

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 575.16:581.4

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ РАННИХ ЭТАПОВ РАЗВИТИЯ ЛИСТА¹

© 2007 г. Т. А. Ежова

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

119992 Москва, ГСП-2, Ленинские горы, д. 1/12

E-mail: ezhova2001@mail.ru

Поступила в редакцию 29.05.2007 г.

Обобщены результаты изучения генетической регуляции начальных этапов морфогенеза листа – разметки положения будущего примордия и перехода клеток на детерминированный путь развития. Показана консервативность генетических систем контроля развития этих стадий и рассмотрены гипотезы о возможных механизмах эволюции морфологии листьев на их основе.

Ключевые слова: генетика развития, лист, эволюция морфогенеза.

Развитие побега – результат функционирования апикальной меристемы (АМ) побега – самоподдерживающейся структуры, которая служит источником клеток для формирования листовых меристем на всем протяжении онтогенеза растения. Лист – базовая структура побега, которая выполняет важнейшие функции фотосинтеза и дыхания, а также ряд специализированных функций, поэтому изучение генетического контроля морфогенеза листа является важнейшим разделом генетики и биологии развития. Основным объектом этих исследований является модельное растение *Arabidopsis thaliana*, для которого идентифицировано наибольшее число генов, контролирующих процессы морфогенеза. Изучение генетики морфогенеза листа проводится и на других видах двудольных – львином зеве *Antirrhinum majus*, горохе *Pisum sativum*, томатах *Lycopersicon esculentum*. Основным объектом изучения генетики развития листа среди однодольных является кукуруза (*Zea mays*). Несмотря на различия структуры листа у этих объектов, начальные этапы развития листьев у всех исследованных видов обнаруживают общие закономерности генетической регуляции, в том числе связанные с действием ауксина. Рассмотрению таких закономерностей посвящен этот обзор.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ РАЗМЕТКИ ПОЛОЖЕНИЯ ЛИСТОВЫХ ПРИМОРДИЕВ

Листья возникают из АМ побега с определенной периодичностью и в определенных участках на ее периферии. У большинства покрытосемен-

ных листовые примордии образуются клетками всех слоев АМ, хотя у разных видов вклад клеток разных слоев в развитие листа может значительно различаться. Число клеток периферической зоны АМ, которые дадут начало будущему примордию, также различается – от 12–30 у *A. thaliana* до 250 – у кукурузы (см. обзор: Kidner et al., 2002). Выбор группы клеток, которые будут формировать примордий листа, происходит при участии локальных концентраций гормона ауксина. Градиенты ауксина создаются в результате локальной тканеспецифичной экспрессии генов, контролирующих ферменты биосинтеза ауксина (Cheng et al., 2006; Yamamoto et al., 2007). О важной роли этого фактора свидетельствуют исследования мутантов *A. thaliana uuc1 uuc4* и *uuc1 uc2 uuc6* с нарушением функции нескольких генов *YUCCA (YUC)* флавиномоноксигеназы, показавшие, что экзогенная аппликация ауксина не способна нормализовать морфологические аномалии мутантов, в то же время экспрессия бактериального гена биосинтеза ауксина *iaaM* под промоторами растительных генов *YUC* восстанавливала эти дефекты (Cheng et al., 2006).

Важнейшую роль в создании градиентов ауксина играют гены, контролирующие полярный транспорт этого гормона. Среди последних есть такие, продукты которых обеспечивают вход ауксина в клетку (у *A. thaliana* это четыре гена семейства *AUX/LAX*: Parry et al., 2001) и выход из нее (восемь генов *PIN1–PIN8*: Friml et al., 2003). При разметке положения листовых примордиев *A. thaliana* главная роль принадлежит белку PIN1, который активен главным образом в клетках протодермального слоя и локализован на мембранах таким образом, что направление потоков ауксина приводит к его концентрации в локальных участках на периферии АМ, размечая положение будущих примордиев листьев (Reinhardt et al., 2003). Точно

¹ Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проект № 07-04-01515), Российской государственной программой по поддержке научных школ (проект № 4202.2006.4) и Программой Президиума РАН “Динамика генофондов растений, животных и человека”.

так же локальная концентрация ауксина размечает положение семядолей в эмбриогенезе, а позже – и органов цветка (Benková et al., 2003). Ген *PIN1* кодирует белок – трансмембранный транспортер, который вовлечен в сложный процесс выноса ауксина из клеток, и экспрессируется в клетках протодермы и проводящих тканей (Gälweiler et al., 1998). При отсутствии активности гена *PIN1* у мутантов *A. thaliana* нарушается распределение ауксина в растении, наблюдаются аномалии развития семядолей (вместо двух семядолей развиваются три, семядоли часто сливаются), нарушается филлотаксис, структура органов цветка и цветоноса, который терминируется булавковидной структурой после формирования нескольких цветков или полностью лишен цветков (см. обзор: Palme, Gälweiler, 1999).

В контроле полярного транспорта ауксина (ПТА) вместе с геном *PIN1* у *A. thaliana* участвуют гены *PINOID (PID)* и *MONOPTERIS (MP)*, которые выполняют регуляторную или сигнальную функцию. Ген *PID* кодирует серин-треониновую протеинкиназу, активность которой важна для правильной локализации белка *PIN1*, выносящего ауксин. У мутантов *pid* белок *PIN1* утрачивает свойственное для него положение на апикальных частях клеток (Friml et al., 2004), что обуславливает и фенотипическое сходство мутантов *pid* и *pin* (Bennett et al., 1995; Christensen et al., 2000). Ген *MONOPTERIS (MP)* кодирует транскрипционный фактор семейства ARF (AUXIN RESPONSE FACTOR), контролирующей поляризацию клеток и осевую разметку в эмбриогенезе, а также развитие проводящих тканей на постэмбриональной стадии (Berleth, Juergens, 1993; Przemeck et al., 1996; Hardtke, Berleth, 1998). Ген *MP* может действовать вслед за геном *PIN1*, участвуя в регуляции ауксинового ответа в соответствии с созданными белком *PIN1* градиентами ауксина, хотя нельзя исключить и влияния белка *MP* на активность транспортеров ауксина (Aida et al., 2002) или их локализацию (Friml et al., 2004).

Фенокопии нарушений, свойственных мутантам *pid*, *mp* и *pin* (слияние семядолей, нарушение филлотаксиса, развитие цветоноса, похожего на булавку), можно получить при выращивании растений в присутствии ингибиторов транспорта ауксина (Okada et al., 1991; Liu et al., 1993). Нарушение образования листьев под действием ингибиторов ПТА показано также на кукурузе (Scanlon, 2003). Локальная аппликация ауксина на поверхность апикальных участков булавковидных структур мутанта *pin1* и таких же структур томата, полученных в результате культивирования верхушек побега в среде с ингибитором транспорта ауксина, приводила к инициации развития латеральных органов в участках аппликации, что подтверждает роль градиентов ауксина в контроле листорасположения (Reinhardt et al., 2000, 2003). Ауксин активирует экспрессию генов *PID*, *PIN1* (Benjamins et al., 2001; Vieten et al., 2005; Scarpella et al., 2006), что продемон-

стрировано и для ортологичных генов гороха (Vai, DeMason, 2006). Благодаря этому высокая концентрация ауксина, необходимая для инициации развития примордия листа, вскоре снижается, что связано с активацией генов и разворотом потока ауксина в медианную область листа, где развивается проводящая система. Разворот потока ауксина от развивающегося листа обеспечивает возможность создания новых локальных участков концентрации ауксина, которые определяют местоположение новых примордиев.

Локальные концентрации ауксина размечают положение будущих латеральных органов и активируют экспансины, которые способствуют растяжению клеток, разрушая водородные связи между целлюлозными фибриллами. Для большинства покрытосеменных первичной мишенью действия экспансинов являются клетки субпротодермального слоя, которые благодаря растяжению изменяют антиклинальное направление делений на периклиналиное, обуславливая формирование бугорка на периферии АМ – листового примордия. Важнейшая роль экспансинов в инициации развития листьев показана в экспериментах на томатах с использованием локальных аппликаций экзогенного экспансина (Fleming et al., 1997, 1999), а также в опытах на трансгенных растениях табака, содержащих индуцибельную версию гена экспансина огурца *CsExp1* (Pien et al., 2001). Индукция экспрессии этого гена в нескольких слоях клеток на локальных участках АМ приводила к инициации листового примордия и развитию листа на участке аппликации индуктора. В этих же экспериментах показано, что при аппликации индуктора на уже инициированный примордий из него развивался лист с дополнительной лопастью.

