ОНТОГЕНЕЗ, 2019, том 50, № 5, с. 312–318

БИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 575.164

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ АУКСИНА В РЕГУЛЯЦИИ РАЗВИТИЯ ЭКТОПИЧЕСКИХ ВЫРОСТОВ НА ЛИСТЬЯХ МУТАНТА *TAENIATA ARABIDOPSIS THALIANA*[1]

© 2019 г. Т. А. Ежова[a], Е. В. Куприянова[a], *

[a]*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет МГУ, кафедра генетики, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, Москва, 119234 Россия*

**e-mail: ekupriyanova@gmail.com*

Поступила в редакцию 06.03.2019 г.
После доработки 15.04.2019 г.
Принята к публикации 25.04.2019 г.

Ауксин – важнейший индуктор органогенеза. При развитии листа, локальные участки с высокой концентрацией ауксина инициируют развитие листовых примордиев и сосудистой системы листа, контролируют рост листовой пластинки и развитие ее края. В данной работе исследована пролиферативная активность клеток листа мутанта *taeniata* (*tae*) *Arabidopsis thaliana* и роль ауксина в развитии эктопического вторичного края и лопастей на листе этого мутанта. Установлено, что помимо способности к эктопической пролиферации клеток листа, мутант *tae* демонстрирует комплекс признаков, характерных для растений с нарушениями транспорта ауксина. Показано, что мутация в гене *PID*, нарушающая полярный транспорт ауксина, вызывает подавление эктопических новообразований на листе мутанта *tae*. Эти данные указывают на важную роль транспорта ауксина в поддержании плюрипотентности клеток листа и развитие лопастей на листе мутанта *tae*.

Ключевые слова: морфогенез листа, ауксин, плюрипотентность клеток, *Arabidopsis thaliana*

DOI: 10.1134/S0475145019050057

ВВЕДЕНИЕ

Фитогормоны играют центральную роль в регуляции онтогенеза растений. В развитии листа главная роль принадлежит ауксину. Его полярный транспорт создает на периферии апикальной меристемы побега локальные участки высокой концентрации ауксина, которые инициируют развитие листовых примордиев, определяют особенности филлотаксиса (Benkova et al., 2003; Reinhardt et al., 2003) и обусловливают развитие сосудистой системы листа (Scarpella et al., 2006; Aloni, 2010). Ауксин играет важнейшую роль в дорзо-вентральной поляризации развивающегося примордия, участвуя в пространственном разграничении доменов экспрессии генов верхней и нижней стороны листа и развития края листа (Wang et al., 2011; Caggiano et al., 2017). Ауксин необходим для роста листовой пластинки в медиа-латеральном направлении и ее симметрии. Он размечает по краю листа участки локальной пролиферации клеток, которые формируют зубчики простого листа или листочки лопастного листа (Kawamura et al., 2010; Bilsborough et al., 2011; Wu et al., 2018).

Ауксин распределен по тканям листа неравномерно. Участки более высокой концентрации ауксина возникают за счет работы генов синтеза ауксина, прежде всего, генов флавинмонооксигеназ *YUCCA* (*YUC*) и генов, контролирующих полярный транспорт ауксина (Benkova et al., 2003; Wang et al., 2011). У мутантов *A. thaliana* с нарушениями полярного транспорта ауксина листья не имеют зубчиков, обычных для листа дикого типа (Hay et al., 2006) и характеризуются аномальным жилкованием (Mattsson et al., 1999; Kleine-Vehn et al., 2009). Гены *YUC* регулируются генами поляризации. На листьях мутантов по генам поляризации наблюдается развитие эктопических структур, сопровождающееся суперэкспрессией генов синтеза ауксина *YUC* в этих структурах (Eshed et al., 2004). При отключении генов *YUC* эктопические структуры на листьях не развиваются (Wang et al., 2011), что указывает на важную роль ауксина в развитии листовых выростов.

В коллекции кафедры генетики МГУ имеется уникальный мутант *tae Arabidopsis thaliana*, характеризующийся эктопической экспрессией в листьях генов плюрипотентности *KNOX* класса 1 (Лебедева и др., 2005а). В норме, при развитии примордия листа экспрессия генов *KNOX* в клет-

[1] Дополнительная информация для этой статьи доступна по 10.1134/S0475145019050057 для авторизованных пользователей.

Таблица 1. Особенности сосудистой структуры 5-ого розеточного листа растений дикого типа и мутанта *tae*

	Дикий тип	*tae*
Число вторичных жилок в листовой пластинке	12.1 ± 0. 5	2.4 ± 1.3**
Число жилок в черешке	3.6 ± 0.3	6.3 ± 0.8*
Число исследованных листьев	25	25

Исследовали листья 35-дневных растений. Представлены средние величины ± стандартные ошибки средних; * – отличия от дикого типа статистически значимы (* $P < 0.01$; ** $P < 0.001$).

