

АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ
БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 575.16:581.4

ОСОБЕННОСТИ ПРОЯВЛЕНИЯ НОВЫХ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОВ *AS1* И *AS2*,
КОНТРОЛИРУЮЩИХ МОРФОГЕНЕЗ ЛИСТА *Arabidopsis thaliana*¹

© 2008 г. Х. Ч. Ву, У. Н. Ондар*, О. П. Солдатова

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
119992 Москва, ГСП-2, Ленинские горы, д. 1/12

*Тувинский государственный университет
667000 Кызыл, ул. Ленина, д. 36

E-mail: arabidopsis2004@mail.ru

Поступила в редакцию 29.05.07 г.

Изучены особенности морфологии и системы жилкования розеточных листьев двух мутантов *as* и *sa Arabidopsis thaliana* и показано, что они являются аллелями генов *AS1* и *AS2* соответственно. Проведен анализ распределения в листьях мутантов свободного ауксина и паттерна экспрессии гена *BP* с использованием репортерного гена *GUS* (*DR5::GUS* и *BP::GUS*). В зрелых листьях мутантов выявлена эктопическая экспрессия гена *BP*, обнаружено изменение распределения ауксина и увеличение его концентрации по сравнению с диким типом. Полученные данные по изучению новых аллелей генов *AS1* и *AS2* подтверждают их важную роль в регуляции экспрессии генов *KNOX* класса I и полярного транспорта ауксина.

Ключевые слова: развитие листа, мутанты *Arabidopsis thaliana*, экспрессия генов, ауксин.

Апикальная меристема у высших растений формируется на эмбриональной стадии и в дальнейшем дает развитие надземной части растения. Класс I генов *KNOX* играет критическую роль в формировании латеральных органов, регулируя меристематическую активность клеток листа. Гены этого класса *BP* (*KNAT1*), *KNAT2*, *KNAT6*, *STM* экспрессируются в апикальной меристеме, но не в примордиях листьев (Jackson et al., 1994; Long et al., 1996; Tamaoki et al., 1997; Nishimura et al., 1999; Sentoku et al., 1999). Подавление экспрессии этих генов в примордиях и развивающихся листьях важно для перехода от недерминированного роста апикальной меристемы к детерминированному типу меристемы листа (Ori et al., 2000; Semiarti et al., 2001). Эктопическая экспрессия генов класса I приводит к различным фенотипическим изменениям, в том числе к аномальному развитию листовой пластинки и в большинстве случаев к формированию эктопических меристем (см. обзоры в № 6, 2007: Лутова, Додуева. С. 420–433; Ежова. С. 434–445). После трансформации растений *A. thaliana* с помощью гена *35S::BP* происходило формирование листовой пластинки, рассеченной на доли; в синусах листьев наблюдалось формирование эктопических меристем (Chuck et al., 1996).

Другим фактором, играющим важную роль в развитии листа, является ауксин. Показано, что полярный транспорт ауксина регулирует положение листьев (Reinhardt et al., 2003) и образует проксимально-дистальный градиент ауксина в примордии листа с наивысшей его концентрацией в верхушке развивающегося примордия (Benková et al., 2003). В дальнейшем при развитии ауксин накапливается вдоль центральной оси листа, способствуя развитию упорядоченной и симметричной системы жилок (Mattsson et al., 1999, 2003; Sieburth, 1999; Aloni et al., 2003; Steynen, Schultz, 2003).

В коллекции *A. thaliana* кафедры генетики МГУ имеются два мутанта *as* (*asymmetric leaves*) и *sa* (*sagittatus*) с измененной структурой листа и выростами на черешках, что может быть связано с нарушением полярного транспорта ауксина и эктопической экспрессией генов *KNAT*. Задачей нашей работы являлись морфологический и генетический анализ двух мутантов *as* и *sa*, а также анализ распределения в листьях мутантов ауксина и паттерна экспрессии гена *BP* с использованием, соответственно, слитых генов *DR5::GUS* (репортерный ген *uidA*, кодирующий β-глюкуронидазу (*GUS*), слитый с активным промотором и искусственно синтезированным элементом, который чувствителен к ауксину и назван *DR5* (Ulmasov et al., 1997)) и *BP::GUS* (репортерный ген *GUS*, слитый с промотором *KNAT1*).

