – часть сфероида. Предполагается, что толщина стенки до деформирования постоянна и на нее действует равномерно распределенное внутреннее давление.

Рассмотрены три варианта обеспечения требуемой формы:

1) оболочка с изотропными слоями, управляемые параметры (параметры проектирования) – модули упругости материалов слоев $E^{[k]}$;

2) анизотропная оболочка с различной степенью упрочнения слоев в направлении касательной к окружности, параметры проектирования – интенсивности армирования $\psi_a^{[k]}$ и модули упругости компонент-фаз материалов слоев;

3) комбинированный вариант оболочки, содержащей как упрочненные в окружном направлении, так и изотропные слои с различными механическими характеристиками.

В таблице приведены примеры законов распределений управляемых параметров и толщин

слоев для перечисленных вариантов. В варианте (в) в первом слое – анизотропный материал, аналогичный материалу оболочки (б), а слои 2–7 изотропные, с различными механическими характеристиками. На рис. 8 представлены состояния оболочки до и после деформирования с обозначением расчетных слоев. Величины на графиках приведены в микрометрах. Как следует из расчетов, требуемая конечная форма может

Таблица

Результаты решения задачи формообразования

Номер слоя k	Вариант оболочки					
	а		б		в	
	Высота слоя по z, мкм	$E^{[k]}$	Высота слоя по z, мкм	$\psi_a^{[k]}$	Высота слоя по z, мкм	$E^{[k]} \psi_a^{[k]}$
1	5	10	4	0,20	4	$0,2 (\psi_a^{[k]}) \psi_a$
2	3	6,7	1	0,06	1	8,3
3	2	5,0	2	0,05	1	7,3
4	1	4,0	2	0,03	2	6,7
5	1	3,4	4	0,00	2	5,7
6	1	2,0	–	–	2	5,0
7	–	–	–	–	1	3,2

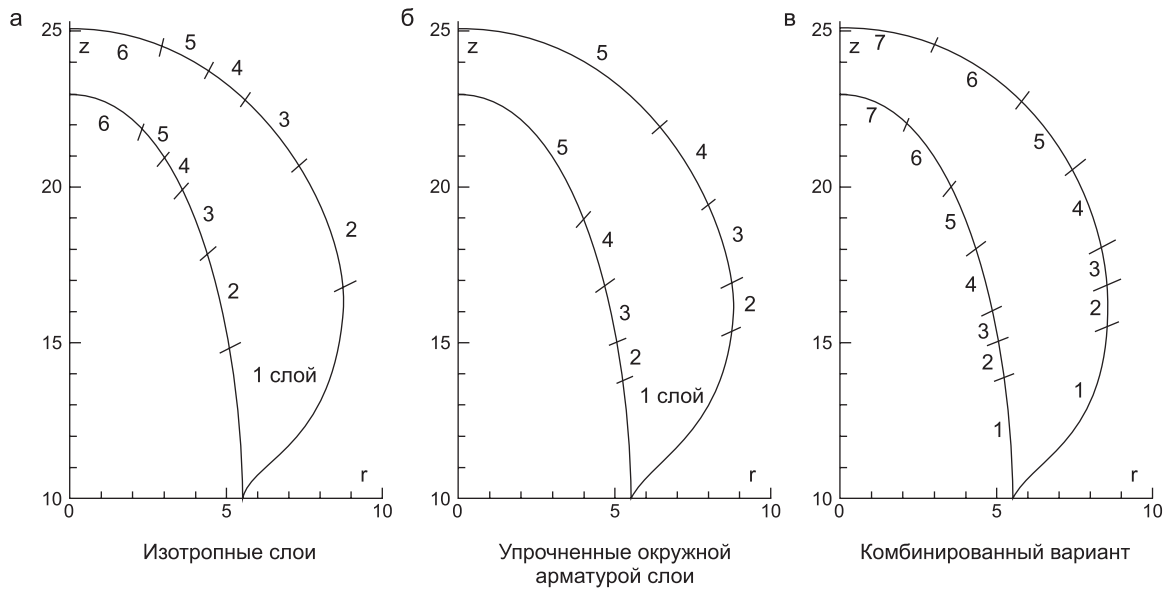


Рис. 8. Различные варианты перехода от начальной к требуемой форме оболочки.

быть достигнута в результате деформирования исходной оболочки с различными начальными свойствами материала стенок клетки зародыша – в общем случае решение поставленной обратной задачи неединственно. Для более точного определения механизмов формообразования необходимы дополнительные данные как о свойствах материала стенок клеток, так и о процессе изменения их формы. Тем не менее во всех рассмотренных вариантах можно найти общие тенденции и закономерности. В частности, отметим, что характеристики жесткости материала по мере приближения к вершине зародыша уменьшаются. Это выражается как в уменьшении значений модулей упругости слоев для изотропного материала стенки клетки, так и в снижении содержания упрочняющих волокон в случае анизотропии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

К настоящему времени накоплен значительный методический опыт в применении различных подходов к изучению живых объектов: от экспериментально-наблюдательных до автоматизированной обработки информации и математического моделирования.