Таблица 2. Морфологические особенности растений мутантов *tae*, *abr* и гибридной линии *tae abr*

		tae	*abr*	*tae abr*
Число цветков на главном цветоносе[а]	22–23°C	39.4 ± 4.2 (n = 10)	9.5 ± 1.4 (n = 11)	1.3 ± 0.7 (n = 14)**
	24–27°C	3.5 ± 3.5 (n = 15)	3.2 ± 0.7 (n = 15)	1.4 ± 0.2 (n = 36)*
Доля растений с лопастями		42% (n = 50)	0 (n = 20)	7% (n = 14)
Число лопастей/лист[б]		1.0 ± 0.3 (n = 108)	0 (n = 100)	0.02 ± 0.01 (n = 68)**
Число почек/лист		0.1 ± 0.1 (n = 108)	0 (n = 100)	0 (n = 68)

Исследовали 45-дневные растения. Представлены средние величины ± стандартные ошибки средних; n – число исследованных растений или листьев. Для анализа листьев растения выращивали при 22–23°C. Статистические сравнения проводили между мутантными линиями *tae abr* и *abr* ([а]) или *tae abr* и *tae* ([б]); * – отличия от дикого типа статистически значимы (* $P < 0.01$; ** $P < 0.001$).

ках листа подавляется, и молчание *KNOX*-генов поддерживается эпигенетическими механизмами (Lodha et al., 2013). Репрессия *KNOX*-генов приводит к утрате клетками листа плюрипотентности, что обеспечивает формирование простого листа как у *A. thaliana*, так и у других видов с простым листом (Hay, Tsiantis, 2010). У мутанта *tae* листья часто формируют вторичный край листовой пластинки, параллельный первичному краю. Локальные разрастания вторичного края приводят к появлению лопастей, листоподобных выростов и почек (Лебедева и др., 2005а; Fedotov et al., 2017). Однако остается не ясным, является ли фенотип мутанта следствием сохранения клетками плюрипотентности в процессе развития листа, или же способность клеток к делениям приобретается ими заново на поздних стадиях развития листа или после его завершения.

Задачами работы было изучение пролиферативной активности клеток на разных стадиях развития листа мутанта *tae* с использованием репортерного гена β-глюкуронидазы (GUS) под промотором гена циклина *CycB1;1*, позволяющего визуализировать клетки, находящиеся на стадиях G2/M (Colon-Carmona et al., 1999), а также анализ возможной роли ауксина в развитии эктопических выростов и поддержании плюрипотентности клеток листа у мутанта *tae*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Мутанты *tae* и *abr Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. из коллекции кафедры генетики МГУ получены на основе рас Blanes-M (Bla) и Dijon-M соответственно. Фенотип *tae* обусловлен двумя рецессивными мутациями *tae1* и *tae2* в гомозиготе, ни одна из которых не имеет собственного проявления. В работе использовали линию мутанта *tae*, прошедшую 5 возвратных скрещиваний на родительскую расу Bla. Семена расы Columbia (Col), трансгенных линий *DR5:GUS* и *CycB1;1:GUS* получены из ABRC. Поскольку мутант *tae* имеет дигенную природу и экспрессивность фенотипа *tae* зависит от генетического фона, для создания линии мутанта *tae* с трансгенами и мутацией *abr*, трансгенные растения *DR5:GUS, CycB1;1:GUS* и растения мутанта *abr* сначала скрещивали с расой Bla, а только затем – с мутантом *tae*. Исследования проводили на линиях, гомозиготных по трансгенам и исследуемым мутациям.

Растения выращивали в условиях длинного дня в ростовой комнате при температуре 22–23°C, при которой фенотип *tae* имеет наибольшую экспрессивность. При выращивании растений мутанта *tae*, содержащего в геноме мутацию *abr* (растения *tae abr*), использовали также условия теплицы (24–27°C), при которых повышалась экспрессивность мутации *abr*. Для сравнения достоверности различий средних значений мерных признаков (табл. 1, табл. 2) использовали критерий Стьюдента.

