

УДК 575.16:581.4

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ МОРФОГЕНЕЗА ЛИСТА

Т.А. Ежова, Х.Ч. Ву

Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва

Рассмотрена информация о генетической регуляции процесса детерминации листовой меристемы и роли эпигенетического «замолкания» генов в поддержании детерминированного состояния клеток листа. Показана связь между функционированием генов, осуществляющих разнонаправленные процессы поддержания недетерминированного состояния клеток и детерминирующих меристему листа, и структурой листа.

Развитие побега – результат функционирования апикальной меристемы побега (АМ), которая служит источником клеток для формирования латеральных листовых меристем. Образование и функционирование листовых меристем контролируется большим числом взаимодействующих генов, которые включаются на разных этапах морфогенеза листа и отвечают за разные стадии его развития. В настоящее время, в первую очередь благодаря исследованиям на модельных генетических объектах, получена обширная информация о генетическом контроле ранних этапов морфогенеза листа – разметки местоположения листьев, детерминации листовой меристемы, верхней и нижней сторон развивающегося листа. Эта информация, рассмотренная в ряде обзорных работ [4; 22], проливает свет на те генетические механизмы, которые сыграли основную роль в возникновении листа и эволюции его морфогенеза. Теломная теория морфогенеза листа предполагает, что макрофиллы возникали в результате детерминации недетерминированных участков теломов, их уплощения и срастания [5]. Гены, детерминирующие клетки примордия листа, а также гены, обеспечивающие их адаксиально-абаксиальную полярность, по сути являются потенциальными участниками двух из предполагаемых этапов ранней эволюции листа.

Понятие детерминации является одним из основополагающих в биологии развития и обозначает постепенное ограничение потенций клеток (коммитирование), которое является предшествующим и необходимым этапом для их дифференцировки – процесса специализации, приобретения специфических свойств структуры и функции. Переход к детерминированному состоянию связан с получением клетками специальных индуктивных сигналов (или снятием действия других сигналов), которые появляются в результате активации определенных генов (или инактивацией, «замолканием» других). В данной статье обобщены результаты изучения генетической и эпигенетической регуляции процесса детерминации листовой меристемы, в том числе и полученные на кафедре генетики МГУ.

Генетика и эпигенетика. Термин К. Уодингтона, введенный в 40-х гг. прошлого столетия специально для обозначения процесса реализации генетической информации в индивидуальном развитии, довольно редко использовался генетиками в прошлом веке, поскольку механизмы этого явления были совершенно не понятными. Сегодня, благодаря серьезным достижениям в исследовании молекулярных механизмов регуляции действия генов, термин «эпигенетика» обрел новую жизнь. Появилась возможность дать более четкое определение этому термину, который с самого его рождения оказался неоднозначным. Можно выделить два основных определения данного термина, которые имеют разную смысловую нагрузку. Наиболее широкое

определение дано самим Уоддингтоном в 1942 г. Он который понимал под эпигенетикой «раздел биологии, изучающий причинно-следственные взаимодействия между генами и их продуктами, и как они реализуются в определенные фенотипы». Аналогичный смысл вкладывал в термин и Р. Холлидей, определивший в 1990 г. эпигенетику как "исследование механизмов временного и пространственного контроля генной активности в сложных организмах". Такое определение рассматривает эпигенетику как раздел генетики, изучающий любые механизмы регуляции генного действия. Поскольку проблема регуляции экспрессии генов является одной из основных проблем генетики, по сути, происходит подмена одного термина другим.

Более узкое определение предложено в 1996 г. Руссо: «исследование митотически и/или мейотически наследуемых изменений в экспрессии генов, которые нельзя объяснить изменениями в ДНК». Такое определение отдает эпигенетике лишь некоторые аспекты обширной проблемы генной регуляции, которые связаны со специфическими молекулярными механизмами, позволяющими передавать дочерним клеткам тот паттерн экспрессии генов, который был характерен для родительской клетки. К таким механизмам относятся процессы метилирования ДНК, приоритеты открытия которого принадлежат российским ученым (Б.Ф. Ванюшину и его коллегам), а также процессы, приводящие к изменению состояния хроматина (связанные с модификацией гистонов и другими молекулярными событиями). Именно эти молекулярные изменения способны поддерживать в разных тканях и органах те особенности экспрессии генов, которые придают им все необходимые свойства и отличают одни ткани и органы от других. Стабильное сохранение и передача дочерним клеткам первоначально достигнутого состояния детерминированности инициалей является неотъемлемой частью морфогенеза и возможно благодаря эпигенетическим изменениям. В данной статье мы будем использовать именно это понимание эпигенетических явлений.