¹ Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проект № 07-04-01515-а), Федеральной целевой программой “Высшие научные школы” (проект НШ 4202.2006.4) и Программой Президиума РАН “Динамика генофондов растений, животных и человека”.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Растительный материал. В работе использованы мутанты *as* и *sa* из коллекции кафедры генетики МГУ (линии К-102 и К-118, табл. 1). Мутации получены путем мутагенеза (Янушкевич, 1985) и наследуются как рецессивные. В работе использованы также мутанты и трансгенные линии из мировых коллекций (табл. 1). Растения выращивали в теплице в смеси почвы и песка (2:1) при условии: день – 16 ч, 25–27°C; ночь – 8 ч, 20–22°C. Для анализа экспрессии генов *BP::GUS* и *DR5::GUS* скрещивали линии, гомозиготные по этим генам, с мутантами *as* и *sa*. В F2 и F3 отбирали растения мутантов, гомозиготные по слитым генам.

Анализ системы жилкования. Листья фиксировали в 70%-ном этаноле и окрашивали 1%-ным спиртовым раствором сафранина в течение 24 ч, промывали в 70%-ном этаноле и анализировали с помощью микроскопа.

Анализ активности репортерного гена GUS. В качестве субстрата для определения использовали 20 мМ раствор X-gluc (5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucuronide) в диметилформамиде (Маниатис и др., 1984). Зрелые листья розетки (3–4-й лист) помещали в раствор, содержащий 1 мМ X-gluc; 50 мМ фосфатный буфер Na₂HPO₄ + NaH₂PO₄, pH 7.0–7.2; 0.01 объемных % Tween-20, и инкубировали в темноте в термостате при 37°C от 5 до 48 ч. Образцы помещали в 70%-ный этанол для удаления хлорофилла, после чего анализировали

Таблица 1. Линии *A. thaliana*, использованные в работе

Название мутанта и трансгенной линии	Номер линии	Источник
<i>as</i>	К-102	МГУ, кафедра генетики
<i>sa</i>	К-118	Тот же
<i>as1-1</i>	mm2	Институт генетики растений (Гатерслебен, Германия)
<i>as2-4</i>	CS463	ABRC
<i>DR5::GUS</i>	Col	Ulmasov et al., 1997
<i>KNAT1::GUS</i>	Col	Ori et al., 2000

их с помощью стереомикроскопа STEMI-2000 ("K. Zeiss", Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Морфологическая характеристика мутантов *as* и *sa*, тесты на аллелизм. Мутанты *as* и *sa* показывают сходный фенотип – имеют значительные нарушения формы листовой пластинки. В отличие от растений дикого типа мутанты формируют асимметричные сердцевидные листья с волнистой поверхностью (рис. 1). На черешке листа мутанта *sa* часто формируются небольшие листоподобные структуры (рис. 1, в). У мутанта *as* черешки листа укорочены и в отличие от уплощенных черешков

Рис. 1. Морфология листа дикого типа *Arabidopsis thaliana* (а) и мутантов *as* (б) и *sa* (в).

Таблица 2. Морфология листьев дикого типа и мутантов *as* и *sa* *A. thaliana*

Линия	Листовая пластинка, мм		Длина/ширина	Число жилок		Площадь листовой пластинки, мм ²
	длина	ширина		боковых	на черешке	
Дикий тип	31.30 ± 2.06	10.43 ± 0.61	3.00 ± 0.30	11.26 ± 1.89	2.40 ± 1.28	205.90 ± 18.01
<i>as</i>	19.23 ± 1.83 ²	11.71 ± 1.08	1.66 ± 0.15 ¹	6.03 ± 1.83 ²	4.16 ± 1.74 ²	133.68 ± 20.47 ¹
<i>sa</i>	21.49 ± 1.08 ²	7.88 ± 0.78 ¹	2.77 ± 0.28	6.07 ± 1.07 ²	4.23 ± 1.62 ²	101.18 ± 11.66 ¹

Примечание. ^{1,2} Отличия экспериментальных данных от теоретически ожидаемых достоверны при $p > 0.99$ и 0.999 соответственно.

