

•综述•

# 植物叶缘形态的发育调控机理

柯锦秀 陈多 郭延平\*

(生物多样性与生态工程教育部重点实验室, 北京师范大学生命科学院, 北京 100875)

**摘要:** 生物多样性研究的关键问题之一是表型多样性的形成和演化机制, 因为表型多样性与物种多样性密切相关, 同时, 它又承载着遗传和环境的变异信息。植物的叶具有丰富的形态多样性, 而叶形多样性很大程度体现在叶边缘形态的变异。叶边缘的形态可从全缘、锯齿状到具有不同程度(深浅)和不同式样(羽状或掌状、回数等)的裂片(在发育研究中复叶的小叶也描述为裂片)。关于叶缘齿/裂的发育调控机制, 在拟南芥、碎米荠、番茄等模式植物中已有较深入的探讨。研究发现, 很多转录因子、小分子RNA及植物激素对叶齿/裂或小叶的形成具有调控作用, 其中生长素输出途径中的转录因子NAM/CUC、*miR164*以及高浓度生长素的反馈调控可能起到核心作用, 而且该调控模块在真双子叶植物中显现较为保守; TCP类、SPL类转录因子和其他一些miRNA也在生长素输出途径中发挥作用; 关于KNOX家族转录因子的作用, 虽然多数研究是围绕复叶的形态建成, 但也有数据显示其在叶裂发育中发挥作用; 此外, 对拟南芥和碎米荠等十字花科植物的研究还发现, 调控基因*RCO*通过抑制小叶/裂片之间的细胞增殖而对小叶/叶裂的发育发挥作用。本文综述上述多角度的研究进展, 并尝试概括叶边缘形态的发育调控网络, 为关于叶缘形态多样性形成机制的研究提供可参考的切入点。

**关键词:** 叶缘齿/裂; 形态发生; 演化-发育; 调控网络

## Designing leaf marginal shapes: regulatory mechanisms of leaf serration or dissection

Jinxu Ke, Duo Chen, Yanping Guo\*

Ministry of Education Key Laboratory for Biodiversity Science and Ecological Engineering, and College of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875

**Abstract:** The mechanism of formation and evolution of phenotypic diversity is one of the key problems in biodiversity science because phenotype diversity is not only a marker of species diversity, but carries the designs adjusted to environments. Plant leaves exhibit a great deal of morphological variation, and such variation is attributed largely to changes of leaf marginal architecture. Leaf marginal shapes can be described as entire, serrate, lobed (varying in depth and patterns) and dissected (also referred to as compound). The molecular mechanism controlling the development of leaf marginal shape has been intensively studied in *Arabidopsis*, *Cardamine*, *Solanum* and some other plants. Many important regulatory factors such as transcription factors, small RNAs and plant hormones have been found involved in the development of leaf serration or dissection. Among those factors, the transcription factor NAM/CUC, *miR164* and auxin in the auxin efflux module play a central role through a feedback loop, and this regulatory module appears to be conserved across the eudicots; the transcription factors TCPs, SPLs and some other miRNAs also take part in the auxin efflux pathway. Besides, KNOX also play roles in the development of leaf lobes although most of the researches about *KNOX* genes have focused on their regulation of the morphogenesis of compound leaves. In addition, studies in *Arabidopsis*, *Cardamine* and other taxa of the Brassicaceae have shown that the gene *RCO* promotes the development of leaf dissection by repressing growth at the flanks of protrusions generated by CUC-auxin patterning. The present paper reviews the recent progress and integrate the major results of researches about the molecular mechanisms that underlie leaf serration or dissection. We hope this may provide reference for unraveling the morphogenetic origin of the spectacular diversity of leaf marginal shapes.

收稿日期: 2018-04-26; 接受日期: 2018-06-17

基金项目: 国家自然科学基金(31570215)

\* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: guoyanping@ibcas.ac.cn

**Key words:** leaf serration/dissection; morphogenesis; evolutionary development; regulatory network

生物多样性研究的关键问题之一是表型多样性的形成和演化机制,因为表型多样性与物种多样性密切相关,同时又承载着环境的变异信息。植物的叶具有丰富的形态多样性,一个植物的叶形态不仅取决于其系统发生和遗传信息,也有生态因素的作用,因为叶片不仅是光合作用的重要场所,也是植物感知光、温、水等环境变化的重要器官。对被子植物而言,为了进一步适应不同的陆生环境、更有效地利用光能,植物在叶形方面发生了巨大的变化。可以说,叶的形态变异不仅是植物适应不同环境的具体体现,也是植物表型多样性的重要组成部分。早在18世纪,德国哲学家和诗人歌德(Johann Wolfgang von Goethe)就发现各种叶形的可变异性。他观察到一个植株上叶的形态转变,从而推测叶形的本质在于不断变化(转引自Chitwood & Sinha, 2014)。

叶边缘形态是叶形多样性的重要组成部分,主要有全缘、锯齿状、不同程度(深浅)和不同式样(羽状或掌状、回数等)的裂刻等。这些变异具有重要的生物学意义,如叶缘裂刻能调节叶面温度和水分流失,对干旱、高温等逆境胁迫表现出更强的适应性(Kidner & Umbreen, 2010; Siso et al, 2001);叶缘上分布的齿或裂刻赋予叶片空间延伸的可塑性,比全缘叶能更快速响应、竞争有限光源;此外,植物学家早已发现边缘锯齿状的叶能更好的适应低温,如高纬度或寒冷地区的植物更多拥有边缘锯齿状或较深齿裂的叶片(Ledford, 2018),因此叶齿/裂的深度可作为地球演化历史中陆地地块年平均气温的指示物(Wolfe, 1995)。

生物体表型的形成是大量基因表达(包括转录和翻译)的集合产物(Bonn & Furlong, 2008),这些基因共同构成复杂的调控网络(gene regulatory network, GRN),上、下游基因以及相关的小RNA 联结成通路(Carroll, 2008),通过表达的时空模式和/或表达水平的改变,影响着形态特征的发育和建成。关于叶边缘形态建成的发育调控机制,在拟南芥、碎米荠、烟草、番茄、苜蓿、豌豆等模式植物中已有大量的研究报告(Barkoulas et al, 2007; Blein et al, 2008, 2010; Efroni et al, 2010; Chitwood & Sinha,

2014; Bar & Ori, 2015)。叶是茎端分生组织(SAM)产生的第一类侧生器官,其发生和形态建成受茎顶端分生组织生长和分化的影响。*KNOX*类基因(*Class I KNOTTED1-like homeobox*)主要在茎端分生组织中表达,调控细胞的分裂和生长,决定叶原基的形成和复叶形态的发育,是迄今为止研究最多的与叶形成和发育密切相关的调控基因(Bar & Ori, 2015; Hay et al, 2006; Hay & Tsiantis, 2010)。叶原基起始后叶向两侧延展,叶缘形态随即建成。叶边缘形态多样性也是在复杂的基因调控网络作用下形成的,涉及众多的因子,如特异基因、转录因子、激素、小RNA等。本文综述此方面近20年的研究进展,概括叶片边缘形态发育的分子调控机理。

