

СТРУКТУРНЫЕ И РЕГУЛЯТОРНЫЕ АСПЕКТЫ МОРФОГЕНЕЗА *EQUISETUM SYLVATICUM* И *EQUISETUM FLUVIATILE* В СВЯЗИ С ГОМОЛОГИЕЙ ЛИСТЬЕВ ХВОЦОВЫХ И ДРУГИХ ПАПОРОТНИКОВИДНЫХ

© 2023 г. М. А. Романова^{1,*}, В. В. Домашкина^{1,2}, Н. А. Бортникова²

¹Санкт-Петербургский государственный университет
Университетская наб., 7–9, Санкт-Петербург, 199034, Россия

²Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН
ул. Проф. Попова, 2, Санкт-Петербург, 197376, Россия

*e-mail: m.romanova@spbu.ru

Поступила в редакцию 14.08.2023 г.

После доработки 30.08.2023 г.

Принята к публикации 19.09.2023 г.

Изучены строение апикальной меристемы побега, ультраструктура ее клеток и заложение в ней зачатков органов у хвощовых *Equisetum sylvaticum* и *E. fluviatile*. Выявлены относительно невысокая степень вакуолизации и структурная однородность клеток зоны поверхностных инициалей, наличие в их пластидах единичных крахмальных зерен и единичных липидных капель в цитоплазме. Эти черты более сходны с таковыми в моноплексной апикальной меристеме плауновидных, чем папоротниковидных. Инициация листьев *E. sylvaticum* и *E. fluviatile* сходна с таковой у других растений с моноплексной апикальной меристемой, а основная особенность органогенеза хвощовых — заложение мутовки листьев как единой структуры. Прекращение функционирования апикальной меристемы листа, обусловленное вакуолизацией его апикальной инициали, приводит к отсутствию в листовой пластинке маргинальной меристемы и проводящих тканей. Осуществлен поиск гомологов генов, кодирующих известные для цветковых регуляторы развития адаксиального и абаксиального доменов листа в транскриптомах хвощовых и сравнение их с таковыми в геномах моховидных, папоротниковидных и голосеменных. У хвощовых выявлено по одному регулятору адаксиального (C3HDZ) и абаксиального (KANADI) доменов, как у других папоротниковидных. Это подтверждает вероятную утерю регуляторов адаксиального (ARP) и абаксиального (YABBY) доменов у общего предка Polypodiophyta. Филогенетический анализ белков WOX позволил предположить, что T3 клада, включающая регуляторы маргинальной (WOX3) и пластинчатой (WOX1) меристем листа возникла у общего предка Polypodiophyta, также указывая на сходство в молекулярно-генетической регуляции листьев всех папоротниковидных.

Ключевые слова: апикальные инициали, апикальная, пластинчатая, маргинальная меристемы, транскрипционные факторы, *ARP*, *C3HDZ*, *YABBY*, *KANADI*, *WOX*

DOI: 10.31857/S0006813623090065, **EDN:** RBKVVF

Полагают, что растения смогли освоить наземную, наземно-воздушную, среду обитания около 470 млн лет назад благодаря симбиозу с грибами из подотделов Glomeromycotina или Mucoromycotina (Wang et al., 2010; Morris et al., 2018). Однако фотосинтетическая поверхность первых наземных растений, риниевых (Rhyniophyta s.l.), представленная хлоренхимой их безлистных ветвящихся осей — теломов, была недостаточна для выживания на суше, и в результате около 360 млн лет назад риниевые вымерли. Вместе с тем около 400 млн лет назад на суше появились растения с олиственными побегами, на осевой части которых имелись специализированные для фотосинте-

за уплощенные боковые органы — листья (Harrison, Morris, 2018). Именно олиственные растения изменили атмосферу Земли и подготовили сушу для колонизации позвоночными животными (Donoghue et al., 2021). Однако вопрос о том, как у растений возникли листья, не решен до сих пор (Tomescu, 2009; Vasco, Ambrose, 2020; Spencer et al., 2021). Многочисленные гипотезы можно свести к трем основным. В рамках одной из них, известной как “теломная теория” (Zimmerman, 1952), листья всех высших растений возникли в результате трех морфогенетических изменений, называемых элементарными процессами: (1) перевершинивания (то есть перехода к анизодихо-

подиальному нарастанию), (2) уплощения тех теломов, которые потеряли способность к неограниченному росту, и (3) “обрастания” хлоренхимой теломов риниевых. В соответствии с другой гипотезой перечисленные процессы привели к возникновению лишь теломных листьев (Esau, 1969; Kaplan, 2001; Schneider et al., 2002), тогда как энационные листья, характерные для плауновидных, появились в результате поэтапного “выпячивания” фотосинтезирующей коровой паренхимы безлистных осей (Bower, 1935) или стерилизации некоторых спорангиев (Kenrick, Crane, 1997). Третья гипотеза гласит, что листья высших растений возникали многократно, так как согласно современным взглядам на филогению растений предки плауновидных (*Zosterophylloids*), разных клад папоротниковидных (*Huonia*, *Cladoxylon*, *Rhacophyton*) и семенных растений (*Pertica*) были безлиственными (Tomescu, 2009; Harrison, Morris, 2018). Поскольку листья представителей разных таксонов растений в рамках последней гипотезы негомологичны, предлагается вместо терминов энационные и теломные листья пользоваться словосочетаниями “листья плаунов”, “листья хвощей”, “листья типичных папоротников” (*Polypodiidae*), “листья саговниковых” и т.д. (Tomescu, 2009). Все три гипотезы актуальны и в настоящее время.

Интеграция анатомических данных о развитии листьев (Esau, 1969; Steeves, Sussex, 1989) с данными о молекулярно-генетической регуляции этого процесса у цветковых растений (Sarojam et al., 2010; Sarvepalli et al., 2019; Tsukaya, 2021) позволила прояснить, как в апикальной меристеме радиально-симметричных побегов с неограниченным ростом возникают органы с дорсовентральной симметрией и ограниченным ростом. Так, показано, что смена характерной для побега программы неограниченного роста на характерную для листа программу ограниченного роста (“перевершинивание”) происходит в результате прекращения экспрессии меристемспецифических генов *KNOX I* класса (или *SIKNOX*) и запуска транскрипции “листных” генов *ARP*, *HD-Zip III* класса (или *C3HDZ*), *YABBY* и *KANADI* в группе клеток периферической зоны апикальной меристемы побега (Jackson et al., 1994; Sawa et al., 1999; Byrne et al., 2000; Emery et al., 2003; Eshed et al., 2004; Sarvepalli et al., 2019). Предпосылкой к изменению симметрии зачатка листа с радиальной на дорсовентральную (“уплощения”) является поляризация транскрипции генов, кодирующих регуляторы развития адаксиального (*ARP*, *C3HDZ*) и абаксиального (*YABBY*, *KANADI*) доменов листа, к соответствующим сторонам листового зачатка (Sarojam et al., 2010; Yamaguchi et al., 2012; Caggiano et al., 2017; Du et al., 2018; Tsukaya, 2021). Возникновение маргинальной меристемы, в результате деления клеток которой начинается раз-

витие дорсовентральной листовой пластинки (“обрастание”), регулируется транскрипционным фактором (ТФ) *WOX3* – гомологом “организатора” апикальной меристемы побега *WUS* (Nakata et al., 2012). Транскрипция *WOX3* приурочена к границе зон экспрессии регуляторов адаксиального и абаксиального доменов листа на краях листового зачатка. Дальнейший рост листа в медиолатеральном направлении (в ширину) происходит преимущественно за счет пластинчатой меристемы, а в проксимодистальном направлении (в длину) – посредством интеркалярной меристемы (Esau, 1969; Tsukaya, 2021). Несмотря на разную роль в развитии листа, эти меристемы описывают пролиферацию клеток в разных направлениях. Ключевым регулятором обеих меристем является еще один гомолог *WUS* – ТФ *WOX1*; транскрипция кодирующего его гена *WOX1* маркирует границу адаксиального и абаксиального доменов по всей “длине” и “ширине” листовой пластинки (Nardmann, Weir, 2013; Tsukaya, 2021).

Можно ожидать, что изучение молекулярно-генетической регуляции развития листьев в эволюционном контексте сможет объяснить, как происходило “перевершинивание”, “уплощение” и “обрастание” у представителей разных таксонов растений в рамках решения вопроса о гомологии их листьев. Однако фрагментарность существующих данных позволяет интерпретировать их как аргументы в пользу всех трех гипотез происхождения листьев (Harrison et al., 2005; Vasco et al., 2016; Floyd et al., 2006; Evkaikina et al., 2017; Romanova et al., 2023). В то же время быстрое пополнение баз геномов и транскриптомов растений дает возможность оценить наличие или отсутствие гомологов регуляторов развития адаксиального и абаксиального доменов листа, а также регуляторов каждой из “листных” меристем и таким образом охарактеризовать возможные сходства и различия в регуляции развития листьев у представителей разных таксонов.

Хвощовые (*Equisetidae*, *Polypodiophyta*; PPG I, 2016) представляют перспективную модельную группу для изучения развития листьев в эволюционном контексте. Они имеют мелкие листья, не дифференцированные на палисадный и губчатый мезофилл (табл. 1), и сходны по этим признакам с листьями плауновидных, псилотовых (*Psilotaceae*, *Ophioglossidae*; PPG, 2016) и многих хвойных, но отличаются от таковых у “типичных”, или лептоспорангиатных папоротниковидных (*Polypodiidae*, PPG I (2016)). Поэтому целью данной работы стало сочетание сравнительно-анатомического и биоинформатического подходов для изучения структурных и регуляторных особенностей развития листьев хвощовых в рамках разработки вопроса о способе возникновения и гомологии их листьев.

Таблица 1. Морфологические, анатомические и регуляторные особенности листьев представителей разных таксонов высших растений
 Table 1. Morphological, anatomical and structural peculiarities of leaves in different taxa of land plants

Признак/character	Таксон/taxa					
	Lycophytes (Lycophyta)	Equisetidae, Polypodiophyta	Psilotidae Polypodiophyta	Polypodiidae, Polypodiophyta	Pinopsida, Pinophyta	Magnoliophyta
Морфология листа/ leaf morphology	обычно мелкие, не дифференцированы на черешок и пластинку/usually small, not differentiated into base and blade	мелкие, не дифференцированы на черешок и пластинку/small, not differentiated into base and blade; fuse into single whorl	мелкие, не дифференцированы на черешок и пластинку/usually small, not differentiated into base and blade	обычно крупные многократно перисто рассеченные, отдельные "перья" и "перышки" мелко dissected, separate pinnae and pinnulae are small	обычно мелкие, не дифференцированы на черешок и пластинку/usually small, not differentiated into base and blade	простые и сложные, обычно дифференцированы на черешок и пластинку/simple and compound, usually differentiated into base and blade
Апикальная меристема листа/ leaf apical meristem	функционирует одновременно/ functions transiently	функционирует одновременно вследствие вакуолизации апикальной инициали/ functions transiently due to vacuolation of leaf apical initial	функционирует одновременно вследствие вакуолизации апикальной инициали/ functions transiently due to vacuolation of leaf apical initial	играет основную роль в развитии листа/plays key role in leaf development	функционирует одновременно/ functions transiently	у растений с простыми листьями функционирует одновременно/ in plants with simple leaves functions transiently
Маргинальная меристема листа/ leaf marginal meristem	функционирует одновременно или отсутствует/ functions transiently or is absent	отсутствует/absent	отсутствует/absent	функционирует одновременно/ functions transiently	играет ключевую роль в морфогенезе листа/plays key role in leaf morphogenesis	функционирует временно/ functions transiently
Пластинчатая меристема листа/ leaf plate meristem	функционирует одновременно или отсутствует/ functions transiently or is absent	отсутствует/absent	отсутствует/absent	функционирует одновременно/ functions transiently	функционирует одновременно или отсутствует/ functions transiently or is absent	играет важную роль в развитии листовой пластинки/plays important role in leaf blade morphogenesis
Интеркалярная меристема листа/ leaf intercalary meristem	функционирует одновременно или отсутствует/ functions transiently or is absent	функционирует одновременно или отсутствует/ functions transiently or is absent	отсутствует/absent	функционирует продолжительное время/functions for a long time	функционирует одновременно/ functions transiently	играет важную роль в развитии листовой пластинки/plays important role in leaf blade morphogenesis

Таблица 1. Продолжение

Признак/character	Таксон/taxa					
	Lycophytes (Lycophyta)	Equisetidae, Polytriodiophyta	Psilotidae Polytriodiophyta	Polytriodiidae, Polytriodiophyta	Pinopsida, Pinophyta	Magnoliophyta
Тип мезофилла/ type of mesophyll	не дифференцирован на палисадный и губчатый/ not differentiated into palisade and spongy	не дифференцирован на палисадный и губчатый/ not differentiated into palisade and spongy	не дифференцирован на палисадный и губчатый/ not differentiated into palisade and spongy	дифференцирован на палисадный и губчатый/ differentiated into palisade and spongy	не дифференцирован на палисадный и губчатый/ not differentiated into palisade and spongy	дифференцирован на палисадный и губчатый/ differentiated into palisade and spongy
Строение жилки листа/composition of leaf vein	амфирибриальная, флоэма слабо развита/amphicribal with underdeveloped phloem	коллатеральная в основании, отсутствует в пластинке/collateral in leaf base, absent in leaf blade	отсутствует/absent	биколлатеральная/bicollateral	коллатеральная/collateral	обычно коллатеральная/usually collateral
Строение элементарного метамера/phytomer structure	только лист или лист и пазушный спорангий/leaf only or leaf and axillary sporangium	мутовка листьев и мутовка почечек/whorl of leaves and whorl of buds	лист или лист и пазушный спорангий/leaf only or leaf and axillary sporangium	лист и корень/leaf and root	лист и пазушный почка/leaf and axillary bud	лист и пазушный почка/leaf and axillary bud
Наличие и предполагаемая функция гомологов TF WOX из T3 клад/ presence and putative function of T3 WOX homologues from T3 clade	только у Selaginellales единственный гомолог, из предковых для T2 и T3 клад; функция неизвестна/single homologue from clade ancestral to T2+T3 only in Selaginellales	присутствуют; функция неизвестна/present; function is unknown	неизвестны/unknown	предположительно регулируют заложение корня/ presumably regulate root initiation	регуляция апикальных меристем побегов и корня, маргинальной и, возможно, пластинчатой меристем листа/ regulation of SAM, RAM, marginal and plate meristems	регуляция апикальных меристем побегов и корня, маргинальной и пластинчатой меристем/ regulation of SAM, RAM, marginal and plate leaf meristems

Таблица 1. Окончание

Признак/character	Таксон/taxa					Magnoliophyta
	Lycophytes (Lycophyta)	Equisetidae, Polypodiophyta	Psilotidae Polypodiophyta	Polypodiidae, Polypodiophyta	Pinopsida, Pinophyta	
Наличие и предполагаемая функция гомологов TF ARP/presence and putative function of ARP TF homologues	только у Selaginellales; дихотомия побега и развитие листа/only in Selaginellales; presumably shoot dichotomy and leaf development	отсутствуют/absent	отсутствуют/absent	отсутствуют/absent	развитие мезофилла в центральной части листа/mesophyll in the central part of leaf blade	развитие адаксиального домена листа/differentiation of adaxial leaf domain
Наличие и предполагаемая функция гомологов TF C3HDZ/presence and putative function of C3HDZ TF homologues	функционалирование АМП, образование листьев и спорангиев/SAM maintenance, development of leaf and sporangium	имеются; функция неизвестна/present; function is unknown	имеются; функция неизвестна/present; function is unknown	предположительно регулируют развитие адаксиального домена листа/presumably regulate differentiation of adaxial leaf domain	развитие адаксиального домена листа/differentiation of adaxial leaf domain	развитие адаксиального домена листа и регуляция заложения пазушной почки/differentiation of adaxial leaf domain, development of axillary bud
Наличие и предполагаемая функция гомологов TF YABBY/presence and putative function of YABBY TF homologues	только у Lycorodiales; функционалирование АМП, развитие листа и спорангия/only in Lycorodiales; SAM maintenance, development of leaf and sporangium	отсутствуют/absent	отсутствуют/absent	отсутствуют/absent	развитие листа/leaf development	развитие абаксиального домена листа, участие в формировании маргинальной меристемы листа/differentiation of abaxial leaf domain, partly regulates initiation of leaf marginal meristem
Наличие и предполагаемая функция гомологов TF KANADI/presence and putative function of KANADI TF homologues	развитие листа/development of leaf	развитие абаксиального домена листа/differentiation of abaxial leaf domain	имеются; функция неизвестна/present; function is unknown	имеются; функция неизвестна/present; function is unknown	имеются; функция неизвестна/present; function is unknown	развитие абаксиального домена листа/ differentiation of abaxial leaf domain

Примечание. Слово “предположительно” в контексте функций перечисленных в таблице регуляторов листьев используется там, где такой вывод основан только на экспрессии гомологов генов, кодирующих данные регуляторы.

Note. The word “presumably” in the context of the functions of the leaf regulators listed in the table is used in all cases where such a conclusion is based only on the expression of homologues of genes encoding these regulators.

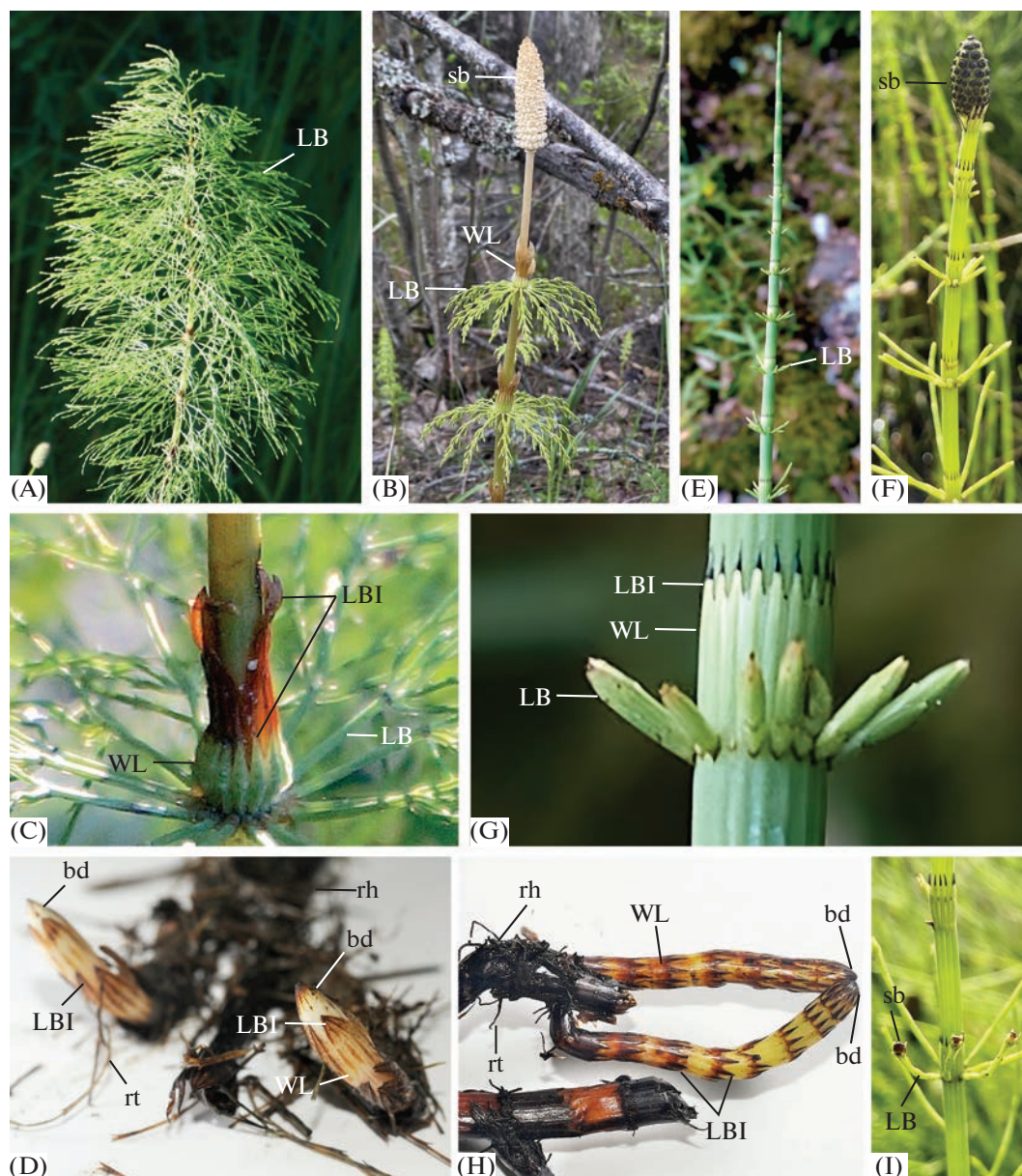


Рис. 1. Морфология объектов исследования.

Equisetum sylvaticum: A – вегетативный надземный побег; B – генеративный надземный побег; C – узел вегетативного побега; D – фрагмент подземного побега (корневища) с вегетативными почками. *Equisetum fluviatile*: E – надземный побег в начале вегетационного периода; F – надземный побег в конце вегетационного периода со стробилом на верхушке; G – узел надземного побега; H – фрагмент подземного побега (корневища) с вегетативными почками; I – надземный побег со стробилами на верхушках боковых ветвей. LB – боковая ветвь, WL – мутовка сросшихся основаниями листьев, LBI – чешуевидная листовая пластинка, bd – почка, rh – корневище, sb – стробил, rt – корень.

Fig. 1. Morphology of the species studied.