Генетический контроль детерминации листовой меристемы. В отличие от АМ, содержащей пул стволовых клеток, листовые меристемы детерминированы, характеризуются ограниченным числом делений клеток и пролиферируют ограниченное время. Переход клеток от недетерминированного состояния в детерминированное является результатом «замолкания» в клетках зачатка листа высококонсервативных гомеобоксных генов (*KNOX*-генов класса 1), которые поддерживают недетерминированное (стволовое) состояние клеток в АМ. Эти гены, впервые идентифицированные у кукурузы в 1991 г., кодируют регуляторные белки с доменами, которые способны связываться с регуляторными участками других генов и управлять их транскрипцией. Эти ДНК-связывающие домены показывают гомологию с гомеодоменами белков, контролирующими развитие животных (детерминирующих разные участки эмбриона). У плодовой мушки нарушение работы таких белков приводит к явлению гомеозиса – замене одних органов на другие (отсюда название доменов – гомеодомены, а также генов – гомеозисные гены, в состав которых входят гомеобоксы, кодирующие гомеодомены). У растений при нарушении работы *KNOX*-генов класса 1 (далее – *KNOX1*) гомеозиса не наблюдается, поэтому эти гены называют не гомеозисными, а гомеобоксными. Функция *KNOX1*-генов лучше всего исследована у модельного растения из семейства крестоцветных *Arabidopsis thaliana*, у которого выявлено 5 основных генов (*WUS*, *STM*, *KNAT1,2,6*), играющих важную роль в создании и поддержании пула стволовых клеток и недетерминированности клеток АМ побега.

На периферии АМ, где будет развиваться будущий примордий листа (в инициальных клетках листового примордия) экспрессии *KNOX1*-генов у подавляющего большинства исследованных видов не наблюдается. Это связано с подавлением их транскрипции под действием двух основных факторов: 1) локальных

высоких концентраций ауксина, которые размечают положение листьев и через систему сигнальных белков влияют на экспрессию *KNOX1*-генов; 2) работой в этих участках негативных регуляторов *KNOX1*-генов (рис.1). Это высококонсервативные регуляторные гены, кодирующие транскрипционные белки с MYB-доменом, которые выявлены у многих видов покрытосеменных, а также немногих исследованных видов голосеменных и папоротников. У *Arabidopsis thaliana* это ген *ASYMMETRIC LEAVES1* (*ASI*), у кукурузы – *ROUGH SHEATH2* (*RS2*), у львиного зева – *PHANTASTICA* (*PHAN*), у табака – *NtPHAN*, у гороха – ген *CRISPA*. Наличие транскрипции этих генов и, одновременно, отсутствие в участках развития примордиев листа транскрипции их мишеней – *KNOX1*-генов – служат ранними маркерами инициации листовой меристемы и перехода клеток на детерминантный путь развития.

У всех исследованных мутантов или трансгенных растений с нарушением активности генов – ортологов *ASI/RS2/PHAN* – наблюдали повышение экспрессии *KNOX1*-генов и более или менее выраженное проявление эктопической пролиферации клеток. В пользу ортологичности генов свидетельствуют не только их высокая гомология, сходство фенотипа мутантов, участие генов в подавлении *KNOX1*-генов, но и способность *MYB*-гена одного вида компенсировать утрату функции ортолога другого вида [33 ; 19]. Участие ортологов в подавлении экспрессии *KNOX1*-генов, поддерживающих недерминантное состояние клеток, свидетельствует о консервативности генетических механизмов детерминации клеток листового примордия не только у видов с простым, но и у видов со сложным листом, представителем которых является горох.