дикого типа и мутанта *sa* в проксимальной части часто показывают радиально-симметричную (цилиндрическую) форму. Иногда мутант *as* формирует круглые листья, похожие на листья лотоса (рис. 1, б). Такие листья не образуются у мутанта *sa*.

Площадь листовой пластинки у мутантов существенно меньше (особенно у мутанта *as*) по сравнению с диким типом за счет уменьшения длины листовой пластинки, а также сокращения ширины (у мутанта *sa*) (табл. 2). Отношение длины и ширины листовой пластинки мутанта *as* значительно уменьшается.

Мы проанализировали систему жилок розеточных листьев с использованием красителя сафранина, который позволяет визуализировать лигниновые элементы. У дикого типа в центре листа образуется толстая центральная жилка, с которой

соединяется масса более тонких вторичных (рис. 2, а). У мутантов центральную жилку часто трудно выделить (рис. 2, б) или она более тонкая, чем у дикого типа (рис. 2, в). В то же время в черешке мутантов насчитывается значительно больше жилок одной толщины, чем у дикого типа (табл. 2).

Наряду с аномалиями центральной жилки отмечено, что в целом система жилкования листовой пластинки у мутантов намного упрощена по сравнению с диким типом. Это связано с уменьшением количества вторичных жилок (табл. 2) и редким образованием третичных и четверичных жилок. Более того, на листовой пластинке мутантов жилки менее связаны между собой в отличие от дикого типа, у которого они соединяются друг с другом, образуя комплексную структуру системы жилкования (рис. 2).

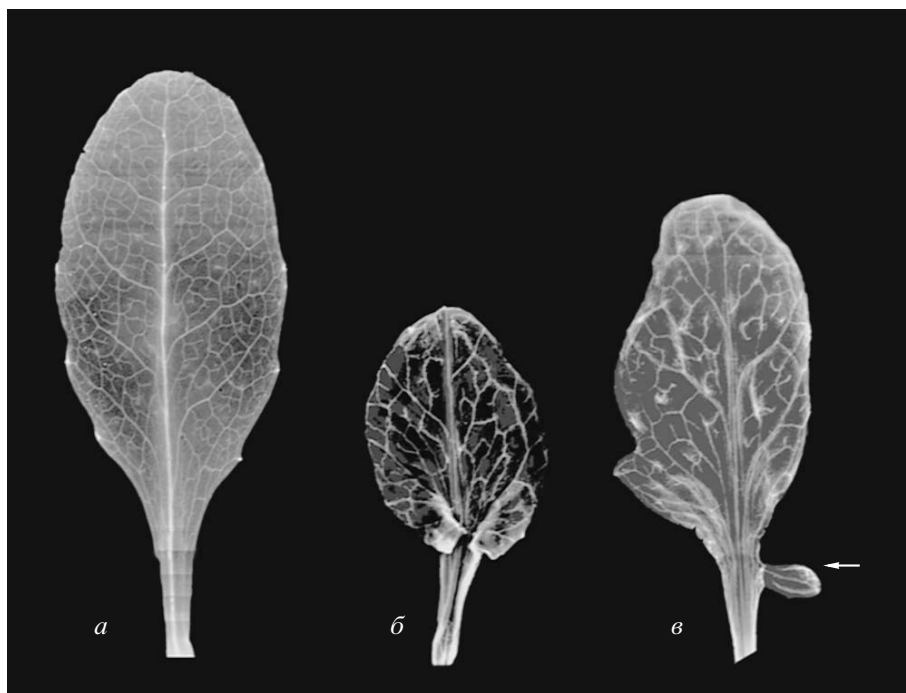


Рис. 2. Система жилкования на листьях дикого типа *A. thaliana* (а) и мутантов *as* (б) и *sa* (в); (←) – вырост на черешке мутанта *sa*.