## 1 生长素输出(auxin efflux)调控途径

### 1.1 叶边缘锯齿发育的生长素调控模型

叶片的生长发育可分为三个部分重叠的连续过程,即:叶原基形成后的发育起始期、初级形态建成期(primary morphogenesis, PM)和次级形态建成期(secondary morphogenesis, SM)或分化期(differentiation)。在叶片的发育起始期,叶片细胞主要进行分裂,而在后两个时期,叶片细胞主要进行分化和生长(Dengler & Tsukaya, 2001; Bar & Ori, 2015)。在叶片的生长发育过程中,生长素作为最重要的植物激素之一,对叶片的形态建成起到了极大的调控作用。在植物体内,生长素的运输有极性和非极性两种方式,其中极性运输是一种主动运输,由形态学上端运至形态学下端,可以逆浓度梯度而行。这种极性运输通过相邻的细胞传递,是由定位在细胞膜上的输入载体AUX/LAX(AUXIN1/LIKE AUX1)家族蛋白和输出载体PIN(PIN-FORMED)家族蛋白协同作用的结果,在决定植物形态发育的过程中起着非常重要的作用(Benkova et al, 2003; Vandenbussche et al, 2010; Petrusek et al, 2006)。

围绕叶边缘齿(serration)或裂刻(dissection)的生长素调控途径,有关生长素输出途径中PIN蛋白及诸多调控因子的研究较为深入。研究表明,拟南芥的齿裂叶中,每个叶齿突出处都是生长素的高浓度汇聚点,这与PIN1蛋白在细胞膜上的极性定位有

关。*PIN1*的动态表达量数据显示,叶边缘的*PIN1*蛋白在表皮细胞中形成一个极性汇聚点,生长素的流动方向与*PIN1*在细胞中的极性定位方向一致,从而建立了生长素的最大积累,促使此处的叶齿形成。在*pin1*突变体中,生长素的梯度分布被打乱,沿着整个叶边缘均匀分布,叶缘裂刻消失,形成边缘光滑的全缘叶,说明依赖于*PIN1*的生长素浓度梯度分布决定了叶边缘裂刻的形成和分布(Benkova et al, 2003; Hay et al, 2006; Barkoulas et al, 2008; Bilborough et al, 2011)。

*PIN1*的极性定位受一类转录因子NAM (*CUC*)的调控。*NAM* (*NO APICAL MERISTEM*)首先在矮牵牛中发现,其作用主要是决定植物边缘器官和形态的建成(Souer et al, 1996)。拟南芥等十字花科植物中的*NAM*直系同源基因有两个,*CUC1*和*CUC2* (*CUP-SHAPED COTYLEDON1,2*),其突变体表现为两枚子叶融合为杯状,此外,相邻的花萼、雄蕊等边缘也相互融合(Aida et al, 1997)。*NAM* (*CUC1,2*)的旁系同源拷贝为*CUC3*,该基因在功能上与前者存在部分冗余(Vroemen et al, 2003; Hasson et al, 2011)。一系列实验研究表明,*CUC/NAM*转录因子对叶缘齿/裂的形成起着重要调控作用:拟南芥的*CUC2*和*CUC3*在叶齿之间凹陷处均有表达信号,*cuc2*突变体的叶片裂刻消失变为全缘,*cuc3*突变体的叶边缘裂齿程度有所降低;而*CUC1*对叶缘形态基本没有影响;*CUC2*的作用是在叶片发育早期决定齿的形成,而*CUC3*则是维持齿的生长(Nikovics et al, 2006; Kawamura et al, 2010; Bilborough et al, 2011; Hasson et al, 2011)。另外,在具有复叶的植物中,沉默*NAM/CUC*类基因对小叶的形成也有影响,其结果使碎米荠和番茄等的小叶融合、小叶数目和裂齿程度下降(Blein et al, 2008)。

关于*NAM/CUC*类基因对叶边缘形态发育的调控,实验数据结合计算机模拟形成了一个基本模型,即:叶齿(serration)是一个空间上特异分布的调控模块的形态学产物,该模块的核心是*CUC2*和生长素的最大作用位点沿发育中的叶边缘间隔分布。具体的调控模型如图1所示:*CUC2*的表达随叶的生长在叶边缘呈不连续分布,受其调控,*PIN1*蛋白在细胞中重新定位,将生长素以相对的方向逆浓度梯度运输到一个汇聚点,此处即长出叶齿;而逐渐积累的生长素又通过激活一类miRNA——*miR164*对

*CUC2*进行负调控。因此,*CUC2*和生长素之间形成一个反馈作用环,*CUC2*调控生长素的极性汇聚,而生长素的汇聚又抑制*CUC2*的表达,致使*CUC2*的活跃区与生长素的最大浓度区相互间隔,映射到表型上则是:叶齿突出部位是生长素的最大浓度区,而凹陷处是*CUC2*的活跃表达区。在此调控模块中,*CUC2*和*MIR164A*在共同区域表达,其作用呈动态平衡;生长素及其输出载体蛋白*PIN1*既是叶齿发育的直接作用者,又是调控因子间相互作用的介导者(Nikovics et al, 2006; Bilborough et al, 2011; Barkoulas et al, 2007; Bar & Ori, 2014)。

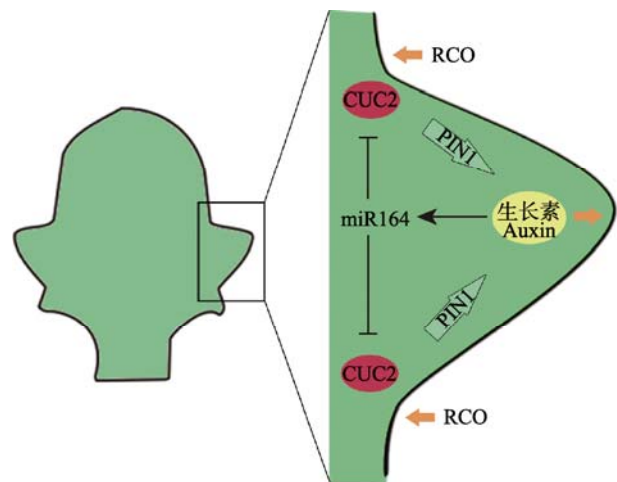


图1 叶缘锯齿发育的调控模型(本图为综合拟南芥和碎米荠中的研究、以Barkoulas等(2007)和Runions等Tsiantis(2017)两文中的图为模版修订而成)。该调控模型的核心是调控因子*CUC2* (红色)与生长素(黄色)之间的反馈作用环:*CUC2*指导*PIN1*蛋白在细胞中重新定位,将生长素从两个方向逆浓度梯度运到一个汇聚点;生长素的积累又反过来通过激活*miR164*抑制*CUC2*的表达。*CUC2*和*miR164*在共同区域活动,相互平衡,调控着生长素的极性运输,生长素促进叶齿的生长。另外,其他生长调节因子也参与修饰叶齿/裂的形态发育,比如:碎米荠等十字花科植物的*RCO*类基因抑制叶齿两侧细胞的生长,调控更多的齿/裂形态式样。