Активность β-глюкуронидазы выявляли после инкубирования растительных образцов в течение 24 ч при 37°C в 50 мМ Na-фосфатном буфере (pH 7.2) с добавлением 0.5 мг/мл X-gluc и 0.1% Triton X-100 (Jefferson et al., 1987). После этого образцы помещали в 70% этанол. Анализ образцов на наличие активности β-глюкуронидазы осу-

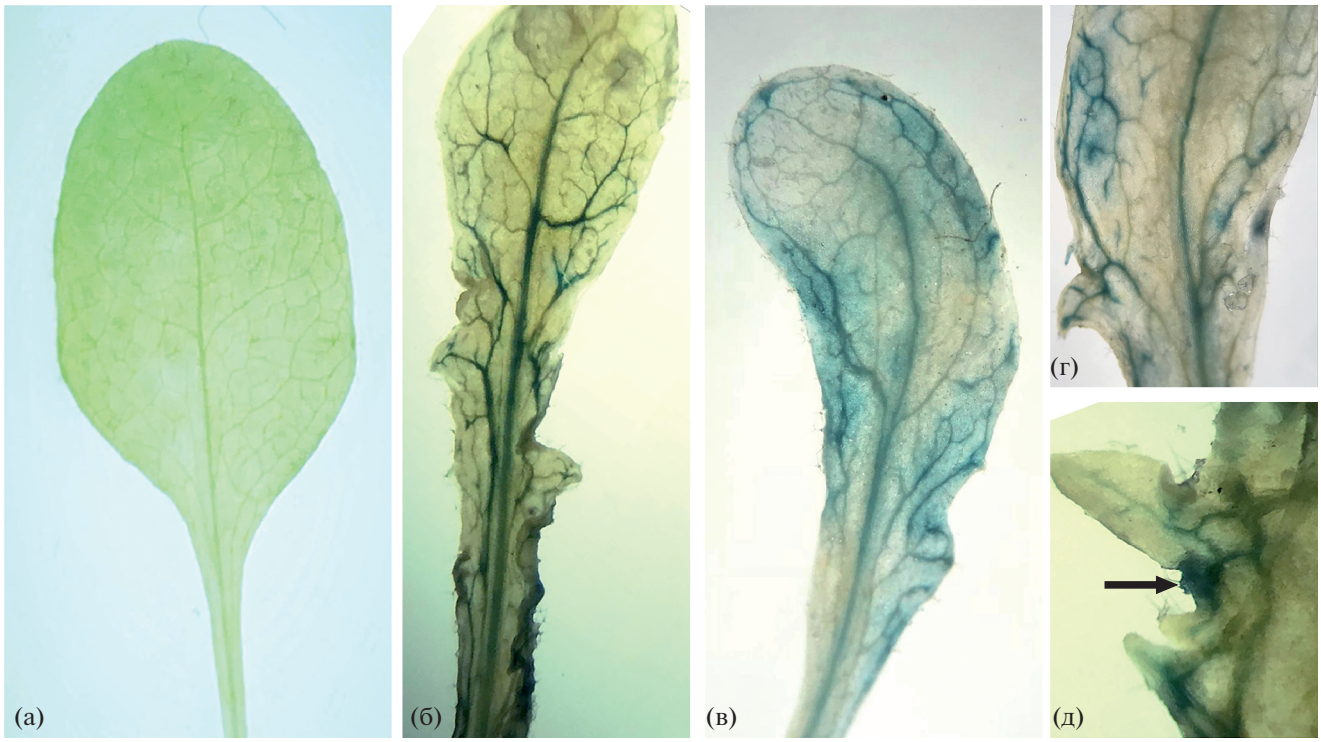

Рис. 1. Выявление участков эктопических клеточных делений в зрелых листьях мутанта *tae* с использованием трансгена *CycB1;1:GUS*. (а) – в листе растений дикого типа экспрессия трансгена не выявляется. (б–д) – в листьях мутанта *tae* экспрессия *CycB1;1:GUS* видна в центральной жилке, в боковых жилках и прилегающих к ним участках, в развивающейся почке ((д) – стрелка).

ществляли с использованием микроскопа Stemi 2000-C (Германия). Фотографировали изображения цифровой камерой Canon G9 (Япония), которой оснащен микроскоп.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Мутант tae характеризуется эктопическими делениями клеток листа

Для изучения особенностей пролиферативной активности клеток в процессе развития листа мутанта *tae* использовали репортерный ген β-глюкуронидазы (GUS) под промотором гена циклина *CycB1;1*, позволяющего визуализировать клетки, находящиеся на стадиях G2/M (Colon-Carmona et al., 1999). Как и у растений *A. thaliana* дикого типа, у мутанта *tae* делящиеся клетки можно обнаружить только на самых ранних этапах развития листового примордия (Приложение, рис. 1а, 1б), что соответствует результатам ранее проведенных исследований пролиферации клеток при развитии простого листа *A. thaliana* (Donnelly et al., 1999; Rodriguez et al., 2014). Полученные данные свидетельствуют о том, что пролиферация клеток листа у мутанта *tae*, также, как и у растений дикого типа, прекращается рано, и рост листа достигается главным образом за счет растяжения клеток.