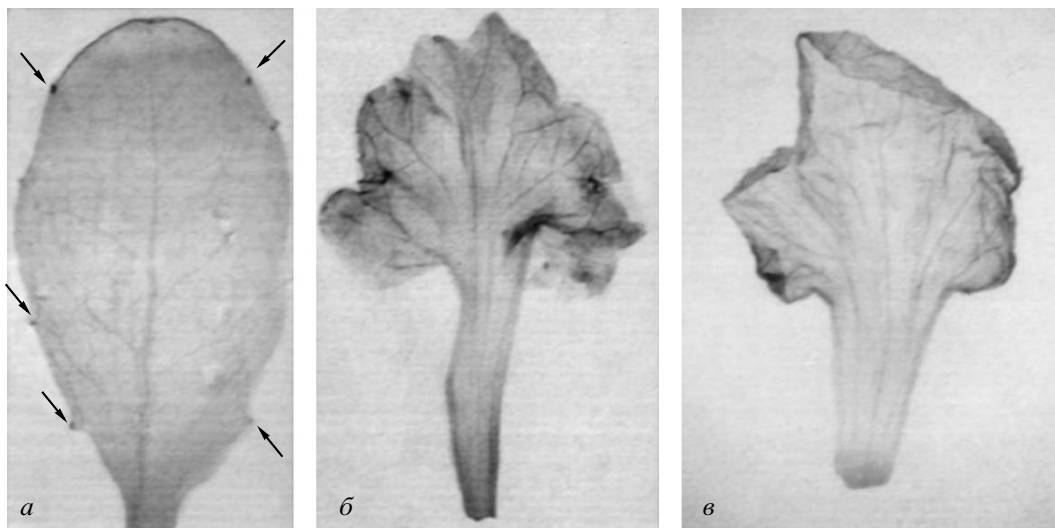


Рис. 3. Экспрессия гена *DR5::GUS* на листьях дикого типа *A. thaliana* (а) и мутантов *as* (б) и *sa* (в); (←) – локальные участки концентрации ауксина в гидатодах.

Описаны мутации с потерей функции генов *AS1* и *AS2*, у которых также формировались асимметричные волнистые листья (Xu et al., 2003). Кроме того, у этих мутантов отмечены те же особенности нарушения системы жилкования (увеличение числа жилок в черешках и уменьшение числа боковых жилок), что и в исследованных нами (Zgurski et al., 2005). Известно, что гены *AS1* и *AS2* кодируют МУВ-доменсодержащие транскрипционные факторы (Vugne et al., 2000). Эти гены играют ключевую роль в подавлении недетерминированного меристематического состояния клеток в развивающихся примордиях, что обуславливает дифференцировку клеток и формирование латеральных органов. Это осуществляется негативной регуляцией генов *KNAT* генами *AS1* и *AS2*, экспрессия которых подавляется геном *STM* в апикальной меристеме (Traas, Vernoux, 2002). В связи с тем, что наблюдалось фенотипическое сходство между нашими мутантами и мутантами *as1* и *as2*, был проведен тест на аллелизм мутантов *as* и *sa* с мутантами *as1-1* и *as2-4*. Показано, что мутация *as* является аллелем гена *AS1*, а мутация *sa* – гена *AS2*.

Анализ распределения свободного ауксина в листьях мутантов as1 и sa. Изменения развития системы жилок могут быть следствием нарушения полярного транспорта ауксина, который необходим для инициации примордиев и нормального развития молодых листьев (Zgurski et al., 2005). Для определения локализации свободного ауксина в листьях мутантов *as* и *sa* провели анализ экспрессии слитого гена *DR5::GUS* (Ulmasov et al., 1997).

