

## РОЗВИТОК ЛИСТКА

З апікальної меристеми розвиваються всі типи пагонів. Базовою одиницею рослини служить модуль, що включає лист, міжвузля і пазушну бруньку, яка виникає в «гострому» куті. З пазушної бруньки формується лист і стебло. Вона потенційно може дати початок новій гілці або цілій рослині. Ця брунька активується, як правило, у разі загибелі основної меристеми пагони.

Активність вегетативних меристем пагонів призводить до збільшення числа однакових модулів (вузлів). Кожен модуль має певний ступінь автономності, модулі з'єднані один з одним основною тканиною.

Кожен модуль виникає як здуття певного розміру на апікальній меристемі, причому зовнішні умови можуть змінити форму здуття, не торкаючись всієї рослини. Здуття утворюються на відстані 1мм один від одного, до складу кожного здуття входить до 100 клітин. Такі здуття називаються листовими зачатками (*примордіями*), які виникають на фланзі ПАМ.

Положення листових зачатків визначає майбутнє розташування листя і називається **філотаксисом**. Найчастіше зустрічається спіральний філотаксис. Запропоновано модель, яка пояснює філотаксис, згідно з якою в кожному здуття виробляється дифузійна речовина «морфоген», яка пригнічує розвиток наступного здуття. Інтенсивність дії цієї речовини пропорційна його концентрації. Закладення нового вузла відбувається там, де концентрація морфогену, що поступово зменшується в міру віддалення від попереднього, досягає певного порогового рівня. Як морфогени можуть виступати певні фітогормони (основний - ауксин).

Розвиток листа можна поділити на три стадії:

### 1. Ініціація листкового примордія

Група клітин, яка ініціює розвиток листка, розташована відразу в трьох шарах апікальної меристеми (L1, L2 та L3). Кожен шар бере участь у формуванні певної тканини аркуша. Так, у дводомних рослин із клітин шару L1 формується епідерміс, а з L2 та L3 – внутрішні тканини. З клітин шару L3 формуються тканини, що вистилають внутрішню частину органів та жилки листа. У середньому у кожному шарі 5-10 клітин. Хоча кількість клітин, що формують лист, генетично детермінована. Наприклад, арабідопсис має мутацію *forever young (fey)*, що веде до формування більших листових зачатків. Це призводить до виснаження меристеми після формування кількох листків.

Сигналом початку специфікації клітин у сайті ініціації листа є припинення експресії меристем-специфічних генів **KNOX** та початок експресії генів **AINTEGUMENTA (ANT)**, які відповідають за проліферацію клітин листового примордія.

Репресія генів **KNOX** здійснюється за рахунок 1) прямої репресії за допомогою системи **AS1-AS2-HIRA** (ASYMMETRIC LEAF - це ТФ, а HIRA-фактор ремоделінгу хроматину з групи гістонових шаперонів, що викликає деацетилювання гістонів, пов'язаних з транскрипційно активними ділянками генома); 2) виникнення локусів високої концентрації ауксинів на периферії ПАМ.

У мутантів *As1* і *As2* та їх аналогів у кукурудзи (*rs2*) та лівового зіву (*phan-phantastica*) виявляються специфічні фенотипи: лотосоподібне листя, вузлики на межі листа та листової піхви та радіально симетричне листя без виражених листових пластинок.

Білки AS1 і AS2 утворюють гетеродимер, який безпосередньо зв'язується з двома консервативними сайтами в промоторах KNOX-генів, HIRA білок взаємодіє з AS1.

Ауксин-залежна стимуляція закладки листя пов'язана з трьома важливими функціями ауксинів: 1) стимуляція розтягування клітин за допомогою механізму «кислого росту» (ауксин активує роботу протонних pomp плазмалеми, в результаті закислюється простір між плазмалею та клітинною стінкою, що активує екпансини з клітинною стінкою, які сприяють руйнуванню водневих зв'язків між целюлозними фібрилами і розтягуванням клітини. Первинною мішенню дії

експансивів є клітини субпротодермального шару, які завдяки розтягуванню змінюють антиклінальний напрямок поділів на периклінальний, що призводить до формування горбка на листя периферії; 2) негативне регулювання *KNOX*-генів (здійснюється незалежно від системи *ASI-AS2-HIRA*); 3) обмеження зони експресії генів *ASI*, *AS2*, *ANT*.