Определяющая роль ПТА в контроле филлотаксиса, по-видимому, является универсальной, поскольку показана генетическими (изучение мутантов) или физиологическими (использование ингибиторов ПТА, экзогенных аппликаций ауксина) методами как для представителей двудольных – *A. thaliana*, горчицы *Brassica juncea*, томатов, табака, – так и однодольных (кукурузы). Тип филлотаксиса зависит от многих факторов – размера АМ, числа инициальных клеток листового примордия, скорости деления клеток, скорости передвижения ауксина (эффективности ПТА) и др. и, как правило, является видоспецифичным. В то же время при закономерных или случайных изменениях вышеуказанных параметров в онтогенезе или у мутантов может происходить смена типа филлотаксиса (см. обзоры: Reinhardt, 2005; Fleming, 2005). В настоящее время создан ряд математических моделей филлотаксиса, которые учитывают факторы, влияющие на расположение органов (Скрябин и др., 2006), а также новые данные о роли транспорта ауксина, и хорошо предсказывают их изменение в зависимости от характеристик всех пара-

метров (см. обзор: Kramer, 2007 и статью в этом номере: Лихошвай и др. С. 446) .

ДЕТЕРМИНАЦИЯ КЛЕТОК ЛИСТОВОЙ МЕРИСТЕМЫ

Клетки, вовлеченные в инициацию примордия листа, отличаются от остальных по спектру экспрессирующихся генов, которые обуславливают их переход в детерминированное состояние и маркируют местоположение будущих листовых примордиев. Детерминированные клетки листа характеризуются ограниченным числом делений, поэтому листовые меристемы пролиферируют ограниченное время в отличие от клеток АМ, которые содержат пул стволовых клеток, обеспечивающих функционирование меристемы на всем протяжении онтогенеза (подробно генетический контроль функционирования АМ описан в обзоре этого номера: Лутова, Додуева. С. 420). Переход клеток от недетерминированного состояния в детерминированное после выхода из состава АМ контролируется генами, которые в районах будущего примордия листа подавляют экспрессию генов *KNOXI* (гомеобоксных *KNOTTED*-подобных генов класса I), поддерживающих стволовое состояние клеток. О детерминированности клеток свидетельствуют микрохирургические эксперименты, показавшие, что такие клетки способны к формированию листа даже после их отделения от апикальной меристемы (Sachs, 1969).

Важнейшими негативными регуляторами экспрессии *KNOXI*-генов, предотвращающих дифференцировку клеток меристемы, являются гены, кодирующие транскрипционные факторы семейства MYB. У *A. thaliana* это ген *ASYMMETRIC LEAVES1* (*AS1*), у кукурузы – *ROUGH SHEATH2* (*RS2*), у львиного зева – *PHANTASTICA* (*PHAN*), у табака – *NtPHAN*, у гороха – *CRISPA*. Наличие транскрипции этих генов и одновременно отсутствие в участках развития примордиев листа транскрипции их мишеней – *KNOXI*-генов – служат ранними маркерами инициации листовой меристемы и перехода клеток на детерминантный путь развития (Smith et al., 1992; Jackson et al., 1994). У всех исследованных мутантов или трансгенных растений с нарушением активности генов ортологов *AS1/RS2/PHAN* наблюдали повышение экспрессии *KNOXI*-генов и более или менее выраженное проявление эктопической пролиферации клеток. У львиного зева и табака вдоль центральной жилки на ювенильных листьях наблюдали формирование дополнительных листовых пластинок (Waites, Hudson, 1995; McHale, Koning, 2004), у кукурузы (Schneeberger et al., 1998; Timmermans et al., 1999; Tsiantis et al., 1999) и *A. thaliana* – эктопическую пролиферацию клеток (Ori et al., 2000; Byrne et al., 2000, 2002; Sun et al., 2002), у гороха – эктопические выросты на ли-

стьях и прилистниках, а также развитие дополнительных прилистников на оси листа (Tattersall et al., 2005). В пользу ортологичности генов свидетельствуют не только их высокая гомология, сходство фенотипа мутантов, участие в подавлении *KNOXI*-генов, но и способность *MYB*-гена одного вида компенсировать утрату функции ортолога другого вида (Theodoris et al., 2003; Nay, Tsiantis, 2006). Участие ортологов в подавлении экспрессии *KNOXI*-генов, поддерживающих недетерминированное состояние клеток, свидетельствует о консервативности генетических механизмов детерминации клеток листового примордия у видов не только с простым, но и со сложным листом, представителем которых является горох.

В исследованиях на *A. thaliana* установлено, что продукт гена *AS1* образует гетеродимерный комплекс с продуктом гена *AS2* – белком семейства LOB, с доменами “цинковые пальцы” и лейциновые “застежки-молнии” (Iwakawa et al., 2002; Shuai et al., 2002; Xu et al., 2002, 2003), что хорошо объясняет сходство фенотипа мутантов *as2* (листья мутанта *as2*, так же как *as1*, имеют неровную бугристую поверхность, образуют эктопические выросты) и проявление в листьях обоих мутантов эктопической пролиферации *KNOXI*-генов *KNAT1/BREVIPEDICELLUS* (*KNAT1/BP*), *KNAT2* и *KNAT6* (Byrne et al., 2000, 2002; Semiarti et al., 2001; Lin et al., 2003; Li et al., 2005). Ортолог гена *AS2* (ген *indeterminate gametophyte1*) выявлен и у кукурузы (Evans, 2007).

Фенотип мутантов *as1* и *as2* *A. thaliana* напоминает таковой трансгенных растений *35S::KNAT1* (ген *KNAT1* под контролем сильного промотора вируса мозаики цветной капусты *35S-РНК*: Chuck et al., 1996), но обнаруживает и ряд существенных отличий. У трансгенных растений лист не имеет такой волнистой бугорчатой листовой пластинки, как у мутантов, это свидетельствует о том, что мишенями действия генов *AS1, 2* могут быть и другие, пока не идентифицированные, гены. У мутантов в отличие от растений *35S::KNAT1* существенно ниже рассеченность листьев, нет почек на поверхности листовых пластинок, хотя эктопические выросты образуются в синусах листьев обоих мутантов и на черешке мутантов *as2* (см. статью Ву Хуен Чанг и др. в следующем номере: Т. 39. № 1). Это указывает на существование помимо генов *AS1, 2* других негативных регуляторов *KNOXI*-генов.

Два новых регулятора были идентифицированы недавно – это гомологичные гены *BOPI, 2*, которые вместе с генами *AS1, 2* участвуют в подавлении экспрессии генов *KNAT1, 2, 6* в листьях и принимают участие в регуляции развития проксимальной части листа (Ha et al., 2003; Norberg et al., 2005). Ген *TAENIATA* (*TAE*) подавляет не только экспрессию генов *KNAT1/BP, KNAT2, KNAT6*, но и гена *STM*. Мутант *tae* образует на поверхности ли-

стьев дополнительные лопасти, почки и целые розетки листьев, хотя эти признаки характеризуются варьирующей экспрессивностью и пенетрантностью, зависящей от условий выращивания (Лебедева и др., 2005).

Градиенты ауксина также играют важную роль в регуляции экспрессии *KNOXI*-генов. Мутант *semaphore1 (sem1)* кукурузы характеризуется нарушением полярного транспорта ауксина и аномалиями развития эмбрионов, эндосперма, корней, стебля, цветков, сосудистой системы, слиянием органов (Scanlon et al., 2002). В отличие от растений дикого типа, у которых белки *KNOXI* накапливаются в АМ и в стебле, но не обнаруживаются в примордиях листьев и молодых листьях, мутант *sem1* показывал эктопическое накопление белков *KNOXI*-генов в примордиях листьев. Эктопическая транскрипция *KNOXI*-генов *GNARLEY1*, *ROUGH SHEATH1* наблюдалась в зрелых листьях мутанта, в то время как у дикого типа транскрипты этих генов не обнаруживаются (Scanlon et al., 2002). Такие данные свидетельствуют о связи между ПТА и регуляцией *KNOXI*-генов в АМ.