Equisetum sylvaticum: A – vegetative aboveground shoot; B – generative aboveground shoot; C – closeup of the node of vegetative shoot; D – fragment of the underground shoot (rhizome) with vegetative buds. *Equisetum fluviatile*: E – aboveground shoot in the beginning of the vegetation period; F – aboveground shoot in the beginning of the vegetation period terminating with the strobilus; G – closeup of the node of the aboveground shoot; H – fragment of the underground shoot (rhizome) with vegetative buds. LB – lateral branch, WL – whorl of fused bases of leaves, LBI – scale-like leaf blade, bd – bud, rh – rhizome, sb – strobilus, rt – root.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования послужили хвощ лесной (*Equisetum sylvaticum* L.) (рис. 1 A–D) и хвощ речной, или приречный (*E. fluviatile* L.)

(рис. 1 E–I). Оба вида имеют многолетние подземные плагиотропные побеги – корневища, нарастание которых обеспечивается верхушечной меристемой (рис. 1 D, H). Эти корневища интенсивно ветвятся. Некоторые из образовавшихся

побегов продолжают расти под землей; другие образуют надземные ортотропные побеги. Оба типа побегов характеризуются четким метамерным строением. На корневищах и в основании надземных побегов располагаются мутовки корней (рис. 1 D, H), а на надземных побегах — мутовки сросшихся основаниями чешуевидных листьев (рис. 1 C, G). Между основаниями листьев располагаются ветви, также собранные в мутовки. Боковые ветви *E. fluviatile* обычно не ветвятся, а у *E. sylvaticum* разветвлены на ветви второго, иногда третьего порядка. Для *E. sylvaticum* характерны два типа надземных побегов: одни имеют на верхушке стробилы (рис. 1 B), а другие их не имеют (рис. 1 A); эти два типа побегов образуются из генеративных и вегетативных почек соответственно. Все почки, образующие надземные побеги *E. fluviatile*, сходны между собой и не имеют зачатков спорангиев (рис. 1 E). Последние образуются на верхушках наземных побегов в конце вегетационного сезона (рис. 1 F); иногда встречаются особи, образующие стробилы также на верхушках боковых ветвей (рис. 1 I).

Вегетативные почки *E. fluviatile* и *E. sylvaticum* были собраны в Рощинском районе Ленинградской области в конце апреля и в октябре (то есть перед началом вегетационного сезона и после его окончания), поскольку в это время в почках уже сформированы зачатки всех вегетативных органов надземных побегов. Для световой микроскопии фрагменты апексов побегов обоих видов хвощей размером 3×5 мм в 5-кратной повторности фиксировали в 70% этаноле, обезвоживали в серии спиртов возрастающей концентрации, смеси спиртов и органического растворителя Histoclear (EMS, США) и заключали в парапласт (Sigma-Aldrich, США). Срезы толщиной 6–10 мкм изготавливали на микротоме Accu-Cut SRM 200 (Sakura, Япония) и окрашивали гематоксилином Делафильда (Ruzin, 1999). Срезы изучали и фотографировали с помощью микроскопа Leica DM1000 с цифровой камерой Leica EC3 (Leica, Германия). Для трансмиссионной электронной микроскопии фрагменты апексов такого же размера и в такой же повторности фиксировали в смеси 3% глутаральдегида (Merck, Германия) и 2% параформальдегида (Ercros, Испания) на 0.1 М фосфатном буфере с pH 7.2 (Ruzin, 1999) при +4°C в течение ночи, потом в 2% растворе тетраоксида осмия (Merck, Германия) в течение 12 часов при температуре +4°C, затем обезвоживали в серии спиртов возрастающей концентрации и ацетоне. Во время обезвоживания образцы контрастировали уранилацетатом в растворе 70% этанола в течение 30–60 мин, а затем заключали в смесь эпоксидных смол эпона и аралдита (Sigma Aldrich, США). Ультратонкие срезы делали с помощью ультрамикротомы Ultracut E (Reichert, Германия), контрастировали в растворах 2% уранилацетата и

цитрата свинца (Ruzin, 1999) и анализировали с помощью трансмиссионного электронного микроскопа JEM 1400 (Jeol, Япония). Отдельные фотографии объединяли в панорамные снимки с помощью программы Adobe Photoshop. Для сканирующей электронной микроскопии фрагменты апексов такого же размера и в такой же повторности фиксировали в 4% параформальдегиде (Ercros, Испания) на 0.1 М фосфатном буфере с pH 7.2 (Ruzin, 1999), обезвоживали в серии спиртов возрастающей концентрации, высушивали до критической точки, напыляли золотом и анализировали при помощи сканирующего электронного микроскопа Tescan MIRA3 (Tescan, Чехия).

В ходе биоинформатического анализа выявляли гомологи генов, кодирующих известные для цветковых растений ТФ: регуляторы развития адаксиального (C3HDZ, ARP) и абаксиального (YABBY, KANADI) доменов листа, маргинальной (WOX3) и пластинчатой (WOX1) меристем. Для поиска гомологов использовали следующие последовательности, депонированные в базе данных NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). *Arabidopsis thaliana*: WOX — CAA09986.1 (WUS), NP_188428.3 (WOX1), sp|Q9SIB4| (WOX3), NP_173493.2 (WOX14); YABBY — AT1G08465.1 (YAB2); KANADI: AED92310.1 (KAN1); C3HDZ — AT5G60690.1 (REV); ARP — O80931.1 (AS1); *Huperzia selago*: YABBY — ATG86193.1.

Поиск по последовательностям проводили при помощи алгоритмов tBLASTn и BLASTp в следующих базах данных геномов: Phytozome 13 (Goodstein et al., 2012) для *Ceratopteris richardii* (v2.1), *Thuja plicata* (v3.1); FernBase (<https://fernbase.org/>) для *Azolla filiculoides* (v1.2), *Salvinia cucullata* (v1.2), *Adiantum capillus-veneris*, *Alsophila spinulosa*, и *Marsilea vestita*; PlantGenIE (Sundell et al., 2015) для *Picea abies* (v1.0). Для *Psilotum nudum*, *Equisetum diffusum* и *Equisetum hyemale* поиск проводили в базе данных транскриптомов OneKP (<https://onekp.com/>). Порог E-value при поиске последовательностей варьировал от -1 до 1^{-10} .

Отобранные аминокислотные последовательности в fasta-формате выравнивали с помощью алгоритма множественного выравнивания Clustal-o (Clustal Omega) в программе SeaView (Version 5.0.4) (Gouy et al., 2010). Подбор моделей эволюции осуществляли автоматически на сервере IQTree (<http://iqtree.cibiv.univie.ac.at/>) со стандартными параметрами (Trifinopoulos et al., 2016). Для построения филогении белков WOX использовали модель JTT+F+I+G4. Далее при помощи IQTree проводили реконструкцию филогении исследуемых белков методом максимального правдоподобия (ML) со стандартными параметрами (повысили значение ultrafast bootstrap до 10000). Полученные филогенетические дере-

визуализировали в программе TreeGraph2 (Stöver, Müller, 2010).

Для анализа белков R2R3-MYB и реконструкции филогении ТФ WOX были дополнительно использованы выявленные ранее (Romanova et al., 2023) в базах CoGe (Lyons, Freeling, 2008), Phytozome 13 и Hornwort genomes (<https://www.hornworts.uzh.ch/en/hornwort-genomes.html>) гомологи генов, кодирующих данные белки у моховидных *Marchantia polymorpha* (v3.1), *Physcomitrium patens* (v3.3), *Anthoceros agrestis* и *A. punctatus*, и у плауновидных *Diphasiastrum complanatum* (v3.1), *Selaginella moellendorffii* (v1.0) и *Isoetes taiwanensis*. Отбор последовательностей для демонстрации наличия/отсутствия ТФ ARP у разных таксонов осуществляли, полагаясь на процент сходства с последовательностью ARP *Arabidopsis thaliana* и низкое значение E-value. Отбор последовательностей осуществляли на основании литературных данных о структурной организации консервативных доменов (ARP – Hernandez-Hernandez et al., 2021, KANADI – Zumajo-Cardona et al., 2020 и WOX – Wu et al., 2019) в идентифицированных последовательностях различных видов. Поиск проводили с использованием программного пакета HMMER (v3.3.2) и опции HMMERSCAN (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/hmmer/search/phmmer>) по базе данных Pfam, а также программного пакета InterProScan (онлайн-версии) (Paysan-Lafosse et al., 2022). Для поиска консервативных мотивов использовали онлайн-версию инструмента MEME Suite 5.4.1 с опцией MEME. В соответствии с ранее описанным алгоритмом (Hernandez-Hernandez et al., 2021) искали 15 доменов длиной от 10 до 15 аминокислот и использованием опции “background: 0-order background model generated from the supplied sequences”. При поиске и отборе последовательностей KANADI, C3HDZ, WOX на основании использованных данных и алгоритмов были удалены сильно фрагментированные геномные последовательности (последовательность удалялась, если примерно 50% аминокислот отсутствовало) и последовательности, отличающиеся только несколькими аминокислотами. Фрагментарные последовательности присутствуют у хвощовых, для которых использовались данные транскриптомов, причины фрагментарности последовательностей в которых могут быть разными.

РЕЗУЛЬТАТЫ

РАЗВИТИЕ ЛИСТЬЕВ: СТРУКТУРНЫЕ АСПЕКТЫ

Строение апикальной меристемы *Equisetum sylvaticum* и *E. fluviatile*

Апексы побегов *E. sylvaticum* (рис. 2 А–С) и *E. fluviatile* (рис. 2 D–F) имеют конусообразную

форму. Поскольку в центре поверхностного слоя апекса обоих хвощей имеется клетка в форме перевернутого тетраэдра, называемая апикальной инициальной (АИ), их апикальная меристема относится к моноплексному структурному типу (по классификации Newman, 1965). АИ делится косо-антиклинально, образуя клетки призматической формы, называемые мерофитами (рис. 2 А) (Bierhorst, 1971; Romanova et al., 2022). Три последовательных мерофита АИ полностью опоясывают апекс побега; их дальнейшие деления скоординированы между собой. Каждые три деления АИ образует новое кольцо мерофитов, которое “сдвигает” предыдущие к основанию апекса. Таким образом, поверхность апекса сложена из расположенных ярусами поверхностных клеток, образовавшихся в результате скоординированных антиклинальных делений в пределах “тройки” мерофитов (рис. 2 D). Поверхностные клетки имеют призматическую форму и слагают зону поверхностных инициалей (рис. 2 В, С, Е, F). На продольном срезе апекса *E. sylvaticum* с каждой стороны от апикальной клетки располагается по три–шесть (рис. 2 В, С), а апекса *E. fluviatile* – по двенадцать–шестнадцать поверхностных инициалей (рис. 2 Е, F), что обуславливает существенно более выпуклую форму апекса последнего. Периклинальные деления поверхностных инициалей неравные: наружные производные сохраняют призматическую форму, а производные клетки ближе к оси апекса имеют изодиаметрическую форму. Совокупность внутренних изодиаметрических клеток образует зону подповерхностных инициалей. У *E. sylvaticum* эта зона на продольном срезе состоит из пяти–восьми клеток (рис. 2 В, С), а у *E. fluviatile* – более чем из двадцати клеток (рис. 2 Е, F). Разное число подповерхностных инициалей определяет различия в объеме апекса у этих видов, существенно большем у *E. fluviatile*. Подповерхностные инициали почти не делятся: они увеличиваются в объеме, и между ними появляются межклетники (рис. 2 В, С, Е, F).

Ультраструктура клеток апикальной меристемы *Equisetum fluviatile*

На примере *E. fluviatile* было установлено, что по ультраструктуре, степени вакуолизации, морфологии вакуолей и характеру включений АИ сходна с остальными поверхностными инициалами, входящими в состав разных мерофитов (рис. 2 G). Все эти клетки имеют крупные, вытянутые в антиклинальном направлении и смещенные в нижнюю часть клеток ядра с двумя–четырьмя ядрышками. Многочисленные мелкие вакуоли расположены преимущественно в апикальной части клеток, в меньшем количестве – в пристенной цитоплазме вдоль антиклинальных стенок и в базальной части клеток (рис. 2 G). По-

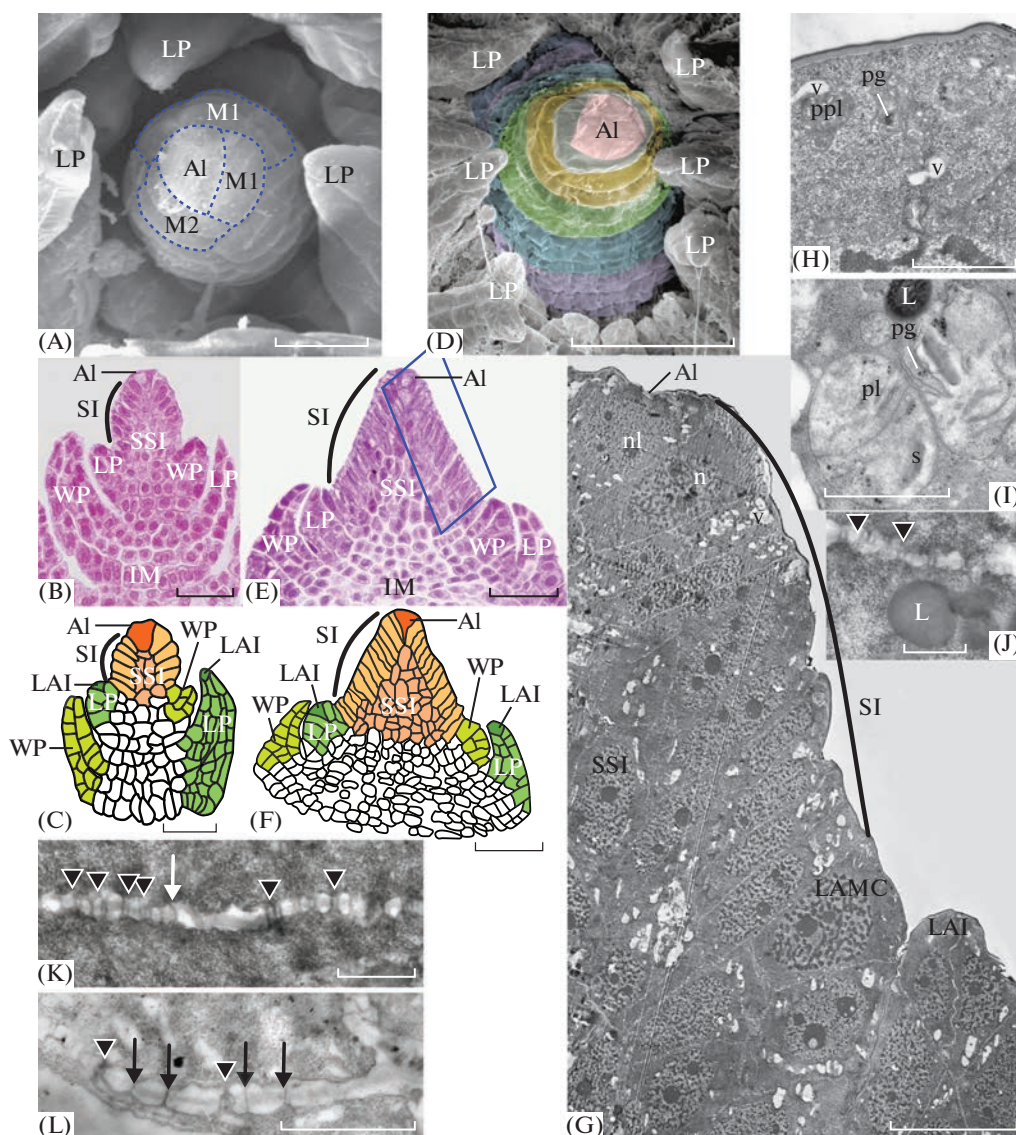


Рис. 2. Строение апикальной меристемы побега и ультраструктура ее клеток.

Апекс побега *Equisetum sylvaticum*: фронтальный вид (A), продольный срез (B) и его схема (C). Апекс побега *Equisetum fluviatile*: фронтальный вид (D), продольный срез (E) и его схема (F). Ультраструктура клеток апикальной меристемы побега *E. fluviatile*: G – фрагмент продольного среза, обозначенный рамкой на (E); H – фрагмент наружной части апикальной инициали; I, J – фрагменты пристенной цитоплазмы вдоль антиклинальной стенки одной из поверхностных инициалей; K – фрагмент периклинальной стенки одной из поверхностных инициалей; L – фрагмент антиклинальной стенки апикальной инициали. AI – апикальная инициаль, SI – поверхностные инициали, SSI – подповерхностные инициали, LAI – апикальная инициаль листа, LAMC – материнская клетка апикальной инициали листа, LP – зачаток листа, WP – зачаток мутовки, M1–M3 – последовательные мерофиты (производные) апикальной инициали, IM – интеркалярная меристема, L – липидные капли, n – ядро, nl – ядрышко, v – вакуоль, s – крахмальное зерно, ppl – пропластида, pl – пластида, pg – пластоглобула, треугольники указывают на ветвящиеся плазмодесмы, стрелки – на неветвящиеся плазмодесмы; на (D) разным цветом окрашены последовательные “тройки” мерофитов; рамкой на (E) обозначен фрагмент апикальной меристемы ультраструктура клеток которого проиллюстрирована на (G). Остальные обозначения как на рис. 1. Масштабные линейки, мкм: A, G – 25; B–F – 50; H, I – 5; J–L – 1.

Fig. 2. Structure of the shoot apical meristem and the ultrastructure of its cells.

Apex of *Equisetum sylvaticum* shoot: surface view (A), longitudinal section (B) and its schematic (C). Apex of *Equisetum fluviatile* shoot: surface view (D), longitudinal section (E) and its schematic (F). Ultrastructure of the cells of the shoot apical meristem of *E. fluviatile*: G – fragment of the longitudinal section marked by rectangle in (E); H – fragment of the outer part of the apical initial; I, J – fragments of cortical cytoplasm along the anticlinal wall of one of the surface initials; K – fragment of the periclinal cell wall of one of the surface initials; L – fragment of the anticlinal wall of the apical initial. AI – apical initial, SI – surface initials, SSI – subsurface initials, LAI – leaf apical initial, LAMC – leaf apical “mother” cell, LP – leaf primordium, WP – whorl primordium, M1–M3 – successive merophytes (segments) of the apical initial, IM – intercalary meristem, L – lipid droplets, n – nucleus, nl – nucleolus, v – vacuole, s – starch grain, ppl – proplastid, pl – plastid, pg – plastoglobule, triangles point to branched plasmodesmata, arrows – to unbranched plasmodesmata; in (D) successive “triplets” of merophytes are depicted by different colours; frame in (E) outlines the fragment of the shoot apical meristem cells which ultrastructure is shown in (G). Other symbols as in Fig. 1. Scale bars, μm : A, G – 25; B–F – 50; H, I – 5; J–L – 1.

верхностные инициали, находящиеся на разном удалении от апикальной инициали, сходны между собой по ультраструктуре (рис. 2 G). Клетки подповерхностного слоя отличаются от поверхностных изодиаметрической формой, центральным положением ядра и равномерным распределением вакуолей (рис. 2 G). В клетках поверхностного и подповерхностного слоев хорошо развит гранулярный эндоплазматический ретикулум с относительно небольшим числом рибосом, а также присутствует множество свободных рибосом (рис. 2 H–J); в пластидах имеются одиночные крахмальные зерна и пластоглобулы (рис. 2 I); вдоль клеточных стенок располагаются немногочисленные липидные капли (рис. 2 I, J).

В стенках АИ *E. fluviatile* и ее ближайших поверхностных и подповерхностных производных присутствует большое количество плазмодесм. Плазмодесмы собраны в группы; многие из них ветвятся в клеточной стенке (рис. 2 J–L). По визуальной оценке, плотность плазмодесм у *E. fluviatile* сходна с описанной ранее для плауновидного *Selaginella kraussiana* и папоротниковидных *Pteridium aquilinum*, *Athyrium filix-femina*, и *Dryopteris carthusiana*, которые также имеют моноплексную апикальную меристему, и существенно превышает таковую у растений с несколькими АИ в меристемах (Romanova et al., 2022).

Органогенез в апикальной меристеме *Equisetum sylvaticum* и *E. fluviatile*

Органогенез у обоих видов хвощей начинается одновременно в пределах одного яруса клеток – производных трех последовательных мерофитов. У *E. sylvaticum* листья образуются в третьей–четвертой по удаленности от АИ “тройке” мерофитов (рис. 3 A, B), а у *E. fluviatile* – в шестой–седьмой (рис. 3 C). Поверхностные инициали, относящиеся к одному ярусу, несколько раз делятся периклинально. В результате вокруг апекса появляется валик – будущая мутовка листьев, которая изначально образуется как единая структура (рис. 3 A, D, E).

Внутренние клетки апекса побега на уровне образовавшегося валика также активно делятся и формируют диск из двух–трех слоев небольших и слабо вакуолизованных клеток – интеркалярную меристему (рис. 3 B, C). Таким образом скоординированные деления в пределах одного яруса характеризуют не только поверхностные, но и подповерхностные инициали апикальной меристемы побега обоих хвощей.

На следующем этапе морфогенеза будущей мутовки листьев некоторые из поверхностных клеток возникшего валика, располагающиеся на равном расстоянии друг от друга, увеличиваются в размерах, а затем делятся косоантисимметрично.