Поява локальних максимумів концентрації ауксину пов'язані з зміною орієнтування полярного транспорту ауксину ПАТ залежить від зміни локалізації лежить на поверхні клітин білка PIN1. У ПАМ цей білок локалізований виключно у клітинах шарів L1 L2 на апікальному боці клітин. Завдяки такому його розташуванню полярний транспорт ауксину в ПАМ йде акропетально клітинами епідермісу. У сайтах ініціації листа білок PIN1 починає накопичуватися у внутрішніх шарах клітин, що відповідають центральній частині майбутнього примордія. Надалі зона його накопичення обмежується вузькою (2-3 клітини завширшки) ділянкою, що відповідає місцю закладки судинного пучка.

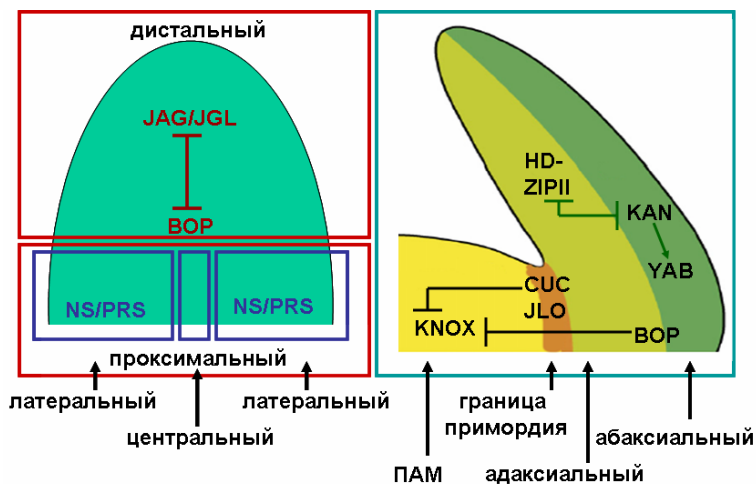
### Проліферація клітин листкового примордія.

Нормальний розвиток всіх похідних ПАМ, зокрема листя, залежить від гена *AINTEGUMENTA (ANT)*, який стимулює проліферацію клітин примордія. Продуктом цього гена є ТФ сімейства APETALA2. Мутації із втратою функції цього гена призводять до зменшення розміру листових пластинок та флоральних органів за рахунок зниження кількості клітин у них. Підвищення рівня активності цього гена збільшує розміри всіх латеральних органів за рахунок підтримки меристематичної активності клітин і продовження часу їх проліферації. Цей ефект досягається продовженням часу експресії генів, які відповідають за синтез циклінів, що контролюють клітинний цикл.

## 2. Визначення меж листкового примордія

Визначення меж обмежить примордій, що розвивається, від інших примордіїв і від ПАМ. У визначенні кордонів беруть участь дві групи генів: *LATERAL ORGAN BOUNDARY DOMAIN (LBD)* та гени *CUP-SHAPED COTYLEDON (CUC)*. Продуктами цих генів є ТФ, які стосуються різних груп. Передбачуваними мішенями цих ТФ є гени *KNOX* класу 1 (*STM*, *KNAT*) та гени *PINI*, активність якого пригнічується на межах примордій при одночасної активації у верхній частині примордія.

## 3. Контроль ідентичності доменів листка.



Починаючи з ранніх етапів розвитку, листовий примордій досить чітко розділяється на кілька доменів. Залежно від розташування можна виділити центральний та латеральний, адаксіальний та абаксіальний (верхній та нижній), проксимальний та дистальний домени (прилеглий до черешка та «кінчик»). Домени відрізняються за набором генів, що в них експресуються.

Ідентичність проксимального і дистального доменів листка знаходиться під контролем двох груп генів-антагоністів: гени

*BLADE ON PETIOLE1* та 2 (*BOP1* та *BOP2*) контролюють ідентичність проксимального домену, гени *JAGGED (JAG)* та *JAGGED-LIKE (JGL)* – ідентичність дистального домену. Продуктами генів *JAG* та *JGL* є ТФ, що стимулюють проліферацію клітин дистального домену, а продукти генів *BOP* - виконують функцію транскрипційних репресорів, пригнічуючи транскрипцію генів *KNOX* у листових примордіях. Гени *BOP1* та *JAG* негативно регулюють експресію один одного.