Это предположение подтверждено и в исследованиях взаимодействий между геном *A. thaliana ASI* и генами, регулирующими ПТА (*PIN1*) и передачу ауксинового сигнала *AXR1* (Leyser et al., 1993). Было выявлено усиление экспрессии гена *KNAT1/BP* (но не гена *STM*) в синусах листьев и эктопической пролиферации клеток листа у двойного мутанта *aux1 as1* по сравнению с одиночным мутантом *as1* (развитие дополнительных лопастей, появление прилистников в синусах листьев), свидетельствующее об участии ауксинового сигнала в подавлении экспрессии гена *KNAT1/BP* (Hau et al., 2006). Обработка растений дикого типа ингибиторами ПТА приводила к эктопической экспрессии гена *KNAT1/BP* в черешках листьев; усиление экспрессии этого гена (но не гена *STM*) обнаружено и в листьях мутанта *pin1* (по сравнению с диким типом). Факт эктопической экспрессии *KNAT1/BP* отчасти объясняет характерные для мутанта *pin1* фенотипические особенности – сниженное число листьев розетки, отсутствие цветков, что подтверждено частичной нормализацией фенотипа у двойного мутанта *pin1 bp* (Hau et al., 2006). Таким образом, ауксин, локальные концентрации которого размечают положение будущих примордиев листьев, вместе с геном *ASI* принимают участие в подавлении экспрессии отдельных *KNOXI*-генов, определяя детерминантный тип меристемы листа.

Ген *STM* также является *KNOXI*-геном, участвующим в поддержании недетерминированного состояния клеток АМ, и не экспрессируется в примордиях листа (см. обзор в этом номере: Лутова, Додуева. С. 420). Гены *ASI*, *AS2* не влияют на экспрессию *STM*, и подавление его экспрессии осуществляется другими генетическими механизмами, которые так-

же связаны с регуляцией ПТА. Установлено, что экспрессия *STM* активируется регуляторными генами *CUP SHAPED COTYLEDON (CUC1 и CUC2)*, которые участвуют в поддержании недетерминированного состояния клеток АМ и в пространственном разграничении латеральных органов (Aida et al., 1999; Takada et al., 2001). В свою очередь паттерн и уровень экспрессии генов *CUC1* и *CUC2* зависят от распределения ауксина и передачи ауксинового сигнала, контролируемого генами *PIN1*, *PID* и *MP* (Aida et al., 2002; Furutani et al., 2004). Активность этих генов необходима для подавления экспрессии генов *CUC1*, *CUC2* и *STM* в участках заложения примордиев латеральных органов и определения детерминантного состояния их клеток.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ АДАКСИАЛЬНО-АБАКСИАЛЬНОЙ ПОЛЯРИЗАЦИИ ПРИМОРДИЯ

Деления инициальных клеток листовой меристемы приводят к появлению листового примордия и дальнейшей детерминации клеток листовой меристемы – разметке ее на определенные домены, которые дадут начало разным участкам листа (верхней и нижней, проксимальной и дистальной, медианной и латеральной). Детерминация верхней и нижней сторон листьев (адаксиально-абаксиальная поляризация листа) – важнейший этап развития, который предшествует разметке на центральный и латеральные домены и является необходимым условием развития пластинки листа. Поляризация листового примордия связана с действием двух групп генов, которые консервативны так же, как и гены, размечающие положение примордия и детерминацию его клеток. Гены семейства *HD-ZIP* класса III, к которым у *A. thaliana* относятся *PHABULOSA (PHB)*, *PHAVOLUTA (PHV)* и *REVOLUTA (REV)*, устанавливают и поддерживают дифференцировку клеток верхней (адаксиальной) стороны (McConnell et al., 2001; Otsuga et al., 2001). Дифференцировка клеток нижней (абаксиальной) стороны листьев контролируется представителями двух семейств регуляторных генов – *KANADI (KAN)* и *YABBY (YAB)* (Sawa et al., 1999; Siegfried et al., 1999; Kerstetter et al., 2001; Esched et al., 2001). Мутации с суперэкспрессией генов семейств *KAN* и *YAB* приводят к образованию абаксализированных радикально-симметричных органов (Kerstetter et al., 2001; Esched et al., 2001). Противоположный эффект (превращение абаксиальных частей в адаксиальные) наблюдается у мутантов с потерей функции нескольких генов *KAN* (Esched et al., 1999, 2004) и *YAB* (Kumaran et al., 2002). Продукты генов *KAN* подавляют экспрессию генов *HD-ZIP* в нижней стороне листового примордия и наоборот. Такая тонкая взаимная регуляция поляризует примордий

и создает возможность для развития обеих сторон листа (Esched et al., 2001, 2004).

На листьях двойных и тройных мутантов *yab3-2*, *fil8*, *fil8 yab3-2* развивались эктопические выросты, что связано с экспрессией в их листьях *KNOXI*-генов (Kumaran et al., 2002). Следовательно, гены *YAB* могут участвовать в подавлении экспрессии *KNOXI*-генов в листьях вместе с генами класса *MYB* (ортологами *PHAN/ASI*). На гипокотиле мутанта *kan1 kan2 kan4* также образуются листопоподобные выросты, расположение которых определяется местом экспрессии гена *PINI* и связанной с ней концентрацией ауксина в локальных участках будущего гипокотила еще в эмбриогенезе (Izhaki, Bowman, 2007). По-видимому, эктопические выросты на гипокотиле и листьях мутантов с нарушением функции генов, контролирующих развитие нижней стороны листа, могут возникать в результате процессов, похожих на инициацию примордиев листьев на периферии АМ, участниками которых являются гены *KNOXI* и другие, контролирующие формирование градиентов ауксина. Действуя в разных участках одной недетерминированной структуры (АМ или в листьях мутантов с нарушением детерминации) и осуществляя взаимную негативную регуляцию, эти важнейшие компоненты во взаимодействии с продуктами генов *PHAN/ASI* могут обуславливать развитие листьев по бокам АМ в растениях дикого типа или листопоподобных структур на листьях мутантов. В пазухах подобных структур у мутанта *A. thaliana tae* формируются пазушные меристемы (Лебедева и др., 2005). Можно предполагать, что те же генетические механизмы вызывают явление фолиарной вивипарии, характерное для видов *Cardamine mathioli* и *C. pratensis* (Батыгина и др., 2006).

О неразрывной связи между процессами перехода клеток листа на детерминированный путь развития и поляризацией свидетельствует также влияние на поляризацию листового примордия ортологов *PHAN/ASI*, подавляющих экспрессию *KNOXI*-генов в листовом примордии. У мутантов *phan* львиного зева ювенильные листья проявляют нарушения роста листовой пластинки и образуют на верхней стороне листьев участки с характеристиками нижней стороны, а листья взрослых растений имеют радиально-симметричную структуру за счет полного недоразвития верхней стороны (Waites et al., 1998). Нарушения развития полярности листа в отсутствие активности ортологов *PHAN* выявлены также у табака (McHale, Koning, 2004) и *A. thaliana* (Sun et al., 2002; Xu et al., 2003; Fu et al., 2007). Нарушение полярности наблюдали и у трансгенных растений томата с инактивированным гомологом *PHAN* (Kim et al., 2003a), который в отличие от гомологов других видов (см. выше) не является репрессором *KNOXI*-генов, но, по-видимому, сохраняет функцию контроля дифференцировки верхней стороны листа. Роль ортологов *PHAN/ASI* в

контроле полярности может быть связана с их влиянием на экспрессию генов *REV*, *PHB*, *PHV*, детерминирующих верхнюю сторону листа (Fu et al., 2007).

Таким образом, между разными этапами развития листа существует очень тесная связь, которая обусловлена участием одних и тех же генетических и физиологических систем в контроле нескольких последовательных этапов морфогенеза. Ауксин, полярные градиенты которого создаются благодаря активности генов синтеза этого гормона и генов, обеспечивающих его полярный транспорт, участвуют в контроле практически всех этапов развития листа – начиная с разметки положения, детерминации клеток и становлении его полярности и заканчивая этапами развития сосудистой системы и краев листовой пластинки, которые здесь не рассматриваются. Гены *AS/PHAN/RS2* – негативные регуляторы *KNOXI*, определяющие детерминированное состояние клеток листового примордия, играют важную роль и в определении верхней и нижней сторон примордия, осуществляя регуляцию экспрессии генов *REV*, *PHB*, *PHV*. Гены *YAB* и *KAN* не только контролируют полярность, но и влияют на экспрессию *KNOXI*. Для большинства генов выявлены ортологи в растениях разных видов, что свидетельствует о консервативности базовой структуры генетического контроля начальных этапов морфогенеза листа, в том числе и связанных с созданием градиентов ауксина.

КОНСЕРВАТИВНОСТЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ РАЗВИТИЯ ЛИСТА И РАЗНООБРАЗИЕ ЕГО СТРУКТУРЫ

Хотя число видов, для которых начато изучение генетики морфогенеза листа, пока ограничено (особенно со сложным листом), уже сегодня можно выделить группы генов, ортологи которых выявлены у всех исследованных растений и которые играют важную роль в развитии листа. Это гены, обеспечивающие создание локальных концентраций ауксина и контролирующие разметку примордиев. К ним относятся *KNOXI*-гены, их негативные регуляторы *AS/PHAN/RS2*, а также гены, определяющие полярность листа. Взаимодействие генов *KNOXI* и *AS/PHAN/RS2*, их взаимоисключающий паттерн экспрессии при формировании примордия листа показаны для *A. thaliana*, кукурузы, львиного зева, табака, гороха – модельных генетических объектов. Лишь при развитии листа томата ген *PHAN* не подавляет экспрессию *KNOXI* в примордии листа, и гены экспрессируются в перекрывающихся доменах (Kim et al., 2003b). Взаимодействие генов *KNOXI* и их негативных регуляторов *MYB*-класса обнаружено даже при развитии филломов у представителя плауновидных *Selaginella* (Lycopodiophyta), где наблюдали тот же взаимоисключающий пат-

терн экспрессии этих генов. Более того, ортолог *AS1* из этого вида способен восстанавливать фенотип мутанта *as1* *A. thaliana*, что свидетельствует о консервативности функции этого гена (Harrison et al., 2005).

Ортологичные системы генов действуют и на этапе определения верхней и нижней сторон листа. Так, например, роль генов *HD-ZIP* класса III в детерминации верхней стороны листа показана не только для двудольного растения *A. thaliana*, но и для однодольного – кукурузы, у которой идентифицирован ген *ROLLED LEAF1 (RDL1)* – ортолог *REVOLUTA* *A. thaliana* (Nelson et al., 2002; Juarez et al., 2004). Удивительно и то, что экспрессия обоих ортологов регулируется микроРНК, причем эта регуляция генов *HD-ZIP* класса III обнаруживается не только у семенных растений, но и у представителей мохообразных, плаунообразных, папоротников, т.е. является древней (Floyd, Bowman, 2004). Выявлены и ортологи генов семейства *YABBY* – у львиного зева это ген *GRAMINIFOLIA (GRAM)*, который так же, как и у *A. thaliana*, детерминирует образование нижней стороны листа (Golz et al., 2004).

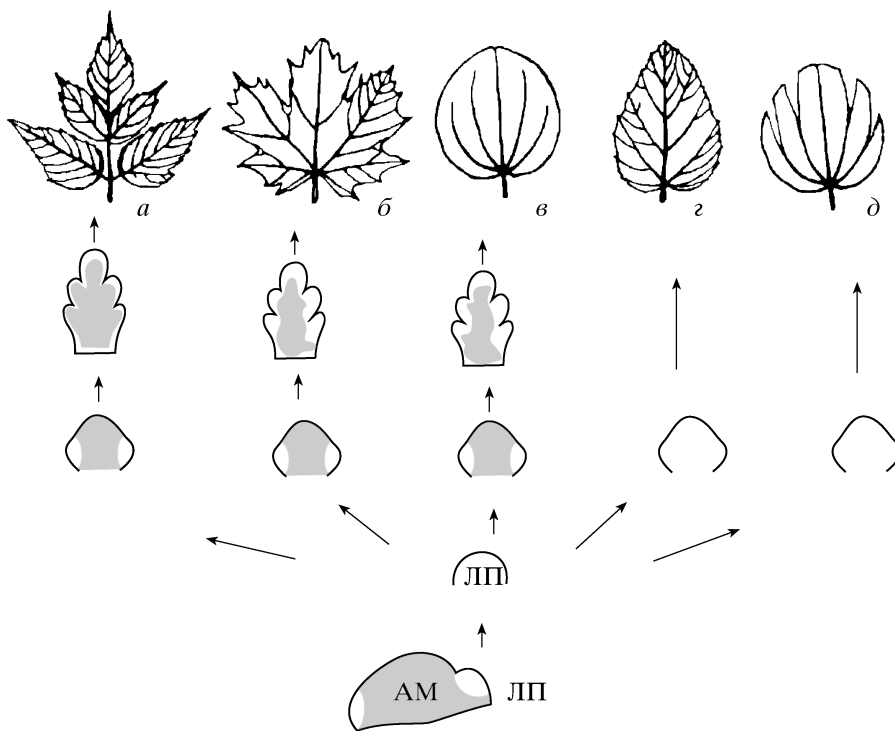
Несмотря на сходство генетических систем контроля начальных стадий развития листа, покрытосеменные растения демонстрируют необычайно широкое разнообразие форм. Листья принято подразделять на две основные группы – простые и сложные. Простой считается предковой формой, сложный лист возникал неоднократно в процессе эволюции (Тахтаджян, 1954). Единого мнения о том, какие листья относятся к той или иной группе и как они возникли, среди ученых нет. Считается, что сложный лист в отличие от простого значительно дольше сохраняет недетерминированность, свойственную побегу, и может рассматриваться как структура, частично гомологичная побегу. Другие ученые предполагают, что между простым и сложным листом существуют лишь количественные различия, поскольку листочки сложного листа могли возникать как результат дифференциальной активности разных участков меристемы простого листа (см. обзор: Bharathan, Sinha, 2001).

Генетические данные свидетельствуют о том, что в листьях большинства исследованных объектов со сложными и рассеченными листьями (включая виды, для которых изучение мутантов не проводили) активны *KNOXI*-гены, которые являются маркерами недетерминированной АМ побега. Наличие экспрессии этих генов в листе способствует сохранению недетерминированности клеток и открывает возможности для усложнения его структуры – полимеризации примордия в результате акро- и базипетального заложения и развития его частей. Об этом свидетельствует развитие лопастей на листьях мутантов и трансгенных растений *A. thaliana*, эктопически экспрессирующих собственные или *KNOXI*-гены из других видов растений, в том числе

из однодольных, голосеменных и даже из папоротника *Ceratopteris richardii* (Sano et al., 2005). Похожий фенотип имели листья трансгенного табака, картофеля и др. растений. У мутантов и трансгенных растений томата выявлена прямая зависимость между уровнем экспрессии *KNOXI*-генов и числом лопастей листа (Hareven et al., 1996; Chen et al., 1997; Parnis et al., 1997; Janssen et al., 1998). Простые листья одуванчика *Taraxacum officinale*, трансформированного *KNOXI*-генами ячменя, также становились сильно рассеченными (Müller et al., 2006). Все эти данные свидетельствуют о высокой консервативности функции гомеобоксных генов и указывают на их возможную роль в усложнении структуры листа.

У растений, имеющих простые цельные листья (кукуруза, табак, львиный зев, *A. thaliana*), экспрессия *KNOXI*-генов, выключенная в участках инициации примордиев листа, не возобновляется и на последующих стадиях его развития (Smith et al., 1992; Lincoln et al., 1994; Nishimura et al., 1999; Waites et al., 1998). У сердечника *Cardamine hirsuta* с рассеченными листьями экспрессии *KNOXI*-генов нет в примордии, но позже она возобновляется и обуславливает пролиферацию клеток, необходимую для развития лопастей в участках, которые маркируются экспрессией ортолога гена *AS1*. У трансгенных растений сердечника со сниженной экспрессией одного из *KNOXI*-генов (гомолога *STM*) листья преимущественно были цельными и напоминали таковые *A. thaliana*. Показано, что различия в характере экспрессии ортологов *KNOXI*-гена *KNATI/BP* в растениях дикого типа *A. thaliana* и *C. hirsuta* обусловлены различиями в структуре регуляторных участков этих ортологичных генов (Hay, Tsiantis, 2006). Эти данные подтверждают гипотезу о том, что изменение характера экспрессии консервативных регуляторных генов – тип генетической изменчивости, который может поставлять ценный материал для естественного отбора и лежать в основе эволюционных преобразований морфологических структур (Doebley, Lukens, 1998).