На листьях дикого типа можно наблюдать точечные сайты накопления ауксина в кончиках зубчатых выростов листа (рис. 3, а), где располагают-

ся гидатоды (места выделения воды из листа) (Alopi, 2004). На листьях мутантов *as1* и *sa* ауксин локализован не по отдельным точкам (как у дикого типа), а равномерно распределен по всей листовой пластинке (рис. 3, б, в). Наблюдали и другие типы распределения ауксина по листу: накопление только по краю листовой пластинки (рис. 4, а) или случайно разбросанные диффузные участки (рис. 4, б). Иногда ауксин концентрировался в отдельных участках боковых жилок (рис. 4, б), в центральной же жилке он обычно не выявлялся. Интенсивность *GUS*-окрашивания в листьях мутанта значительно выше, чем у дикого типа, что свидетельствует не только о нарушении распределения ауксина, но и о различиях в его концентрации.

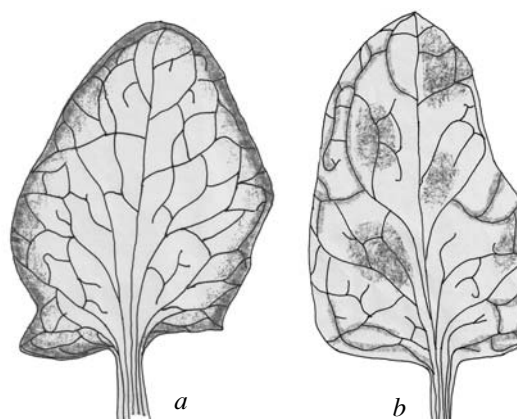


Рис. 4. Диаграмма разных типов распределения ауксина в листьях мутанта *sa*: а – концентрация ауксина по краю листа; б – локализация ауксина в виде отдельных участков, разбросанных по листовой пластинке и боковым жилкам.

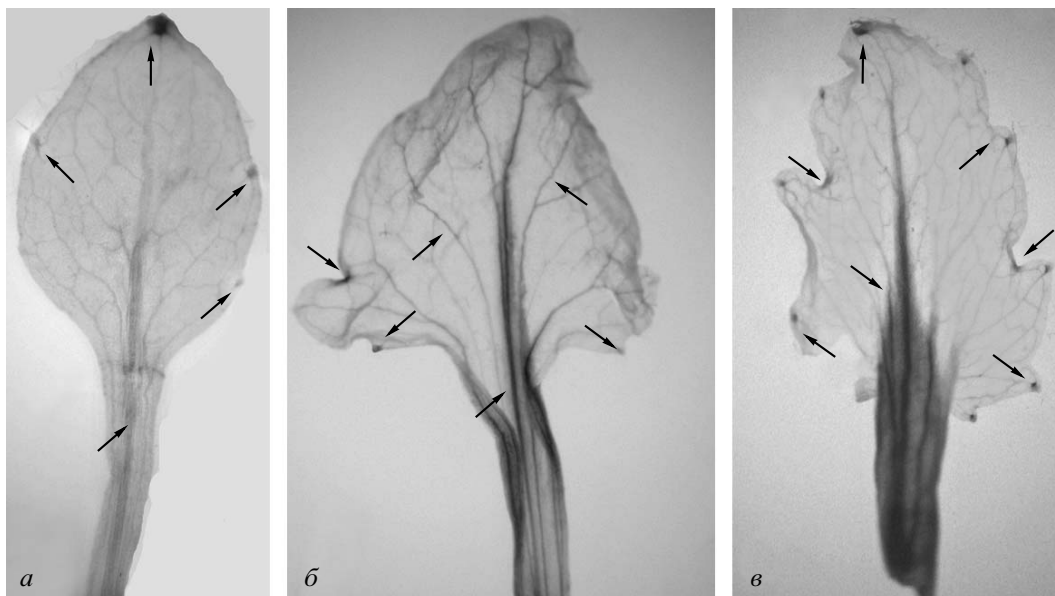


Рис. 5. Экспрессия гена *BP* в листьях дикого типа *A. thaliana* (а) и мутантов *as1* (б) и *as2* (в); (←) – места экспрессии гена *BP::GUS*.