В результате делений этих клеток, которые можно назвать материнскими клетками листовых инициалей, обособляются линзовидные апикальные инициали листьев (рис. 3 F). У *E. sylvaticum* в пределах одного валика возникает девять–тринадцать таких инициалей, а у *E. fluviatile* – двенадцать–двадцать инициалей. Различие в числе апикальных инициалей листьев мутовки определяется различиями в объеме апексов *E. sylvaticum* и *E. fluviatile* (рис. 2 B, E) и, соответственно, в числе поверхностных призматических клеток, составляющих один ярус. Деления апикальных инициалей листьев приводят к появлению над поверхностью валика небольших выростов – листовых пластинок (рис. 3 D, E). Апикальная инициаль листа играет ключевую роль в морфогенезе листовой пластинки, но функционирует недолго. В момент возникновения апикальная инициаль листа сходна по ультраструктуре с клетками апикальной меристемы побега (рис. 2 G, рис. 3 F). Однако вскоре после начала развития листовой пластинки апикальные инициали листьев вакуолизируются (рис. 3 G), и, как следствие, в третьей–пятой по удаленности от АИ мутовке листьев прекращают делиться. Поверхностные и подповерхностные производные апикальной инициали листа сходны с ней по структуре и также существенно более вакуолизованы, чем клетки апикальной меристемы побега (рис. 3 G). Вакуолизация и прекращение делений апикальной инициали листа и ее производных приводит к прекращению развития листовых пластинок и недоразвитию в них проводящих тканей, дифференцирующихся только в сросшихся основаниях листьев (рис. 4 A–I).

Дальнейшее незначительное увеличение размеров листовых пластинок в проксимодистальном направлении (в длину) происходит преимущественно вследствие растяжения слагающих их клеток и отчасти – за счет деления клеток в основании листьев, которые граничат с периферической частью интеркалярной меристемы (рис. 3 B, C). Число клеток в ад/абаксиальной (в толщину) и медиолатеральной (в ширину) плоскостях сформированных пластинок листьев, относящихся к десятой–тринадцатой мутовкам, такое же, как в их зачатках, относящихся к пятой–седьмой мутовкам (рис. 4 B, C, F, G). Это косвенно свидетельствует о том, что маргинальная и пластинчатая меристемы в листовых пластинках обоих видов хвощей отсутствуют. Мезофилл чешуевидных листовых пластинок не дифференцирован на палисадный и губчатый и состоит из вытянутых параллельно поверхности клеток; проводящие ткани отсутствуют (рис. 4 C, G).

Рост мутовки, образованной сросшимися основаниями листьев, в проксимодистальном направлении происходит у *E. fluviatile* и *E. sylvaticum* за счет скоординированных тангентальных деле-

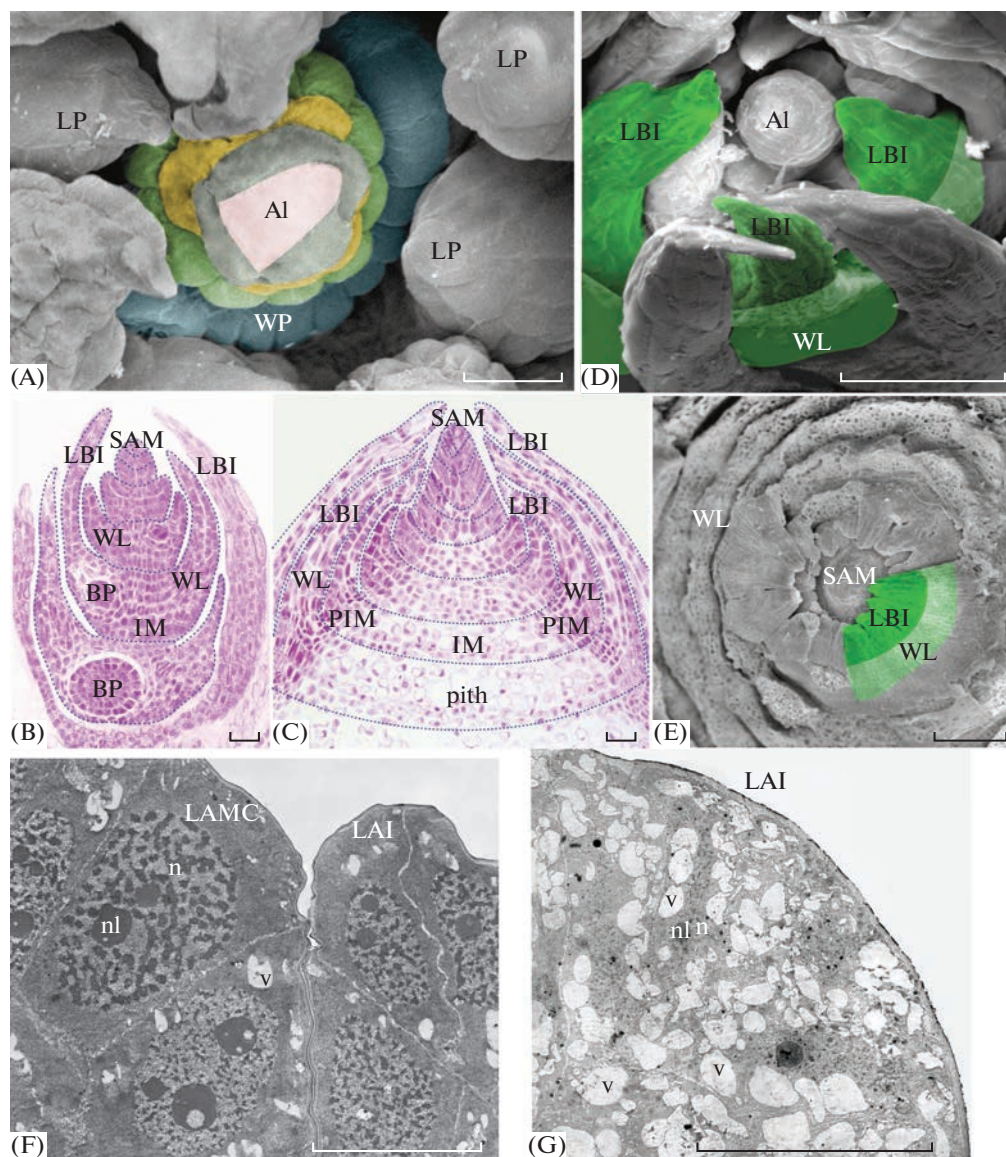


Рис. 3. Заложение и начальные этапы развития мутовок листьев.

A – возникновение зачатка мутовки листьев в апикальной меристеме побега *Equisetum sylvaticum*; последовательные этапы развития мутовок листьев на продольных срезах апексов побегов *E. sylvaticum* (B) и *E. fluviatile* (C) и на фронтальных сканирующих электронных микрофотографиях апексов побегов *E. sylvaticum* (D) и *E. fluviatile* (E); ультраструктура клеток зачатка листовой пластинки в момент возникновения (F) и в составе четвертой по удаленности от апекса побега мутовки листьев (G). SAM – апикальная меристема побега, pith – сердцевина, BP – зачаток почки, PIM – периферическая часть интеркалярной меристемы; на (A) разными цветом окрашены последовательные “тройки” мерофитов; на (D) и (E) разными оттенками зеленого окрашены сросшиеся основания листьев и листовые пластинки. Остальные обозначения как на рис. 1–2. Масштабные линейки, мкм: A–C, F, G – 20; D – 50; E – 100.

Fig. 3. Initiation and early stages of development of whorls of leaves.

A – shoot apex of *E. sylvaticum* with the emerging primordium of whorl; successive stages of leaf whorls development on the longitudinal sections of *E. sylvaticum* (B) and *E. fluviatile* (C) and frontal SEM views of *E. sylvaticum* (D) and *E. fluviatile* (E); ultrastructure of the leaf apical initial and its derivatives in the newly emerged leaf blade primordium (F) and in the leaf blade that belongs to the fourth whorl (G). SAM – shoot apical meristem, pith – pith, BP – bud primordium, PIM – peripheral part of intercalary meristem; in (A) successive “triplets” of merophytes are depicted by different colors; in (D) and (E) merged bases of leaves within one whorl and leaf blades are colored in different shades of green. Other symbols as in Figs. 1–2. Scale bars, μm : A–C, F, G – 20; D – 50; E – 100.

ний клеток периферической части интеркалярной меристемы (рис. 3 B, C). Несмотря на то, что основание каждой мутовки представляет собой единую структуру с момента своего возникнове-

ния (рис. 3 D, E), ее развитие под листовыми пластинками и между ними различается (рис. 4 A, B, H, I). Клетки периферической части интеркалярной меристемы, располагающиеся под листовыми

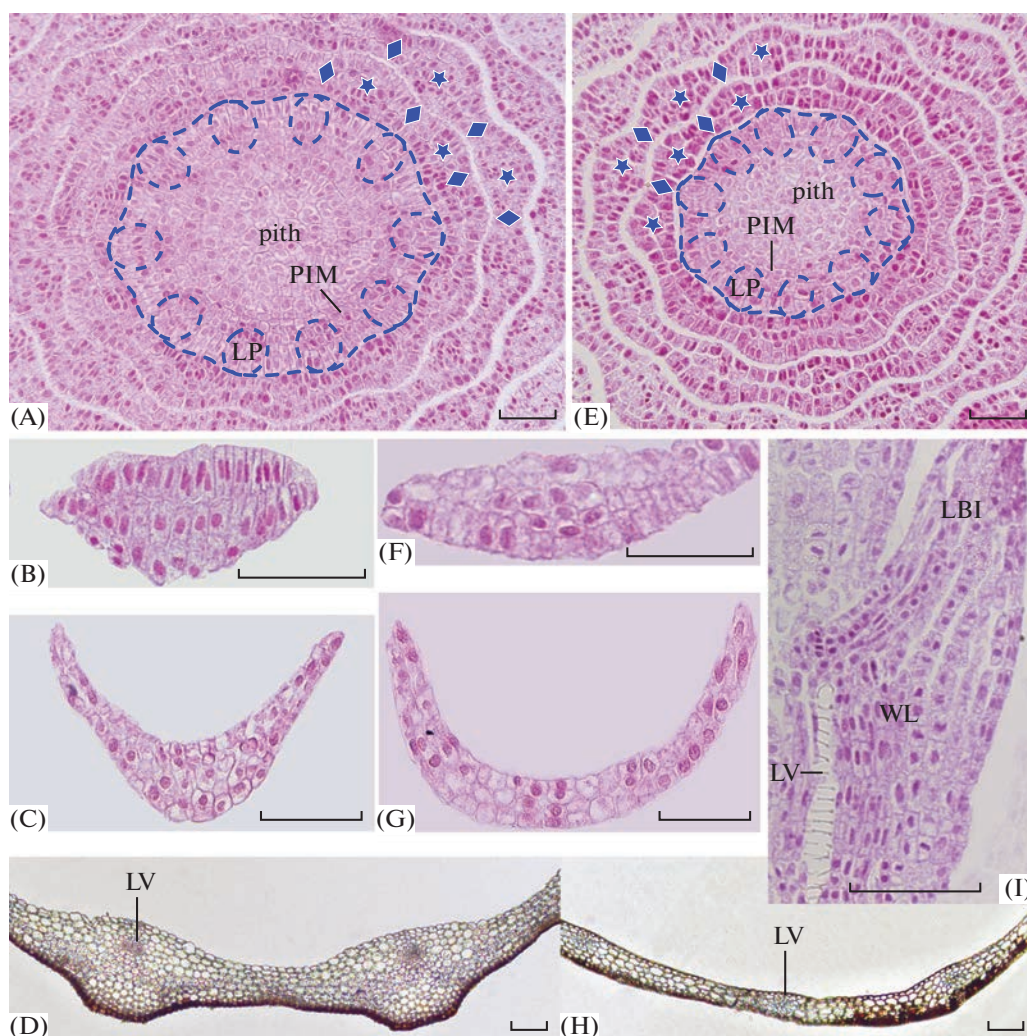


Рис. 4. Развитие мутовок листьев.

Поперечные срезы апексов побегов *E. sylvaticum* (A) и *E. fluviatile* (E), содержащие основания листьев, относящихся к третьей по удаленности от апекса мутовке и окруженные сросшимися основаниями листьев, относящихся к четвертой и пятой мутовке; поперечные срезы листовых пластинок *E. sylvaticum* (B, C) и *E. fluviatile* (F, G), относящиеся к третьей (B, F) и десятой–тринадцатой (C, G) по удаленности от апекса мутовкам; поперечные срезы сросшихся основаниями листьев сформированной мутовки *E. sylvaticum* (D) и *E. fluviatile* (H); (I) – продольный срез участка стебля и основания десятой мутовки листьев. На (A) и (E) наружная граница апекса побега обведена пунктирной линией, в овал обведены клетки третьей мутовки листьев, располагающиеся под листовыми пластинками; звездочками обозначена та часть сросшихся оснований листьев мутовки, которые располагаются под листовыми пластинками, а ромбами – расположенные между листовыми пластинками. pc – прокамбий, TE – трахеальные элементы, LV – жилка листа. Остальные обозначения как на рис. 1–3. Масштабные линейки, мкм: A–I – 20.

Fig. 4. Development of leaf whorls.

Transversal sections of the shoot apices of *E. sylvaticum* (A) and *E. fluviatile* (E), that contain bases of leaves that belong to the third distant from the shoot apical meristem whorl and are surrounded by the fused bases of leaves that belong to the fourth and fifth distant from the shoot apical meristem whorls. Transversal sections of leaf blades of *E. sylvaticum* (B, C) and *E. fluviatile* (F, G), that belong to the third (B, F) and tenth–thirteenth (C, G) distant from the shoot apical meristem whorls; transversal sections of fused bases of leaves of mature whorls of *E. sylvaticum* (D) and *E. fluviatile* (H); (I) – longitudinal section of a fragment of stem with the base of the tenth whorl of leaves. At (A) and (E) external border of the shoot apex is outlined with dashed line; in ovals are enclosed cell of the third whorl that are located beneath leaf blades; asterisks denote parts of whorl that are located beneath leaf blades and diamonds mark the parts of whorl located between leaf blades. The axial part of the she shoot and leaf primordia are outlined with dashed lines. pc – procambium, TE – tracheal elements, LV – leaf vein. Other symbols as in Figs. 1–3. Scale bars, μm : A–I – 20.

пластинками, делятся не только в проксимодистальном, но и в ад/абаксиальном и медиолатеральном направлениях, что приводит к разрастанию этой части мутовки в толщину и в ширину. В чет-

вертой–пятой по удаленности от апикальной меристемы побега мутовке основания листьев у обоих изученных видов имеют около двадцати клеток в ширину и десять–шестнадцать клеток в толщи-

ну (рис. 4 А, В). Часть этих клеток дифференцируется в прокамбий, а затем в проводящие ткани жилки листа, слепо заканчивающейся на границе основания и листовой пластинки (рис. 4 I). У *E. fluviatile* жилка располагается в центральной части листовой пластинки, а у *E. sylvaticum* смещена на адаксиальную сторону основания листа (рис. 4 Н, I). Клетки периферической части интеркалярной меристемы, расположенные между листовыми пластинками, не делятся в аб/адаксиальной плоскости и почти не делятся в медиолатеральной плоскости; в сформированной мутовке они представляют собой “перемычки” шириной около десяти клеток и толщиной две–три клетки и не имеют проводящих тканей (рис. 4 D, H). Большая ширина оснований сформированных листьев по сравнению с их зачатками является результатом того, что клетки мезофилла, уже прекратившие делиться, синхронно растягиваются в медиолатеральном направлении при увеличении объема стеблевой части побега.

В ходе развития основания мутовки клетки двух–трех наружных слоев периферической части интеркалярной меристемы продолжают делиться периклинально, растут растяжением и приобретают вытянутую форму, образуя цилиндр мелких и слабо вакуолизированных клеток (рис. 3 С; рис. 5А, В, М, N). Этот цилиндр меристематических клеток играет важную роль как в гистогенезе, так и в органогенезе *E. sylvaticum* и *E. fluviatile*. Его клетки, расположенные под листовыми пластинками, дифференцируются в тяжи прокамбия, а затем — в проводящие ткани стебля и листовых следов (рис. 4 I; рис. 5А, В, М). В результате пролиферации групп клеток периферической части интеркалярной меристемы, которые расположены в пазухе мутовки между листовыми пластинками, эндогенно возникают зачатки почек (рис. 5 А, В). Зачатки почек у обоих изученных видов возникают в третьей–пятой от апикальной меристемы мутовке, но дальнейшее развитие почек *E. sylvaticum* и *E. fluviatile* различается (рис. 5 С–I). В поверхностном слое зачатков почек у обоих видов возникает апикальная меристема, сходная по зональности с апикальной меристемой побега (рис. 5 С, G). У *E. sylvaticum* сразу же после возникновения апикальной меристемы почки из нее формируются мутовки листьев; в основании каждой почки образуется единственный корень (рис. 5 D–F, J). Таким образом, каждая верхушечная почка содержит полностью сформированные зачатки почек следующего порядка (рис. 5 O). У *E. fluviatile* апикальная меристема почки начинает функционировать только на значительном удалении от апикальной меристемы побега (приблизительно в тринадцатой мутовке). Однако сформировав две–три мутовки листьев и зачаток корня, она вновь приостанавливает свое функционирование (рис. 5 H, I, P, R). Вероятно,

“доразвитие” почек *E. fluviatile* происходит уже после начала роста побегов. У обоих хвощей развивающиеся почки “прорывают” основание мутовки, но при этом у *E. sylvaticum*, в отличие от *E. fluviatile*, разрывается на две части и листовая пластинка (рис. 5 J–L). С дальнейшим развитием почки коррелирует более активный рост адаксиальной части листовой пластинки, которая на сформированном побеге почти в два раза выше абаксиальной части пластинки и имеет коричневую окраску (рис. 1 С).

Таким образом, элементарный метамер обоих видов хвощей состоит из мутовки сросшихся оснований листьев и мутовки почек, эндогенно возникающих между листовыми пластинками в пазухе основания листовой мутовки. Тот факт, что на лежащих или располагающихся под землей частях надземных побегов обоих хвощей также имеются мутовки чешуевидных листьев, хотя и более мелкие по сравнению с надземными побегами, отсутствуют ветви, но присутствуют мутовки корней (рис. 1 D, H), косвенно свидетельствует о том, что на надземных побегах в рост трогаются зачатки почек, а на подземных — корней.

РАЗВИТИЕ ЛИСТЬЕВ: РЕГУЛЯТОРНЫЕ АСПЕКТЫ

Гомологи *ARP*

Гомологи генов *ARP*, кодирующих у цветковых растений регуляторы развития адаксиального домена листа, относятся к семейству MYB (миелобластомы птиц) — одному из самых больших семейств генов эукариот. По числу и топологии аминокислотных повторов это семейство делится на несколько групп, и единственный гомолог *ARP* у *Arabidopsis thaliana* относится к группе белков с повторами (repeats) R2 и R3, называемую R2R3-MYB белками и включающую кроме него еще около 170 достаточно близких по доменной структуре белков, (Hernández-Hernández et al., 2021). Наличие в разных таксонах растений гомологов ТФ *ARP* дискуссионно. Так, гомолог *ARP* выявлен у разноспоровых плауновидных *Selaginella kraussiana* (Harrison et al., 2005), *S. viticulosa*, *S. selaginoides* и *S. willdenowii* (Hernández-Hernández et al., 2021), но отсутствует у равноспорового плауновидного *Huperzia selago* (Evkaikina et al., 2017). Гомолог *ARP* не был обнаружен в геноме *Picea abies* (Nystedt et al., 2013), однако позже был выявлен у нее и у ряда других хвойных растений, что было подтверждено и данными о его экспрессии (Du et al., 2020). Иммунолокализация антител к белку *ARP* кукурузы выявила наличие данного ТФ в листьях папоротниковидного *Osmunda regalis* L. (Harrison et al., 2005), однако позже на примере ряда других папоротниковидных было убедительно показано, что не все белки MYB,

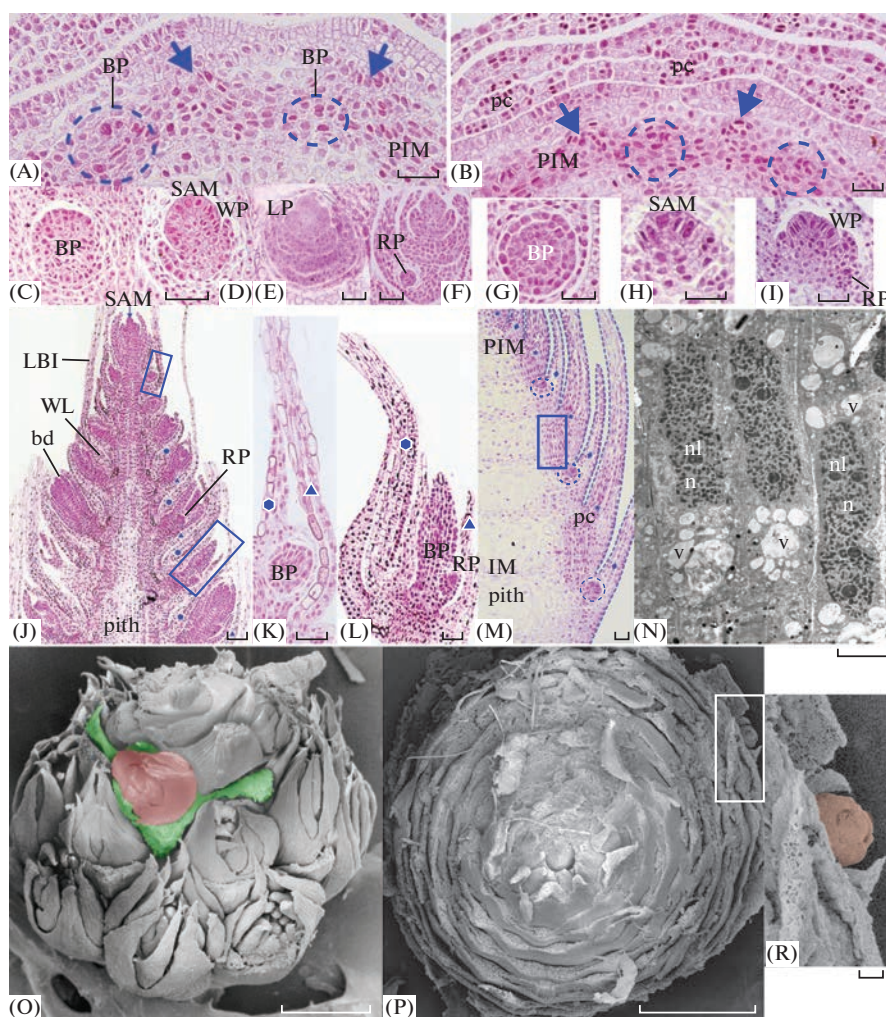


Рис. 5. Заложение и развитие почек.