Возобновление экспрессии *KNOXI*-генов наблюдали и при развитии сильно рассеченных/сложных листьев *Oxalis purpurea* (Oxalidaceae), *Achillea millefolium* (Asteraceae), *Aquilegia vulgaris* (Ranunculaceae), *Pseudofumaria lutea* и *Eschscholzia californica* (Papaveraceae), *Lepidium perfoliatum* и *L. hyssopifolium* (Brassicaceae), *Daucus carota* (Apiaceae), *Cissus congestum* (Vitaceae) (Bharathan et al., 2002; Groot et al., 2005). Экспрессия *KNOXI*-генов обнаружена также в вайях папоротников (Sano et al., 2005). Тот факт, что в рассеченных и сложных листьях экспрессируются *KNOXI*-гены, маркирующие недетерминированную АМ побега, показывает, что оба типа листьев сохраняют некоторую побегоподобность.



Влияние паттерна экспрессии *KNOXI*-генов, процессов полимеризации, олигомеризации и апоптоза на развитие листа (по: Гендельс, 1988 а, б, с изменениями).

а, б – сложный и рассеченный листы, возникшие в результате полимеризации примордия под действием *KNOXI*-генов (и/или генов *UNI/LFY/FLO*); *в, г* – простой лист, возникший при отсутствии экспрессии *KNOXI*-генов в примордии (*г*) или при олигомеризации сложного примордия (*в*); *д* – рассеченный лист в результате отмирания участков простого листа.

(■) – активность *KNOXI*-генов в апикальной меристеме (АМ) побега и в листовых примордиях (ЛП) рассеченных и сложных листьев.

Обнаружены и интересные исключения из этого правила. У голосеменного растения *Welwitschia mirabilis* с простыми листьями, растущими на протяжении всей жизни растения, в раннем примордии экспрессии *KNOXI*-генов не наблюдается (как и у большинства других видов растений), однако позже она обнаруживается в пролиферирующем основании листа. Следовательно, у этого вида *KNOXI*-гены обеспечивают недетерминированный тип развития простого листа (Pham, Sinha, 2004). Экспрессия *KNOXI*-генов в простом листе *Lepidium oleraceum* объясняется тем, что упрощение структуры листа у этого вида является вторичным, позднее приобретенным признаком (примордий листа этого вида сначала имеет лопасти, характерные для рассеченных/сложных листьев) (Bharathan et al., 2002). Образование простых листьев из сложных зачатков путем олигомеризации наблюдается в сем. Rosaceae (у представителей подсем. Prunoideae: Гендельс, 1988а), в роде *Daucus* (Champagne, Sinha, 2004) и др. У видов рода *Acer* (клен) после универсальной стадии 3-лопастного зачатка может развиваться простой лист (*A. tataricum*), наблюдаться полимеризация зачатка, приводящая к формированию простого 5-лопастного листа

(*A. platanoides*) или сложного непарноперистого листа (*A. negundo*) (Гендельс, 1988а). Сложная зависимость между конечной структурой листа и начальными этапами его формирования (рисунок) говорит о том, что в основе эволюции разнообразных типов листа лежат процессы полимеризации и олигомеризации его зачатка, которые могут сочетаться различными способами (Гендельс, 1988б). Полимеризация, т.е. заложение и развитие зачатков лопастей примордия, обеспечивается функционированием в нем *KNOXI*-генов. Процесс олигомеризации, по-видимому, контролируется пока не идентифицированными генами, которые включаются после формирования зачатка листа и вызывают остановку развития лопастей и поверхностный рост примордия. В редких случаях рассечение листа является результатом отмирания определенных участков простого листа (листья монстеры, веерной пальмы) (рисунок).

Простой глубокораздельный и сложный листья могут быть очень похожими, однако между ними существуют и качественные различия, которые становятся очевидными при их отмирании: листочки простого листа опадают по отдельности, а про-

стые листья, как бы ни были они сильно расчленены, опадают целиком (Тимонин, 2007). Эти различия связаны с заложением разделительного слоя у основания черешочков каждого из листочков сложного листа на поздних этапах морфогенеза. Поэтому для выявления генов, контролирующих качественные различия между сложным и простым листом, необходим также поиск и анализ мутантов или природных разновидностей с изменением характера опадения листочков.

На ранних этапах морфогенеза листа гороха гены *KNOXI* перестают экспрессироваться в примордии, и дальнейшее развитие сложного листа контролируется геном *UNIFOLIATA (UNI)*, транскрипция которого регулируется ауксином (DeMason, Chawla, 2004). Ген *UNI* является ортологом генов *LFY A. thaliana*, *FLO* львиного зева и *FALSIFLORA* томата, контролирующих развитие флоральной меристемы, но в отличие от них одновременно контролирует и морфогенез листа (Hofer et al., 1997; DeMason, Schmidt, 2001). Предполагается, что у предковых форм двудольных растений существовали две генетические системы, которые участвовали в полимеризации примордия и развитии сложного и рассеченного листа – *KNOXI* и *UNI/LFY/FLO*. У современных представителей этих форм в подобных процессах участвуют либо обе системы (как это показано для калифорнийского мака *Eschscholzia californica*), либо одна из них утрачивает такую функцию (Busch, Gleissberg, 2003; Groot et al., 2005). Ауксин играет важную роль не только в развитии сложного листа гороха, но и в контроле степени сложности многолопастного листа томата *Solanum lycopersicum* (Wang et al., 2005).

Консервативные гены, контролирующие полярность листьев, также могут играть важную роль в морфологической разнообразии листа. У трансгенных растений томата и табака с инактивированными ортологами генов *PHAN* листья имеют интересную морфологию: они меньшего размера и более простой формы, часто игловидной (радиально-симметричной) или в виде чашечки на длинной радиально-симметричной структуре (Kim et al., 2003a; McNale, Koning, 2004). Листья мутанта *as1 A. thaliana* имеют сходную асцидиатную структуру (Xu et al., 2003; см. также статью Ву Хуен Чанг и др. в следующем номере: Т. 39. № 1). Такой фенотип, связанный с нарушением развития верхней стороны листа, подтверждает зависимость роста листовой пластинки от работы генов, поляризующих лист, и позволяет предполагать, что изменения экспрессии таких генов могли также принимать участие в создании некоторых форм листа. Важная роль генов полярности в развитии щитовидных листьев настурции *Tropaeolum majus* подтверждена при изучении представителя семейства *YABBY* – ортолога гена *FIL*, который отвечает за развитие нижней стороны листа. Форма листа настурции напоминает листья неко-

торых мутантов с нарушением полярности и является результатом изменения в онтогенезе характера экспрессии ортолога *FIL*. На ранних этапах развития листа ген экспрессируется на нижней стороне примордия, после чего его экспрессия распространяется на верхнюю сторону, что, по-видимому, и приводит к образованию радиально-симметричного черешка, который крепится к центральной части щитовидной листовой пластинки (Gleissberg et al., 2005). Эти результаты являются еще одной иллюстрацией того, как изменение паттерна экспрессии регуляторных генов может изменять морфологию растения.

Таким образом, исследования по генетике развития листа свидетельствуют о существовании у растений базовых генетических модулей – консервативных групп взаимодействующих генов, которые, по-видимому, играли первостепенную роль на ранних этапах эволюции морфогенеза листа, а на более поздних могли обеспечивать создание разнообразных типов листа за счет изменения паттерна экспрессии. Консервативность генетических механизмов морфогенеза, вскрытая исследованиями генетики развития, свидетельствует о едином плане строения растений, являющимся, возможно, частью того глобального “порядка в природе”, к познанию которого еще 250 лет тому назад призвал К. Линней. Удивителен выявленный экспериментально факт функционирования таких модулей в филумах растений, которые, по данным филогенетики, не гомологичны по происхождению (плауновидные и мохообразные, имеющие микрофиллы, и папоротники и семенные, формирующие мегафиллы). Это означает, что такие регуляторные модули существовали у предковых форм наземных растений задолго до появления самих филумов, возможно, контролируя другие процессы, и неоднократно заново использовались при развитии листа в разных эволюционных линиях.

Исследование генома *A. thaliana*, который является древним полиплоидом и содержит по несколько копий модулей взаимодействующих генов, характеризующихся сходным характером экспрессии, продемонстрировало принципиальную возможность согласованной эволюции таких модулей. Показано, что дуплицированные генные модули могут изменять паттерн экспрессии, сохраняя константность межгенных взаимодействий (Blanc, Wolfe, 2004). По-видимому, именно такие механизмы, основанные на существовании “изначально целесобразных” генных модулей, обеспечивали эволюцию морфологической структуры растений, в том числе листа, в соответствии с теломной теорией. Эта теория предполагает, что макрофиллы возникали в результате детерминации недетерминированных участков теломов, их уплощения и срастания (Тахтаджян, 1954). По существу, гены, детерминирующие клетки примордия листа и обеспечивающие их адаксиально-абаксиальную поляр-

ность, могли участвовать в контроле двух из предполагаемых этапов ранней эволюции листа.