Как было сказано, ауксин играет важную роль в формировании и дифференциации систем жилок. При развитии листовой пластинки изменяется распределение ауксина и его концентрация. В развивающихся листовых пластинках верхушка листа и гидатоды являются первичными сайтами накопления ауксина, а в дальнейшем ауксин накапливается также в трихомах и клетках мезофилла (Alopi et al., 2003). Предполагается, что для формирования центральной жилки главную роль играет ауксин из верхушки листа, который поступает туда из наружных источников (листьев, развившихся ранее). Формирование вторичных жилок стимулируется ауксином из гидатод, а для образования третичных и четверичных жилок необходим ауксин из источников, находящихся внутри листовой пластинки (Alopi, 2004). Концентрируясь в локальных участках листа, ауксин регулирует уровень и распределение белков-транспортёров, которые определяют направление потока ауксина, детерминирующее образование жилок листа (Scarpella et al., 2006).

Можно предполагать, что упрощение системы жилок у мутантов *as* и *sa* связано с тем, что у них не наблюдается локальных участков концентрации ауксина, необходимых для определения направления полярного транспорта ауксина и образования жилок. Возможно также, что диффузное распределение ауксина является следствием нарушения полярного транспорта ауксина у мутантов. Полученные данные согласуются с результатами изучения начальных этапов развития листовой пластинки мутантов *as1* и *as2*, в которых также выявлено асимметричное распределение сайтов накопления

ауксина и асимметрия жилкования (Zgurski et al., 2005).

Накопление ауксина в листьях мутантов *as1* и *sa* может объяснять и развитие у них волнистых бугорчатых листьев. Ранее показано, что высокие концентрации экзогенного ауксина вызывают активное деление клеток в листьях табака, а низкие – удлинение клеток (Chen et al., 2001). Мутант *axr1* с нарушением ауксинового ответа имеет маленькие листья за счет уменьшения числа делений клеток (Lincoln et al., 1990), следовательно, ауксин регулирует деления клеток листа. Можно предполагать, что наблюдаемая необычно высокая концентрация ауксина в листьях мутантов по сравнению с диким типом приводит к активизации клеточных делений, способствующей развитию бугристости листьев. Нарушение жилкования, связанное с аномалиями транспорта ауксина, является причиной асимметрии листовой пластинки.

Анализ экспрессии гена BP на листьях мутантов as1 и sa. Так как по морфологии листья мутантов *as* и *sa* напоминают таковые трансгенных растений *A. thaliana* с эктопической экспрессией гомеобоксного гена *BP*, мы проанализировали экспрессию этого гена у мутантов *as* и *sa*. Для этой цели использовали конструкцию *BP::GUS*. Показано, что у дикого типа очень слабая экспрессия *BP::GUS* обнаруживается в черешке и на зубцах листовой пластинки, но отсутствует в других тканях листа (рис. 5, а). У мутантов *as* и *sa* ген *BP* экспрессируется в тех же участках листа, что и у дикого типа (в черешке, на зубцах и синусах). Кроме того, его экспрессия наблюдается в центральных и боковых жилках (рис. 5, б, в). Уро-

вень экспрессии *BP::GUS* в листьях мутантов существенно выше, чем в диком типе. Наблюдаемый паттерн экспрессии гена *BP* и его уровень не отличаются от данных, полученных при анализе других аллелей генов *AS1* и *AS2* (Ori et al., 2000).