Fig. 1 A model for the molecular regulation of the development of leaf marginal serration according to studies on *Arabidopsis thaliana* and *Cardamine hirsute* (e.g. Barkoulas et al, 2007; Runions & Tsiantis, 2017). At the heart of the model is a feedback loop between *CUC2* and auxin activities. *CUC2* is required for *PIN1*-mediated auxin polar transport (hollow arrows); in turn, auxin activity maxima at the tip of the developing serration activates *miR164* which represses *CUC2* posttranscriptionally and generates an interspersed pattern of auxin maxima and *CUC* expression at the leaf margin. *MIR164* and *CUC2* are expressed in partially overlapping regions at the sinus of the serrations. Auxin enhances outgrowth of the serrations. There are additional growth regulators modulating leaf growth to shape the form of protrusions, for instance, *RCO* inhibits growth in indentations, producing more dissected forms.

## 1.2 真双子叶植物中NAM/CUC类基因对叶缘形态调控作用的保守性

Blein等(2008)比较研究了5个真双子叶植物中NAM (*CUC1/2*)和*CUC3*在叶边缘形态建成中的作用,发现该类基因具有调控单叶叶齿和复叶上小叶形成的双重作用,且这个作用在真双子叶植物中是保守的。研究表明,降低番茄植株叶片中NAM/CUC基因的表达后,小叶几乎融合(Berger et al, 2009),数目变少,小叶边缘变为全缘(Blein et al, 2008);碎米荠中减少NAM/CUC基因的表达后,小叶融合,小叶叶裂减少,小叶和托叶的数目减少(Blein et al, 2008);在豌豆的NAM/CUC基因缺失突变体中检测到这一基因的直接下游调控基因的表达量明显下降,同时叶形态发生异常(Blein et al, 2008);稷斗菜的NAM基因或*CUC3*基因被沉默后,小叶叶裂减少,而同时沉默NAM基因和*CUC3*基因后,小叶变为全缘(Blein et al, 2008)。此后在苜蓿(*Medicago truncatula*)中的研究也发现, *MtNAM*基因缺失突变体的叶片也发生小叶融合或边缘锯齿减少的现象(Cheng et al, 2012)。

Sha等(2018)首次在菊科植物中检测了NAM-like对于叶齿和羽状分裂的调控作用。菊科蓍属(*Achillea*)植物的叶缘形态具有丰富的多样性:齿叶蓍(*A. acuminata*)的叶缘为锯齿状;而亚洲蓍(*A. asiatica*)的叶则三回羽状全裂,裂片成细丝状。Sha等(2018)克隆出两种植物中的NAM-like基因——*AacNAM*和*AasNAM*,发现它们的表达时空模式有显著差异,即:在齿叶蓍中,*AacNAM*仅在叶边缘齿的相应位置表达,随着幼叶的生长表达量持续下降;而亚洲蓍中,*AasNAM*在幼叶边缘以及伸长的裂片边缘(对应二回裂片的位置)均有表达信号,且表达量随着幼叶的生长上下波动。进一步的分析发现两个物种的NAM-like在启动子区域存在一个较大片段(1210碱基)的缺失-插入变异,这可能意味着顺式调控元件的差异。该研究不仅支持了NAM (*CUC1/2*)在真双子叶植物中叶缘形态调控作用的保守性,也表明单回叶裂和多回叶裂的差异很可能与NAM-like的时空表达模式差异相关,即:多回裂片的发生可能是调控模块周期性运作的结果。

综上所述,在多个植物类群中均检测到*CUC/NAM*基因功能的缺失会导致叶边缘齿裂程度的降低,说明*CUC/NAM*对叶边缘形态发育的调控

作用在真双子叶植物中是保守的。

## 1.3 通过生长素输出途径影响叶缘形态发育的其他因子

植物miRNA负调控内源性靶基因,通过与靶基因转录物的部分或完全结合来识别和裂解这些转录物。在叶发育过程中,miRNAs与其靶向基因共同作用于生长素的输出通路,从而调控叶缘齿/裂的发育。研究表明,生长素最大积累瞬时诱导*MIR164*的表达,*miR164*通过对靶基因*CUC2*的转录后负调控来影响器官原基的边界建立。利用T-DNA插入方法获得的拟南芥*mir164*突变体,*MIR164*表达量降低导致*CUC2*表达量升高,叶片缺刻加深(Nikovics et al, 2006),而当*miR164*过表达时,*CUC2*表达降低,导致拟南芥叶变全缘、碎米荠小叶变少(Rubio-Somoza et al, 2014)。*CUC2*的旁系同源基因*CUC3*缺乏*miR164*的结合位点而不受其调控,但*CUC3*与*CUC2*之间存在相互作用,*CUC2*能促进*CUC3*活性,两者形成的异源二聚体在叶片发育过程中调节叶齿/裂的发育和叶缘复杂性的建成(Chitwood & Sinha, 2014; Rubio-Somoza et al, 2014)。

另一组能调控叶缘复杂性的转录因子是受*miR319*负调控的TCPs(TEOSINTE BRANCHED 1/CYCLOIDEA/PCF)家族成员。*MIR319A*和*MIR319B*单突变一定程度上抑制拟南芥叶缘齿裂的形成,双突变使得拟南芥叶变全缘(Koyama et al, 2017)。过表达*MIR319*,TCP水平降低,导致拟南芥叶齿增多、碎米荠小叶增多(Daniel et al, 2004; Palatnik et al, 2003)。Rubio-Somoza和他的团队将*miR164-CUC*与*miR319-TCP*两条miRNA调节通路在蛋白水平联系起来,表明TCP4能分别与*CUC2*和*CUC3*形成二聚体,从而阻止*CUC2-CUC3*二聚体的形成,导致叶齿/裂程度降低。其他研究者的相关研究也都表明,TCP类转录因子可负调控*CUC*类基因而发挥对叶边缘形态的调控作用(Palatnik et al, 2003; Daniel et al, 2004; Chitwood & Sinha, 2014; Rubio-Somoza et al, 2014; Koyama et al, 2017)。

此外,*miR156*在植物营养生长过程中发挥着关键性作用,且与叶缘形态发育紧密相关。拟南芥中,*miR156*的活性在植物叶发育过程中呈逐渐下降趋势;通过操纵*miR156*的活性能减慢或加快叶复杂性的获得(Rubio-Somoza et al, 2014)。*miR156*的作用是通过其靶向转录因子家族的SPLs (SQUAMOSA

PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE)而实现的。研究发现, SPL9能与TCP4形成二聚物, 因此减少TCP与CUC的结合, 间接调控叶边缘形态的复杂性。Rubio-Somoza等(2014)根据实验结果解释了叶发育过程中叶缘的变化: 叶发育早期幼嫩时, *miR156*水平较高, 抑制了SPL9的活性使之无法与TCPs结合, 从而更多的TCPs得以与CUCs结合, 阻止了CUC2-CUC3二聚体的形成, 也就阻碍了叶齿、小叶的形成; 随着叶龄增长, *miR156*水平下降, 导致SPL9水平上升, 大量与TCPs发生反应形成二聚体, 从而抑制了后者与CUC2或CUC3的结合, 更多的CUC2-CUC3二聚体促进了叶齿或小叶数目的增多。基于这一研究结果, Chitwood和Sinha (2014)解释了植株个体发育过程中叶异型性(heteroblasty)的*miR156*-SPL9调控原理。

上述调控模块中的TCP转录因子的活性又受到TIE1(TCP INTERACTOR-CONTAINING EAR MOTIF PROTEIN1)转录抑制因子的作用: 在叶缘形态发育中TIE1能招募共抑制因子TOPLESS(TPL)/TOPLESS-RELATED (TPR)在蛋白水平上抑制TCP的活性, 因此, 过表达*TIE1*能引起叶边缘裂刻的加剧(Tao et al, 2013); 而TIE1又与TEAR1(TIE1-ASSOCIATED RING-TYPE E3 LIGASE1)有相互作用, *TEAR1*及其同源基因发生突变可引起叶片边缘锯齿增多(Zhang et al, 2017)。秦跟基课题组根据其实验结果提出一种新的精确调控TCP活性的叶缘形态发育调控机制: TIE1招募TPL/TPRs共同抑制TCP的活性, 而TEAR1通过介导TIE1的降解来解除TIE1对TCP的抑制, 从而正调控TCP的活性(Tao et al, 2013; Zhang et al, 2017)。可见, TIE1和TEAR1通过对TCP的调控而间接影响了叶缘的形态发育。

## 2 生长素输入(auxin influx)途径的调控因子

生长素输入载体蛋白AUX1/LAX家族成员对于稳定由PIN输出载体蛋白主导的生长素极性运输具有重要作用。研究发现, AUX1/LAX和PIN家族的基因在顶端分生组织中都有表达, 叶原基的形成主要依赖PIN的活性, 但也有AUX1的作用(Kramer, 2004; Heisler & Jonsson, 2006)。AUX1/LAX在叶原基中也有表达, 对叶缘的形态发育有一定的作用(Bilsborough et al, 2011)。AUX1/LAX1/LAX2三种AUX1/LAX家族基因在拟南芥早期叶发育过程中有

明显的特异表达模式(LAX1在叶尖端表达并随着叶的生长在叶缘齿裂的位置表达、LAX2随叶生长逐渐局限于叶脉部位表达、AUX1在分生组织表面以及沿着新长出的叶原基边缘表达), 当AUX1/LAX1/LAX2同时突变时, 叶边缘锯齿会减小, 但双突变或单突变对叶缘均无明显影响(Kasprzewska et al, 2015)。

## 3 生长素途经中与叶缘形态相关的其他蛋白或调控因子

植物中一种名为EPFL2 (EPIDERMAL PATTERNING FACTOR-LIKE)的肽和ERECTA (ER)家族成员也参与叶边缘锯齿的形态发生过程(Tameshige et al, 2016)。当拟南芥中的EPFL2或ER发生突变时, 叶片边缘会变得圆滑, 并检测到生长素在整个叶缘区分布 (在具有齿的野生型叶片中, 叶边缘的生长素只在齿的位置累积)。EPFL2与ERECTA形成配体-受体对(pairs)抑制生长素在叶齿处的响应, 而生长素又反过来抑制EPFL2的表达, 形成负反馈环。该反馈系统在叶缘生长过程中维持着生长素的响应式样 (Tameshige et al, 2016)。

另外, 目前的研究表明, JAGGED (JAG)、JAGGED LATERAL ORGANS (JLO)、Trifoliolate (Tf)等也能通过生长素途径发挥叶边缘形态发育的调控作用; 同时它们还能影响KNOX调控通路, 这将在下面的段落讨论。

## 4 KNOX家族基因调控途径

### 4.1 KNOX家族基因对叶缘形态发育的调控作用

KNOX属于KNOTTED1-LIKE HOMEODOMAIN (KNOX)基因家族(Vollbrecht et al, 1991), 在拟南芥中有4个成员: SHOOT MERISTEMLESS (STM), KNAT1 (又称BREVIPEDICELLUS, BP), KNAT2以及KNAT6 (Hake et al, 2004)。番茄中的*kn2* (*Tkn2*)和*Tkn1*以及玉米中的*Knotted1* (*kn1*)也为KNOX家族的成员(Hay & Tsiantis, 2010)。

KNOX家族成员在植物顶端分生组织中表达, 其调控作用对叶和花的发生、发育都是必不可少且是保守的(Bharathan et al, 2002; Piazza et al, 2010)。KNOX基因在叶原基形成的起始时期表达下调或没有表达, 但随后在叶片发育过程中其表达存在物种特异性, 这与叶缘形态的多样性有关(Piazza et al,

2010)。在绝大多数双子叶植物中, *KNOX*的表达活性与叶缘的复杂性高度相关, 在很多具羽状复叶或叶缘有裂刻的物种中可检测到*KNOX*在叶片中表达 (Bharathan et al, 2002; Piazza et al, 2010), 如在碎米荠、番茄的复叶里, *KNOX*基因在叶片发育过程中有表达。拟南芥中存在全缘叶的植株类型, Piazza等 (2010)在用15个基因位点的DNA序列信息对拟南芥属及十字花科其它支系的物种进行系统发生分析基础上, 推断拟南芥中的齿裂叶为祖征, 全缘叶为衍生, 而齿裂的消失与叶片中*STM* (*KNOX*家族成员)的表达缺失有关, 因为在其他叶缘分裂的物种的发育叶片中均检测到*STM*的表达, 且敲减其表达后叶裂消失; 进一步的分析显示该表达缺失可能与*STM*启动子区域序列的变异有关 (Piazza et al, 2010)。另外, 在叶片中异常表达*KNOX*基因可引起叶缘形态的强烈反应: 过表达*KNOX*基因时, 拟南芥、烟草以及番茄的*La*突变体(为单叶)出现增多的叶裂; 降低碎米荠中*STM*的表达时, 小叶发育被严重抑制, 甚至形成单叶, 而过表达*KNOX*则引起小叶增加 (Hay & Tsiantis, 2006; Shani et al, 2009; Efroni et al, 2010); 在野生番茄叶中过表达玉米的*KN1*, 产生超级复叶, 小叶数目剧增 (Hareven et al, 1996; Efroni et al, 2010)。可见, 无论是小叶还是叶缘裂刻的发育都受到*KNOX*家族基因的调控, 其作用机制可能是*KNOX*通过负调控赤霉素的生物合成基因或促进细胞分裂素的生物合成而改变激素之间的平衡, 从而控制叶缘形态的发育 (Efroni et al, 2010; Moon & Hake, 2011)。然而也有研究表明, 具多裂叶的豆类植物 (legumes) 叶片上并没有*KNOX*基因的表达 (Piazza et al, 2010)。