Гены, контролирующие более поздние стадии развития примордия, олигомеризацию его частей, рост и дифференцировку листовой пластинки или ее отдельных частей, которые не рассматривались в нашем обзоре, также могли участвовать в эволюции морфогенеза, обуславливая как процессы конвергенции, так и появление таксоноспецифических признаков структуры листа. Интенсивное изучение генетического контроля этих этапов морфогенеза пока проводится только на модельных объектах, главным образом на *A. thaliana* (см. обзор: Tsukaaya, 2006). Основанное на результатах этих работ сравнительное генетическое и молекулярно-биологическое исследование новых видов с разнообразной структурой листа позволит выявить генетические основы конвергентной и дивергентной эволюции структуры листа.

Автор выражает глубокую благодарность А.К. Тимонину за ценные критические замечания и помощь с ботанической литературой.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Батыгина Т.Б., Брагина Е.А., Ересковский А.В., Островский А.Н. Живорождение у растений и животных: беспозвоночных и низших хордовых. СПб.: Изд-во СПб. ун-та, 2006. 134 с.
- Гендельс Т.В. Формирование листьев древесных двудольных // Ботан. журн. 1988а. Т. 73. № 4. С. 553–562.
- Гендельс Т.В. Особенности морфогенеза листа двудольных // Там же. 1988б. Т. 73. № 11. С. 1554–1559.
- Лебедева О.В., Ежова Т.А., Мельцер С. Ген *TAENIATA* – новый негативный регулятор гомеобоксных генов *KNAT1*, *KNAT1*, *KNAT1* и *STM* // Генетика. 2005. Т. 41. № 8. С. 1068–1074.
- Скрябин К.Г., Алексеев Д.В., Ежова Т.А. и др. Определение типа и положения органов цветка: динамическая модель развития // Изв. АН. Сер. биол. 2006. Т. 33. № 6. С. 523–535.
- Тухтаджян А.Л. Вопросы эволюционной морфологии растений. Л.: Изд-во ЛГУ, 1954. 214 с.
- Тимонин А.К. Ботаника. Т. 3. Высшие растения. М.: Издат. центр “Академия”, 2007. 352 с.
- Aida M., Ishida T., Tasaka M. Shoot apical meristem and cotyledon formation during *Arabidopsis* embryogenesis: interaction among the *CUP-SHAPED COTYLEDON* and *SHOOT MERISTEMLESS* genes // Development. 1999. V. 126. P. 1563–1570.
- Aida M., Vernoux T., Furutani M. et al. Roles of *PINFORMED1* and *MONOPTEROS* in pattern formation of the apical region of the *Arabidopsis* embryo // Ibid. 2002. V. 129. P. 3965–3974.
- Bai F., DeMason D.A. Hormone interactions and regulation of *Unifoliata*, *PsPK2*, *PsPIN1* and *LE* gene expression in *Pea* (*Pisum sativum*) shoot tips // Plant Cell Physiol. 2006. V. 47. P. 935–948.
- Benjamins R., Quint A., Weijers D. et al. The PINOID protein kinase regulates organ development in *Arabidopsis* by enhancing polar auxin transport // Development. 2001. V. 128. P. 4057–4067.
- Benková E., Michniewicz M., Sauer M. et al. Local, efflux-dependent auxin gradients as a common module for plant organ formation // Cell. 2003. V. 115. P. 591–602.
- Bennett S.R.M., Alvarez J., Bossinger G., Smyth D.R. Morphogenesis in *pinoid* mutants of *Arabidopsis thaliana* // Plant J. 1995. V. 8. P. 505–520.
- Berleth T., Juergens G. The role of the *monopteros* gene in organising the basal body region of the *Arabidopsis* embryo // Development. 1993. V. 118. P. 575–587.
- Bharathan G., Sinha N.R. Regulation of compound leaf development // Plant Physiol. 2001. V. 127. P. 1533–1538.
- Bharathan G., Goliber T.E., Moore C. et al. Homologies in leaf form inferred from *KNOXI* gene expression during development // Science. 2002. V. 296. P. 1858–1860.
- Blanc G., Wolfe K.H. Functional divergence of duplicated genes formed by polyploidy during *Arabidopsis* evolution // Plant Cell. 2004. V. 16. P. 1679–1691.
- Busch A., Gleissberg S. *EcFLO*, a *FLORICAULA*-like gene from *Eschscholzia californica* is expressed during organogenesis at the vegetative shoot apex // Planta. 2003. V. 217. P. 841–848.
- Byrne M. E., Barley R., Curtis M. et al. *Asymmetric leaves1* mediates leaf patterning and stem cell function in *Arabidopsis* // Nature. 2000. V. 408. P. 967–971.
- Byrne M. E., Simorowski J., Martienssen R. A. *ASYMMETRIC LEAVES1* reveals *knox* gene redundancy in *Arabidopsis* // Development. 2002. V. 129. P. 1957–1965.
- Champagne C., Sinha N. Compound leaves: equal to the sum of their parts? // Ibid. 2004. V. 131. P. 4401–4412.
- Chen J.-J., Janssen B.-J., Williams A., Sinha N. A gene fusion at a homeobox locus: alternations in leaf shape and implications for morphological evolution // Plant Cell. 1997. V. 9. P. 1289–1304.
- Cheng Y., Dai X., Zhao Y. Auxin biosynthesis by the YUCCA flavin monooxygenases controls the formation of floral organs and vascular tissues in *Arabidopsis* // Genes Dev. 2006. V. 20. P. 1790–1799.
- Christensen S.K., Dagenais N., Chory J., Weigel D. Regulation of auxin response by the protein kinase PINOID // Cell. 2000. V. 100. P. 469–478.
- Chuck G., Lincoln C., Hake S. *KNAT1* induces lobed leaves with ectopic meristems when overexpressed in *Arabidopsis* // Plant Cell. 1996. V. 8. P. 1277–1289.
- DeMason D.A., Chawla R. Roles for auxin during morphogenesis of the compound leaves of *Pea* (*Pisum sativum*) // Planta. 2004. V. 218. P. 435–448.
- DeMason D.A., Schmidt R.J. Roles of the *Uni* gene in shoot and leaf development of pea (*Pisum sativum*): phenotypic characterization and leaf development in the *uni* and *uni-tac* mutants // Int. J. Plant Sci. 2001. V. 162. P. 1033–1051.
- Doebley J., Lukens L. Transcriptional regulators and the evolution of plant form // Plant Cell. 1998. V. 10. P. 1075–1082.