Полученные результаты хорошо согласуются с данными о негативной регуляции гена *BP* генами *AS1* и *AS2* и о более высокой экспрессии гена *BP* у мутантов *as1* и *as2* (Byrne et al., 2000; Iwakawa et al., 2002; Xu et al., 2003). Недавние работы показали, что правильная регуляция транспорта ауксина необходима для подавления экспрессии *BP*, и эта регуляция не зависит от других генов, экспрессирующихся в меристеме, в том числе и *AS1* (Hay et al., 2006). У мутантов *as* и *sa* наблюдали распределение ауксина главным образом по краю листовой пластинки в таких участках, где нет экспрессии *BP*, и наоборот. Это согласуется с данными о подавлении экспрессии гена *BP* ауксином и подтверждает предположение о негативной регуляции транспорта ауксина геном *BP* (Hay et al., 2006). Возможно, что изменение распределения и повышение концентрации ауксина являются результатом эктопической экспрессии гена *BP* при нарушении активности генов *AS1* и *AS2*. Об этом свидетельствует выявленное ранее нарушение паттерна экспрессии гена *PINI*, контролирующего транспорт ауксина, и распределения ауксина в листе в растениях *35S::BP* (Hay et al., 2006).

Ранее также изучалось распределение ауксина в примордиях листьев мутантов *as1* и *as2* и было показано, что у них первичные сайты накопления ауксина расположены асимметрично в отличие от дикого типа (Zgurski et al., 2005). В нашей работе исследовали распределение ауксина на более зрелой стадии развития листа и наблюдали более значительные различия как по распределению, так и по концентрации свободного ауксина между мутантами и диким типом. Эти отличия могут быть связаны как с различием использованных в исследованиях аллелей генов *AS1* и *AS2*, так и с отсутствием данных на более поздних стадиях развития листа. Мы также провели анализ паттерна экспрессии гена *BP*, чтобы изучить взаимодействие между двумя самими важными факторами, играющими критическую роль в инициации и развитии латеральных органов, – ауксинами и генами *KNOX* класса I. Установлено, что ауксин и транскрипты гена *BP* локализованы в разных участках листа, что свидетельствует о подавлении ауксином экспрессии гена *BP* в листьях и в свою очередь, возможно, полярного транспорта ауксина геном *BP*. Нарушение полярного транспорта ауксина и эктопическая экспрессия гена *BP* у мутантов объясняют причины развития у них аномальной формы листовой пластинки и системы жилкования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М.: Мир, 1984. 480 с.
- Янушкевич С.И. Использование арабидопсис на практических занятиях по общей генетике. М.: Изд-во МГУ, 1985. 62 с.
- Aloni R. The induction of vascular tissue by auxin. Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action / Ed. Davies P.J. Dordrecht et al.: Kluwer Acad. Publ., 2004. P. 471–492.
- Aloni R., Schwalm K., Langhans M., Ullrich I.C. Gradual shifts in sites of free-auxin production during leaf-primordium development and their role in vascular differentiation and leaf morphogenesis in *Arabidopsis* // *Planta*. 2003. V. 216. P. 841–853.
- 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.
- Byrne M., Barley R., Curtis M. et al. Asymmetric leaves1 mediates leaf patterning and stem cell function in *Arabidopsis* // *Nature*. 2000. V. 408. P. 967–971.
- Chen J. G., Shimomura S., Sitbon F. et al. The role of auxin-binding protein 1 in the expansion of tobacco leaf cells // *Plant J*. 2001. V. 28. № 6. P. 607–617.
- 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.
- 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.
- Iwakawa H., Ueno Y., Semiarti E. et al. The ASYMMETRIC LEAVES2 gene of *Arabidopsis thaliana*, required for formation of a 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.
- 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.
- Lincoln C., Britton J.H., Estelle M. Growth and development of the *axr1* mutants of *Arabidopsis* // *Plant Cell*. 1990. V. 2. P. 1071–1080.
- Long J.A., Moan E.I., Medford J.I., Barton M.K. A member of the *KNOTTED* class of homeodomain protein encodes by the *STM* gene of *Arabidopsis* // *Nature*. 1996. V. 379. P. 66–69.
- Mattsson J., Sung Z.R., Berleth T. Responses of plant vascular systems to auxin transport inhibition // *Development*. 1999. V. 126. P. 2979–2991.
- Mattsson J., Ckurshumova W., Berleth T. Auxin signaling in *Arabidopsis* leaf vascular development // *Plant Physiol*. 2003. V. 131. P. 1327–1329.
- Nishimura Y., Hayashi M., Inada H., Tanaka T. Molecular cloning and characterization of mammalian homologues of vesicle-associated membrane protein-associated (VAMP-associated) proteins // *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1999. V. 254. P. 21–26.