Различия по экспрессии трансгена *CycB1;1:GUS* в листьях мутанта и дикого типа появляются на поздних стадиях развития листа – в зрелых листьях незадолго до перехода растений на репродуктивную стадию развития и после этого перехода. В зрелых листьях дикого типа экспрессия *CycB1;1:GUS* не выявляется (рис. 1а). В листьях мутанта экспрессия трансгена, свидетельствующая об активных делениях клеток, сосредоточена в области центральной жилки листа (рис. 1б–1г). Эктопические деления обнаруживаются в части боковых жилок 2-го и 3-его порядков, а также на прилегающих к этим жилкам участках листовой пластинки (рис. 1в, 1г). Экспрессия трансгена наблюдалась также в сосудистой системе эктопических лопастей по краю листа (рис. 1г, 1д) и на участках, где возникали почки (рис. 1д, стрелка). Таким образом, в отличие от дикого типа, у которого деления клеток наблюдались только на ранних стадиях развития листа, у мутанта *tae* эктопические деления клеток возобновлялись на поздних стадиях развития листа.

Мутант tae характеризуется изменением ауксинового гомеостаза

Около 4% проростков мутанта имеют три или одну семядолю (7/169 проростков). У 5% про-

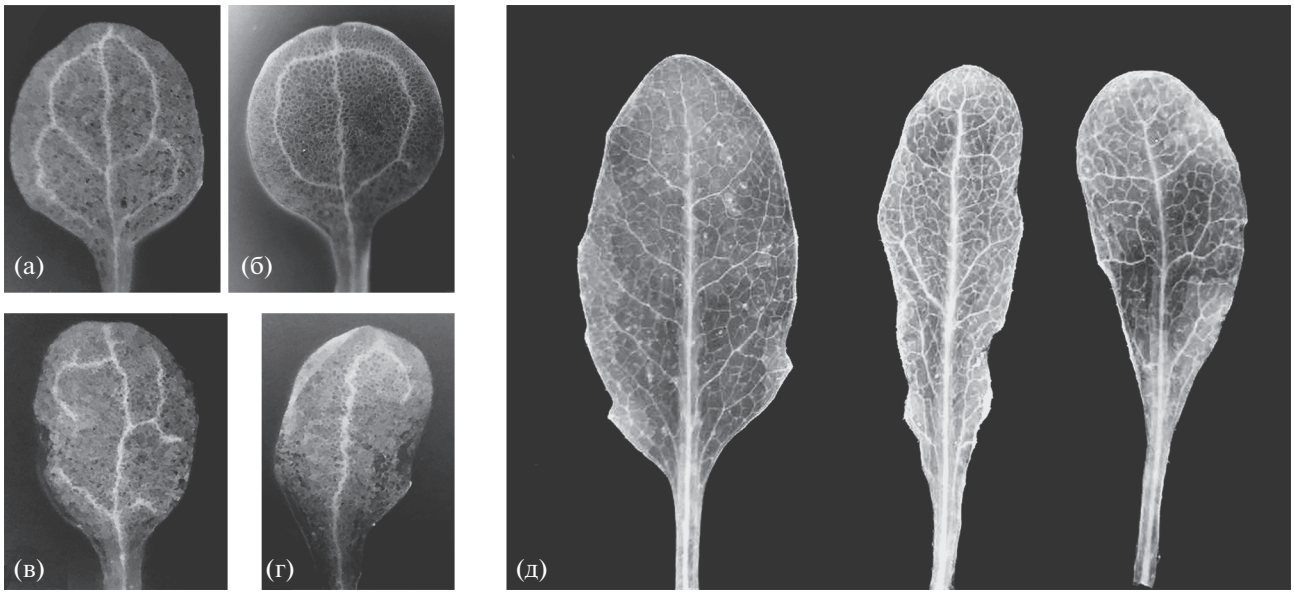

Рис. 2. Изменение системы жилкования семядольных и настоящих листьях мутанта *tae*. (а–г) – вариация жилкования в семядолях мутанта *tae*. (д) – листья дикого типа (слева) и мутанта *tae* (два листа справа); видно уменьшение числа боковых жилок в листе мутанта и их асимметричное расположение.

ростков (9/169) наблюдается раздвоение одной из двух семядолей (рис. 2, Приложения). У дикого типа такие аномалии практически не встречаются (частота ниже 0.1%), однако они являются характерной особенностью растений с мутациями в генах *PIN1* и *PID*, контролирующих вынос ауксина из клеток (Furutani et al., 2004). Система жилкования семядолей также изменена у мутанта по сравнению с диким типом. В семядолях растений дикого типа жилки обычно образуют 3–4 замкнутых петли. У мутанта система жилкования семядолей упрощена. Только 66% семядолей имеют систему жилкования, не отличающуюся от дикого типа (рис. 2а). Примерно 31% семядолей (33/107) имеют жилки в виде двух (рис. 2б) или одной замкнутой петли. Около 3% семядолей (3/107) имеют прерывистые жилки, которые вообще не образуют петель (рис. 2в, 2г).