Детальное изучение особенностей экспрессии гомеобоксных генов кукурузы в растениях мутанта *rs2* (растения с неактивным геном *RS2* – негативным регулятором гомеобоксных генов) показало, что в листьях мутанта экспрессия *KNOX1* генов возобновляется, что приводит к появлению эктопической меристематической активности в листе. В то же время обнаружено, что в некоторых листьях наряду с клонами¹ клеток, экспрессирующими гомеобоксные гены, наблюдали клоны, в которых их экспрессии не было [34]. Эти результаты явились первым свидетельством того, что регуляция экспрессии гомеобоксных генов осуществляется эпигенетическими механизмами, которые, в отличие от других механизмов регуляции экспрессии генов, способны передавать неактивное состояние генов через митотические (а иногда и через мейотические) деления. Это предположение было подтверждено обнаружением прямого взаимодействия продуктов *MYB*-генов резушки (*ASI*) и кукурузы (*RS2*) с другими белками, среди которых присутствует и белок HIRA, который, по данным исследований на дрожжах и на млекопитающих, участвует в изменении структуры хроматина [28; 17]. В белковый комплекс, вызывающий «замолкание» гомеобоксных генов, входит и РНК-связывающий белок RIK [28], что может указывать на участие малых РНК в эпигенетическом подавлении экспрессии *KNOX1*-генов. Отметим, что экспрессия гомеозисных генов животных также подавляется эпигенетически с участием белкового комплекса Pcb (Polycomb-repressive complex-1), который также включает РНК-связывающий белок, который, по-видимому, участвует в наведении белкового комплекса на гены-мишени [28].

Различия особенностей экспрессии KNOX1 и MYB-генов и их связь со структурой листа. Консервативность взаимодействия между ортологами *KNOX1*-генов и их негативными регуляторами, с одной стороны, и изменение особенностей экспрессии этих консервативных генов, с другой, может приводить к существенному изменению структуры листа, что продемонстрировано исследованиями паттернов экспрессии этих генов у видов с разной структурой листа (рис.1). У растений дикого

¹ Клон – совокупность клеток, имеющих общее происхождение от одной родительской клетки.

типа кукурузы, резушки, табака и львиного зева, имеющих простые цельные листья, экспрессия *KNOX1*-генов, выключенная в участках инициации примордиев листа, не возобновляется и на последующих стадиях его развития (рис.1, б) [32; 24; 25; 35]. У сердечника *Cardamine hirsuta* с рассеченными листьями экспрессия *KNOX1*-генов возобновляется в листовом примордии и обуславливает пролиферацию клеток, необходимую для возникновения лопастей в участках, которые маркируются экспрессией ортолога гена *AS1*. Показано, что различия в характере экспрессии ортологов гена *KNATI* в растениях *Arabidopsis thaliana* и *Cardamine hirsuta* обусловлены различиями в структуре регуляторных участков этих ортологических генов [19]. Выявленные различия могут затруднять или делать нестабильным связывание белкового комплекса с гомеобоксными генами, что делает возможным возобновление их экспрессии и открывает возможность для полимеризации листового примордия. 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 [14].

Возобновление экспрессии *KNOX1*-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) [7; 16]. Экспрессия *KNOX1*-генов обнаружена также в вайях папоротников [29]. Тот факт, что в рассеченных и сложных листьях экспрессируются *KNOX1*-гены, маркирующие недетерминированную АМ побега (рис.1, в), показывает, что оба типа листьев сохраняют некоторую побегоподобность.

KNOX1-гены экспрессируются в центральной зоне листа у видов с рассеченными листьями. Такая же картина наблюдается у мутантов с нарушением работы негативных регуляторов *KNOX1*-генов. В настоящее время кроме *MYB*-гена *AS1* у *A.thaliana* выявлены дополнительные негативные регуляторы гомеобоксных генов. Ген *AS2* кодирует белком семейства LOB, который образует гетеродимерный белковый комплекс с продуктом гена *AS1* [21; 31; 36], 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 *KNOX1*-генов *KNATI*, 2, 6 [9; 10; 30; 23]. Ортолог гена *AS2* (ген *indeterminate gametophyte1*) выявлен и у кукурузы [15]. Два новых регулятора были идентифицированы недавно – это гомологичные гены *BOP1*, 2 которые вместе с генами *AS1*, 2 участвуют в подавлении экспрессии генов *KNATI*, 2, 6 в листьях и принимают участие в регуляции развития проксимальной части листа [18; 26]. Идентифицированный в нашей лаборатории ген *TAENIATA* (*TAE*) подавляет не только экспрессию генов *KNATI*, *KNAT2*, *KNAT6*, но и гена *STM* [6]. Мутант *tae* образует на поверхности листьев листовые лопасти и листья с прилистниками (рис. 2, а, б), почки в пазухах этих дополнительных листочков (рис. 2, г) и целые розетки листьев (рис. 2, в), которые могут давать цветоносы (рис. 2, д).