- Ori N., Eshed Y., Chuck G. et al. Mechanisms that control *knox* genes expression in the *Arabidopsis* shoot // *Development*. 2000. V. 127. P. 5523–5532.
- Reinhardt D., Pesce E.R., Stieger P. et al. Regulation of phyllotaxis by polar auxin transport // *Nature*. 2003. V. 426. P. 255–260.
- 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.
- 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 // *Development*. 2001. V. 128. P. 1771–1783.
- Sentoku N., Sato Y., Kurata N. et al. Regional expression of the rice KN1-type homeobox gene family during embryo, shoot, and flower development // *Plant Cell*. 1999. V. 11. P. 1651–1664.
- Sieburth L.E. Auxin transport is required for leaf vein pattern in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* 1999. V. 121. P. 1179–1190.
- Steynen Q.J., Schultz E.A. The *FORKED* genes are essential for distal vein meeting in *Arabidopsis* // *Development*. 2003. V. 130. P. 4695–4708.
- Tamaoki M., Kusaba Y., Kano-Murakami Y., Matsuoka M. Ectopic expression of a tobacco homeobox gene, *NTH15*, dramatically alters leaf morphology and hormone levels in transgenic tobacco // *Plant Cell Physiol.* 1997. V. 38. P. 917–927.
- Traas J., Vernoux T. The shoot apical meristem: the dynamics of a stable structure // *Philos. Transact. Royal Soc. L.* 2002. V. 357. P. 737–747.
- Ulmasov T., Murfett J., Hagen G., Guilfoyle T.J. Aux/IAA proteins repress expression of reporter genes containing natural and highly active synthetic auxin response elements // *Plant Cell*. 1997. V. 9. P. 1963–1971.
- 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.
- Zgurski J.M., Sharma R., Bolokoski D.A., Schultz E.A. Asymmetric auxin response precedes asymmetric growth and differentiation of *asymmetric leaf1* and *asymmetric leaf2* *Arabidopsis* leaves // *Plant Cell*. 2005. V. 17. P. 77–91.

Expression of New Mutant Alleles of *AS1* and *AS2* Genes Controlling Leaf Morphogenesis in *Arabidopsis thaliana*

H. T. Vu^a, U. N. Ondar^b, and O. P. Soldatova^a

^a Moscow State University, Leninskie Gory, 119992 Russia

^b Tyva State University, ul. Lenina 36, Kyzyl, 667000 Russia

E-mail: arabidopsis2004@mail.ru

Abstract—We have studied the morphology and vein branching of rosette leaves in *Arabidopsis thaliana* mutants *as* and *sa*, which proved to be alleles of the *A.thaliana AS1* and *AS2* genes, respectively. We have also analyzed the localization of bioactive auxin, as measured by the expression of the *DR5::GUS* transgene, as well as the expression patterns of *BP*, as measured by the expression of the *BP::GUS* transgene in leaves of the mutants. In mature leaves of the mutants, *BP* was expressed ectopically. Furthermore, the mutants showed some defects in the localization and concentration of free auxin compared to the wild type. Our results of studying new alleles of *AS1* and *AS2* support their role in control of class I *KNOX* genes and auxin transport.

Key words: leaf development, *Arabidopsis thaliana*, gene expression, auxin