#### 4.2 通过*KNOX*途径影响叶缘形态发育的其他因子

*KNOX*的时空表达受多个不同调控途径因子的影响, 很多因子并不直接影响叶缘形态的发育, 但由于其能直接或间接促进或抑制*KNOX*基因, 因此也导致了叶缘形态的变化。Hui et al (2012)对于这些调控因子的作用已作了详细综述, 本文仅作概述和补充。

*KNOX*类基因的表达受*ARP*基因(名称源于拟南芥的 *ASYMMETRIC LEAVES1* (*AS1*), 玉米的 *ROUGH SHEATH2* (*RS2*)和金鱼草的 *PHANTASTICA*)的抑制。这类基因编码MYB转录因子, 在形成侧生器官的细胞中表达并抑制*KNOX*的活性。拟南芥中,

突变体*as1*的叶缘产生裂刻, 叶原基中*KNOX*类基因 (*BP*, *KNAT2*, *KNAT6*)表达普遍上调 (Byrne et al, 2002)。AS1的这个作用机制是它与AS2形成二聚体复合物直接结合到*KNOX*的启动子区域, 共同抑制*KNOX*基因在器官原基中的表达 (Moon & Hake, 2011; Byrne, 2005; Bar & Ori, 2015)。

BLADE ON PETIOLE1 (*BOP1*)和*BOP2*属于BTB蛋白家族, 两者能形成二聚物, 发挥转录激活因子的功能。*BOP1*和*BOP2*在侧生器官基部表达, 在叶基部表达的*BOP*能直接正调控*AS2*, 抑制该区域*KNOX*基因的表达 (Jun et al, 2010)。*bop1*和*bop2*双突体的叶片变大, 在叶柄处长出叶齿、叶翅等 (Ha et al, 2003, 2010; Norberg et al, 2005)。因此, *BOP*通过抑制叶基部和叶柄处*KNOX*的表达来保证正常的叶片形态建成 (Wang et al, 2015; Ha et al, 2010)。

*JAGGED LATERAL ORGANS* (*JLO*)被认为是拟南芥中器官边界建立的“调节器” (Wang et al, 2015), 属于*LATERAL ORGAN BOUNDARY DOMAIN* (*LBD*)基因家族成员, 在分生组织和器官原基的边界特异表达。*JLO*能诱导叶片中*KNOX*家族*STM*和*KNAT1*的表达, 并抑制*PIN*的基因表达, 当*JLO*在拟南芥叶片异位表达时可产生深裂、叶柄减短的叶片 (Borghi et al, 2007)。

*JAGGED* (*JAG*)编码具有C2H2锌指结构的转录因子。*JAG*功能缺失能引起拟南芥的叶产生叶裂; 番茄中的*JAG*同源基因是*LYRATE* (*LYR*), *lyr*突变株产生更多小叶, 而*LYR*的过表达则引起小叶融合。可见, *JAG/LYR*可能通过与*KNOX*以及生长素途径中的因子相互作用, 共同参与叶裂深度和小叶数目的调控 (David-Schwartz et al, 2009; Bar & Ori, 2014; Dinnyen et al, 2004)。

*SAWTOOTH*属于*BEL1-LIKE HOMEODOMAIN* (*BLH*)蛋白家族成员。*SAWTOOTH1* (*BLH2/SAW1*)和*SAWTOOTH2* (*BLH4/SAW2*)在侧生器官中表达, 可负调控*KNOX*家族基因*BP*的表达。*saw1*或*saw2*的单突变不引起明显的表型变化, 但*saw1*和*saw2*双突变体可使拟南芥叶片齿裂加深, 叶边缘外卷。在*as1*突变植株中过表达*SAW1*, 可抑制*as1*对叶表型的影响和*BP*在叶片上的表达。可见, *BLH2/SAW1*和*BLH4/SAW2*通过抑制一个或多个*KNOX*基因的表达参与叶缘形态的建成 (Kumar et al, 2007)。

另外, *Trifoliate* (*Tf*)编码一个在拟南芥中与

LOF1和LOF2蛋白相关的MYB-like转录因子,它在叶缘和叶腋表达。在番茄植株的个体发育过程中,早期叶原基中TF表达水平增加,促进了叶缘形态的复杂性;*tf*突变体的叶片明显简化,叶齿和叶裂减少。研究表明,TF能影响叶基部原基中KNOX的活性,并且,植物生长素需要TF的活性才能启动小叶形成。所以TF可能通过调控KNOX以及生长素活性来影响叶缘形态发育(Naz et al, 2013)。

### 5 其他因子的调控途径

REDUCED COMPLEXITY (RCO)起源于一个祖先基因的重复事件,即LMII (LATE MERISTEM IDENTITY 1)-like基因在十字花科的系统发育早期(*Aethionema*属分化之后)发生的一次基因复制事件。此次重复产生了LMII-type和RCO-type两个拷贝,在碎米荠(*C. hirsute*)和琴叶拟南芥(*A. lyrata*)等植物中,存在两个RCO-type基因(源于RCO-type的再次重复),但是拟南芥(*A. thaliana*)的基因组中却不存在RCO-type的序列(Vlad et al, 2014)。在碎米荠中RCO仅活跃在生长的叶片中,对于叶缘形状发育有重要的影响。研究人员在比较研究了碎米荠的全裂叶与拟南芥的浅齿叶后发现,碎米荠复杂的叶片形状可归因于RCO-type基因:当RCO基因的功能被敲除时,碎米荠的叶不再产生小裂片;而将RCO转入

拟南芥后,其近圆形单叶则发育为深裂叶。形态上,只有单个祖先拷贝LMII-like的*Aethionema arabicum*与拟南芥一样也具有单叶,因此研究人员根据系统发生分析及基因的功能分析推测,具有复叶的碎米荠等是因为拥有发生了新功能化的RCO-type基因,而RCO-type在拟南芥的演化过程中丢失,导致拟南芥在形态上发生了返祖现象,其叶片变成边缘具浅状齿的单叶(Vlad et al, 2014)。另外,比较芥属中具不同叶裂水平的物种发现,RCO的旁系同源基因也可能参与了十字花科植物叶形多样性的形成(Bar & Ori, 2014)。