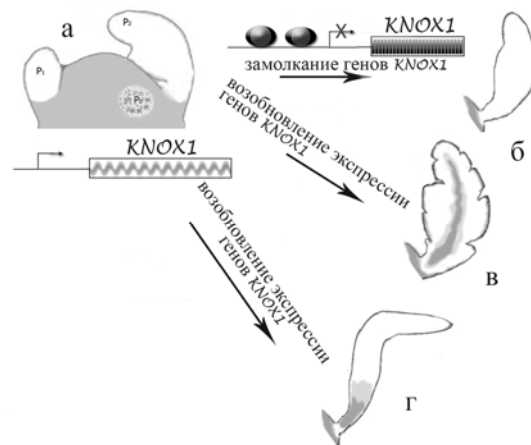


Рис. 1. Связь между временными и пространственными особенностями экспрессии гомеобоксных *KNOX1*-генов, уровнем детерминированности клеток листовой меристемы и морфологией листа:

а – схематическое изображение АМ побега, недетерминированное состояние которой поддерживается экспрессией *KNOX1*-генов (серый цвет); на периферии АМ локальные участки концентрации ауксина размечают положение будущих примордиев листьев (точки); экспрессия в примордиях будущего листа негативных регуляторов *KNOX1*-генов *AS1/RS2/PHAN* (белый цвет) обеспечивает подавление там транскрипции *KNOX1*-генов; **б** - связывание транскрипционных регуляторов - белков *AS1/RS2/PHAN* с двумя регуляторными областями *KNOX1*-генов и их взаимодействие с белками *AS2, HIRA, RIK* обеспечивает подавление транскрипции *KNOX1*-генов в листе за счет компактизации хроматина [28; 17]; стабильное эпигенетическое «молчание» *KNOX1*-генов приводит к развитию простого листа; **в** – возобновление экспрессии *KNOX1*-генов в примордии листа, возможное, например, из-за изменений в их регуляторных областях, как это показано для сердечника *C.hirsuta* [19], обеспечивает возможность полимеризации примордия и развития рассеченного или сложного листа; **г** - возобновление экспрессии *KNOX1*-генов в основании листа может приводить к его длительному росту

Использование репортерного гена *GUS* под контролем регуляторной области гена *KNAT1* (*KNAT1::GUS*) и ауксинчувствительного синтетического промотора (*DR5::GUS*) позволило показать, что в листьях мутанта *tae*, в отличие от листьев дикого типа (рис. 2, е), наблюдается одновременно накопление активного ауксина на периферии листа (рис. 2, ж) и экспрессия гена *KNAT1* в центральной области листа (рис. 2, з). Следовательно, в тканях листа мутанта *tae* протекают процессы, похожие на инициацию примордиев листьев апикальной меристемой, главными участниками которой являются гены *KNOX1* (экспрессируются в центре АМ) и локальные участки ауксина, размечающие положение листовых примордиев на периферии АМ (рис.1). Действуя в разных участках одной недетерминированной структуры (АМ или в листьях мутанта *tae* с нарушением детерминации) и осуществляя взаимную негативную регуляцию, эти важнейшие компоненты могут обуславливать развитие листьев (по бокам АМ в растениях дикого типа) или листоподобных структур (на листьях мутанта *tae*). В пазухах подобных структур у мутанта *Arabidopsis thaliana tae* формируются пазушные меристемы и побеги, что напоминает явление фоллиарной вивипарии, которое наблюдается у других видов крестоцветных – *Cardamine mathioli* и *C. pratensis* [1]. Обнаружение мутанта *tae* у *A.thaliana* с признаками вивипарии позволяет предполагать, что ген *TAE* мог участвовать в контроле этого признака у крестоцветных.