Поперечный срез периферической части стебля *E. sylvaticum* (A) и *E. fluviatile* (B); последовательные стадии развития почек *E. sylvaticum* (C–F) и *E. fluviatile* (G–I) на их продольных срезах; продольный срез апекса побега *E. sylvaticum* с почками, находящимися на разных стадиях развития (J) и продольные срезы отдельных почек (K, L); продольный срез апекса побега *E. fluviatile* с почками, находящимися на разных стадиях развития (M) и ультраструктура клеток периферической части его интеркалярной меристемы (N); общий вид вегетативных почек *E. sylvaticum* (O) и *E. fluviatile* (P, R) с несколькими десятками метамеров. RP – зачаток корня. Стрелки указывают на дифференцирующийся прокамбий листовых следов; в овал на (A) и (B) обведены группы делящихся клеток будущих зачатков почек, на (M) – зачатки почек; стрелки указывают на дифференцирующийся прокамбий листовых следов; пунктиром на (M) обведены основания листьев; рамками на (J) обозначены почки, срезы которых на большем увеличении приведены на (K) и (L); на (J–L) шестигранником обозначена адаксиальная часть листовой пластинки, а треугольником – ее абаксиальная часть; рамкой на (M) обозначен фрагмент апикальной меристемы побега ультраструктура клеток которого проиллюстрирована на (N); звездочками на (M) обозначены клетки основания мутовки, располагающиеся под листовыми пластинками, шестигранниками – клетки основания мутовки, располагающиеся между листовыми пластинками; на (O–R) мутовки листьев отрезаны, видны их перерезанные основания; (O) одна из почек окрашена красным, а лист, разделенный почкой на две части – зеленым; на (R) одна из почек окрашена красным. Остальные обозначения как на рис. 1–3. Масштабные линейки, мкм: A–M – 20, N – 5, O – 200, P – 500, R – 50.

Fig. 5. Origin and development of buds.

Transversal sections of the peripheral part of stem of *E. sylvaticum* (A) and *E. fluviatile* (B); successive stages of bud development in *E. sylvaticum* (C–F) and *E. fluviatile* (G–I) on their longitudinal sections; longitudinal section of *E. sylvaticum* shoot apex showing buds on different developmental stages (J) and close-ups of longitudinal sections of two buds (K, L); longitudinal section of *E. fluviatile* shoot apex showing buds on different developmental stages (M) and ultrastructure of cells of the peripheral part of its intercalary meristem (N); total view of vegetative buds of *E. sylvaticum* (O) and *E. fluviatile* (P, R) with several dozens of phytomers. RP – root primordium. Arrows point to differentiating procambium of leaf traces; circled by dashed lines are groups of proliferating cells of emerging bud primordia in (A) and (B), bud primordia in (M); arrows point to differentiating procambium of leaf traces; bases of leaves in (J) are outlined by dashed lines; frames in (J) outline buds which close-ups are given in (K) and (L); in (J–L) hexagons mark adaxial part of leaf blade, triangle – its abaxial part; frame in (M) outlines the fragment of the shoot apical meristem which ultrastructure is illustrated in (N); asterisks in (M) denote the cells of the whorl base that are located beneath leaf blades, denote the cells of the whorl base that are located between leaf blades; leaf blades in (O–R) are cut off showing their bases; (O) one of the buds is coloured in red, the leaf separated into two parts by the bud is coloured in green; in (R) one of the buds is coloured in red. Other symbols as in Figs. 1–3. Scale bars, μm : A–M – 20, N – 5, O – 200, P – 500, R – 50.

обладающие, как и ТФ ARP, консервативными доменами R2R3, являются его гомологами (Hernández-Hernández et al., 2021). В этом исследовании были выявлены специфические мотивы, которые отличают гомологи ARP от остальных сходных с ними белков R2R3-МҮВ. На основании выявленных различий в доменной структуре было установлено, что белки R2R3-МҮВ лептоспорангиатных папоротниковидных *Azolla pinnata*, *Salvinia cucullata* и *Ceratopteris richardii* и моховидного *Physcomitrium patens* (Bryophyta) не являются гомологами ТФ ARP (Hernández-Hernández et al., 2021). Мы решили использовать описанные в данной работе методики для поиска гомологов ARP в транскриптомах хвощовых *Equisetum diffusum* и *E. hyemale*. В качестве контроля правильности определения доменной структуры белков R2R3-МҮВ и достоверности полученных результатов были также использованы последовательности *Marchantia polymorpha*, *Physcomitrium patens*, *Selaginella moellendorffii*, *Azolla filiculoides*, *Ceratopteris richardii*, *Picea abies* и *Arabidopsis thaliana*, геномы которых были ранее проанализированы Hernández-Hernández с соавт. (2021) (рис. 6). Для того чтобы судить о вероятных возникновении и утрате гомологов ARP в разных таксонах растений, в анализ были также включены белки R2R3-МҮВ, найденные нами в транскриптом папоротниковидного *Psilotum nudum*, а также в геномах моховидных *Anthoceros agrestis* и *A. punctatus*, лептоспорангиатных папоротниковидных (рис. 6 А). Анализ доменной структуры этих белков МҮВ с доменами R2R3 (рис. 6 А–D) показал, что, как и изученные ранее белки трех лептоспорангиатных папоротников (Hernández-Hernández et al., 2021), проанализированные в настоящем исследовании белки хвощовых, а также *Psilotum nudum*, *Adiantum capillus-veneris* и *Alsophila spinulosa* отличаются от белков ARP. Наряду с консервативными доменами 1, 2, 3 и 4 (рис. 6 А, В) с доменом 2 у них граничит домен 5, тогда как у белков ARP — домен 7 (рис. 6 С, D; табл. 2). Таким образом, отсутствие гомологов ARP — общая черта для всех папоротниковидных. Гомологи ARP также не были обнаружены в геномах моховидных *Anthoceros agrestis* и *A. punctatus* и плауновидных *Diphasiastrum complanatum* и *Isoetes taiwanensis*, но были обнаружены в геноме моховидного *Marchantia polymorpha* (рис. 6 А, D).

Гомологи *C3HDZ* и *KANADI*

Гены *C3HDZ*, кодирующие у цветковых растений регуляторы развития адаксиального домена листа (палисадного мезофилла, ксилемы в жилках листа и пазушных почек), и гены *KANADI*, кодирующие регуляторы развития абаксиального домена (губчатого мезофилла и флоэмы в жилках листа), представлены у модельного цветкового растения *Arabidopsis thaliana* пятью и четырьмя го-

мологами соответственно (Vasco et al., 2016; Zumajo-Cardona et al., 2019) (табл. 2).

Ранее гомологи обоих генов были выявлены нами (Romanova et al., 2023) в геномах и транскриптомах моховидных и плауновидных; гомологи *C3HDZ* были также выявлены у стрептофитовых водорослей (табл. 2) (Floyd et al., 2006). В рамках настоящего исследования в транскриптомах *Equisetum diffusum* и *E. hyemale* было обнаружено несколько новых гомологов *C3HDZ* и *KANADI*, которые не были выявлены ранее (Vasco et al., 2016; Zumajo-Cardona et al., 2019) (табл. 2). Так, у *Equisetum diffusum* вероятно наличие семи гомологов *C3HDZ*; у *E. hyemale* — более десяти. Пять гомологов *C3HDZ* и два гомолога *KANADI* было обнаружено у *Psilotum nudum* (табл. 2). Число обнаруженных в ходе настоящего исследования гомологов генов, кодирующих ТФ *C3HDZ* в геномах лептоспорангиатных папоротниковидных *Azolla pinnata*, *Salvinia cucullata*, *Ceratopteris richardii*, *Adiantum capillus-veneris*, *Marsilea vestita* и *Alsophila spinulosa*, варьировало от семи до семнадцати, существенно превышая таковое у представителей других таксонов растений (табл. 2). Число гомологов *KANADI* варьировало от двух до шести, что примерно соответствует таковому у плауновидных и семенных растений (табл. 2). Можно предположить, что большое число возможных гомологов *C3HDZ* у хвощовых и лептоспорангиатных папоротников может являться результатом их дубликации и последующей специализации у общего предка этого класса, поскольку обе эти группы являются древними полиплоидами (Vanneste et al., 2015; Chen et al., 2023).

Наличие гомологов *C3HDZ* и *KANADI* у представителей всех таксонов высших растений как гаметофитной, так и спорофитной линии эволюции указывает на то, что они, вероятно, уже имелись у общего предка всех высших растений. Присутствие гомологов генов, кодирующих ТФ *C3HDZ*, у стрептофитовых водорослей свидетельствует о том, что данные ТФ возникли до выхода растений на сушу (табл. 2).

Все включенные в анализ лептоспорангиатные папоротниковидные имеют биколлатеральные жилки листа, но различаются по строению мезофилла: недифференцированного на палисадный и губчатый у *Azolla pinnata* (Lumpkin, Plucknett, 1980) и дифференцированного у *Salvinia cucullata* (Croxdale, 1978), *Ceratopteris richardii* (Hou, Hill, 2004) и *Alsophila spinulosa* (Huang et al., 2022). Листья хвощовых и псилотовых состоят только из губчатого мезофилла и лишены проводящих тканей (табл. 1). Таким образом, наличие и число гомологов генов, кодирующих ТФ *C3HDZ* и *KANADI* у хвощовых, псилотовых и лептоспорангиатных папоротниковидных, не отражает специфику анатомии их листьев.

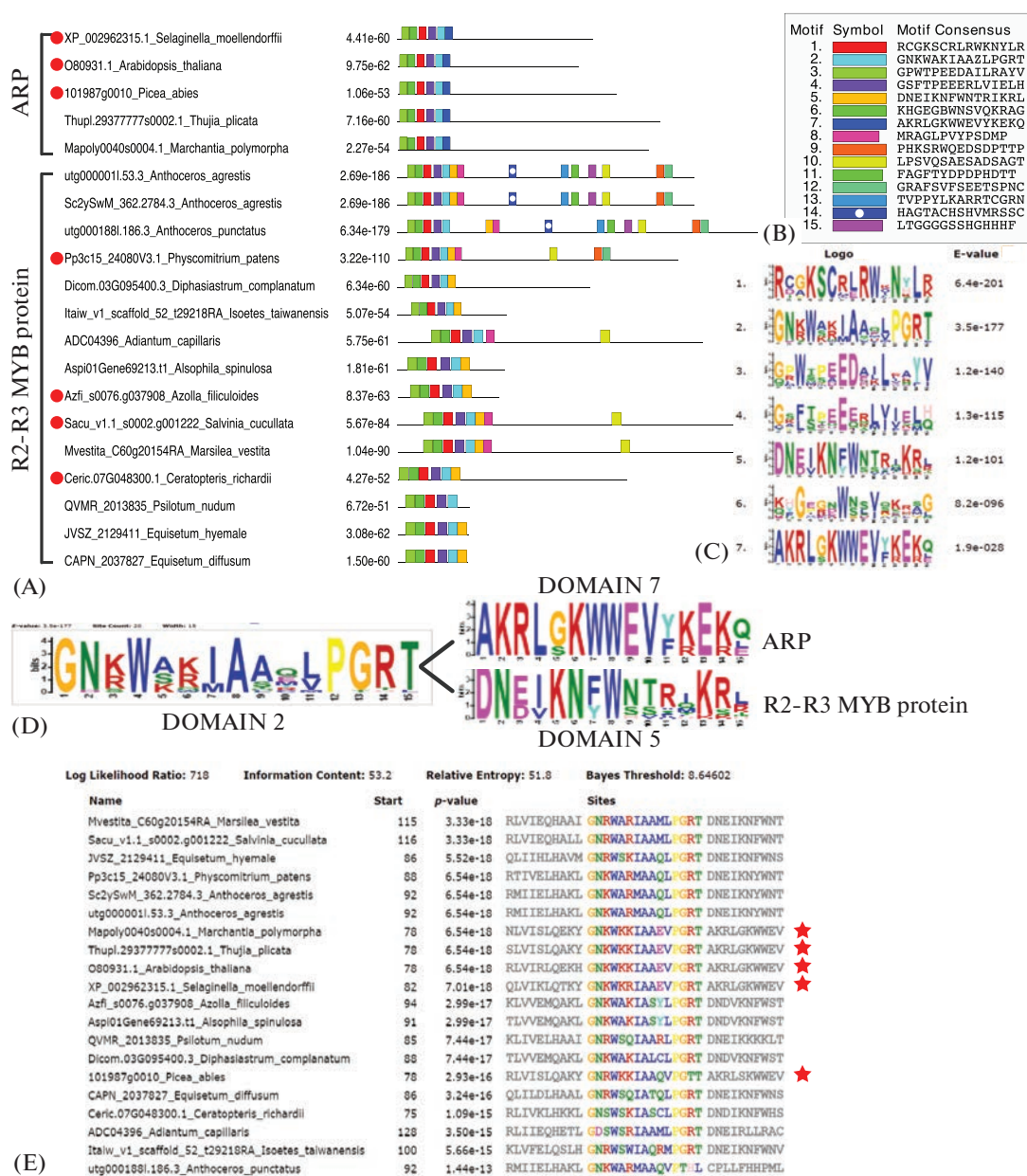


Рис. 6. Результаты поиска гомологов ТФ ARP, регулирующих развитие адаксиального домена листа.

A – Доменная организация выявленных в геномах плауновидных и папоротниковидных R2-R3 MYB белков. Красной точкой отмечены последовательности, ранее использованные в анализе Hernandez-Hernandez с соавт. (2021). **B** – цветовые обозначения консенсусных последовательностей, идентифицированных с помощью алгоритма MEME. Были использованы такие же параметры алгоритма MEME, как в работе Hernandez-Hernandez с соавт. (2021): zero or one occurrence per sequence (zoops), 15 мотивов, длина мотива 10–15 аминокислот. **C** – аминокислотные последовательности доменов 1, 2, 3, 4, 5, 6 и 7. Домены 1–4 и 6 присутствуют у всех R2-R3 белков на (A), домены 5 и 7 альтернативно граничат с доменом 2 (D). Белки, у которых домен 2 граничит с доменом 7 являются гомологами ARP, а те R2-R3 MYB белки, у которых домен 2 граничит с доменом 5 – не являются. **E** – фрагмент аминокислотной последовательности R2-R3 белков с MYB-доменом. В домене 2 аминокислоты окрашены в те же цвета, что и на (C) и (D). Неокрашенная аминокислотная последовательность домена 7, граничащая справа с доменом 2, отмечена звездочкой; в остальных случаях неокрашенные аминокислотные последовательности представляют собой домен 5.

Fig. 6. Results of search for homologues of ARP TFs that regulate the development of the leaf adaxial domain.

A – Domain organization of R2-R3 proteins MYB proteins identified in the genomes of lycopohytes and ferns. Red dots indicate sequences that were previously used in the analysis by Hernandez-Hernandez et al. (2021). **B** – Color codes for consensus sequences identified using the MEME algorithm. In the MEME algorithm the same parameters were used as in the work of Hernandez-Hernandez et al. (2021): zero or one occurrence per sequence (zoops), 15 motifs, motif length 10–15 amino acids. **C** – amino acid sequences of domains 1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7. Domains 1–4 and 6 are present in all R2-R3 proteins on (A), domains 5 and 7 alternatively border domain 2 (D). Proteins in which domain 2 borders domain 7 are ARP homologues, while those R2-R3 MYB proteins in which domain 2 borders domain 5 are not. **E** – fragment of the amino acid sequence of R2-R3 MYB proteins. In domain 2, the amino acids are coloured in the same colors as in (C) and (D). Unstained amino acid sequence 7 bordering domain 2 on the right is marked with an asterisk; otherwise, unstained amino acid sequences represent domain 5.

Таблица 2. Результаты поиска гомологов генов, которые кодируют транскрипционные факторы, регулирующие у цветковых растений функционирование маргинальной (WOX3) и пластинчатой (WOX1) меристем, а также развитие адаксиального (ARP, C3HDZ) и абаксиального (YABBY и KANADI) доменов листа

Table 2. Results of search for homologues of genes encoding transcription factors that regulate functioning of marginal (WOX3) and plate (WOX1) meristems, and differentiation of adaxial (ARP, C3HDZ) and abaxial (YABBY и KANADI) leaf domains in angiosperms

Таксон/ Taxon	Модельный представитель/ organism	WOX	ARP	C3HDZ	YABBY	KANADI
Streptophyte algae		<i>Micromonas pusilla</i> (3)	отсутствуют/ absent	<i>Chara corallina</i> (1), <i>Nitella mirabilis</i> (1) <i>Klebsormidium flaccidum</i> (1)	<i>Chloropicon primus</i> (1) <i>Micromonas pusilla</i> (2) <i>Micromonas commoda</i> (2)	сведения отсутствуют/ no information
Marchantiophyta	<i>Marchantia polymorpha</i>	1 (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/)	1 (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/)	1 (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/) , Bowman et al., 2017	отсутствуют/ absent	1 (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/)
Antocero- phyta	<i>Anthoceros agrestis</i>	4 (https://www.hornworts.uzh.ch/en.html , Li et al., 2020)	отсутствуют/ absent	1 (4) (https://www.hornworts.uzh.ch/en.html , Li et al., 2020)	1 (https://www.hornworts.uzh.ch/en.html , Li et al., 2020)	1 (2) (https://www.hornworts.uzh.ch/en.html , Li et al., 2020)
	<i>Anthoceros punctatus</i>	4 (https://www.hornworts.uzh.ch/en.html , Li et al., 2020)	отсутствуют/ absent	1 (8) (https://www.hornworts.uzh.ch/en.html , Li et al., 2020)	1 (https://www.hornworts.uzh.ch/en.html , Li et al., 2020)	1 (https://www.hornworts.uzh.ch/en.html , Li et al., 2020)
Bryophyta	<i>Physcomitrium patens</i>	2 (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/)	отсутствуют/ absent	5 (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/)	отсутствуют/ absent	3 (6) (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/ , https://phytozome-next.jgi.doe.gov/)
Lycopodiales, Lycophyta	<i>Diphasiastrum complanatum</i>	8 (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/)	отсутствуют/ absent	5 (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/)	1 (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/)	3 (4) (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/)
	<i>Huperzia selago</i>	сведения отсутствуют/но information	не найдены/ not found	3 (https://db.cngb.org/onekp/ , Vasco et al., 2016)	1 (Evkaikina et al., 2017, NCBI)	1 (https://db.cngb.org/onekp/ , Zumajo-Cardona, Ambrose, 2020)

Таксон/ Taxon	Модельный представитель/ organism	<i>WOX</i>	<i>ARP</i>	<i>C3HDZ</i>	<i>YABBY</i>	KANADI
Selaginellales, Lycophyta	<i>Selaginella moellendorffii</i>	5 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)	1 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)	3 (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/)	отсутствуют/ absent	3 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/ , https://phytozome-next.jgi.doe.gov/)
	<i>Selaginella kraussiana</i>	8 (https://db.cngb.org/onekp/)	1 (Harrison et al., 2005; Hernandez-Hernandez et al., 2021)	3 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/ , https://phytozome-next.jgi.doe.gov/)	не найдены/ not found	сведения отсутствуют/ no information
Isoetales, Lycophyta	<i>Isoetes taiwanensis</i>	5 (https://genomerevolution.org/coge/Wickell et al, 2021)	отсутствуют/absent	2 (7) (https://genomerevolution.org/coge/Wickell et al, 2021)	не найдены/ not found	4 (6) (https://genomerevolution.org/coge/Wickell et al, 2021)
Equisetidae, Polypodiophyta	<i>Equisetum diffusum</i>	1 (https://db.cngb.org/onekp/ , Wu et al., 2019)	не найдены/ not found	2 (7) (https://db.cngb.org/onekp/ , Vasco et al., 2016, NCBI)	не найдены/ not found	3 (4) (https://db.cngb.org/onekp/ , Zumajo-Cardona et al., 2019)
	<i>Equisetum hyemale</i>	4 (https://db.cngb.org/onekp/)	не найдены/ not found	2 (18) (https://db.cngb.org/onekp/ , Vasco et al., 2016)	не найдены/ not found	3 (5) (https://db.cngb.org/onekp/ , Zumajo-Cardona et al., 2019)
	<i>Equisetum arvense</i>	2 (Xia et al., 2022)	сведения отсутствуют/ no information	сведения отсутствуют/ no information	сведения отсутствуют/ no information	сведения отсутствуют/ no information
Ophioglossidae, Polypodiophyta	<i>Psilotum nudum</i>	8 (Xia et al., 2022, 1KP)	не найдены/ not found	5 (6) (NCBI)	не найдены/ not found	2 (https://db.cngb.org/onekp/ , Zumajo-Cardona, Ambrose, 2020)