RCO调控叶裂的机制在于能确保小叶/裂片形成位置之间的叶边缘区域细胞的增殖和生长受到阻遏,其功能仅限于对叶缘部分区域的生长起抑制作用,在碎米荠中,RCO基因缺失并不会产生除叶形变化以外的任何其他可见变化(Vlad et al, 2014)。另外,在十字花科中,RCO并没有对生长素的运输产生影响(Vlad et al, 2014),但它能在CUC-auxin调控模块的基础上抑制叶齿两侧细胞的生长,从而改变齿裂的深度,产生更多的齿裂形态式样(Runions & Tsiantis, 2017) (图1)。

综合上述叶边缘形态发育调控方面的研究进展,概括其调控网络如图2所示。

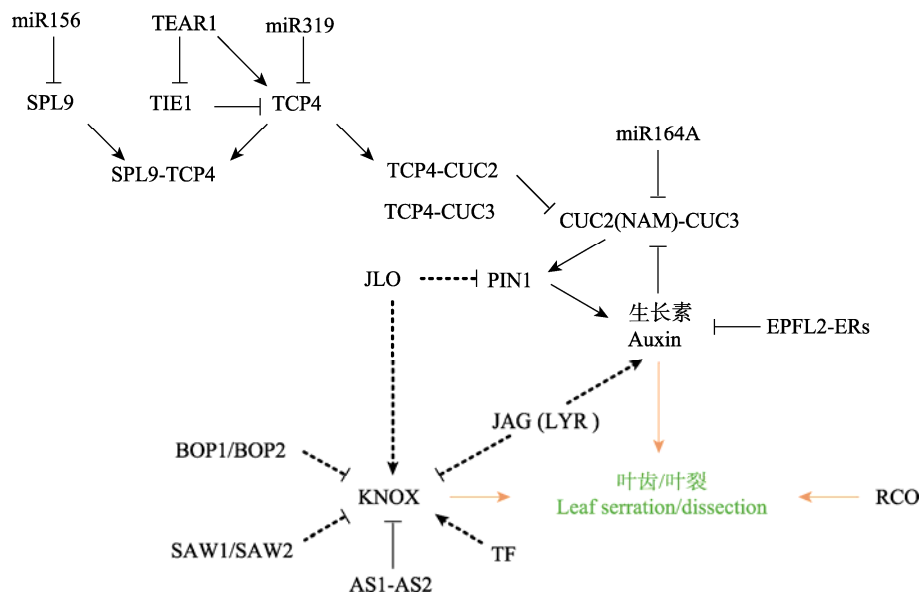


图2 叶边缘形态发育调控网络图, 示各因子间的相互作用。实线表示已有大量研究清晰阐明的相互作用; 虚线则表示相关研究报道较少, 尚不太明确的相互作用; 橙色箭头表示促进叶齿/裂表型的形成。

Fig. 2 The molecular regulating network underlining the development leaf serration/dissection. The solid lines indicate the relatively clear interactions between molecules, while the dotted lines suggest unsure interactions reported by a few studies.

## 6 展望

植物叶的发育是一个非常有趣的过程。首先,叶发育的过程具有很强的可塑性,不同的环境决定着不同的叶片大小和形态;而另一方面,植物叶片的发育又遵循着一个基本模式,是一个比较保守的有序过程。叶边缘发育是叶形态建成的最后步骤(Tang et al, 2016),很大程度决定了植物叶形的复杂性。

近年来的研究成果揭示了叶缘的形态发育受多种调控因素的复杂调控,如转录因子、小分子RNA及植物激素等,其中围绕生长素输出(auxin efflux)途径中的一些重要因子,如CUC、TCP、SPL以及miRNAs等的研究最多,也最为深入和成熟,这些因子之间的相互作用关系也越来越清晰。但从进化的角度来看,推动叶边缘或叶形变异的因素是什么?又是什么因素使得叶形的改变能长时间保持并在一个种群中被固定下来?利用RNA-seq, Ostria等(2016)发现光照能调节NAC家族基因的表达水平从而调节叶边缘复杂性。目前的研究表明,作用于TCP活性的miR156/SPL通路对光照强度很敏感,从而影响CUC与TCP通路之间的相互反应(Chitwood & Sinha, 2016)(见前述),这从另一个角度说明了这几个因子在叶边缘形态方面重要的调控作用。

随着研究的深入,越来越多的调控因子被发现与叶边缘发育相关,但它们在复杂调控网络中的作用机制仍不清楚。要阐明叶缘形态的多样性与其复杂易变的调控网络之间的联系,还有很多难题有待解决。

从进化和系统发育的角度看,植物类群形态的多样性主要源于相关的发育调控因子的作用或网络的演变。然而,关于叶发育调控机制和网络的演化,人们的认识还十分有限,尚需以大量非模式植物为材料进行比较发育生物学研究。此外,为了解影响叶缘形态变异的环境因子,需要综合生态、遗传发育和进化生物学的研究方法,即所谓Eco-Evo-Devo,探求自然居群和同质种植条件下叶形的变异。随着分子生物学技术和生物信息学方法的发展,人们有机会获取越来越多的信息,期待着Eco-Evo-Devo这个新的综合不断揭开生物表型多样性形成和演化的神秘面纱。

## 参考文献

- Aida M, Ishida T, Fukaki H, Fujisawa H, Tasaka M (1997) Genes involved in organ separation in *Arabidopsis*: An analysis of the *cup-shaped cotyledon* mutant. *The Plant Cell*, 9, 841–857.
- Bar M, Ori N (2014) Leaf development and morphogenesis. *Development*, 141, 4219–4230.
- Bar M, Ori N (2015) Compound leaf development in model plant species. *Current Opinion in Plant Biology*, 23, 61–69.
- Barkoulas M, Galinha C, Grigg SP, Tsiantis M (2007) From genes to shape: Regulatory interactions in leaf development. *Current Opinion in Plant Biology*, 10, 660–666.
- Barkoulas M, Hay A, Kougioumoutzi E, Tsiantis M (2008) A developmental framework for dissected leaf formation in the *Arabidopsis* relative *Cardamine hirsuta*. *Nature Genetics*, 40, 1136–1141.
- Benkova E, Michniewicz M, Sauer M, Teichmann T, Seifertova D, Jurgens G, Friml J (2003) Local, efflux-dependent auxin gradients as a common module for plant organ formation. *Cell*, 115, 591–602.
- Berger Y, Harpaz-Saad S, Brand A, Melnik H, Sirding N, Alvarez JP, Zinder M, Samach A, Eshed Y, Ori N (2009) The NAC-domain transcription factor GOBLET specifies leaflet boundaries in compound tomato leaves. *Development*, 136, 823–832.
- Bharathan G, Goliber TE, Moore C, Kessler S, Pham T, Sinha NR (2002) Homologies in leaf form inferred from *KNOX* gene expression during development. *Science*, 296, 1858–1860.
- Bilborough GD, Runions A, Barkoulas M, Jenkins HW, Hasson A, Galinha C, Laufs P, Hay A, Prusinkiewicz P, Tsiantis M (2011) Model for the regulation of *Arabidopsis thaliana* leaf margin development. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 108, 3424–3429.
- Blein T, Hasson A, Laufs P (2010) Leaf development: What it needs to be complex. *Current Opinion in Plant Biology*, 13, 75–82.
- Blein T, Pulido A, Vialette-Guiraud A, Nikovics K, Morin H, Hay A, Johansen IE, Tsiantis M, Laufs P (2008) A conserved molecular framework for compound leaf development. *Science*, 322, 1835–1839.
- Bonn S, Furlong E (2008) *cis*-Regulatory networks during development: A view of *Drosophila*. *Current Opinion in Genetics and Development*, 18, 513–520.
- Borghi L, Bureau M, Simon R (2007) *Arabidopsis JAGGED LATERAL ORGANS* is expressed in boundaries and coordinates *KNOX* and *PIN* activity. *The Plant Cell*, 19, 1795–1808.
- Byrne ME (2005) Shoot development-genetic interactions in the meristem. *Biochemical Society Transactions*, 33, 1499–1501.
- Byrne ME, Simorowski J, Martienssen RA (2002) *ASYMMET-*