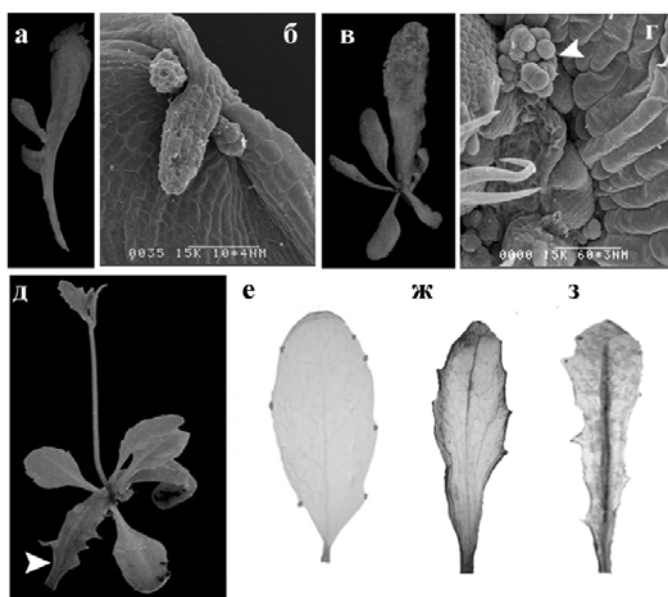


Рис. 2. Развитие дополнительных лопастей (а, б) и почек (в, г, д) на листьях мутанта *tae A.thaliana* связано с накоплением ауксина (ж) на периферии листьев и эктопической экспрессией гена *KNAT1* (з) в центре листа.

На рис. б и г представлены данные СЭМ, на рис. г стрелкой отмечена почка, на рисунке д – основание листа, на котором развился новый побег. Другие объяснения в тексте.

На морфологию листа влияет не только сам факт наличия/отсутствия экспрессии гомеобоксных генов в листе, но и пространственные особенности их экспрессии. Так, например, у голосеменного растения *Welwitschia mirabilis* с простыми листьями, растущими на протяжении всего онтогенеза растения, в раннем примордии, экспрессия *KNOX1*-генов не наблюдается (как и у большинства других видов растений), однако позже экспрессия обнаруживается в пролиферирующем основании листа (как показано на схеме на рис. 1, г). Следовательно, у этого вида *KNOX1*-гены, экспрессируясь в основании листа на протяжении всего онтогенеза растения, обеспечивают недетерминированный тип развития простого листа [27].

Экспрессия *KNOX1*-генов в листе, по-видимому, может обуславливать не только видовые особенности морфологии листа, но и внутривидовую вариацию морфологии листа. У резушки обнаружено большое количество природных рас (экотипов), которые отличаются друг от друга по размеру и форме простого листа. Раса *Blanes* (линия К-6 из коллекции кафедры генетики МГУ) отличается от других рас более продолжительным периодом роста листа и его длиной. Исследование экспрессии *KNOX1*-генов показало, что в зрелых листьях розетки у растений этой расы, в отличие от рас *Columbia* (линия К-8) и *Dijon* (К-1) наблюдается активная экспрессия генов *KNAT2, KNAT6* (рис. 3 а), которая сосредоточена в основном в области черешка и основания листа (рис. 3 б). Следовательно, возобновление в зрелом листе экспрессии *KNOX1*-генов, «замолкающих» в момент инициации развития листового примордия, может обуславливать особенности внутривидовой морфологической вариации структуры простого листа. Нарушение «эпигенетического

молчания» или его продолжительности может объясняться как изменениями регуляторных последовательностей гомеобоксных генов, так и полиморфизмом других генов, продукты которых входят в мультибелковый комплекс, вызывающий компактизацию хроматина и прекращение экспрессии *KNOX1*-генов, поддерживающих недетерминированное состояние меристем. Возможно, что вариации структуры листа, которые наблюдаются на одном и том же растении и зависят от стадии онтогенеза и внешних условий, также могут быть результатом изменения временных и пространственных параметров экспрессии *KNOX1*-генов.

Другие факторы, влияющие на морфогенез листа. Зависимость структуры листа от особенностей функционирования *KNOX1*-генов и их негативных регуляторов показана для большинства исследованных видов. Поскольку эти высококонсервативные гены являются «древними», они, возможно, участвовали на самых ранних этапах возникновения листа – в соответствии с теломной теорией они могли обусловить детерминацию недетерминированных участков теломов. Тем не менее, нельзя все многообразие строения листа свести только к этим генам. Во-первых, уже сегодня имеются данные, свидетельствующие о том, что в контроле детерминации и полимеризации примордия листа могут участвовать и другие генетические системы. Установлено, что на ранних этапах морфогенеза листа гороха гены *KNOX1* перестают экспрессироваться в примордии и дальнейшее развитие сложного листа контролируется геном *UNIFOLIATA (UNI)*, транскрипция которого регулируется ауксином [12]. Ген *UNI* является ортологом генов *LFY A.thaliana* и *FLO* львиного зева, контролирующих развитие флоральной меристемы, но в отличие от них одновременно контролирует морфогенез листа [20; 13]. У мутантов *uni* гороха вместо сложных листьев развиваются простые листья. Ортолог *LFY* и *FLO*-ген *FALSIFLORA* томата также не влияет на морфогенез сильно рассеченного листа у этого вида, предположительно возникшего сравнительно недавно в результате конвергентной эволюции из предковой формы с простым листом. Предполагается, что у предковых форм двудольных растений существовали две генетические системы, которые участвовали в полимеризации примордия и развитии сложного и рассеченного листа – *KNOX1* и *UNI/LFY/FLO*. У современных представителей в этих процессах работают либо обе системы (как это показано для калифорнийского мака *Eschscholzia californica*), либо одна из них утрачивает такую функцию [8; 16].