Таксон/ Taxon	Модельный представитель/ organism	<i>WOX</i>	<i>ARP</i>	<i>C3HDZ</i>	<i>YABBY</i>	KANADI
Polypodiidae, Polypodio- phyta	<i>Osmunda</i> sp.	3 (https://db.cngb.org/onekp/ , Wu et al., 2019)	сведения отсут- ствуют/ no information	3 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/) <i>O. regalis</i>	не найдены/ not found	1 (https://db.cngb.org/onekp/ , Zumajo-Car- dona et al., 2019) <i>O. regalis</i>
	<i>Alsophila spinu- losa</i>	10-11 (https://fernbase.org/)	не найдены/ not found	11 (17) (https://fernbase.org/)	не найдены/ not found	1 (6) (https://fernbase.org/)
	<i>Adiantum capil- lus-veneris</i>	7 (https://fernbase.org/)	не найдены/ not found	5 (7) (https://fernbase.org/)	не найдены/ not found	3 (4) (https://fernbase.org/)
	<i>Ceratopteris richardii</i>	13 [5] (или даже больше, очень много похожих последова- тельностью) (NCBI, Nard- mann, Werr, 2012, Phyto- zome)	не найдены/ not found	7 (12) (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/)	не найдены/ not found	2 (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/)
	<i>Marsilea vestita</i>	3 (https://fernbase.org/ , Wu et al., 2019)	не найдены/ not found	6 (17) (https://fernbase.org/)	не найдены/ not found	2 (4) (https://fernbase.org/)
	<i>Salvinia cucul- lata</i>	5 (https://fernbase.org/)	не найдены/ not found	4 (11) (https://fernbase.org/)	не найдены/ not found	2 (3) (https://fernbase.org/)
	<i>Azolla filiculoi- des</i>	7 [8] (Fern- Base, Wu et al., 2019)	не найдены/ not found	4 (9) (https://fernbase.org/)	не найдены/ not found	2 (3) (https://fernbase.org/)
Pinopsida, Pinophyta	<i>Thuja plicata</i>	12 (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/)	1 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)	2 (5) (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/)	4 (5) (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/)	3 (5) (https://phytozome-next.jgi.doe.gov/)
	<i>Picea abies</i>	19 (https://plantgenie.org/)	1 (https://plantgenie.org/ , Her- nandez- Hernandez et al., 2021)	5 (17) (https://plantgenie.org/)	3 или 4 (https://plantgenie.org/); Finet et al., 2016	3 (4) (https://plantgenie.org/)

Таксон/ Taxon	Модельный представитель/ organism	<i>WOX</i>	<i>ARP</i>	<i>C3HDZ</i>	<i>YABBY</i>	KANADI
Magnolio- phyta	<i>Arabidopsis thaliana</i>	15 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)	1 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)	5 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)	6 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)	4 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)

Примечание. Результаты основаны на геномных данных за исключением Equisetales и Psilotales, для которых ввиду отсутствия геномных данных, были использованы данные транскриптомов. В каждой ячейке приведено число гомологов и ссылка на базу данных или публикацию, из которых были взяты данные геномов и транскриптомов. В случае отсутствия гомологов в геномах используется формулировка “отсутствуют”, при отсутствии гомологов в транскриптомах используется формулировка “не найдены”. В круглых скобках указано количество предсказанных InterProScan белков, исключая повторяющиеся последовательности, незначительно отличающиеся друг от друга несколькими аминокислотными остатками или полностью идентичные. В квадратных скобках приведено количество гомологов, основанное на статье Wu с соавт. (2019). Сведения о наличии/отсутствии гомологов перечисленных выше генов у стрептофитовых водорослей (инфрацарство Streptophyta) приведены для оценки предполагаемого времени возникновения проанализированных генов в эволюции растений. Сведения о наличии/отсутствии гомологов перечисленных выше генов у моховидных (Anthoceroophyta, Marchantiophyta, Bryophyta) приведены для того, чтобы судить о вероятных возникновении и утрате гомологов перечисленных ТФ в разных таксонах растений. Названия растений и сведения об их гомологах, основанные на геномных данных выделены жирным шрифтом.

Note. Results are based only on genomic data with the exception of Equisetales and Psilotales in which because of the lack of genomic data, the data from transcriptomes were used. Each cell contains the number of homologues and a link to the database or publication from which the genome and transcriptome data were taken. In the absence of homologues in the genomes, the wording “absent” is used; in the absence of homologues in the transcriptomes, the wording “not found” is used. Numerals in parentheses indicate the number of proteins predicted by InterProScan, excluding repeating sequences that differ from each other only by a few amino acid residues or are completely identical. Numbers of homologues based on Wu et al. (2019) are given in square brackets. Information on the presence/absence of homologues of the genes listed above in streptophyte algae (infrakingdom Streptophyta) is given to estimate the time of occurrence of the analyzed genes in plant evolution. Information on the presence/absence of homologues of the above genes in bryophytes (Anthoceroophyta, Marchantiophyta, Bryophyta) is given in order to judge the probable occurrence and loss of homologues of the listed TFs in different plant taxa. Plant names and information about their homologues based on genomic data are in bold.

Наличие и число гомологов *C3HDZ* и *KANADI* у плауновидных, так же как и у папоротниковидных, не коррелирует с анатомией листьев (табл. 1). Мезофилл у всех плауновидных не дифференцирован на палисадный и губчатый, но различается по расположению проводящих тканей: амфикрибральные жилки листа характерны для *Diphasiastrum complanatum* (Lycopodiales) и *Selaginella moellendorffii* (Selaginellales) (Gifford, Foster, 1989), а коллатеральные – для *Isoetes taiwanensis* (Isoetales) (Liu et al., 2006).

Наличие гомологов генов, кодирующих ТФ *C3HDZ* и *KANADI* у растений с доминированием гаметофита и спорофита, у последних с мезофиллом как дифференцированным, так и недифференцированным на палисадный и губчатый; с радиальной и дорсовентральной симметрией жилок листьев, а также с листьями, лишенными проводящих тканей (табл. 1), позволяет предположить, что набор программ, регулируемых данными ТФ, может различаться в разных таксонах высших растений.

Гомологи *YABBY*

Гомологи генов, кодирующих ТФ *YABBY*, которые у цветковых растений регулируют развитие адаксиального домена листа и играют важную роль в возникновении маргинальной меристемы, не были обнаружены ни в транскриптомах хво-

щевых, ни в геномах других папоротниковидных (табл. 1, 2). Таким образом, единственные известные к настоящему времени для несемennых растений гомологи выявлены лишь в геномах гаметофита моховидного *Anthoceros agrestis* (Li et al., 2020) и спорофита равноспорового плауновидного *Diphasiastrum complanatum* (Romanova et al., 2023), а также в транскриптомах спорофитов равноспоровых плауновидных *Huperzia selago* (Evkaikina et al., 2017), *H. serrata* (Yang et al., 2017) и *Phylloglossum drummondii* (Romanova et al., 2023) (табл. 1, 2). Мезофилл листьев всех этих плауновидных не дифференцирован на палисадный и губчатый, жилки листа коллатеральные со слабо развитой флоэмой (табл. 1). Экспрессия *HsYABBY* не приурочена к абаксиальному домену, но маркирует все клетки зачатков листьев *H. selago* (Evkaikina et al., 2017). Все эти факты свидетельствуют о том, что хотя ТФ *YABBY* появились задолго до возникновения семенных растений, они, вероятно, не играли роли в регуляции развития абаксиального домена листа у плауновидных.

Филогения *WOX* и гомологи из кланды Т3 у несемennых растений

Семейство *WOX*, наряду с генами, кодирующими регуляторы маргинальной и пластинчатой меристем листа, включает еще ряд генов с другими функциями (Hedman et al., 2013; Nardmann,

Werr, 2013). Например, в геноме *Arabidopsis thaliana* имеется пятнадцать гомологов *WOX* (van der Graaff et al., 2009) (табл. 2). Традиционно это генное семейство подразделяли на древнюю, промежуточную и современную клады. Регуляторы маргинальной (*WOX3*) и пластинчатой (*WOX1*) меристем листа, а также апикальных меристем побега (*WUS*) и корня (*WOX5*) относились к современной кладе (Hedman et al., 2013; Nardmann, Werr, 2013). Однако недавно взгляды на филогению этого генного семейства существенно изменились. Было установлено (Wu et al., 2019), что выделение древней, промежуточной и современной клад неверно, так как все три эти клады возникли одновременно. На основании этого в современной классификации *WOX* выделяют кладу Т1 (приблизительно соответствующую бывшей древней кладе) и кладу Т3 (приблизительно соответствующую современной кладе в предыдущей классификации). При этом существенно пересмотрен объем клады Т2 (только частично соответствующей бывшей промежуточной кладе), а также топология всех трех клад (Wu et al., 2019). Так, показано, что клада Т3, включающая гомологи регуляторов маргинальной и пластинчатой меристем листа, возникла в результате дубликации клады, предковой для клад Т2 и Т3, которая произошла у общего предка всех высших растений спорофитной линии эволюции, а клада Т2 была впоследствии утеряна у всех несеманных растений (Wu et al., 2019). Из современной топологии следует, что некоторые гомологи *WOX* несеманных растений, которые традиционно относились к промежуточной кладе (Hedman et al., 2013; Nardmann, Werr, 2013), являются предковыми для клады Т3, в то время как другие входят в кладу Т1. Особое место в этой филогении занимают некоторые гомологи плауновидного *Selaginella moellendorffii*, которые рассматриваются в качестве сестринских к кладе Т3. Хотя филогения, подразделяющая ТФ *WOX* на клады Т1, Т2, Т3 и предковую для Т2 и Т3 (Wu et al., 2019), является общепринятой, она включает очень ограниченное число гомологов *WOX* несеманных растений, из которых всего три (*Selaginella moellendorffii*, *Isoetes taiwanensis* и *Ceratopteris richardii*) основаны на геномных данных. Отнесение гомологов *WOX* из транскриптома псилотовых к более не выделяемой промежуточной кладе (Xia et al., 2022) также требует пересмотра в рамках современной филогении.

Проведенный нами поиск гомологов генов, кодирующих ТФ *WOX*, показал, что в дополнение к выявленным ранее (Wu et al., 2019) они имеются во всех доступных геномах лептоспорангиатных папоротниковидных: *Adiantum capillus-veneris* и *Alsophila spinulosa*, *Marsilea vestita*, а также в транскриптомах хвощовых *Equisetum diffusum*, *E. giganteum* и *E. hyemale*, в транскриптоме *Psilotum nudum*, а также в геномах моховидных *Anthoceros agrestis* и

A. punctatus, *Physcomitrium patens*, плауновидных *Diphasiastrum complanatum* и *Isoetes taiwanensis*, и хвойного *Thuja plicata* (табл. 2; рис. 7). Число гомологов для каждого из проанализированных видов представлено в табл. 2. Для прояснения вопроса о положении выявленных гомологов в современной системе *WOX* была реконструирована филогения данных ТФ с привлечением последовательностей, использованных ранее (Wu et al., 2019; Romanova et al., 2023) гомологов моховидных *Anthoceros agrestis*, *A. punctatus*, *Physcomitrium patens*, плауновидных *Selaginella moellendorffii*, *Isoetes taiwanensis*, папоротниковидного *Ceratopteris richardii* и цветкового *Arabidopsis thaliana* в качестве маркеров Т1, Т2 и Т3 клад и клады, предковой для Т2 и Т3 (рис. 7). Было выявлено, что некоторые гомологи *Equisetum hyemale*, *Azolla pinnata*, *Salvinia cucullata*, *Adiantum capillus-veneris*, *Alsophila spinulosa* и *Thuja plicata* относятся к кладе Т3 (рис. 7) наряду с отнесенными к этой кладе ранее (Wu et al., 2019) гомологами *Ceratopteris richardii*, *Picea abies*, а также *WUS*, *WOX1–WOX7 Arabidopsis thaliana*. Другие гомологи *Equisetum hyemale* и *E. giganteum*, *Azolla pinnata*, *Salvinia cucullata*, *Adiantum capillus-veneris* и *Alsophila spinulosa*, а также гомологи *Psilotum nudum* и *Diphasiastrum complanatum* являются предковыми для клад Т2 и Т3 (рис. 7), так же как и отнесенные к этой группе ранее (Wu et al., 2019) некоторые гомологи *Selaginella moellendorffii*, *Isoetes taiwanensis* и *Ceratopteris richardii*. Ряд гомологов *Equisetum diffusum*, *E. giganteum*, *E. hyemale* и *Psilotum nudum*, относятся к кладе Т1 наряду с отнесенными к этой кладе ранее (Wu et al., 2019; Romanova et al., 2023) гомологами *Anthoceros agrestis*, *A. punctatus*, *Physcomitrium patens*, *Diphasiastrum complanatum*, *Selaginella moellendorffii*, *Isoetes taiwanensis* и *Ceratopteris richardii*, а также *WOX10*, *WOX13* и *WOX14 Arabidopsis thaliana* (рис. 7). На основании того, что некоторые из выявленных нами у *Equisetum hyemale* и лептоспорангиатных папоротниковидных гомологов *WOX* относятся к Т3 кладе, а также того, что один из гомологов *Ceratopteris richardii* был отнесен к кладе Т3 Wu с соавт. (2019), можно предположить, что гомологи *WOX* из данной клады возникли у общего предка папоротниковидных. Тот факт, что в транскриптоме *Equisetum diffusum* не был выявлен ни один из гомологов, относящихся к кладе Т3, может отражать низкий уровень экспрессии генов, кодирующих данный ТФ, или выделение РНК из верхушек их генеративных, а не вегетативных побегов, или сбор материала после завершения морфогенеза.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что апикальная меристема *E. sylvaticum* и *E. fluviatile* относится к моноплексному структурному типу, так

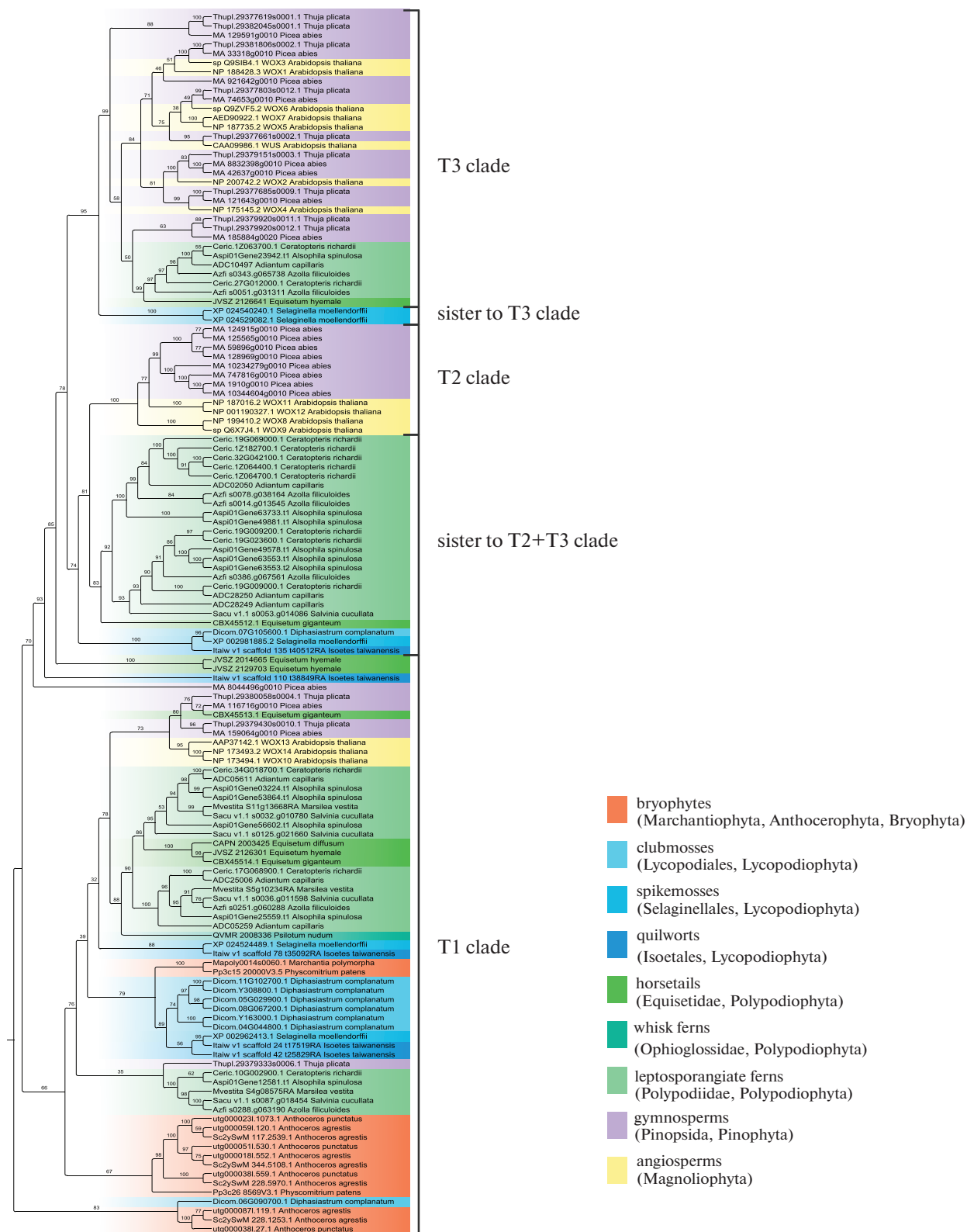


Рис. 7. Реконструкция филогении ТФ WOX методом максимального правдоподобия.

В качестве внешних групп использованы гомологи моховидных. Границы клад Т1, Т2, Т3 и сестринских для клады Т3 и клад Т2+Т3 обозначены скобками справа.

Fig. 7. Reconstruction of WOX TFs phylogeny by maximum likelihood method.

Clades T1, T2, T3 and sister to T3 clade and T2+T3 clades are limited by brackets and labeled on the right. Bryophytes are used as an outgroup.

же как у большинства папоротниковидных и у плауновидных из порядка Selaginellales (Gifford, Foster, 1989; Imaichi, Hiratsuka, 2007; Romanova et al., 2010, 2022). Высокая плотность плазмодесм в апикальной меристеме *E. fluviatile* сходна с таковой в меристемах моноплексного типа лептоспорангиатных папоротниковидных, псилотовых и плауновидных (Imaichi, Hiratsuka, 2007; Naumenko, Romanova, 2008; Romanova et al., 2022) и может рассматриваться в качестве дополнительного аргумента в поддержку гипотезы о связи между способом формирования плазмодесм и структурным типом апикальной меристемы (Cooke et al., 1996; Imaichi, Hiratsuka, 2007). В то же время выявленные у *E. fluviatile* относительно невысокая степень вакуолизации и структурная однородность клеток зоны поверхностных инициалей, наличие в их пластидах единичных крахмальных зерен и единичных липидных капель в цитоплазме более сходны со строением клеток этой зоны моноплексной апикальной меристемы плауновидного *Selaginella kraussiana*, чем лептоспорангиатных папоротниковидных (Romanova et al., 2022). Сильная вакуолизация поверхностных инициалей последних и наличие в них большого количества крахмала и липидов, характерные для меристематических клеток в состоянии покоя (Koteeva, 1997), косвенно свидетельствуют о невысокой меристематической активности этих клеток у последних. Поскольку листья у хвощовых, так же как у папоротниковидных и плауновидных, образуются из поверхностных инициалей (Romanova et al., 2010), сходство в строении клеток этой зоны у *E. fluviatile* и *S. kraussiana* и отличие от такового у лептоспорангиатных папоротниковидных могут быть связаны со специфической органогенной ритмики представителей этих таксонов. Действительно, в апикальной меристеме хвощовых (рис. 5 Р) и плауновидных (Harrison et al., 2005, 2007) без периода покоя образуется несколько десятков листьев, тогда как у лептоспорангиатных папоротниковидных — от одного до семи листьев в год (Romanova et al., 2022). Сходные особенности в строении клеток апикальной меристемы и органогенной ритмике наряду с небольшими размерами листьев у плауновидных и хвощовых могут также свидетельствовать о сходстве в регуляции органогенеза в этих двух группах растений. Однако сравнение транскриптомов моноплексных апикальных меристем хвощового *E. arvense* и плауновидного *S. moellendorffii* показало, что они настолько существенно различаются, что каждый из них более сходен с транскриптомом меристемы *Arabidopsis thaliana*, т.е. представителя другого отдела высших растений (Frank et al., 2015). Таким образом, молекулярно-генетические данные не поддерживают точку зрения о сходной регуляции органогенеза в моноплексных

апикальных меристемах побегов плауновидных и хвощовых.

С другой стороны, различия в строении клеток апикальной меристемы, органогенной ритмике и морфологии листьев хвощовых и лептоспорангиатных папоротников можно было бы рассматривать как аргумент в пользу точки зрения о независимом возникновении их листьев — так называемых “листьев хвощей” и “листьев папоротников” (Tomescu, 2009). Однако отсутствие данных о транскриптомах апикальных меристем лептоспорангиатных папоротников и псилотовых не позволяет оценить потенциальное сходство или различие их регуляции по сравнению с таковой у хвощовых.

Проведенное исследование показало, что инициация листьев хвощовых сходна с таковой у других растений с моноплексной апикальной меристемой. Исключительную роль в органогенезе хвощовых, как и у псилотовых, и у лептоспорангиатных папоротниковидных, и у плауновидных, играют поверхностные инициали: в результате особых формативных делений некоторых клеток этой зоны образуются апикальные инициали будущих листьев (Romanova et al., 2010). Таким образом, способ образования листьев скоррелирован со структурным типом апикальной меристемы, но не таксоноспецифичен и не отражает различий в их дальнейшем развитии, морфологии, анатомии и органогенной ритмике. В то же время стоит отметить, что размер апикальных инициалей листьев хвощовых сходен с таковыми у апикальных инициалей листьев *Selaginella kraussiana* (Harrison et al., 2007) и существенно меньше, чем у лептоспорангиатных папоротников (Wardlaw, 1949; Gifford, Foster, 1989; White, Turner, 1995; Romanova, Borisovskaya, 2004; Romanova et al., 2010; Vasco et al., 2013) и псилотовых (Naumenko, Romanova, 2008). Начальные этапы развития листьев хвощовых за счет периклиналильных делений окружающих апикальную инициаль поверхностных инициалей и подстилающих ее подповерхностных инициалей сходны с таковыми у плауновидного *S. kraussiana* (Harrison et al., 2007), но не у лептоспорангиатных папоротников. Развитие листьев последних начинается исключительно в результате делений апикальной инициали листа без участия поверхностных и подповерхностных инициалей (Wardlaw, 1949; Vasco et al., 2013).