Изменено и жилкование настоящих листьев. Сосудистая сеть листьев *tae* двусторонне асимметрична (рис. 2д). В некоторых листьях вместо одной центральной жилки имеются несколько параллельных жилок. В листовых пластинках мутанта выявлено пятикратное уменьшение количества боковых жилок, в то время как в черешке число жилок увеличено вдвое (табл. 1).

Измененное число семядолей и нарушение жилкования – особенности, указывающие на возможные аномалии транспорта ауксина у мутанта. Для анализа распределения ауксина в листьях анализировали экспрессию трансгена *DR5:GUS*, который позволяет выявлять участки локализации свободного ауксина (физиологически активного) в клетках и тканях растений (Ulmasov et al., 1997). Анализ экспрессии *DR5:GUS* не выявил изменений в распределении ауксина в листьях дикого типа и мутанта на ювенильной стадии развития (рис. 1в, 1г Приложения). Различия между мутантом и диким типом, как и при анализе экспрессии *CycB1;1:GUS,* выявлялись в зрелых листьях растений незадолго до зацветания и после зацветания растений.

Как и в листьях дикого типа, у мутанта *tae* локальные точки накопления ауксина были видны на кончике листовой пластинки и на концевых участках небольших зубчиков вдоль пластинки листа – в гидатодах (рис. 3а, 3б), что характерно для листа *A. thaliana* (Aloni et al., 2003). Локальные точки на концах зубчиков можно увидеть также на листоподобных выростах (рис. 3г) и лопастях на листе мутанта *tae* (рис. 3д, 3е). В то же время, в листе мутанта *tae* ауксин часто обнаруживается по периферии листовой пластинки в виде участков разной протяженности и ширины (рис. 3б–3г), в том числе – на участках формирования вторичного края (рис. 3г, стрелка). В отдельных случаях экспрессия *DR5:GUS* выявляется в центральной жилке листовой пластинки *tae*. Изредка диффузные области скопления свободного ауксина у *tae* можно было выявить в апикальной части листовой пластинки.

Накопление активного ауксина в листьях, аномалии числа семядолей и структуры жилкования семядолей и листьев возникают при мутациях в генах *PIN1* и *PID*, контролирующих отток ауксина из клеток, а также при действии на растения ингибиторов полярного транспорта ауксина. Это