- RIC LEAVES1* reveals *KNOX* gene redundancy in *Arabidopsis*. *Development*, 129, 1957–1965.
- Carroll S (2008) Evo-devo and an expanding evolutionary synthesis: A genetic theory of morphological evolution. *Cell*, 134, 25–36.
- Cheng X, Peng J, Ma J, Tang Y, Chen R, Mysore KS, Wen J (2012) *NO APICAL MERISTEM (MtNAM)* regulates floral organ identity and lateral organ separation in *Medicago truncatula*. *New Phytologist*, 195, 71–84.
- Chitwood DH, Sinha NR (2014) Plant development: Small RNAs and the metamorphosis of leaves. *Current Biology*, 24, R1087–R1089.
- Chitwood DH, Sinha NR (2016) Evolutionary and environmental forces sculpting leaf development. *Current Biology*, 26, R297–R306.
- Daniel H, Chitwood, Neelima R, Sinha (2004) Small RNAs and the Metamorphosis of Leaves. *Current Biology*, 22, 1087–1089.
- David-Schwartz R, Koenig D, Sinha NR (2009) *LYRATE* is a key regulator of leaflet initiation and lamina outgrowth in tomato. *The Plant Cell*, 21, 3093–3104.
- Dengler NG, Tsukaya H (2001) Leaf morphogenesis in dicotyledons: current issues. *International Journal of Plant Sciences*, 162(3), 459–464.
- Dinneny JR, Yadegari R, Fiseher RL, Yanofsky MF, Weigel D (2004) The role of *JAGGED* in shaping lateral organs. *Development*, 131, 1101–1110.
- Efroni I, Eshed Y, Lifschitz E (2010) Morphogenesis of simple and compound leaves: A critical review. *The Plant Cell*, 22, 1019–1032.
- Ha CM, Jun JH, Fletcher JC (2010) Control of *Arabidopsis* leaf morphogenesis through regulation of the *YABBY* and *KNOX* families of transcription factors. *Genetics*, 186, 197–206.
- Ha CM, Kim GT, Kim BC, Jun JH, Soh MS, Ueno Y, Maehida Y, Tsukaya H, Nam HG (2003) The *BLADE-ON-PETIOLE 1* gene controls leaf pattern formation through the modulation of meristematic activity in *Arabidopsis*. *Development*, 130, 161–172.
- Hake S, Smith HMS, Holtan H, Magnani E, Mele G, Ramirez J (2004) The role of *KNOX* genes in plant development. *Annual Review of Cell Developmental Biology*, 20, 125–151.
- Hareven D, Gutfinger T, Parnis A, Eshed Y, Lifschitz E (1996) The making of a compound leaf: Genetic manipulation of leaf architecture in tomato. *Cell*, 84, 735–744.
- Hasson A, Plessis A, Blein T, Adroher B, Grigg S, Tsiantis M, Boudaoud A, Damerval C, Laufs P (2011) Evolution and diverse roles of the *CUP-SHAPEDCOTYLEDON* genes in *Arabidopsis* leaf development. *The Plant Cell*, 23, 54–68.
- Hay A, Tsiantis M (2006) The genetic basis for differences in leaf form between *Arabidopsis thaliana* and its wild relative *Cardamine hirsuta*. *Nature Genetics*, 38, 942–947.
- Hay A, Barkoulas M, Tsiantis M (2006) *ASYMMETRIC LEAVES1* and auxin activities converge to repress *BREVIPEDICELLUS* expression and promote leaf development in *Arabidopsis*. *Development*, 133, 3955–3961.
- Hay A, Tsiantis M (2010) *KNOX* genes: Versatile regulators of plant development and diversity. *Development*, 137, 3153–3165.
- Heisler MG, Jonsson H (2006) Modeling auxin transport and plant development. *Journal of Plant Growth Regulation*, 25, 302–312.
- Hui MX, Zhang LG, Zhang MK (2012) Research progress on the molecular mechanism of leaf margins. *Proceedings of the 14th Symposium of the Crucifers Subdivision of the Chinese Society for Horticultural Science*, 52–59 (in Chinese). [惠麦霞, 张鲁刚, 张明科 (2012) 植物叶缘发育分子机理研究进展. 中国园艺学会十字花科分会第十四届学术研讨会论文集, 52–59页.]
- Jun JH, Ha CM, Fletcher JC (2010) *BLADE-ON-PETIOLE1* coordinates organ determinacy and axial polarity in *Arabidopsis* by directly activating *ASYMMETRIC LEAVES2*. *Plant Cell*, 22, 62–76.
- Kasprzewska A, Carter R, Swarup R, Bennett M, Monk N, Hobbs JK, Fleming A (2015) Auxin influx importers modulate serration along the leaf margin. *The Plant Journal*, 83, 705–718.
- Kawamura E, Horiguchi G, Tsukaya H (2010) Mechanisms of leaf tooth formation in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 62, 429–441.
- Kidner CA, Umbreen SU (2010) Why is leaf shape so variable. *International Journal of Plant Developmental Biology*, 4 (Special Issue 1), 64–75.
- Koyama T, Sato F, Ohme-Takagi M (2017) Roles of miR319 and TCP transcription factors in leaf development. *Plant Physiology*, 175, 874–885.
- Kramer EM (2004) PIN and AUX/LAX proteins: Their role in auxin accumulation. *Trends in Plant Science*, 9, 578–582.
- Kumar R, Kushalappa K, Godt D, Pidkowich MS, Pastorelli S, HePworth SR, Haughn GW (2007) The *Arabidopsis* BEL1-LIKE HOMEODOMAIN proteins SAW1 and SAW2 act redundantly to regulate *KNOX* expression spatially in leaf margins. *The Plant Cell*, 19, 2719–2735.
- Ledford H (2018) The lost art of looking at plants. *Nature*, 553 (7689), 396–398.
- Moon J, Hake S (2011) How a leaf gets its shape. *Current Opinion in Plant Biology*, 14, 24–30.
- Naz AA, Raman S, Martinez CC, Sinha NR, Schmitz G, Theres K (2013) *Trifoliolate* encodes an MYB transcription factor that modulates leaf and shoot architecture in tomato. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 110, 2401–2406.
- Nikovics K, Blein T, Peaucelle A, Ishida T, Morin H, Aida M, Laufs P (2006) The balance between the *MIR164A* and *CUC2* genes controls leaf margin serration in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 18, 2929–2945.