Дальнейшее развитие листьев *E. sylvaticum* и *E. fluviatile* отличается от такового как у плауновидных, так и у остальных папоротниковидных. Основная особенность органогенеза обоих видов хвощей состоит в заложении мутовки листьев как единой структуры из поверхностных инициалей “тройки” мерофитов. Выявленное у *E. sylvaticum* и *E. fluviatile* образование мутовки из трех последовательных мерофитов апикальной инициали

сходно с ранее описанным органогенезом *E. arvense* (Golub, Wetmore, 1948 a, b). Такой способ заложения свидетельствует о том, что именно мутовка является элементарным метамером, или фитомером побега не только ископаемых (Tomescu et al., 2017), но и нынеживущих хвощовых. Сравнение функциональных особенностей различных листовых меристем *E. sylvaticum* и *E. fluviatile* с таковыми у плауновидных, псилотовых, лептоспорангиатных папоротниковидных и семенных растений (табл. 1) показало, что каждая из этих меристем имеет функциональное сходство с таковой у представителей другой группы растений, но набор этих особенностей уникален для хвощовых. Так, непродолжительное функционирование апикальной меристемы листа *E. sylvaticum* и *E. fluviatile* сходно с таковым у *Psilotum nudum* (Naumenko, Romanova, 2008) и ряда хвойных (Skupchenko, 2019; Skupchenko, Ladanova, 1984), но отличается от длительного функционирования апикальной инициали в листьях лептоспорагиатных папоротников (Mueller, 1983; Gifford, Foster, 1989; White, Turner, 1995; Romanova, Borisovskaya, 2004; Vasco et al., 2013). Настоящее исследование показало, что прекращение морфогенеза листа *E. sylvaticum* и *E. fluviatile* обусловлено сильной вакуолизацией его апикальной инициали и ее производных; сходным образом происходит остановка в развитии листа *Psilotum nudum* (Naumenko, Romanova, 2008). Следствиями вакуолизации апикальной инициали листа и ее производных у хвощовых и псилотовых являются отсутствие в листе проводящих тканей, а также отсутствие маргинальной меристемы. Хотя апикальная меристема в листьях *Selaginella kraissiana* также функционирует недолго, апикальная инициаль листа у них вакуолизована не больше, чем апикальная инициаль в меристеме побега, а в листьях имеются проводящие ткани и маргинальная меристема (Harrison et al., 2007; Romanova et al., 2023). Последняя участвует также в развитии листьев лептоспорангиатных папоротниковидных (Romanova, Jernstedt, 2005; Vasco et al., 2013) и хвойных (Napp-Zinn, 1966; Owens, 1968; Skupchenko, Ladanova, 1984; Skupchenko, 2019) (табл. 1). В основании листьев *E. sylvaticum* и *E. fluviatile* имеется интеркалярная меристема, обуславливающая рост листьев в проксимодистальном направлении (в длину), что отличает листья хвощовых от листьев *Psilotum nudum*, но сближает с таковыми плауновидных, лептоспорангиатных папоротниковидных и хвойных. Специфика интеркалярной меристемы хвощовых по сравнению с перечисленными группами растений в том, что деления клеток локализованы преимущественно в ее базальной части, а также в ключевой роли этой меристемы в морфогенезе мутовки листьев. По этим признакам интеркалярная меристема хвощовых напоминает интер-

калярную меристему злаков, которая локализована в листовом зачатке как над язычком, так и под ним, и играет основную роль в росте листа в проксимодистальном направлении (Esau, 1969). Отсутствие в листьях *E. sylvaticum* и *E. fluviatile* пластинчатой меристемы следует из того, что число клеток в ад/абаксиальной и медиолатеральной плоскостях листовых зачатков определяется уже в четвертой—пятой по удаленности от апикальной меристемы мутовке и больше не увеличивается. Отсутствие пластинчатой меристемы характерно также для плауновидных (Harrison et al., 2007; Romanova et al., 2023), псилотовых (Naumenko, Romanova, 2008) и хвойных (Skupchenko, Ladanova, 1984; Skupchenko, 2019), но не для лептоспорангиатных папоротниковидных (Vasco et al., 2013) (табл. 1). Однако при ряде различий в морфогенезе листа хвощовых и лептоспорангиатных папоротниковидных у них есть и общая особенность, отличающая их от семенных растений: абаксиальная сторона их листового зачатка более меристематична, чем адаксиальная.

Поиск гомологов регуляторов апикальной, маргинальной, пластинчатой меристем листа, а также регуляторов дифференцировки адаксиального и абаксиального доменов листа у плауновидных, папоротниковидных (включая хвощовые и псилотовые) и семенных растений был предпринят в данном исследовании для оценки эволюционных гомологий листьев хвощовых в рамках проверки трех рабочих гипотез. (1) Если листья хвощовых отличаются по набору регуляторов как от листьев плауновидных, так и от листьев лептоспорангиатных папоротниковидных и псилотовых, то они могут представлять собой пример независимого возникновения в эволюции — так называемые “листья хвощей” (Tomescu, 2009). (2) Если листья хвощовых и остальных папоротниковидных сходны между собой по набору регуляторов и отличаются по этим признакам от листьев плауновидных, то листья всех папоротниковидных имеют общее происхождение, а листья современных хвощовых представляют собой результат редукции более развитых листьев их предков — клинолистных (Sphenophyllopsida) (Gifford, Foster, 1989). (3) Если морфологически сходные листья представителей отдаленных в филогенетическом отношении таксонов — плауновидных, двух групп папоротниковидных (хвощовых и псилотовых), а также хвойных растений — обладают сходным набором регуляторов, то регуляторные изменения, приводящие к ранней остановке морфогенеза листьев, могли возникнуть независимо в разных эволюционных линиях. В рамках последней гипотезы сходный набор регуляторов у представителей отдаленных таксонов не может рассматриваться в качестве подтверждения независимого происхождения их листьев (так называемых “листьев хвощовых”, “листьев пси-

лотовых”, “листьев голосеменных”), так как в каждой из групп есть растения с нередуцированными листьями.

Интересно, что гомологи генов, кодирующих у цветковых растений регуляторы маргинальной (WOX3) и пластинчатой (WOX1) меристем, а также развитие адаксиального (ARP и C3HDZ) и абаксиального (YABBY и KANADI) доменов листа были обнаружены в геномах представителей всех отделов моховидных: Anthocerotophyta, Marchantiophyta, Bryophyta (Sakakibara et al., 2014; Yip et al., 2016, Romani et al., 2018; Li et al., 2020; Briginshaw et al., 2022; Hirakawa, 2022; Romanova et al., 2023) (табл. 1). Установлена роль гомологов *WOX* в развитии спорофита *Physcomitrium patens* (Sakakibara et al., 2014); гомологов *C3HDZ* в развитии филлидиев на гаметофорах *P. patens* (Yip et al., 2016), и гомологов *KANADI* в развитии гаметофоров *Marchantia polymorpha* (Briginshaw et al., 2022). Эти данные подтверждают точку зрения о том, что большая часть регуляторов ключевых программ развития растений спорофитной линии эволюции уже существовала у моховидных – пионеров в освоении суши и, вероятно, присутствовала у общего предка всех высших растений (Bowman et al., 2019; Szövényi et al., 2019). Наличие полного набора регуляторов адаксиального (ARP и C3HDZ) и абаксиального (YABBY и KANADI) доменов листа в разных порядках плауновидных – древнейших из ныне живущих растений спорофитной линии эволюции – и у моховидных (табл. 1) указывает на вероятное присутствие всего набора и у общего предка всех Tracheophyta (сосудистых растений) (Romanova et al., 2023). Однако не имеющая ад/абаксиальной приуроченности экспрессия *ARP* (Harrison et al., 2005), *C3HDZ* (Floyd, Bowman, 2006; Vasco et al., 2016), *YABBY* (Evkaikina et al., 2017) и *KANADI* (Zumajo-Cardona et al., 2019) в листьях плауновидных, отсутствие дифференциации их мезофилла на палисадный и губчатый и радиально-симметричное (амфикириальное) строение жилок их листьев (Gifford, Foster, 1989; табл. 1) свидетельствуют о вероятном функциональном отличии данных ТФ в регуляции развития адаксиального и абаксиального доменов листьев плауновидных по сравнению с листьями цветковых. У хвойных растений, так же как у плауновидных и цветковых, имеется полный набор регуляторов адаксиального (ARP, C3HDZ) и абаксиального (YABBY и KANADI) доменов листа. Однако экспрессия гомолога *YABBY* в клетках как адаксиального, так и абаксиального доменов листовых зачатков *Pseudotsuga menziesii* (Finet et al., 2016), а гомологов *YABBY* и *APR* – в центральной части листа *Picea smithiana* и *Abies holophylla* (Du et al., 2020; табл. 1) указывают на то, что у хвойных данные ТФ возможно еще не приобрели роль регуляторов аб/адаксиальной дифференциации мезофилла листа. На основа-

нии экспрессии гомологов *C3HDZ* в адаксиальном домене листа *Pseudotsuga menziesii* (Floyd et al., 2006) можно предположить, ТФ из этого семейства раньше других приобрели функцию регуляции развития адаксиального домена листа. Однако отсутствие дифференциации мезофилла у этого хвойного на столчатый и губчатый свидетельствует о специфике этой регуляции по сравнению с цветковыми.

Наличие у всех папоротниковидных, включая хвощовые и псилотовые, единственного регулятора адаксиального (C3HDZ) и единственного регулятора абаксиального (KANADI) доменов листа (табл. 1) указывает на: (1) вероятную утерю двух других регуляторов (ARP и YABBY) в отделе Polypodiophyta; (2) сходство молекулярно-генетической регуляции листьев всех папоротниковидных, несмотря на значительные различия в морфологии, анатомии и специфике функционирования листовых меристем; (3) различия молекулярно-генетической регуляции развития листьев хвощовых по сравнению с таковой у плауновидных и хвойных, несмотря на некоторое сходство структурных аспектов морфогенеза.

К сожалению, оценить роль ТФ C3HDZ и KANADI в развитии адаксиального и абаксиального доменов листа папоротниковидных на основании фрагментарных сведений об их экспрессии затруднительно. С одной стороны, приуроченность экспрессии гомологов C3HDZ к адаксиальному домену листа у лептоспорангиатных папоротников с мезофиллом, дифференцированным на палисадный и губчатый, и их равномерная экспрессия во всех клетках развивающихся листьев у хвоща *E. diffusum* с мезофиллом, не имеющим ад/абаксиальной дифференциации (Vasco et al., 2016; табл. 1), подтверждает роль данных факторов в ад/абаксиальной поляризации листьев. В то же время приуроченность экспрессии гомологов KANADI к абаксиальному домену листьев хвоща *E. hyemale* (Zumajo-Cardona et al., 2019) (при отсутствии данных для остальных папоротниковидных) не поддерживает их функциональное сходство с гомологами у цветковых растений. Тот факт, что листья папоротников, мезофилл которых дифференцирован на палисадный и губчатый, обладают биколлатеральными жилками, а листья хвощовых, образованные только губчатым мезофиллом, – коллатеральными жилками (Gifford, Foster, 1989) (табл. 1), указывает на то, что эти два аспекта программы развития листа у папоротниковидных могут регулироваться независимо друг от друга.

Филогенетический анализ гомологов ТФ WOX (табл. 2, 3; рис. 7) показал, что Т3 клада, к которой относятся регуляторы маргинальной (WOX3) и пластинчатой (WOX1) меристем листа цветковых растений (Wu et al., 2019), возникла у Polypodiidae,

в то время как гомологи ТФ WOX плауновидных относятся к кладе, являющейся предковой как для клады Т2, так и для Т3. Присутствие у хвощовых гомологов WOX из Т3 клады указывает на потенциальную возможность возникновения у них, как и у других папоротниковидных, маргинальной меристемы, однако ее отсутствие обусловлено быстрым старением клеток листового зачатка. Таким образом, маргинальная меристема, регулируемая представителями клады Т3 ТФ WOX, вероятно, появилась не у хвойных, как считалось ранее (Nardmann, Werr, 2013), а у лептоспорангиатных папоротниковидных.

Полученные в рамках настоящего исследования биоинформатические данные свидетельствуют в пользу гомологии листьев всех папоротниковидных. В то же время некоторые данные могут рассматриваться и как аргументы в пользу возможности происхождения листьев хвощовых в результате стерилизации спорангиофоров, несущих спорангии (Tomescu et al., 2017). Изначально эта гипотеза объясняла эволюционное происхождение листьев плауновидных и была основана на особенностях морфологии ископаемых плауновидных, например, *Adoketophyton* (Kenrick, Crane, 1997). Позже она была подтверждена молекулярно-генетическими данными; гены, регулирующие развитие листьев, экспрессируются у плауновидных как в листьях, так и в спорангиях: *C3HDZ* у *Selaginella kraussiana* (Vasco et al., 2016), *YABBY* у *Huperzia selago* (Evkaikina et al., 2017). Экспрессия *C3HDZ* в спорангиях *Psilotum nudum* позволила предположить, что стерилизация спорангиев может представлять собой программу, в результате модификации которой могли возникнуть и листья папоротниковидных, которые таким образом характеризуются “глубокой гомологией”, то есть консервативными регуляторными механизмами с плауновидными (Vasco et al., 2016). Хотя сведения о молекулярных маркерах спорангиев или спорангиофоров хвощовых пока отсутствуют, известно, что их спорангиофоры со спорангиями, так же как и листья, закладываются в апикальной меристеме побега мутовками; начальные этапы морфогенеза листьев и спорангиофоров сходны между собой (Gifford, Foster, 1989; Tomescu et al., 2017). У ныне живущих хвощовых смена программы образования листьев на программу образования спорангиофоров происходит однократно, в результате чего надземные побеги несут на верхушке стробилы. Однако в апикальной меристеме ископаемых хвощовых *Cruciaetheca genoensis* и *Peltotheca furcata* поочередно образуются то мутовки листьев, то мутовки спорангиофоров (Tomescu et al., 2017). На основании этих фактов гипотетически возможно, что листья хвощовых действительно могли возникнуть в результате модификации программы развития спорангиофоров. Таким образом, можно предположить, что различные модификации про-

граммы образования спорангиев и спорангиофоров со спорангиями могли независимо привести к образованию листьев у плауновидных и хвощовых, соответственно. Возможно, что независимая модификация сходных программ органогенеза у плауновидных и хвощовых нашла отражение в сходных особенностях в строении клеток апикальных меристем их побегов, органогенной ритмике, морфологии и строении мезофилла их листьев.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обобщение полученных структурных и биоинформатических данных показывает, что при различиях в строении апикальной меристемы, морфогенезе, морфологии и анатомии листьев хвощовых и “типичных” папоротниковидных (Polypodiidae) набор регуляторов развития их листьев сходен. Это может свидетельствовать о вероятной гомологии листьев всех представителей отдела Polypodiophyta. Структурная причина ранней остановки развития листьев хвощовых — быстрая вакуолизация апикальной инициали и ее производных, приводящая к прекращению функционирования апикальной меристемы листа и отсутствию маргинальной и пластинчатой меристем. С другой стороны, образование в апикальной меристеме плауновидных и хвощовых и листьев, и спорангиев, сходство в строении клеток апикальных меристем их побегов, сходные органогенная ритмика, морфология и анатомия их листьев при различии в наборе регуляторов развития могут свидетельствовать о том, что листья в этих группах могли возникнуть в результате независимо произошедшей стерилизации спорангиев. В рамках этого сценария листья хвощовых негомологичны листьям “типичных” папоротниковидных. Таким образом, пока вопрос об однократности или многократности возникновения листьев в разных группах папоротниковидных остается открытым.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарны бывшей студентке кафедры ботаники СПбГУ Софье Викторовне Велле за изготовление ультратонких и части полутонких срезов, ведущему научному сотруднику, заведующей лаборатории анатомии и морфологии растений БИН РАН Нурие Каюмовне Котеевой за помощь и ценные советы при описании ультраструктуры клеток апикальной меристемы, старшему преподавателю кафедры ботаники СПбГУ Наталье Михайловне Ивановой за изготовление поперечных срезов листьев, студентке кафедры ботаники СПбГУ Марии Сергеевне Тарасовой за помощь в пробоподготовке, ассистенту кафедры ботаники СПбГУ Павлу Дмитриевичу Смирнову за фото корневищ хвощовых и Петру Александровичу Романову за помощь в подготовке иллюстраций.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда <https://rscf.ru/project/22-24-20049/> в соответствии с соглашением от 25.03.2022 № 22-24-20049 и гранта Санкт-Петербургского научного фонда в соответствии с соглашением от 14.04.2022 № 36/2022 с использованием оборудования ресурсного центра “Развитие молекулярных и клеточных технологий” Санкт-Петербургского государственного университета и центра коллективного пользования “Клеточные и молекулярные технологии изучения растений и грибов” Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (Санкт-Петербург).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Bierhorst D.W. 1971. Morphology of vascular plants. New York. 560 p.
- Bower F.O. 1935. Primitive land plants—also known as the Archegoniatae. London. 658 p.
- Bowman J.L., Briginshaw L.N., Florent S.N. 2019. Evolution and co-option of developmental regulatory networks in early land plants. — *Curr. Top. Dev. Biol.* 131: 35–53. <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2018.10.001>
- Bowman J.L., Kohchi T., Yamato K.T., Jenkins J., Shu S., Ishizaki K., Yamaoka S., Nishihama R., Nakamura Y., Berger F., Adam C., Aki S.S., Althoff F., Araki T., Arteaga-Vazquez M.A., Balasubramanian S., Barry K., Bauer D., Boehm C.R., Briginshaw L., Caballero-Perez J., Catarino B., Chen F., Chiyoda S., Chovatia M., Davies K.M., Delmans M., Demura T., Dierschke T., Dolan L., Dorantes-Acosta A.E., Eklund D.M., Florent S.N., Flores-Sandoval E., Fujiyama A., Fukuzawa H., Galik B., Grimanelli D., Grimwood J., Grossniklaus U., Hamada T., Haseloff J., Hetherington A.J., Higo A., Hirakawa Y., Hundley H.N., Ikeda Y., Inoue K., Inoue S., Ishida S., Jia Q., Kakita M., Kanazawa T., Kawai Y., Kawashima T., Kennedy M., Kinose K., Kinoshita T., Kohara Y., Koide E., Komatsu K., Kopischke S., Kubo M., Kyojuka J., Lagercrantz U., Lin S.-S., Lindquist E., Lipzen A.M., Lu C.-W., De Luna E., Martienssen R.A., Minamino N., Mizutani Masaharu, Mizutani Miya, Mochizuki N., Monte I., Mosher R., Nagasaki H., Nakagami H., Naramoto S., Nishitani K., Ohtani M., Okamoto T., Okumura M., Phillips J., Pollak B., Reinders A., Rövekamp M., Sano R., Sawa S., Schmid M.W., Shirakawa M., Solano R., Spunde A., Suetsugu N., Sugano S., Sugiyama A., Sun R., Suzuki Y., Takenaka M., Takezawa D., Tomogane H., Tsuzuki M., Ueda T., Umeda M., Ward J.M., Watanabe Y., Yazaki K., Yokoyama R., Yoshitake Y., Yotsui I., Zachgo S., Schmutz J. 2017. Insights into land plant evolution garnered from the *Marchantia polymorpha* genome. — *Cell*. 171: 287–304. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.09.030>
- Briginshaw L.N., Flores-Sandoval E., Dierschke T., Alvarez J.P., Bowman J.L. 2022. *KANADI* promotes thallus differentiation and FR-induced gametangiophore formation in the liverwort *Marchantia*. — *New Phytol.* 234 (4): 1377–1393. <https://doi.org/10.1111/nph.18046>
- Byrne M.E., Barley R., Curtis M., Arroyo J.M., Dunham M., Hudson A., Martienssen R.A. 2000. Asymmetric leaves1 mediates leaf patterning and stem cell function in *Arabidopsis*. — *Nature*. 408: 967–971. <https://doi.org/10.1038/35050091>
- Caggiano M.P., Yu X., Bhatia N., Larsson A., Ram H., Ohno C.K., Sappl P., Meyerowitz E.M., Jönsson H., Heisler M.G. 2017. Cell type boundaries organize plant development. — *eLife* 6: e27421. <https://doi.org/10.7554/eLife.27421>
- Chen H., Fang Y., Zwaenepoel A., Huang S., Van de Peer Y., Li Z. 2023. Revisiting ancient polyploidy in leptosporangiate ferns. *New Phytol.* Feb; 237 (4): 1405–1417. <https://doi.org/10.1111/nph.18607> PMID: 36349406; PMCID: PMC7614084.
- Cooke T.D., Tilney M.S., Tilney L.G. 1996. Plasmodesmal networks in apical meristems and mature structures: geometric evidence for both primary and secondary formation of plasmodesmata. — In: *Membranes: specialized functions in plants*. Cambridge. P. 471–488.
- Croxdale J.G. 1978. *Salvinia* leaves. I. Origin and early differentiation of floating and submerged leaves. — *Can. J. Botany*. 56 (16): 1982–1991.
- Donoghue P.C.J., Harrison C.J., Paps J., Schneider H. 2021. The evolutionary emergence of land plants. — *Curr. Biol.* 31 (19): R1281–R1298. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.07.038>
- Du F., Guan C., Jiao Y. 2018. Molecular mechanisms of leaf morphogenesis. — *Mol. Plant*. 11 (9): 1117–1134. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2018.06.006>
- Du H., Ran J., Feng Y., Wang X. 2020. The flattened and needlelike leaves of the pine family (Pinaceae) share a conserved genetic network for adaxial-abaxial polarity but have diverged for photosynthetic adaptation. — *BMC Evol. Biol.* 20:131. <https://doi.org/10.1186/s12862-020-01694-5>
- Emery J.F., Floyd S.K., Alvarez J., Eshed Y., Hawker N.P., Izhaki A., Baum S.F., Bowman J.L. 2003. Radial patterning of *Arabidopsis* shoots by class III HD-ZIP and *KANADI* genes. — *Curr. Biol.* 13 (20): 1768–1774. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2003.09.035>
- [Esau] Эсау К. 1969. Анатомия растений. М. 564 с.
- Eshed Y., Izhaki A., Baum S.F., Floyd S.K., Bowman J.L. 2004. Asymmetric leaf development and blade expansion in *Arabidopsis* are mediated by *KANADI* and *YABBY* activities. — *Development*. 131 (12): 2997–3006. <https://doi.org/10.1242/dev.01186>
- Evkaikina A.I., Berke L., Romanova M.A., Proux-Wéra E., Ivanova A.N., Rydin C., Pawlowski K., Voitsekhovskaja O.V. 2017. The *Huperzia selago* shoot tip transcriptome sheds new light on the evolution of leaves. — *Genome Biol. Evol.* 9 (9): 2444–2460. <https://doi.org/10.1093/gbe/evx169>
- Finet C., Floyd S.K., Conway S.J., Zhong B., Scutt C.P., Bowman J.L. 2016. Evolution of the *YABBY* gene family in seed plants. — *Evol. Dev.* 18: 116–126. <https://doi.org/10.1111/ede.12173>