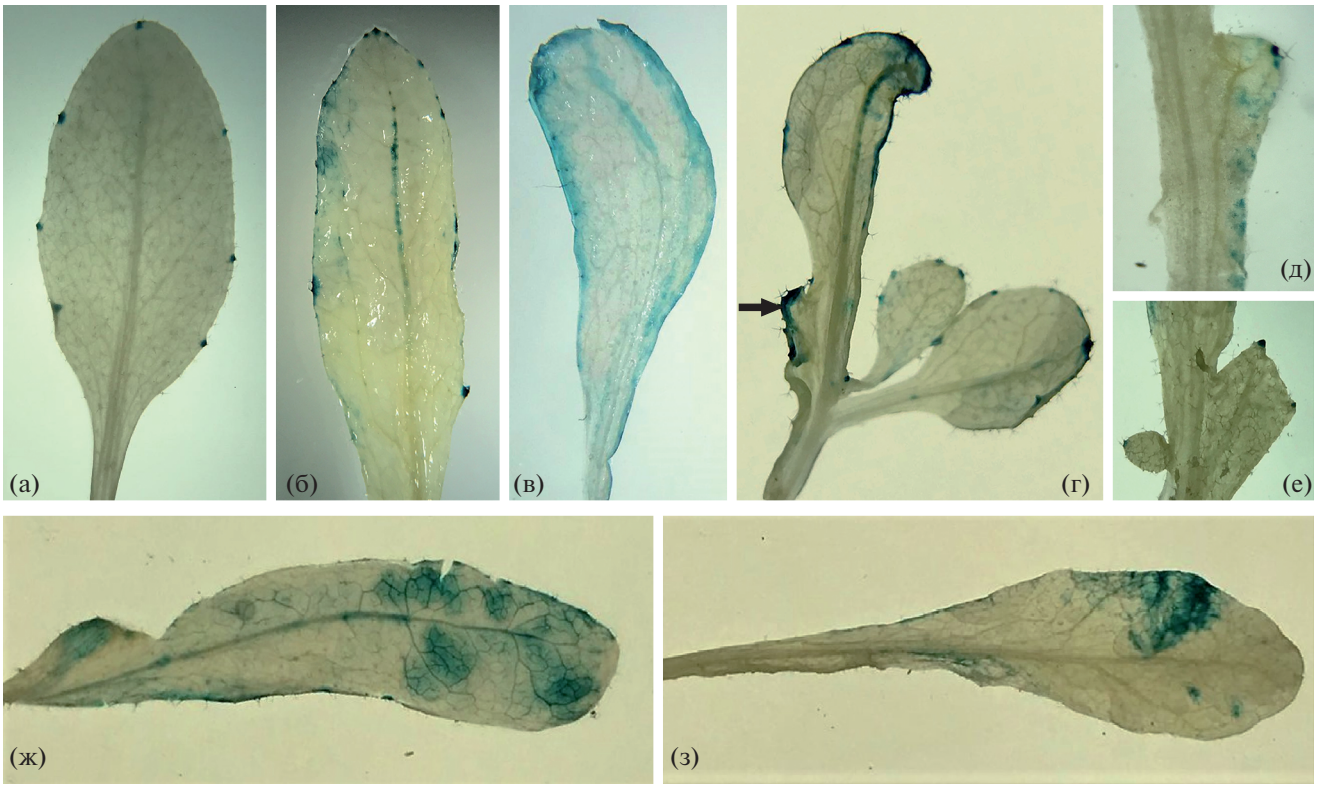

Рис. 3. Выявление участков локализации ауксина в листьях мутанта *tae* с использованием трансгена *DR5:GUS*. (а) – в зрелом листе растений дикого типа ауксин выявляется только в гидатодах. (б–е) – в листьях мутанта выявляются дополнительные участки скопления ауксина по переферии листа, в гидатодах эктопических выростов (листоподобные выросты видны справа на рис. 3г и слева на рис. 3е, эктопические лопасти – на рис. 3д, 3е справа), в участках формирования вторичного края ((г) – стрелка). (ж, з) – в листьях мутанта *tae abr* ауксин выявляется по переферии листа и в виде крупных пятен в листовой пластинке.

указывает на нарушение ауксинового гомеостаза у мутанта *tae*, возможно связанное с нарушением полярного транспорта ауксина. Отметим, что между мутантом *tae* и ранее описанными мутантами *pin* и *pid* с нарушениями выноса ауксина из клеток есть и существенные морфологические отличия. У мутанта *tae* нет характерных для *pin* и *pid* булавковидных структур и нарушения гравиотропизма корней, но есть отсутствующее у *pin* и *pid* эктопическое образование лопастей и почек на листьях.

Мутация abr подавляет развитие лопастей на листьях мутанта tae

Поскольку свободный ауксин инициирует органогенез и скапливается на периферии листа мутанта – там, где формируются гребневидные выросты и лопасти, мы решили изучить, является ли эта связь случайной или закономерной. Путем скрещиваний получена линия мутанта *tae*, содержащая мутацию *abruptus* (*abr*), нарушающую функцию серин-треониновой протеинкиназы PID/ABR, которая необходима для правильной локализации на мембране клеток белков, выносящих ауксин из клеток (Christensen et al., 2000; Friml et al., 2004). Мутация *abr* приводит к замене консервативного глицина Gly-318 (G) на глутаминовую кислоту (E) в позиции 318 в белке PID, входящей в каталитический центр протеинкиназы (Лебедева и др., 2005б), вызывает накопление ауксина в листьях розетки и развитие булавковидного цветоноса (Калинина и др., 2000; Ежова и др., 2000; Кавай-оол и др., 2011).

Экспрессивность мутации *abr* зависит от температуры, поэтому растения мутанта *tae*, содержащего мутацию *abr* (далее будем их называть *tae abr*), выращивали при двух температурных режимах. При 22–24°C терминализация главного цветоноса булавковидной структурой у *abr* происходила после формирования в среднем 9–10 цветков, а у *tae abr* – всего 1–2 цветков (табл. 2, рис. 3 Приложения). При 24–27°C цветоносы *abr* терминализовались раньше – после развития 3–4 цветков, а у *tae abr* – после развития 1–2 цветков (табл. 2). Усиление экспрессивности у растений *tae abr* признака, характерного для мутанта *abr*, указывает на возможную роль генов *TAE* в поддержании гомеостаза ауксина.