Во-вторых, на конечную структуру листа могут влиять гены, которые функционируют на более поздних этапах развития листа. Активность этих генов приводит к тому, что потенциально возможное за счет функционирования *KNOX1*-генов усложнение листа не реализуется. Так, примордий простого листа *Lepidium oleraceum* сначала имеет лопасти, характерные для рассеченных/сложных листьев, что связано с экспрессией *KNOX1*-генов. Однако на последующих стадиях онтогенеза происходит олигомеризация многолопастного примордия, приводящая к развитию простого листа. Следовательно, упрощение структуры листа *L.oleraceum* является вторичным, позднее приобретенным признаком [7]. Образование простых листьев из сложных зачатков путем олигомеризации наблюдается в сем. Rosaceae (у представителей подсем. Prunoideae [2]), в роде *Daucus* [11] 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*) [2]. Сложная зависимость между конечной структурой листа и начальными этапами его формирования говорит о том, что в основе эволюции разнообразных типов листа лежат процессы полимеризации и олигомеризации зачатка листа, которые могут сочетаться различными способами [3].

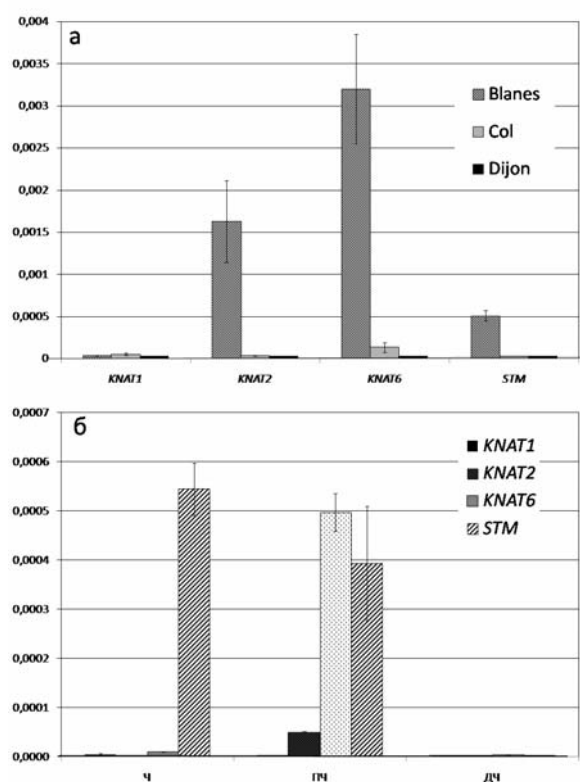


Рисунок 3. Сравнительный анализ экспрессии *KNOX1*-генов *KNAT1,2,6, STM* в зрелых листьях рас Blanes, Columbia и Dijon (а) и в разных частях расы Blanes (б) с использованием метода ПЦР в реальном времени

Сегодня генетики имеют информацию о генах, которые участвуют в полимеризации, т.е. заложении и развитии частей примордия (гены *KNOX1* и *UNI/LFY/FLO*), однако гены, которые включаются после формирования зачатка листа и вызывают слияние лопастей (олигомеризацию), пока не идентифицированы. Их идентификация будет возможна, если у видов, характеризующихся вторичной олигомеризацией сложного зачатка листа (типа *L. oleraceum*), будут найдены мутанты или природные вариации (подвиды, расы) со сложным/рассеченным листом.

Исследования поддержаны грантами РФФИ 07-04-01515-а, ФЦП НШ 4202.2008.4, программы РАН «Динамика генофондов растений, животных и человека».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Батыгина Т.Б., Брагина Е.А., Ересковский А.В., Островский А.Н. Живорождение у растений и животных: беспозвоночных и низших хордовых. СПб., 2006.
2. Гендельс Т.В. Формирование листьев древесных двудольных // Ботан. журн. 1988а. Т.73, № 4. С. 553 – 562.