- Norberg M, Holmlund M, Nilsson O (2005) The *BLADE ON PETIOLE* genes act redundantly to control the growth and development of lateral organs. *Development*, 132, 2203–2213.
- Ostria GE, Ranjan A, Zumstein K, Chitwood DH, Kumar R, Townsley BT, Ichihashi Y, Corcuera LJ, Sinha NR (2016) Transcriptomic analysis suggests a key role for *SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN LIKE*, *NAC* and *YUCCA* genes in the heteroblastic development of the temperate rainforest tree *Gevuina avellana* (Proteaceae). *New Phytologist*, 210, 694–708.
- Palatnik JF, Allen E, Wu X, Schommer C, Schwab R, Carrington JC, Weigel D (2003) Control of leaf morphogenesis by microRNAs. *Nature*, 425, 257–263.
- Petrasek J, Mravec J, Bouchard R, Blakeslee JJ, Abas M, Seifertova D, niewska JW, Tadele Z, Kubes M, Covanova M, Dhonukshe P, Skupa P, Benkova E, Perry L, Krecek P, Lee OR, Fink GR, Geisler M, Murphy AS, Luschnig C, Zazimalova E, Frim J (2006) PIN proteins perform a rate-limiting function in cellular auxin efflux. *Science*, 312 (5775), 914–918.
- Piazza P, Bailey CD, Cartolano M, Krieger J, Cao J, Ossowski S, Sehneeberger K, He F, de Meaux J, Hall N, Maeleod N, Filatov D, Hay A, Tsiantis M (2010) *Arabidopsis thaliana* leaf form evolved via loss of *KNOX* expression in leaves in association with a selective sweep. *Current Biology*, 20, 2223–222.
- Rubio-Somoza I, Zhou CM, Confraria A, Martinho C, von Born P, Baena-Gonzalez E, Wang JW, Weigel D (2014) Temporal control of leaf complexity by miRNA-regulated licensing of protein complexes. *Current Biology*, 24, 2714–2719.
- Runions A, Tsiantis M (2017) The shape of things to come: From typology to predictive models for leaf diversity. *American Journal of Botany*, 104, 1437–1441.
- Sha S, Chen D, Liu M, Li KL, Jiang CK, Wang DH and Guo YP (2018) To be serrate or pinnate: diverse leaf forms of yarrow (*Achillea*) are linked to differential expression patterns of *NAM* genes. *Annals of Botany*, 121, 255–266
- Shani E, Burko Y, BY L, Berger Y, Amsellem Z, Goldshmidt A, Sharon E, Ori N (2009) Stage-specific regulation of *Solanum lycopersicum* leaf maturation by Class KNOTTED1-LIKE HOMEODOMAIN proteins. *The Plant Cell*, 21, 3078–3092.
- Siso S, Camarero JJ, Gil-Pelegrin E (2001) Relationship between hydraulic resistance and leaf morphology in broad leaf *Quercus* species: a new interpretation of leaf lobation. *Trees*, 15, 341–345.
- Souer E, van Houwelingen A, Kloos D, Mol J, Koeset R (1996) The *No Apical Meristem* gene of petunia is required for pattern formation in embryos and flowers and is expressed at meristem and primordia boundaries. *Cell*, 85, 159–170.
- Tameshige T, Okamoto S, Lee JS, Aida M, Tasaka M, Torii KU, Uchida N (2016) A Secreted peptide and its receptors shape the auxin response pattern and leaf margin morphogenesis. *Current Biology*, 26, 2478–2485.
- Tang Y, Zhao CY, Tan ST, Xue HW (2016) Arabidopsis Type II Phosphatidylinositol 4-Kinase PI4Kγ5 regulates auxin Biosynthesis and leaf margin development through interacting with membrane-bound transcription factor ANAC078. *Plos Genetics*, 12, e1006252.
- Tao Q, Guo D, Wei B, Zhang F, Pang C, Jiang H, Zhang J, Wei T, Gu H, Qu LJ, Qin G (2013) The TIE1 transcriptional repressor links TCP transcription factors with TOPLESS/TOPLESS-RELATED corepressors and modulates leaf development in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 25, 421–437.
- Vandenbussche F, Petrasek J, Zadnikova P, Hoyerova K, Pesek B, Raz V, Swarup R, Bennett M, Zazimalova E, Benkova E, Van Der Straeten D (2010) The auxin influx carriers AUX1 and LAX3 are involved in auxin-ethylene interactions during apical hook development in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Development*, 137, 597–606.
- Vlad D, Kierzkowski D, Rast MI, Vuolo F, Ioio RD, Galinha C, Gan X, Hajheidari M, Hay A, Smith RS, Huijser P, Bailey CD, Tsiantis M (2014) Leaf shape evolution through duplication, regulatory diversification, and loss of a homeobox gene. *Science*, 343, 780–783.
- Vollbrecht E, Veit B, Sinha N, Hake S (1991) The developmental gene *Knotted-1* is a member of a maize homeobox gene family. *Nature*, 350, 241–243.
- Vroemen CW, Mordhorst AP, Albrecht C, Kwaaitaal MACJ, de Vries SC (2003) The *CUP-SHAPED COTYLEDON3* gene is required for boundary and shoot meristem formation in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 15, 1563–1577.
- Wolfe JA (1995) Paleoclimatic estimates from Tertiary leaf assemblages. *Annual Review of Earth Planetary Sciences*, 23, 119–142.
- Wang Q, Hasson A, Rossmann S, Theres K (2015) Divide et impera: boundaries shape the plant body and initiate new meristems. *New Phytologist*, 209, 485–498.
- Zhang J, Wei B, Yuan R, Wang J, Ding M, Chen Z, Yu H, Qin G (2017) The Arabidopsis RING-type E3 ligase TEAR1 controls leaf development by targeting the TIE1 transcriptional repressor for degradation. *The Plant Cell*, 29, 243–259.

(责任编辑: 郭亚龙 责任编辑: 时意专)