Частота формирования 3-х семядольных проростков у мутанта *abr* составляла 14% (5/50), у мутанта *tae* – 4% (7/169). У мутанта *tae abr* мутация *abr* повышала частоту проростков с аномальным числом семядолей до 49% (23/47). Среди проростков встречались не только одно- и трех-семядольные проростки, но и четырех-семядольные. В листьях растений *tae abr* также наблюдали накопление ауксина по краю листа, что характерно как для мутанта *tae*, так и для мутанта *abr* (Кавай-оол и др., 2011). Кроме того, экспрессия *DR5:GUS* часто выявлялась в виде единичных или множественных ярких четких или диффузных пятен на пластинке листа (рис. 3ж, 3з). Более выраженное скопление ауксина в листьях мутанта *tae abr*, более ранняя терминализация цветоноса булавковидной структурой и высокая частота проростков с аномальным числом семядолей свидетельствуют о совместном участии генов *PID* и *TAE* в контроле полярного транспорта ауксина.

Как и у одиночного мутанта *tae*, листья *tae abr* были суженными, асимметричными. Тем не менее, выявлены и существенные различия по структуре листа между этими генотипами. В отличие от мутанта *tae*, для которого характерно образование эктопических образований на верхней стороне листа, у *tae abr* лопасти формировались очень редко. Образование почек также было подавлено (табл. 2). Таким образом, генетический блок транспорта ауксина, вызванный мутацией *abr*, приводит к накоплению ауксина в листьях мутанта *tae abr* и подавляет способность клеток мутанта *tae abr* приобретать свойство плюрипотентности на поздних стадиях развития листа. Эти результаты указывают на важную роль транспорта ауксина в поддержании плюрипотентности клеток листа и развития лопастей на листе мутанта *tae*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования экспрессии трансгена *CycB1;1:GUS* показали наличие эктопических делений клеток в зрелом листе мутанта *tae*. В листьях дикого типа задолго до приобретения листьями своего окончательного размера деления клеток прекращаются за счет эпигенетического подавления транскрипции генов плюрипотентности *KNOX* класса I (Hay, Tsiantis, 2010). Молодые листья мутанта *tae* также быстро прекращали экспрессию *CycB1;1:GUS*. Возобновление клеточных делений наблюдалось только в зрелом листе мутанта. Эти данные позволяют предполагать, что в листе у мутанта *tae* нарушена стабильность эпигенетического замолкания генов плюрипотентности. Ранее было выявлено повышение уровня экспрессии гена *BP* (один из генов *KNOX*) в листе у мутанта *pin1*, а также при воздействии на растения дикого типа ингибиторов транспорта ауксина (Hay et al., 2006). Усиление образования эктопических выростов, вызванное еще большим повышением уровня экспрессии *KNOX* генов, можно было ожидать и у растений *tae abr*. Выявленное нами снижение формирования эктопических структур на листьях растений *tae abr* свидетельствует о том, что нарушения транспорта ауксина у мутанта *tae* являются скорее следствием, чем причиной развития эктопических выростов на листе. Вместе с тем, учитывая дигенную природу мутанта *tae* нельзя исключить, что один из генов *TAE* может быть вовлечен в контроль транспорта ауксина.

Исследование поддержано фондом РФФИ (грант № 19-04-00149).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Ежова Т.А., Солдатова О.П., Калинина А.Ю., Медведев С.С. Взаимодействие генов *ABRUPTUS/PINOID* и *LEAFY* в процессе флорального морфогенеза у *Arabidopsis thaliana* (L.) // Генетика. 2000. Т. 36. № 12. С. 1682–1687.

Кавай-оол У.Н., Карпенко О.Ю., Ежова Т.А. Взаимодействие гена *PINOID/ABRUPTUS* с геном *AGAMOUS* – негативным регулятором пролиферации стволовых клеток в меристеме цветка *Arabidopsis thaliana* // Онтогенез. 2011. Т. 42. № 2. С. 146–150.

Калинина А.Ю., Ежова Т.А., Голубева Н.В. и др. Полярный транспорт ауксина у мутанта *abruptus Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. // Вестник СпбГУ. 2000. Сер. 3. Вып. 1. № 3. С. 44–51.

Лебедева О.В., Ежова Т.А., Мельзер С. Ген *TAENIATA* – новый негативный регулятор гомеобоксных генов *KNAT1, KNAT2, KNAT6* и *STM Arabidopsis thaliana* // Генетика. 2005а. Т. 41. № 8. С. 1068–1074.

Лебедева О.В., Ондар У.Н., Пенин А.А., Ежова Т.А. Влияние гена *ABRUPTUS/PINOID Arabidopsis thaliana* на экспрессию гена *LEAFY* // Генетика. 2005б. Т. 41. № 4. С. 559–565.

Aloni R. The induction of vascular tissues by auxin // Plant Hormones. Springer. Dordrecht, 2010. P. 485–518.

Aloni R., Schwalm K., Langhans M., Ullrich 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.

Bilsborough G.D., Runions A., Barkoulas M. et al. Model for the regulation of *Arabidopsis thaliana* leaf margin development // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 2011. V. 108. P. 3424–3429.