- Floyd S.K., Bowman J.L. 2006. Distinct developmental mechanisms reflect the independent origins of leaves in vascular plants. — *Curr. Biol.* 16 (19): 1911–1917. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.07.067>
- Floyd S.K., Zalewski C.S., Bowman J.L. 2006. Evolution of class III homeodomain-leucine zipper genes in Streptophytes. — *Genetics*. 173(1): 373–388. <https://doi.org/10.1534/genetics.105.054239>
- Frank M.H., Edwards M.B., Schultz E.R., McKain M.R., Fei Z., Sørensen I., et al. 2015. Dissecting the molecular signatures of apical cell-type shoot meristems from two ancient land plant lineages. — *New Phytol.* 207: 893–904. <https://doi.org/10.1111/nph.13407>
- Gifford E.M., Foster A.S. 1989. Morphology and evolution of vascular plants. New York. 626 p.
- Golub S.J., Wetmore R.H. 1948a. Studies of development in the vegetative shoot of *Equisetum arvense* L. I. The Shoot Apex. — *Am. J. Bot.* 35 (10): 755–767. <https://doi.org/10.2307/2438157>
- Golub S.J., Wetmore R.H. 1948b. Studies of development in the vegetative shoot of *Equisetum arvense* L. II. The Mature Shoot. — *Am. J. Bot.* 35 (10): 767–781. <https://doi.org/10.2307/2438158>
- Goodstein D.M., Shu S., Howson R., Neupane R., Hayes R.D., Fazo J., Mitros T., Dirks W., Hellsten U., Putnam N., Rokhsar D.S. 2012. Phytozome: a comparative platform for green plant genomics. — *Nucleic Acids Res.* 40 (D1): D1178–D1186. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr944>
- Gouy M., Guindon S., Gascuel O. 2010. SeaView version 4: a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. — *Mol. Biol. Evol.* 27 (2): 221–224. <https://doi.org/10.1093/molbev/msp259>
- Harrison C.J., Corley S.B., Moylan E.C., Alexander D.L., Scotland R.W., Langdale J.A. 2005. Independent recruitment of a conserved developmental mechanism during leaf evolution. — *Nature*. 434: 509–514. <https://doi.org/10.1038/nature03410>
- Harrison C.J., Morris J.L. 2018. The origin and early evolution of vascular plant shoots and leaves. — *Philos. T. Roy. Soc. B.* 373 (1739): 20160496. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0496>
- Harrison C.J., Rezvani M., Langdale J.A. 2007. Growth from two transient apical initials in the meristem of *Selaginella kraussiana*. — *Development*. 134 (5): 881–889. <https://doi.org/10.1242/dev.001008>
- Hedman H., Zhu T., von Arnold S., Sohlberg J.J. 2013. Analysis of the *WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN* gene family in the conifer *Picea abies* reveals extensive conservation as well as dynamic patterns. — *BMC Plant Biol.* 13: 89. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-13-89>
- Hernández-Hernández B., Tapia-López R., Ambrose B.A., Vasco A. 2021. *R2R3-MYB* gene evolution in plants, incorporating ferns into the story. — *Int. J. Plant. Sci.* 182 (1): 1–8. <https://doi.org/10.1086/710579>
- Hirakawa Y. 2022. Evolution of meristem zonation by *CLE* gene duplication in land plants. — *Nature Plants*. 8: 735–740. <https://doi.org/10.1038/s41477-022-01199-7>
- HmmerWeb 2.43. 19 May 2023. <https://www.ebi.ac.uk/Tools/hmmer/search/hmmsearch>
- Hornwort genomes. 19 May 2023. <https://www.hornworts.uzh.ch/en/hornwort-genomes.html>
- Hou G.C., Hill J.P. 2004. Developmental anatomy of the fifth shoot-borne root in young sporophytes of *Ceratopteris richardii*. — *Planta*. 219 (2): 212–20. <https://doi.org/10.1007/s00425-004-1225-6>
- Huang X., Wang W., Gong T., Wickell D., Kuo L.-Y., Zhang X., Wen J., Kim H., Lu F., Zhao H., Chen Song, Li H., Wu W., Yu C., Chen Su, Fan W., Chen Shuai, Bao X., Li L., Zhang D., Jiang L., Yan X., Liao Z., Zhou G., Guo Y., Ralph J., Sederoff R.R., Wei H., Zhu P., Li F.-W., Ming R., Li Q. 2022. The flying spider-monkey tree fern genome provides insights into fern evolution and arborescence. — *Nat. Plants*. 8: 500–512. <https://doi.org/10.1038/s41477-022-01146-6>
- Imaichi R., Hiratsuka R. 2007. Evolution of shoot apical meristem structures in vascular plants with respect to plasmodesmatal network. — *Am. J. Bot.* 94 (12): 1911–1921. <https://doi.org/10.3732/ajb.94.12.1911>
- Jackson D., Veit B., Hake S. 1994. Expression of maize *KNOTTED1* related homeobox genes in the shoot apical meristem predicts patterns of morphogenesis in the vegetative shoot. — *Development*. 120 (2): 405–413.
- Kaplan D.R. 2001. The science of plant morphology: definition, history, and role in modern biology. — *Am. J. Bot.* 88 (10): 1711–1741. <https://doi.org/10.2307/3558347>
- Kenrick P., Crane P. 1997. The origin and early diversification of land plants: a cladistic study. Washington. 441 p.
- [Koteeva] Котеева Н.К. 1997. Изменение ультраструктуры клеток апикальной меристемы побега *Pinus sylvestris* (Pinaceae) в годичном цикле. — *Бот. журн.* 82 (6): 10–23.
- Li F.-W., Nishiyama T., Waller M., Frangedakis E., Keller J., Li Z., Fernandez-Pozo N., Barker M.S., Bennett T., Blázquez M.A., Cheng S., Cuming A.C., de Vries J., de Vries S., Delaux P.-M., Diop I.S., Harrison C.J., Hauser D., Hernández-García J., Kirbis A., Meeks J.C., Monte I., Mutte S.K., Neubauer A., Quandt D., Robison T., Shimamura M., Rensing S.A., Villarreal J.C., Weijers D., Wicke S., Wong G.K.-S., Sakakibara K., Szövényi P. 2020. *Anthoceros* genomes illuminate the origin of land plants and the unique biology of hornworts. — *Nat. Plants*. 6: 259–272. <https://doi.org/10.1038/s41477-020-0618-2>
- Liu H., Wang Q.F., Taylor W.C. 2006. Morphological and anatomical variation in sporophylls of *Isoetes sinensis* Palmer (Isoetaceae), an endangered quillwort in China. — *Am. Fern J.* 96 (3): 67–74. <https://doi.org/10.1640/0002-8444>
- Lumpkin T.A., Plucknett D.L. 1980. *Azolla*: Botany, physiology, and use as a green manure. — *Econ. Bot.* 34: 111–153. <https://doi.org/10.1007/BF02858627>

- Lyons E., Freeling M. 2008. How to usefully compare homologous plant genes and chromosomes as DNA sequences. — *Plant J.* 53 (4): 661–673.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03326.x>
- Morris J.L., Puttick M.N., Clark J.W., Edwards D., Kenrick P., Pressel S., Wellman C.H., Yang Z., Schneider H., Donoghue P. 2018. The timescale of early land plant evolution. — *PNAS.* 115 (10): 2274–2283.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1719588115>
- Mueller R.J. 1983. Indeterminate growth and ramification of the climbing leaves of *Lygodium japonicum* (Schizaeaceae). — *Am. J. Bot.* 70 (5): 682–690.
- Nakata M., Matsumoto N., Tsuchi R., Rikirsch E., Laux T., Okada K. 2012. Roles of the middle domain-specific *WUSCHEL-RELATED HOMEBOX* genes in early development of leaves in *Arabidopsis*. — *Plant Cell.* 24: 519–535.
<https://doi.org/10.1105/tpc.111.092858>
- Napp-Zinn K. 1966. Anatomie des Blattes. Blattanatomie der Gymnospermen. Berlin.
- Nardmann J., Werr W. 2012. The invention of WUS-like stem cell-promoting functions in plants predates leptosporangiate ferns. — *Plant Mol. Biol.* 78: 123–134.
<https://doi.org/10.1007/s11103-011-9851-4>
- Nardmann J., Werr W. 2013. Sympleiomorphies in the *WUSCHEL* clade suggest that the last common ancestor of seed plants contained at least four independent stem cell niches. — *New Phytol.* 199: 1081–1092.
<https://doi.org/10.1111/nph.12343>
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). 19 May 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [Naumenko, Romanova] Науменко А.Н., Романова М.А. 2008. Апикальный морфогенез *Psilotum nudum* (Psilotaceae) и *Botrychium lunaria* (Ophioglossaceae). — *Вестн. С.-Петерб. ун-та. Сер. 3.* 2: 15–27.
- Newman I.V. 1965. Pattern in the meristems of vascular plants: III. Pursuing the patterns in the apical meristem where no cell is a permanent cell. — *J. Linn. Soc. Lond. Bot.* 59: 185–214.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1965.tb00057.x>
- Nystedt B., Street N.R., Wetterbom A., Zuccolo A., Lin Y.-C., Scofield D.G., Vezzi F., Delhomme N., Giacomello S., Alexeyenko A., Vicedomini R., Sahlin K., Sherwood E., Elfstrand M., Gramzow L., Holmberg K., Hällman J., Keech O., Klasson L., Koriabine M., Kucukoglu M., Käller M., Luthman J., Lysholm F., Niittylä T., Olson Å., Rilakovic N., Ritland C., Roselló J.A., Sena J., Svensson T., Talavera-López C., Theißen G., Tuominen H., Vanneste K., Wu Z.-Q., Zhang B., Zerbe P., Arvestad L., Bhalerao R., Bohlmann J., Bousquet J., Gil R.G., Hvidsten T.R., de Jong P., MacKay J., Morgante M., Ritland K., Sundberg B., Thompson S.L., Van de Peer Y., Andersson B., Nilsson O., Ingvarsson P.K., Lundeberg J., Jansson S. 2013. The Norway spruce genome sequence and conifer genome evolution. — *Nature.* 497: 579–584.
<https://doi.org/10.1038/nature12211>
- One Thousand Plant Transcriptomes Initiative. 2019. One thousand plant transcriptomes and the phylogenomics of green plants. — *Nature.* 574 (7780): 679–685.
<https://doi.org/10.1038/s41586-019-1693-2>
- Owens I.N. 1968. Initiation and development of leaves in Douglas fir. — *Can. J. Bot.* 46 (3): 271–278.
- Paysan-Lafosse T., Blum M., Chuguransky S., Grego T., Pinto B.L., Salazar G.A., Bileschi M.L., Bork P., Bridge A., Colwell L., Gough J., Haft D.H., Letunić I., Marchler-Bauer A., Mi H., Natale D.A., Orengo C.A., Pandurangan A.P., Rivoire C., Sigrist C.J.A., Sillitoe I., Thanki N., Thomas P.D., Tosatto S.C.E., Wu C.H., Bateman A. 2022. InterPro in 2022. — *Nucleic Acids Res.* 51 (D1): D418–D427.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkac993>
- PPG I. 2016. A community-derived classification for extant lycophytes and ferns. — *J. Syst. Evol.* 54: 563–603.
<https://doi.org/10.1111/jse.12229>
- Romani F., Reinheimer R., Florent S.N., Bowman J.L., Moreno J.E. 2018. Evolutionary history of HOME-ODOMAIN LEUCINE ZIPPER transcription factors during plant transition to land. — *New Phytol.* 219 (1): 408–421.
<https://doi.org/10.1111/nph.15133>
- Romanova M., Jernstedt J. 2005. Morphogenetic events in the *Ceratopteris richardii* shoot apex. — *Fern. Gaz.* 17: 204.
- [Romanova, Borisovskaya] Романова М.А., Борисовская Г.М. 2004. Принципы структурной организации вегетативного тела папоротников: онтогенетический подход. — *Бот. журн.* 89 (5): 705–717.
- [Romanova et al.] Романова М.А., Науменко А.Н., Евкайкина А.И. 2010. Особенности апикального морфогенеза в разных таксонах несеманных растений. — *Вестн. С.-Петерб. ун-та. Сер. 3.* 3: 29–41.
- Romanova M.A., Domashkina V.V., Maksimova A.I., Pawlowski K., Voitsekhovskaja O.V. 2023. All together now: Cellular and molecular aspects of leaf development in lycophytes, ferns, and seed plants. — *Front. Ecol. Evol.* 11.
<https://doi.org/10.3389/fevo.2023.1097115>
- [Romanova et al.] Романова М.А., Яковлева О.В., Максимова А.И., Иванова А.Н., Домашкина В.В. 2022. Строение апикальных меристем побегов и особенности ультраструктуры их клеток у плауновидных и папоротниковидных. — *Бот. журн.* 107 (9): 65–85.
<https://doi.org/10.31857/S0006813622090095>
- Ruzin S.E. 1999. Plant microtechnique and microscopy. Oxford. 322 p.
- Sakakibara K., Reisewitz P., Aoyama T., Friedrich T., Ando S., Sato Y. 2014. *WOX13*-like genes are required for reprogramming of leaf and protoplast cells into stem cells in the moss *Physcomitrella patens*. — *Development.* 141 (8): 1660–1670.
<https://doi.org/10.1242/dev.097444>
- Sarojam R., Sappl P.G., Goldshmidt A., Efroni I., Floyd S.K., Eshed Y., Bowman J.L. 2010. Differentiating *Arabidopsis* shoots from leaves by combined *YABBY* activities. — *Plant Cell.* 22 (7): 2113–2130.
<https://doi.org/10.1105/tpc.110.075853>
- Sarvepalli K., Das Gupta M., Challa K.R., Nath U. 2019. Molecular cartography of leaf development – role of transcription factors. — *Curr. Opin. Plant Biol.* 47: 22–31.
<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2018.08.002>

- Sawa S., Watanabe K., Goto K., Kanaya E., Morita E.H., Okada K. 1999. *FILAMENTOUS FLOWER*, a meristem and organ identity gene of *Arabidopsis*, encodes a protein with a zinc finger and HMG-related domains. — *Genes Dev.* 13 (9): 1079–1088. <https://doi.org/10.1101/gad.13.9.1079>
- Schneider H., Pryer K.M., Cranfill R., Smith A.R., Wolf P.G. 2002. Evolution of vascular plant body plans: a phylogenetic perspective. — In: *Developmental Genetics and Plant Evolution*. P. 330–364. <https://doi.org/10.1201/9781420024982.ch17>
- [Skurpchenko] Скупченко В.Б. 2019. Клеточный рост основной паренхимы стебля в морфогенезе побегов *Picea abies* (Pinaceae). — *Раст. ресурсы*. 55: 195–212. <https://doi.org/10.1134/S0033994619020092>
- [Skurpchenko, Ladanova] Скупченко В.Б., Ладанова Н.В. 1984. Структура однолетней хвои в кроне *Picea obovata* (Pinaceae). — *Бот. журн.* 69 (7): 203–206.
- Spencer V., Venza Z.N., Harrison C.J. 2021. What can lycophytes teach us about plant evolution and development? Modern perspectives on an ancient lineage. — *Evol. Dev.* 23: 174–196. <https://doi.org/10.1111/ede.12350>
- Steeves T.A., Sussex I.M. 1989. *Patterns in plant development*. Cambridge. 388 p.
- Stöver B.C., Müller K.F. 2010. TreeGraph 2: Combining and visualizing evidence from different phylogenetic analyses. — *BMC Bioinformatics*. 11: 7. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-7>
- Sundell D., Mannapperuma C., Netotea S., Delhomme N., Lin Y.C., Sjödin A., Van de Peer Y., Jansson S., Hvidsten T.R., Street N.R. 2015. The Plant Genome Integrative Explorer Resource: PlantGenIE.org. — *New Phytol.* 208 (4): 1149–1156. <https://doi.org/10.1111/nph.13557>
- Szövényi P., Waller M., Kirbis A. 2019. Evolution of the plant body plan. *Curr. Top. Devel. Biol.* 131: 1–34. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-7>
- Timothy L., Bailey T., Elkan C. 1994. Fitting a mixture model by expectation maximization to discover motifs in biopolymers. — *Proc. Int. Conf. Intell. Syst. Mol. Biol.* 2: 28–36. <https://doi.org/7584402>
- Tomescu A.M.F. 2009. Megaphylls, microphylls and the evolution of leaf development. — *Trends in Plant Science*. 14 (1): 5–12. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.008>
- Tomescu A.M.F., Escapa I.H., Rothwell G.W., Elgorriaga A., Cúneo N.R. 2017. Developmental programmes in the evolution of *Equisetum* reproductive morphology: a hierarchical modularity hypothesis. — *Ann. Bot.* 119 (4): 489–505. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw273>
- Trifinopoulos J., Nguyen L.-T., von Haeseler A., Minh B.Q. 2016. W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. — *Nucleic Acids Res.* 44 (W1): W232–W235. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw256>
- Tsukaya H. 2021. The leaf meristem enigma: The relationship between the plate meristem and the marginal meristem. — *The Plant Cell*. 33 (10): 3194–3206. <https://doi.org/10.1093/plcell/koab190>
- van der Graaff E., Laux T., Rensing S. 2009. The WUS homeobox-containing (WOX) protein family. — *Genome Biology*. 10 (12): 248. [pmid:20067590](https://doi.org/10.1186/gb-2009-10-12-248)
- Vanneste K., Sterck L., Myburg A.A., Van de Peer Y., Mizrachi E. 2015. Horsetails Are Ancient Polyploids: Evidence from *Equisetum giganteum*. — *Plant Cell*. 27 (6): 1567–78. Epub 2015 May 22. PMID; PMCID: PMC4498207. <https://doi.org/10.1105/tpc.15.0015726002871>
- Vasco A., Ambrose B.A. 2020. Simple and divided leaves in ferns: exploring the genetic basis for leaf morphology differences in the genus *Elaphoglossum* (Dryopteridaceae). — *Int. J. Mol. Sci.* 21 (15): 5180. <https://doi.org/10.3390/ijms21155180>
- Vasco A., Moran R.C., Ambrose B.A. 2013. The evolution, morphology and development of fern leaves. — *Front. Plant Sci.* 4: 345. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00345>
- Vasco A., Smalls T.L., Graham S.W., Cooper E.D., Wong G.K., Stevenson D.W., Moran R.C., Ambrose B.A. 2016. Challenging the paradigms of leaf evolution: Class III HD-Zips in ferns and lycophytes. — *New Phytol.* 212 (3): 745–758. <https://doi.org/10.1111/nph.14075>
- Wang B., Yeun L.H., Xue J.Y., Liu Y., Ané J. M., Qiu Y.L. 2010. Presence of three mycorrhizal genes in the common ancestor of land plants suggests a key role of mycorrhizas in the colonization of land by plants. — *The New Phytol.* 186 (5): 514–525. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03137.x>
- Wardlaw C.W. 1949. Experimental and analytical studies of pteridophytes: XIV. Leaf formation and phyllotaxis in *Dryopteris aristata* Druce. — *Ann. Bot.* 13 (2): 163–198.
- White R., Turner M. 1995. Anatomy and development of the fern sporophyte. — *Bot. Rev.* 61 (4): 281–305. <https://doi.org/10.1007/BF02912620>
- Wickell D., Kuo L.Y., Yang H.P. et al. 2021. Underwater CAM photosynthesis elucidated by Isoetes genome. — *Nat Commun.* 12: 6348. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26644-7>
- Wu C.C., Li F.W., Kramer E.M. 2019. Large-scale phylogenomic analysis suggests three ancient superclades of the *WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN* transcription factor family in plants. — *PLoS One*. 14 (10): e0223521. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223521>
- Xia Z., Liu L., Wei Z., Wang F., Shen H., Yan Y. 2022. Analysis of comparative transcriptome and positively selected genes reveal adaptive evolution in leaf-less and root-less whisk ferns. — *Plants*. 11 (9): 1198. <https://doi.org/10.3390/plants11091198>
- Yamaguchi T., Nukazuka A., Tsukaya H. 2012. Leaf adaxial-abaxial polarity specification and lamina outgrowth: evolution and development. — *Plant Cell Physiol.* 53 (7): 1180–1194. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcs074>
- Yang M., You W., Wu S., Fan Z., Xu B., Zhu M., Li X., Xiao Y. 2017. Global transcriptome analysis of *Huperzia serrata* and identification of critical genes involved in the biosynthesis of huperzine A. — *BMC Genomics*. 18 (1): 245. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3615-8>