3. Гендельс Т.В. Особенности морфогенеза листа двудольных // Ботан. журн. 1988б. Т.73, № 1. С. 1554 – 1559.
4. Ежова Т.А. Генетический контроль ранних этапов развития листа // Онтогенез. 2007. Т. 354, № 6. С. 839 – 842.
5. Тахтаджян А.Л. Вопросы эволюционной морфологии растений. Л., 1954.
6. 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.
7. Bharathan G., Goliber T.E., Moore C. et al. Homologies in leaf form inferred from *KNOX1* gene expression during development // *Science*. 2002. V. 296, P. 1858 – 1860.
8. 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, № 6. P. 841 – 848.
9. 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.
10. Byrne M. E., Simorowski J., Martienssen R. A. *ASYMMETRIC LEAVES1* reveals *knox* gene redundancy in *Arabidopsis* // *Development*. 2002. V.129. P.1957 – 1965.
11. Champagne, C. and Sinha, N., Compound Leaves: Equal to the Sum of Their Parts? // *Development*, 2004, V. 131. P. 4401 – 4412.
12. 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.
13. 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 // *J. Plant Sci*. 2001. V.162. P. 1033 – 1051.
14. Doebley J., Lukens L. Transcriptional Regulators and the Evolution of Plant Form // *Plant Cell*. 1998, V. 10. P. 1075 – 1082.
15. 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.
16. 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 Molecular Biology*. 2005. V.58 (3). P. 317 – 331.
17. Guo M., Thomas J., Collins G., Timmermans M.C.P. Direct Repression of *KNOX* Loci by the *ASYMMETRIC LEAVES1* Complex of *Arabidopsis* // *Plant Cell*. 2008. V. 20. P. 48 – 58.
18. 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.
19. Hay A., Tsiantis M. The genetic basis for differences in leaf form between *Arabidopsis thaliana* and its wild relative *Cardamine hirsute* // *Nature Genetics*. 2006. V. 38, № 8. P. 942 – 947.
20. Hofer J., Turner L., Hellens R. et al. *UNIFOLIATA* regulates leaf and flower morphogenesis in pea // *Curr. Biol*. 1997. V.7. P. 581 – 587.
21. 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.
22. Kidner C.A., Timmermans M.C.P., Byrne M.E., Martienssen R.A. Developmental genetics of the angiosperm leaf. In: *Advances in Botanical Research*, 2002, V. 38 P. 191 – 234.

23. 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 // Plant Cell. 2003. V.15. P. 2241 – 2252.
24. 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 // Plant Cell. 1994. V. 6. P.1859 – 1876.
25. Nishimura A., Tamaoki M., Matsuoka M. Expression pattern of KNI-type tobacco homeobox genes // Plant Cell Physiol. 1998. V. 39. S. 60.
26. 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.
27. Pham, T. and Sinha, N., Role of *Knox* Genes in Shoot Development of *Welwitschia mirabilis* // J. Plant Sci., 2003. V. 164. P. 333 –343.
28. Phelps-Durr T.L., Thomas J., Vahab P., Timmermans M.C.P. Maize ROUGH SHEATH2 and its *Arabidopsis* orthologue ASYMMETRIC LEAVES1 interact with HIRA, a predicted histone chaperone, to maintain *knox* gene silencing and determinacy during organogenesis // Plant Cell. 2005. V.17. P. 2886 – 2898.
29. 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 // Evolution and Development. 2005. V. 7. P. 69 – 78.
30. 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.
31. 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.
32. 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 // Development. 1992. V. 116. P. 21 – 30.
33. Theodoris G., Inada N., Freeling M. Conservation and molecular dissection of ROUGH SHEATH2 and ASYMMETRIC LEAVES1 function in leaf development // Proceedings of the National Academy of Sciences, USA . 2003. V. 100. P. 6837 – 6842.
34. 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 –1 53.
35. 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.
36. 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.

GENETIC AND EPIGENETIC REGULATION OF LEAF MORPHOGENESIS

T.A.Ezhova, H.T.Vu

Lomonosov Moscow State University, Moscow

The information on genetic regulation of leaf meristem determination is observed and the role of epigenetic silencing in maintaining of determinant state of leaf cells is noticed.

The connection between function of genes regulating different cell state (indeterminant or determinant) and leaf structure demonstrated.