### Ідентичність латеральних доменів листка

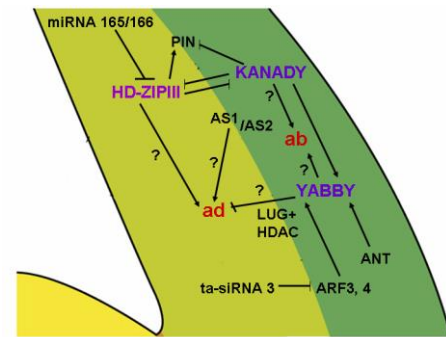
У межах проксимального домену листового примордія можна виділити два крайові латеральні домени і центральну жилку. Основними регуляторами розвитку латеральних доменів листа є ген *PRESSED FLOWER (PRS)*, продуктами якого є транскрипційний фактор сімейства *WOX*.

### Ідентичність адаксіального та абаксіального доменів листка.

Адаксіально-абаксіальна полярність листової пластинки залежить від антагоністичної взаємодії двох груп транскрипційних факторів: ідентичність адаксіального домену контролюють транскрипційні фактори сімейства HD-ZIPIII, ідентичність абаксіального домену - транскрипційні фактори KANADY та YABBY. Причому, один одного ці групи взаємно репресують.

Гени сімейства **HD-ZIPIII: PHAVOLUTA (PHV), PHABULOSA (PHB), REVOLUTA (REV)** – основні регулятори адаксіального домену аркуша. В абаксіальних доменах продукти експресії цих генів розщеплюються за допомогою мікроРНК.

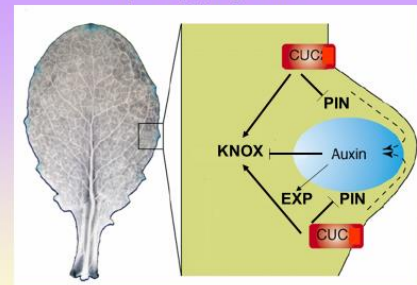
Гени сімейства **KANADY (KANI-KAN4)** позитивно регулюють гени **YABBY (FIL (FILAMENTOUS LEAF), YAB2 (YABBY), YAB3)**, які є їхньою прямою мішенню та основними регуляторами ідентичності адаксіального домену) і пригнічують експресію генів **HD-ZIPIII**.



### Розвиток розсіченого і складного листка

Велика різноманітність типів листа (цільнокрайній, зубчастий, розсічений, складний) визначається зміною структури краю листової пластинки, які мають у своїй основі один і той же механізм, багато в чому подібний до механізму ініціації листа на периферії ПАМ. Ключову роль у формуванні будь-яких виростів на краях листової пластинки грають два процеси: 1) відновлення експресії генів **KNOX** в декількох ділянках по краю листової пластинки і 2) створення цих ділянках локальних максимумів концентрації ауксину за рахунок зміни орієнтування ПАТ. Накопичення ауксину сприяє проліферації клітин листа за рахунок підвищення рівня експресії гена **ANT**, зростання клітин розтягуванням та диференціювання клітин у лопаті листа, зокрема розвитку судин. Крім того, важливу роль у розвитку зубчиків по краю листа відіграє баланс між мікроРНК та його мішенню, транскриптом гена **CUC2**, який відповідає за визначення межі листового примордя, а також за межі лопатей у межах складного листка.

При розвитку лопатей складного листка діють ті ж механізми, що при закладанні листових примордій у ПАМ



1. Відновлення експресії KNOX генів
2. Створення локального максимуму концентрації ауксину
3. Визначення межі
4. Визначення полярності

Негативним регулятором ускладнення листа є ген **CUC3**: підвищення рівня його експресії викликає злиття лопат складної листової пластинки.

Розвиток складного листа, що складається з декількох листових пластинок на одному черешку, залежить від роботи кількох груп генів. По-перше, це гени **KNOX**. По-друге, розвиток складного листа регулюється деякими генами ідентичності флоральної меристеми (**LFY / FLO**). По-третє, на морфологію складного листа впливають гени, що контролюють адаксіально-абаксіальну полярність листової пластинки – наприклад, ген **PHANTASTICA (PHAN)**, що стимулює ініціацію листа та диференціювання клітин адаксіальної сторони.

Відомі два основні типи складного листа: перистий і пальчастий, причому основна відмінність другого від першого полягає в редукції черешка між листковими пластинками. Вся справа в тому, що черешок складного листа є похідним адаксіального домену листового примордя – таким чином, обмеження зони експресії гена, що бере участь у контролі розвитку адаксіальної сторони, призводить до редукції черешка та формування пальчастого листа замість перистого.