- Eshed Y., Baum S.F., Bowman J.L. Abaxial cell fate in the carpels is established by two distinct mechanisms // *Cell*. 1999. V. 99. P. 199–209.
- Eshed Y., Baum S.F., Perea J.V., Bowman J.L. Establishment of polarity in lateral organs of plants // *Curr. Biol*. 2001. V. 11. P. 1251–1260.
- Eshed Y., Izhaki A., Baum S.F. et al. Asymmetric leaf development and blade expansion in *Arabidopsis* are mediated by *KANADI* and *YABBY* activities // *Development*. 2004. V. 131. P. 2997–3006.
- Evans M.M.S. The *indeterminate gametophyte1* gene of maize encodes a LOB domain protein required for embryo sac and leaf development // *Plant Cell*. 2007. V. 19. P. 46–62.
- Fleming A.J. Formation of primordia and phyllotaxy // *Curr. Opin. Plant Biol*. 2005. V. 8. P. 53–58.
- Fleming A.J., McQueen-Mason S., Mandel T., Kuhlemeier C. Induction of leaf primordia by the cell wall protein expansin // *Science*. 1997. V. 276. P. 1415–1418.
- Fleming A.J., Caderas D., Wehrli E. et al. Analysis of expansin-induced morphogenesis on the apical meristem of tomato // *Planta*. 1999. V. 208. P. 166–174.
- Floyd S.K., Bowman J.L. Gene regulation: ancient microRNA target sequences in plants // *Nature*. 2004. V. 428. P. 485–486.
- Friml J., Vieten A., Sauer M. et al. Efflux-dependent auxin gradients establish the apical-basal axis of *Arabidopsis* // *Ibid.* 2003. V. 426. P. 147–153.
- Friml J., Yang X., Michniewicz M. et al. A PINOID-dependent binary switch in apical-basal PIN polar targeting directs auxin efflux // *Science*. 2004. V. 306. P. 862–865.
- Fu Y., Xu L., Xu B. et al. Genetic interactions between leaf polarity-controlling genes and *ASYMMETRIC LEAVES1* and *2* in *Arabidopsis* leaf patterning // *Plant Cell Physiol*. 2007. V. 48. P. 724–735.
- Furutani M., Vernoux T., Traas J. et al. PIN-FORMED1 and PINOID regulate boundary formation and cotyledon development in *Arabidopsis* embryogenesis // *Development*. 2004. V. 131. P. 5021–5030.
- Gälweiler L., Guan C., Müller A. et al. Regulation of polar auxin transport by AtPIN1 in *Arabidopsis* vascular tissue // *Science*. 1998. V. 282. P. 2226–2230.
- Gleissberg S., Groot E.P., Schmalz M. et al. Developmental events leading to peltate leaf structure in *Tropaeolum majus* (Tropaeolaceae) are associated with expression domain changes of a *YABBY* gene // *Devel. Genes Evol*. 2005. V. 215. № 6. P. 313–319.
- Golz J.F., Roccaro M., Kuzoff R., Hudson A. GRAMINIFOLIA promotes growth and polarity of *Antirrhinum leaves* // *Development*. 2004. V. 131. P. 3661–3670.
- Groot E.P., Sinha N., Gleissberg S. Expression patterns of STM-like *KNOX* and *Histone H4* genes in shoot development of the dissected-leaved basal eudicot plants *Chelidonium majus* and *Eschscholzia californica* (Papaveraceae) // *Plant Mol. Biol*. 2005. V. 58. № 3. P. 317–331.
- Ha C.M., Kim G.-T., Kim B.C. et al. The *BLADE-ON-PETIOLE1* gene controls leaf pattern formation through the modulation of meristematic activity in *Arabidopsis* // *Development*. 2003. V. 130. P. 161–172.
- Hardtke C.S., Berleth T. The *Arabidopsis* gene *MONOPTEROS* encodes a transcription factor mediating embryo axis formation and vascular development // *EMBO J*. 1998. V. 17. № 5. P. 1405–1411.
- Hareven D., Gutfinger T., Parnis A. et al. The making of a compound leaf: genetic manipulation of leaf architecture in tomato // *Cell*. 1996. V. 84. P. 735–744.
- Harrison J., Moller M., Langdale J. et al. The role of *KNOX* genes in the evolution of morphological novelty in *Streptocarpus* // *Plant Cell*. 2005. V. 17. P. 430–443.
- Hay A., Tsiantis M. The genetic basis for differences in leaf form between *Arabidopsis thaliana* and its wild relative *Cardamine hirsute* // *Nat. Genet*. 2006. V. 38. № 8. P. 942–947.
- Hay A., Barkoulas M., Tsiantis M. *ASYMMETRIC LEAVES1* and auxin activities converge to repress *BREVIPEDICELLUS* expression and promote leaf development in *Arabidopsis* // *Development*. 2006. V. 133. P. 3955–3961.
- Hofer J., Turner L., Hellens R. et al. *UNIFOLIATA* regulates leaf and flower morphogenesis in *Pea* // *Curr. Biol*. 1997. V. 7. P. 581–587.
- Iwakawa H., Ueno Y., Semiarti E. et al. The *ASYMMETRIC LEAVES1* gene of *Arabidopsis thaliana*, required for formation of symmetric flat leaf lamina, encodes a member of a novel family of proteins characterized by cysteine repeats and a leucine zipper // *Plant Cell Physiol*. 2002. V. 43. P. 467–478.
- Izhaki A., Bowman J.L. *KANADI* and class III *HD-Zip* gene families regulate embryo patterning and modulate auxin flow during embryogenesis in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. 2007. V. 19. P. 495–508.
- Jackson D., Veit B., Hake S. Expression of maize *KNOTTED1* related homeobox genes in the shoot apical meristem predicts patterns of morphogenesis in the vegetative shoot // *Development*. 1994. V. 120. P. 405–413.
- Janssen B.-J., Lund L., Sinha N. Overexpression of a homeobox gene, *LeT6*, reveals indeterminate features in the tomato compound leaf // *Plant Physiol*. 1998. V. 117. P. 771–786.
- Juarez M.T., Twigg R.W., Timmermans M.C.P. Specification of adaxial cell fate during maize leaf development // *Development*. 2004. V. 131. P. 4533–4544.
- Kerstetter R.A., Bollman K., Taylor R.A. et al. *KANADI* regulates organ polarity in *Arabidopsis* // *Nature*. 2001. V. 411. P. 706–709.
- Kidner C.A., Timmermans M.C.P., Byrne M.E., Martienssen R.A. Developmental genetics of the angiosperm leaf // *Advances in botanical research*. V. 38 / Ed. Callow J. A. L.: Acad. Press, 2002. P. 191–234.
- Kim M., McCormick S., Timmermans M., Sinha N. The expression domain of *PHANTASTICA* determines leaflet placement in compound leaves // *Nature*. 2003a. V. 424. P. 438–443.
- Kim M., Pham T., Hamidi A. et al. Reduced leaf complexity in tomato wiry mutants suggests a role for *PHAN* and *KNOX* genes in generating compound leaves // *Development*. 2003b. V. 130. P. 4405–4415.
- Kramer E.M. Computer models of auxin transport: a review and commentary // *J. Exp. Bot*. 2007. (In press).