Caggiano M.P., Yu X., Bhatia N. et al. Cell type boundaries organize plant development // Elife. 2017. V. 6. P. 1–32.

Christensen S.K., Dagenais N., Chory J., Weigel D. Regulation of auxin response by protein kinase PINOID // Cell. 2000. V. 100. P. 469–478.

Colon-Carmona A., You R., Haimovitch-Gal T., Doerner P. Technical advance: spatio-temporal analysis of mitotic activity with a labile cyclin-GUS fusion protein // Plant J. 1999. V. 20. P. 503–508.

Donnelly P.M., Bonetta D., Tsukaya H. et al. Cell cycling and cell enlargement in developing leaves of *Arabidopsis* // Dev. Biol. 1999. V. 215. Issue 2. P. 407–419.

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.

Fedotov A.P., Ezhova T.A., Timonin A.C. Bizarre lamina margins in *tae* mutant of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Brassicaceae) // Wulfenia. 2017. V. 24. P. 163–170.

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. Issue 5697. P. 862–865.

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.

Hay A., Tsiantis M. KNOX genes: versatile regulators of plant development and diversity // Development. 2010. V. 137. P. 3153–3165.

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.

Jefferson R.A., Kavanagh T.A., Bevan M.W. GUS fusions: β-Glucuronidase as a sensitive and versatile gene fusion marker in higher plants // EMBO J. 1987. V. 6. P. 3901–3907.

Kawamura E., Horiguchi G., Tsukaya H. Mechanisms of leaf tooth formation in *Arabidopsis* // The Plant J. 2010. V. 62. Issue 3. P. 429–441.

Kleine-Vehn J., Huang F., Naramoto S. et al. PIN auxin efflux carrier polarity is regulated by PINOID kinase-mediated recruitment into GNOM-independent trafficking in *Arabidopsis* // Plant Cell. 2009. V. 21. Issue 12. P. 3839–3849.

Lodha M., Marco C.F., Timmermans M.C. The ASYMMETRIC LEAVES complex maintains repression of *KNOX* homeobox genes via direct recruitment of Polycomb-repressive complex2 // Genes Dev. 2013. V. 27. Issue 6. P. 596–601.

Mattsson J., Sungand Z.R., Berleth T. Responses of plant vascular systems to auxin transport inhibition // Development. 1999. V. 126. P. 2979–2991.

Reinhardt D., Pesce E.R., Stieger P. et al. Regulation of phyllotaxis by polar auxin transport // Nature. 2003. V. 426. P. 255–260.

Rodriguez R.E., Debernardi J.M., Palatnik J.F. Morphogenesis of simple leaves: regulation of leaf size and shape // WIREs Dev. Biol. 2014. V. 3. Issue 1. P. 41–57.

Scarpella E., Barkoulas M., Tsiantis M. Control of leaf and vein development by auxin // Cold Spring Harb Perspect Biol. 2010. 2(1): a001511.

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.

Wang W., Xu B., Wang H. et al. YUCCA genes are expressed in response to leaf adaxial–abaxial juxtaposition and are required for leaf margin development // Plant Physiol. 2011. V. 157. P. 1805–1819.

Wu L., Tian Z., Zhang J. Functional dissection of auxin response factors in regulating tomato leaf shape development // Front. Plant Sci. 2018. V. 9. P. 957.

Studying the Auxin Role in the Ectopic Outgrowths Development on the Leaves of the *Arabidopsis taeniata* Mutant

T. A. Ezhova[1] and E. V. Kupriyanova[1, *]

[1]*Department of Genetics, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskiye Gory 1/12, Moscow, 119234 Russia*

**e-mail: ekupriyanova@gmail.com*

Received March 6, 2019; revised April 15, 2019; accepted April 25, 2019

Auxin – is the important inductor of an organogenesis. During leaf development, local sites of high auxin concentration initiate the formation of leaf primordia and the patterning of leaf venation, control blade expansion and marginal outgrowths. In the present study, we analised the proliferative activity of the leaf cells of the *Arabidopsis thaliana taeniata* (*tae*) mutant and auxin role in the development of the ectopic secondary margins and lobes on the leaf of this mutant. It has been established that, in addition to the ability to ectopic proliferation of leaf cells, the mutant *tae* demonstrates a complex of traits characteristic of plants with impaired auxin transport. It was shown that a mutation in the *PID* gene, which disrupts the polar auxin transport, causes suppression of ectopic outgrowths on the leaf of *tae* mutant. These data indicate the important role of auxin transport in maintaining the leaf cell pluripotency and the development of lobes on the *tae* mutant leaf.

Keywords: leaf morphogenesis, auxin, cell pluripotency, *Arabidopsis thaliana*