В данной работе представлен вариант конвейера процедур от конфокальной микроскопии до моделирования механического поведения

клеток, примененный при изучении развития зародыша *A. thaliana*. Использование неструктурированных сеток для представления геометрии зародыша позволило организовать поток данных из программ построения геометрии в программы для численного моделирования методом конечных элементов. Ключевым моментом такого конвейера является реконструкция клеточного строения зародыша и последовательности клеточных делений при его росте. Результаты построения клеточных линий в перспективе позволят отслеживать траектории некоторых реперных точек объекта при его морфодинамике для выявления последовательности происходящих деформаций, что, в свою очередь, позволит более корректно определять алгоритмы, которые использует клетка для управления процессом морфодинамики.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ-НИСИ № 11-04-91397-а.

ЛИТЕРАТУРА

- Болотин В.В., Новичков Ю.Н. Механика многослойных конструкций. М.: Машиностроение, 1980.
 Голушко С.К., Немировский Ю.В. Прямые и обратные задачи механики упругих композитных пластин и оболочек вращения. М.: Физматлит, 2008.
 Гонсалес Р., Вудс Р. Цифровая обработка изображений. М.: Техносфера, 2006.

- Препарата Ф., Шеймос М. Вычислительная геометрия: Введение. М.: **Мир**, 1989.
- Bao Z., Murray J.I., Boyle T. *et al.* Automated cell lineage tracing in *Caenorhabditis elegans* // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2006. V. 103. P. 2707–2712.
- Buckingham M.E., Meilhac S.M. Tracing cells for tracking cell lineage and clonal behavior // *Developm. Cell*. 2011. V. 21. P. 394–409.
- Chanliaud E., Burrows K.M., Jeronimidis G., Gidley M.J. Mechanical properties of primary plant cell wall analogues // *Planta*. 2002 V. 215. P. 989–996.
- Fayant P., Girlanda O., Chebli Y. *et al.* Finite element model of polar growth in pollen tubes // *Plant Cell*. 2010. V. 22. P. 2579–2593.
- Fernandez R., Das P., Mirabet V. *et al.* Imaging plant growth in 4D: robust tissue reconstruction and lineaging at cell resolution // *Nat. Meth.* 2010. 7. P. 547–553.
- Handbook of Biological Confocal Microscopy / Ed. J.B. Pawley. Springer, N.Y. 2nd ed. 2006. 988 p.
- Kretzschmar K., Watt F.M. Lineage Tracing // *Cell*. 2012. 148. P. 33–45.
- Laux T., Würschum T., Breuninger H. Genetic regulation of embryonic pattern formation // *Plant Cell*. 2004. V. 16. Suppl. 1. P. S190–S202.
- Olivier N., Luengo-Oroz M.A., Duloquin L. *et al.* Cell lineage reconstruction of early zebrafish embryos using label-free nonlinear microscopy // *Science*. 2010. V. 329. P. 967–971.
- Truernit E., Bauby H., Dubreucq B. *et al.* High-resolution whole-mount imaging of three-dimensional tissue organization and gene expression enables the study of phloem development and structure in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. 2008. V. 20. P. 1494–1503.

MODELING OF PLANT EMBRYO MORPHODYNAMICS AT EARLY DEVELOPMENTAL STAGES

S.V. Nikolaev¹, N.A. Kolchanov^{1, 7, 8}, S.K. Golushko², J.-C. Palauqui³, A. Urban⁴, E.V. Amelina²,
A.V. Yurchenko⁵, K.S. Golushko⁵, U.S. Zubairova¹, A.V. Penenko⁶, A. Trubuil⁴

¹Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: nikolaev@bionet.nsc.ru;

²Design Technological Institute of Digital Techniques SB RAS, Novosibirsk, Russia;

³Institut National de la Recherche Agronomique – Centre de Versailles-Grignon, Institut Jean-Pierre Bourgin, UMR1318 INRA-AgroParisTech, France;

⁴Institut National de la Recherche Agronomique – Centre de Jouy-en-Josas Unite de Mathematiques et Informatique Appliquees, France;

⁵Institute of Computational Technologies SB RAS, Novosibirsk, Russia;

⁶Institute of Computational Mathematics and Mathematical Geophysics SB RAS, Novosibirsk, Russia;

⁷National Research Centre «Kurchatov Institute», Moscow, Russia;

⁸Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia

Summary

Embryo morphodynamics at early developmental stages of *Arabidopsis thaliana* was studied. First, a pipeline was elaborated from confocal microscopy and tissue 3D reconstruction to cell lineage tree reconstruction and numerical simulation of growing embryo mechanics. Tentative results of its use are presented.

Key words: developmental biology, embryogenesis, morphodynamics, morphogenesis, plant embryo, confocal microscopy, image analysis, cell lineage, cell mechanics, finite element method, modeling.