- Kumaran M.K., Bowman J.L., Sundaresan V. *YABBY* polarity genes mediate the repression of *KNOX* homeobox genes in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. 2002. V. 14. P. 2761–2770.
- Leyser H.M., Lincoln C.A., Timpte C. et al. *Arabidopsis* auxin-resistance gene *AXR1* encodes a protein related to ubiquitin-activating enzyme E1 // *Nature*. 1993. V. 364. P. 161–164.
- Li H., Xu L., Wang H. et al. The putative RNA-dependent RNA polymerase *RDR6* acts synergistically with *ASYMMETRIC LEAVES1* and 2 to repress *BREVIPEDICELLUS* and microRNA165/166 in *Arabidopsis* leaf development // *Plant Cell*. 2005. V. 17. P. 2157–2171.
- Lin W.C., Shuai B., Springer P.S. The *Arabidopsis* *LATERAL ORGAN BOUNDARIES*-domain gene *ASYMMETRIC LEAVES2* functions in the repression of *KNOX* gene expression and in adaxial-abaxial patterning // *Ibid.* 2003. V. 15. P. 2241–2252.
- Lincoln C., Long J., Yamaguchi J. et al. A *Knotted1*-like homeobox gene in *Arabidopsis* is expressed in the vegetative meristem and dramatically alters leaf morphology when overexpressed in transgenic plants // *Ibid.* 1994. V. 6. P. 1859–1876.
- Liu C.-M., Xu Z.-H., Chua N.-H. Auxin polar transport is essential for the establishment of bilateral symmetry during early plant embryogenesis // *Ibid.* 1993. V. 5. P. 621–630.
- McConnell J.R., Emery J.F., Eshed Y. et al. Role of *PHABULOSA* and *PHAVOLUTA* in determining radial patterning in shoots // *Nature*. 2001. V. 411. P. 709–713.
- McHale N.A., Koning R.E. *PHANTASTICA* regulates development of the adaxial mesophyll in *Nicotiana* leaves // *Plant Cell*. 2004. V. 16. P. 1251–1262.
- Müller K., He X., Fischer R., Prüfer D. Constitutive *knox1* gene expression in dandelion (*Taraxacum officinale*, Web.) changes leaf morphology from simple to compound // *Planta*. 2006. V. 224. P. 1023–1027.
- Nelson J.M., Lane B., Freeling M. Expression of a mutant maize gene in the ventral leaf epidermis is sufficient to signal a switch of the leaf's dorsoventral axis // *Development*. 2002. V. 129. P. 4581–4589.
- Nishimura A., Tamaoki M., Sato Y., Matsuoka M. The expression of tobacco *knotted1*-type class 1 homeobox genes correspond to regions predicted by the cytohistological zonation model // *Plant J.* 1999. V. 18. P. 337–347.
- Norberg M., Holmlund M., Nilsson O. The *BLADE ON PETIOLE* genes act redundantly to control the growth and development of lateral organs // *Development*. 2005. V. 132. P. 2203–2213.
- Okada K., Ueda J., Komaki M.K. et al. Requirement of the auxin polar transport system in early stages of *Arabidopsis* floral bud formation // *Plant Cell*. 1991. V. 3. P. 677–684.
- Ori N., Eshed Y., Chuck G. et al. Mechanisms that control *knox* gene expression in the *Arabidopsis* shoot // *Development*. 2000. V. 127. P. 5523–5532.
- Otsuga D., DeGuzman B., Prigge M.J. et al. *REVOLUTA* regulates meristem initiation at lateral positions // *Plant J.* 2001. V. 25. P. 223–236.
- Palme K., Gälweiler L. PIN-pointing the molecular basis of auxin transport // *Curr. Opin. Plant Biol.* 1999. V. 2. P. 375–381.
- Parnis A., Cohen O., Gutfinger T. et al. The dominant developmental mutants of tomato, *Mouse-ear* and *Curl*, are associated with distinct modes of abnormal transcriptional regulation of a *Knotted* gene // *Plant Cell*. 1997. V. 9. P. 2143–2158.
- Parry G., Marchant A., May S. et al. Quick on the uptake: Characterization of a family of plant auxin influx carriers // *J. Plant Growth Regul.* 2001. V. 20. P. 217–225.
- Pham T., Sinha N. Role of *Knox* genes in shoot development of *Welwitschia mirabilis* // *Int. J. Plant Sci.* 2003. V. 164. P. 333–343.
- Pien S., Wyrzykowska J., McQueen-Mason S. et al. Local expression of expansin induces the entire process of leaf development and modifies leaf shape // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2001. V. 98. P. 11812–11817.
- Przemeck G.K.H., Mattsson J., Hardtke C.S. et al. Studies on the role of the *Arabidopsis* gene *MONOPTEROS* in vascular development and plant cell axialization // *Planta*. 1996. V. 200. P. 229–237.
- Reinhardt D. Regulation of phyllotaxis // *Int. J. Devel. Biol.* 2005. V. 49. P. 539–546.
- Reinhardt D., Mandel T., Kuhlemeier C. Auxin regulates the initiation and radial position of plant lateral organs // *Plant Cell*. 2000. V. 12. P. 507–518.
- Reinhardt D., Pesce E.-R., Stieger P. et al. Regulation of phyllotaxis by polar auxin transport // *Nature*. 2003. V. 426. P. 255–260.
- Sachs T. Regeneration experiments on the determination of the form of leaves // *Israel J. Bot.* 1969. V. 18. P. 21–30.
- Sano R., Juarez C.M., Hass B. et al. *KNOX* homeobox genes potentially have similar function in both diploid unicellular and multicellular meristems, but not in haploid meristems // *Evol. Devel.* 2005. V. 7. P. 69–78.
- Sawa S., Watanabe K., Goto K. et al. *FILAMENTOUS FLOWER*, a meristem and organ identity gene of *Arabidopsis*, encodes a protein with a zinc finger and HMG-related domains // *Genes Devel.* 1999. V. 13. P. 1079–1088.
- Scanlon M.J. The polar auxin transport inhibitor N-1-naphthylphthalamic acid disrupts leaf initiation, *KNOX* protein regulation and formation of leaf margins in maize // *Plant Physiol.* 2003. V. 133. P. 597–605.
- Scanlon M.J., Henderson D., Bernstein B. *SEMAPHORE1* functions during the regulation of ancestrally-duplicated *KNOX* genes and polar auxin transport in maize // *Development*. 2002. V. 129. P. 2663–2673.
- Scarpella E., Marcos D., Friml J., Berleth T. Control of leaf vascular patterning by polar auxin transport // *Genes Devel.* 2006. V. 20. P. 1015–1027.
- Schneeberger R., Tsiantis M., Freeling M., Langdale J. The *rough sheath2* gene negatively regulates homeobox gene expression during maize leaf development // *Development*. 1998. V. 125. P. 2857–2865.
- Semiarti E., Ueno Y., Tsukaya H. et al. The *ASYMMETRIC LEAVES2* gene of *Arabidopsis thaliana* regulates formation of a symmetric lamina, establishment of venation and repression of meristem-related homeobox genes in leaves // *Ibid.* 2001. V. 128. P. 1771–1783.

- Shuai B., Reynaga-Pena C.G., Springer P.S. The *LATERAL ORGAN BOUNDARIES* gene defines a novel, plant-specific gene family // *Plant Physiol.* 2002. V. 129. P. 747–761.
- Siegfried K.R., Eshed Y., Baum S.F. et al. Members of the *YABBY* gene family specify abaxial cell fate in *Arabidopsis* // *Development.* 1999. V. 126. P. 4117–4128.
- Smith L.G., Greene B., Veit B., Hake S. A dominant mutation in the maize homeobox gene, *Knotted-1*, cause its ectopic expression in leaf cells with altered fates // *Ibid.* 1992. V. 116. P. 21–30.
- Sun Y., Zhou Q., Zhang W. et al. *ASYMMETRIC LEAVES1*, an *Arabidopsis* gene that is involved in the control of cell differentiation in leaves // *Planta.* 2002. V. 214. P. 694–702.
- Takada S., Hibara K., Ishida T., Tasaka M. The *CUP-SHAPED COTYLEDON1* gene of *Arabidopsis* regulates shoot apical meristem formation // *Development.* 2001. V. 128. P. 1127–1135.
- Tattersall A.D., Turner L., Knox M.R. et al. The mutant *crispa* reveals multiple roles for *PHANTASTICA* in *Pea* compound leaf development // *Plant Cell.* 2005. V. 17. P. 1046–1060.
- Theodoris G., Inada N., Freeling M. Conservation and molecular dissection of *ROUGH SHEATH2* and *ASYMMETRIC LEAVES1* function in leaf development // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003. V. 100. P. 6837–6842.
- Timmermans M.C.P., Hudson A., Becraft P.W., Nelson T. *ROUGH SHEATH2*: A myb protein that represses *knox* homeobox genes in maize lateral organ primordia // *Science.* 1999. V. 284. P. 151–153.
- Tsiantis M., Schneeberger R., Golz J.F. et al. The maize *rough sheath2* gene and leaf development programs in monocot and dicot plants // *Ibid.* 1999. V. 284. P. 154–156.
- Tsakaya H. Mechanism of leaf-shape determination // *Annu. Rev. Plant Biol.* 2006. V. 57. P. 477–496.
- Vieten A., Vanneste S., Wisniewska J. et al. Functional redundancy of PIN proteins is accompanied by auxin-dependent crossregulation of PIN expression // *Development.* 2005. V. 132. P. 4521–4531.
- Waites R., Hudson A. Phantastica: A gene required for dorsoventrality of leaves in *Antirrhinum majus* // *Ibid.* 1995. V. 121. P. 2143–2154.
- Waites R., Selvadurai H.R.N., Oliver I.R., Hudson A. The *Phantastica* gene encodes a MYB transcription factor involved in growth and dorsoventrality of lateral organs in *Antirrhinum* // *Cell.* 1998. V. 93. P. 779–789.
- Wang H., Jones B., Li Z. et al. The tomato Aux/IAA transcription factor IAA9 is involved in fruit development and leaf morphogenesis // *Plant Cell.* 2005. V. 17. P. 2676–2692.
- Xu Y., Sun Y., Liang W., Huang H. The *Arabidopsis* *AS2* gene encoding a predicted leucine-zipper protein is required for the leaf polarity formation // *Acta. Bot. Sin.* 2002. V. 44. P. 1194–1202.
- Xu L., Xu Y., Dong A. et al. Novel *as1* and *as2* defects in leaf adaxial-abaxial polarity reveal the requirement for *ASYMMETRIC LEAVES1* and 2 and *ERECTA* functions in specifying leaf adaxial identity // *Development.* 2003. V. 130. P. 4097–4107.
- Yamamoto Y., Kamiya N., Morinaka Y. et al. Auxin biosynthesis by the *YUCCA* genes in rice // *Plant Physiol.* 2007. V. 143. P. 1362–1371.

Genetic Control of Early Stages of Leaf Development

© 2007 г. Т. А. Езхова

Moscow State University, Leninskie gory, 1/12, 119992 Russia

E-mail: ezhova2001@mail.ru

Received May 29, 2007

Abstract—The results of studies of genetic regulation of the early leaf morphogenesis, demarcation of the future primordium and transition of cells to determination, have been reviewed. The genetic systems of control of these developmental stages were shown to be conservative and hypotheses of possible mechanisms underlying the evolution of leaf morphology on their basis have been considered.

Key words: developmental genetics, leaf, evolution of morphogenesis.