- Yip H.K., Floyd S.K., Sakakibara K., Bowman J.L. 2016. Class III HD-Zip activity coordinates leaf development in *Physcomitrella patens*. — *Dev. Biol.* 419 (1): 184–197. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2016.01.012>
- Zimmerman W. 1952. Main results of the “Telome Theory”. — *Paleobotanist.* 1: 456–470.
- Zumajo-Cardona C., Ambrose B. A. 2020. Phylogenetic analyses of key developmental genes provide insight into the complex evolution of seeds. — *Mol. Phylogenet. Evol.* 147: 106778. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2020.106778>
- Zumajo-Cardona C., Vasco A., Ambrose B.A. 2019. The evolution of the *KANADI* gene family and leaf development in lycophytes and ferns. — *Plants (Basel).* 8 (9): 313. <https://doi.org/10.3390/plants8090313>

STRUCTURAL AND REGULATORY ASPECTS OF MORPHOGENESIS IN *EQUISETUM SYLVATICUM* AND *EQUISETUM FLUVIATILE* AND THE ISSUE OF HOMOLOGY OF LEAVES OF HORSETAILS AND OTHER FERNS

M. A. Romanova^{a,#}, V. V. Domashkina^{a,b}, and N. A. Bortnikova^b

^aSt. Petersburg State University Universitetskaya Emb., 7–9, St. Petersburg, 199034, Russia

^bKomarov Botanical Institute RAS Prof. Popov Str., 2, St. Petersburg, 197376, Russia

[#]e-mail: m.romanova@spbu.ru

The structure of the shoot apical meristem (SAM), ultrastructure of its cells and the origin of primordia of organs in the SAM of horsetails *Equisetum sylvaticum* L. and *E. fluviatile* L. were studied. A relatively low degree of vacuolation and structural homogeneity of the cells that compose the surface initials zone (SI), the presence of single starch grains in their plastids and single lipid droplets in the cytoplasm of the SI cells were revealed. These features are more similar to those in the monoplex SAM of lycophytes than to those in leptosporangiate ferns. It is shown that initiation of leaves in *E. sylvaticum* and *E. fluviatile* via emergence of the leaf apical initials (LAIs) in the surface initials zone is similar to that of other plants with monoplex SAM; both ferns and lycophytes. The main peculiarity of organogenesis in horsetails is the origin of the leaf whorl as a single structure; each whorl develops from the triplet of the shoot apical initial merophytes. The inner cells of the emerging leaf whorl that belong to the single triplet of merophytes differentiate into the intercalary meristem. Each phytomer of *E. sylvaticum* and *E. fluviatile* is composed of the whorl of congenitally fused leaves and a whorl of buds that emerge in the axils of leaf bases located between the blades and thus alternate with leaves. Each bud bears a single root primordium; bud primordia develop on aerial shoots while root primordia — on the underground shoots. Termination of the leaf apical meristem functioning, that consequences from the vacuolation of the LAI, leads to the absence of the marginal meristem and the vascular tissues in the leaf blade. Proximodistal development of the leaf whorl and origin of buds results from meristematic activity of the peripheral part of the intercalary meristem. The search for the homologues of genes encoding known for angiosperms regulators of the development of adaxial (C3HDZ and ARP) and abaxial (YABBY and KANADI) leaf domains in available transcriptomes of horsetails and matching of the found homologues with that from the genomes of mosses, ferns and gymnosperms was undertaken in the context of assessment of presumptive regulatory similarities or differences of leaves of horsetails and other ferns in the context of leaf homology in the two groups. MEME analysis has shown that R2-R3 MYB proteins from transcriptomes of horsetails are not ARP homologues. Thus it has been revealed that horsetail have single adaxial domain regulator (C3HDZ) and single abaxial domain regulator (KANADI), as other ferns. This finding suggests the probable loss of other regulators of the adaxial (ARP) and abaxial (YABBY) domains in the common ancestor of Polypodiophyta. Phylogenetic analysis of the identified homologues of genes that encode WOX proteins suggest that the T3 clade, that includes regulators of marginal (WOX3) and plate (WOX1) leaf meristems, originated in a common ancestor of Polypodiophyta, also indicating similarities in the molecular genetic regulation of the leaves in horsetails and other ferns.

Keywords: apical initials, apical, plate, marginal meristems, transcription factors, *ARP*, *C3HDZ*, *YABBY*, *KANADI*, *WOX*

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to the former student of the botany department of St. Petersburg State University (SPbSU) Sofia Velle for making ultrathin and some semi-thin sections, to head of the laboratory of anatomy and morphology of the Komarov botanical institute Dr. Nuria Koteeva for the help and valuable discussions on the ultrastructure of the shoot and leaf meristem cells, to the senior lecturer of

botany department (SPbSU) Natalia Ivanova for hand sections, to the student of botany department (SPbSU) Maria Tarasova for the help with samples proceeding for SEM, to the assistant of botany department (SPbSU) Pavel Smirnov for the photos of rhizomes, and to Petr Romanov for help with illustrations. The research was funded by the grant of Russian Science Foundation, <https://rscf.ru/project/22-24-20049/> in accordance with the agreement of

25.03.2022 No 22-24-20049, and grant of St. Petersburg Science Foundation in accordance with the agreement of 14.04.2022 No 36/2022, and carried out using scientific equipment of the research resource center “Molecular and cell technologies” of the Research Park of St. Petersburg State University and the Center for Collective Use of the Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences.

REFERENCES

- Bierhorst D.W. 1971. Morphology of vascular plants. New York. 560 p.
- Bower F.O. 1935. Primitive land plants-also known as the Archegoniatae. London. 658 p.
- Bowman J.L., Briginshaw L.N., Florent S.N. 2019. Evolution and co-option of developmental regulatory networks in early land plants. – *Curr. Top. Dev. Biol.* 131: 35–53. <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2018.10.001>
- Bowman J.L., Kohchi T., Yamato K.T., Jenkins J., Shu S., Ishizaki K., Yamaoka S., Nishihama R., Nakamura Y., Berger F., Adam C., Aki S.S., Althoff F., Araki T., Arteaga-Vazquez M.A., Balasubramanian S., Barry K., Bauer D., Boehm C.R., Briginshaw L., Caballero-Perez J., Catarino B., Chen F., Chiyoda S., Chovatia M., Davies K.M., Delmans M., Demura T., Dierschke T., Dolan L., Dorantes-Acosta A.E., Eklund D.M., Florent S.N., Flores-Sandoval E., Fujiyama A., Fukuzawa H., Galik B., Grimaneli D., Grimwood J., Grossniklaus U., Hamada T., Haseloff J., Hetherington A.J., Higo A., Hirakawa Y., Hundley H.N., Ikeda Y., Inoue K., Inoue S., Ishida S., Jia Q., Kakita M., Kanazawa T., Kawai Y., Kawashima T., Kennedy M., Kinose K., Kinoshita T., Kohara Y., Koide E., Komatsu K., Kopsischke S., Kubo M., Kyojuka J., Lagercrantz U., Lin S.-S., Lindquist E., Lipzen A.M., Lu C.-W., De Luna E., Martienssen R.A., Minami-no N., Mizutani Masaharu, Mizutani Miya, Mochizuki N., Monte I., Mosher R., Nagasaki H., Nakagami H., Naramoto S., Nishitani K., Ohtani M., Okamoto T., Okumura M., Phillips J., Pollak B., Reinders A., Rövekamp M., Sano R., Sawa S., Schmid M.W., Shirakawa M., Solano R., Spunde A., Suetsugu N., Sugano S., Sugiyama A., Sun R., Suzuki Y., Takenaka M., Takezawa D., Tomogane H., Tsuzuki M., Ueda T., Umeda M., Ward J.M., Watanabe Y., Yazaki K., Yokoyama R., Yoshitake Y., Yotsui I., Zachgo S., Schmutz J. 2017. Insights into land plant evolution garnered from the *Marchantia polymorpha* genome. – *Cell*. 171: 287–304.e15. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.09.030>
- Briginshaw L.N., Flores-Sandoval E., Dierschke T., Alvarez J.P., Bowman J.L. 2022. *KANADI* promotes thallus differentiation and FR-induced gametangiophore formation in the liverwort *Marchantia*. – *New Phytol.* 234 (4): 1377–1393. <https://doi.org/10.1111/nph.18046>
- Byrne M.E., Barley R., Curtis M., Arroyo J.M., Dunham M., Hudson A., Martienssen R.A. 2000. Asymmetric leaves1 mediates leaf patterning and stem cell function in *Arabidopsis*. – *Nature*. 408: 967–971. <https://doi.org/10.1038/35050091>
- Caggiano M.P., Yu X., Bhatia N., Larsson A., Ram H., Ohno C.K., Sappl P., Meyerowitz E.M., Jönsson H., Heisler M.G. 2017. Cell type boundaries organize plant development. – *eLife* 6: e27421. <https://doi.org/10.7554/eLife.27421>
- Chen H., Fang Y., Zwaenepoel A., Huang S., Van de Peer Y., Li Z. 2023. Revisiting ancient polyploidy in leptosporangiate ferns. *New Phytol.* Feb. 237 (4): 1405–1417. <https://doi.org/10.1111/nph.18607>. Epub 2022 Dec 7. PMID: 36349406; PMCID: PMC7614084.
- Cooke T.D., Tilney M.S., Tilney L.G. 1996. Plasmodesmal networks in apical meristems and mature structures: geometric evidence for both primary and secondary formation of plasmodesmata. – In: *Membranes: specialized functions in plants*. Cambridge. P. 471–488.
- Croxdale J.G. 1978. *Salvinia* leaves. I. Origin and early differentiation of floating and submerged leaves. – *Can. J. Bot.* 56 (16): 1982–1991. <https://doi.org/10.1139/b78-237>
- Donoghue P.C., Harrison C.J., Paps J., Schneider H. 2021. The evolutionary emergence of land plants. – *Curr. Biol.* 31 (19): R1281–R1298. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.07.038>
- Du F., Guan C., Jiao Y. 2018. Molecular mechanisms of leaf morphogenesis. – *Mol. Plant.* 11 (9): 1117–1134. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2018.06.006>
- Du H., Ran J., Feng Y., Wang X. 2020. The flattened and needlelike leaves of the pine family (Pinaceae) share a conserved genetic network for adaxial-abaxial polarity but have diverged for photosynthetic adaptation. – *BMC Evol. Biol.* 20:131. <https://doi.org/10.1186/s12862-020-01694-5>
- Emery J.F., Floyd S.K., Alvarez J., Eshed Y., Hawker N.P., Izhaki A., Baum S.F., Bowman J.L. 2003. Radial patterning of *Arabidopsis* shoots by class III *HD-ZIP* and *KANADI* genes. – *Curr. Biol.* 13 (20): 1768–1774. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2003.09.035>
- Esau K. 1969. Plant anatomy. Moscow. 564 p. (In Russ.).
- Eshed Y., Izhaki A., Baum S.F., Floyd S.K., Bowman J.L. 2004. Asymmetric leaf development and blade expansion in *Arabidopsis* are mediated by *KANADI* and *YABBY* activities. – *Development*. 131 (12): 2997–3006. <https://doi.org/10.1242/dev.01186>
- Evkaikina A.I., Berke L., Romanova M.A., Proux-Wéra E., Ivanova A.N., Rydin C., Pawlowski K., Voitsekhovskaja O.V. 2017. The *Huperzia selago* shoot tip transcriptome sheds new light on the evolution of leaves. – *Genome Biol. Evol.* 9 (9): 2444–2460. <https://doi.org/10.1093/gbe/evx169>
- Finet C., Floyd S.K., Conway S.J., Zhong B., Scutt C.P., Bowman J.L. 2016. Evolution of the *YABBY* gene family in seed plants. – *Evol. Dev.* 18: 116–126. <https://doi.org/10.1111/ede.12173>
- Floyd S.K., Bowman J.L. 2006. Distinct developmental mechanisms reflect the independent origins of leaves in vascular plants. – *Curr. Biol.* 16 (19): 1911–1917. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.07.067>
- Floyd S.K., Zalewski C.S., Bowman J.L. 2006. Evolution of class III homeodomain-leucine zipper genes in Streptophytes. – *Genetics*. 173 (1): 373–388. <https://doi.org/10.1534/genetics.105.054239>

- Frank M.H., Edwards M.B., Schultz E.R., McKain M.R., Fei Z., Sørensen I., et al. 2015. Dissecting the molecular signatures of apical cell-type shoot meristems from two ancient land plant lineages. — *New Phytol.* 207: 893–904.
<https://doi.org/10.1111/nph.13407>
- Gifford E.M., Foster A.S. 1989. Morphology and evolution of vascular plants. New York. 626 p.
- Golub S.J., Wetmore R.H. 1948a. Studies of development in the vegetative shoot of *Equisetum arvense* L. I. The Shoot Apex. — *Am. J. Bot.* 35 (10): 755–767.
<https://doi.org/10.2307/2438157>
- Golub S.J., Wetmore R.H. 1948b. Studies of development in the vegetative shoot of *Equisetum arvense* L. II. The Mature Shoot. — *Am. J. Bot.* 35 (10): 767–781.
<https://doi.org/10.2307/2438158>
- Goodstein D.M., Shu S., Howson R., Neupane R., Hayes R.D., Fazo J., Mitros T., Dirks W., Hellsten U., Putnam N., Rokhsar D.S. 2012. Phytozome: a comparative platform for green plant genomics. — *Nucleic Acids Res.* 40 (D1): D1178–D1186.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkr944>
- Gouy M., Guindon S., Gascuel O. 2010. SeaView version 4: a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. — *Mol. Biol. Evol.* 27 (2): 221–224.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msp259>
- Harrison C.J., Corley S.B., Moylan E.C., Alexander D.L., Scotland R.W., Langdale J.A. 2005. Independent recruitment of a conserved developmental mechanism during leaf evolution. — *Nature.* 434: 509–514.
<https://doi.org/10.1038/nature03410>
- Harrison C.J., Morris J.L. 2018. The origin and early evolution of vascular plant shoots and leaves. — *Philos. T. Roy. Soc. B.* 373 (1739): 20160496.
<https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0496>
- Harrison C.J., Rezvani M., Langdale J.A. 2007. Growth from two transient apical initials in the meristem of *Selaginella kraussiana*. — *Development.* 134 (5): 881–889.
<https://doi.org/10.1242/dev.001008>
- Hedman H., Zhu T., von Arnold S., Sohlberg J.J. 2013. Analysis of the *WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN* gene family in the conifer *Picea abies* reveals extensive conservation as well as dynamic patterns. — *BMC Plant Biol.* 13: 89.
<https://doi.org/10.1186/1471-2229-13-89>
- Hernández-Hernández B., Tapia-López R., Ambrose B.A., Vasco A. 2021. *R2R3-MYB* gene evolution in plants, incorporating ferns into the story. — *Int. J. Plant. Sci.* 182 (1): 1–8.
<https://doi.org/10.1086/710579>
- Hirakawa Y. 2022. Evolution of meristem zonation by *CLE* gene duplication in land plants. — *Nature Plants.* 8: 735–740.
<https://doi.org/10.1038/s41477-022-01199-7>
- HmmerWeb 2.43. 19 May 2023.
<https://www.ebi.ac.uk/Tools/hmmer/search/hmmsearch>
- Hornwort genomes. 19 May 2023. <https://www.hornworts.uzh.ch/en/hornwort-genomes.html>
- Hou G.C., Hill J.P. 2004. Developmental anatomy of the fifth shoot-borne root in young sporophytes of *Ceratopteris richardii*. — *Planta.* 219 (2): 212–20.
<https://doi.org/10.1007/s00425-004-1225-6>
- Huang X., Wang W., Gong T., Wickell D., Kuo L.-Y., Zhang X., Wen J., Kim H., Lu F., Zhao H., Chen Song, Li H., Wu W., Yu C., Chen Su, Fan W., Chen Shuai, Bao X., Li L., Zhang D., Jiang L., Yan X., Liao Z., Zhou G., Guo Y., Ralph J., Sederoff R.R., Wei H., Zhu P., Li F.-W., Ming R., Li Q. 2022. The flying spider-monkey tree fern genome provides insights into fern evolution and arborescence. — *Nat. Plants.* 8: 500–512.
<https://doi.org/10.1038/s41477-022-01146-6>
- Imaichi R., Hiratsuka R. 2007. Evolution of shoot apical meristem structures in vascular plants with respect to plasmodesmatal network. — *Am. J. Bot.* 94 (12): 1911–1921.
<https://doi.org/10.3732/ajb.94.12.1911>
- Jackson D., Veit B., Hake S. 1994. Expression of maize *KNOTTED1* related homeobox genes in the shoot apical meristem predicts patterns of morphogenesis in the vegetative shoot. — *Development.* 120 (2): 405–413.
- Kaplan D.R. 2001. The science of plant morphology: definition, history, and role in modern biology. — *Am. J. Bot.* 88 (10): 1711–1741.
<https://doi.org/10.2307/3558347>
- Kenrick P., Crane P. 1997. The origin and early diversification of land plants: a cladistic study. Washington. 441 p.
- Koteeva N.K. 1997. Ultrastructural changes of *Pinus sylvestris* (Pinaceae) shoot apical meristem cells in the annual cycle. — *Bot. Zhurn.* 82 (6): 10–23 (In Russ.).
- Li F.-W., Nishiyama T., Waller M., Frangedakis E., Keller J., Li Z., Fernandez-Pozo N., Barker M.S., Bennett T., Blázquez M.A., Cheng S., Cuming A.C., de Vries J., de Vries S., Delaux P.-M., Diop I.S., Harrison C.J., Hauser D., Hernández-García J., Kirbis A., Meeks J.C., Monte I., Mutte S.K., Neubauer A., Quandt D., Robison T., Shimamura M., Rensing S.A., Villarreal J.C., Weijers D., Wicke S., Wong G.K.-S., Sakakibara K., Szövényi P. 2020. *Anthoceros* genomes illuminate the origin of land plants and the unique biology of hornworts. — *Nat. Plants.* 6: 259–272.
<https://doi.org/10.1038/s41477-020-0618-2>
- Liu H., Wang Q.F., Taylor W.C. 2006. Morphological and anatomical variation in sporophylls of *Isoetes sinensis* Palmer (Isoetaceae), an endangered quillwort in China. — *Am. Fern J.* 96(3): 67–74.
<https://doi.org/10.1640/0002-8444>

- Lumpkin T.A., Plucknett D.L. 1980. *Azolla*: Botany, physiology, and use as a green manure. — *Econ. Bot.* 34: 111–153.
<https://doi.org/10.1007/BF02858627>
- Lyons E., Freeling M. 2008. How to usefully compare homologous plant genes and chromosomes as DNA sequences. — *Plant J.* 53 (4): 661–673.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03326.x>
- Morris J.L., Puttick M.N., Clark J.W., Edwards D., Kenrick P., Pressel S., Wellman C.H., Yang Z., Schneider H., Donoghue P. 2018. The timescale of early land plant evolution. — *PNAS.* 115 (10): 2274–2283.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1719588115>
- Mueller R.J. 1983. Indeterminate growth and ramification of the climbing leaves of *Lygodium japonicum* (Schizaeaceae). — *Am. J. Bot.* 70 (5): 682–690.
- Nakata M., Matsumoto N., Tsugeki R., Rikirsch E., Laux T., Okada K. 2012. Roles of the middle domain-specific *WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN* genes in early development of leaves in *Arabidopsis*. *Plant Cell.* 24: 519–535.
<https://doi.org/10.1105/tpc.111.092858>
- Napp-Zinn K. 1966. Anatomie des Blattes. Blattanatomie der Gymnospermen. Berlin.
- Nardmann J., Werr W. 2012. The invention of WUS-like stem cell-promoting functions in plants predates leptosporangiate ferns. — *Plant Mol. Biol.* 78: 123–134.
<https://doi.org/10.1007/s11103-011-9851-4>
- Nardmann J., Werr W. 2013. Symplesiomorphies in the *WUSCHEL* clade suggest that the last common ancestor of seed plants contained at least four independent stem cell niches. — *New Phytol.* 199: 1081–1092.
<https://doi.org/10.1111/nph.12343>
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). 19 May 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Naumenko A.N., Romanova M.A. 2008. Apical morphogenesis of *Psilotum nudum* (Psilotaceae) and *Botrychium lunaria* (Ophioglossaceae). — *Vestn. SPb Univ.* 3 (2): 15–27 (In Russ.).
- Newman I.V. 1965. Pattern in the meristems of vascular plants: III. Pursuing the patterns in the apical meristem where no cell is a permanent cell. — *J. Linn. Soc. Lond. Bot.* 59: 185–214.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1965.tb00057.x>
- Nystedt B., Street N.R., Wetterbom A., Zuccolo A., Lin Y.-C., Scofield D.G., Vezzi F., Delhomme N., Giacomello S., Alexeyenko A., Vicedomini R., Sahlin K., Sherwood E., Elfstrand M., Gramzow L., Holmberg K., Hällman J., Keech O., Klasson L., Koriabine M., Kucukoglu M., Käller M., Luthman J., Lysholm F., Niittylä T., Olson Å., Rilakovic N., Ritland C., Rosselló J.A., Sena J., Svensson T., Talavera-López C., Theißen G., Tuominen H., Vanneste K., Wu Z.-Q., Zhang B., Zerbe P., Arvestad L., Bhalerao R., Bohlmann J., Bousquet J., Gil R.G., Hvidsten T.R., de Jong P., MacKay J., Morgante M., Ritland K., Sundberg B., Thompson S.L., Van de Peer Y., Andersson B., Nilsson O., Ingvarsson P.K., Lundeberg J., Jansson S. 2013. The Norway spruce genome sequence and conifer genome evolution. — *Nature.* 497: 579–584.
<https://doi.org/10.1038/nature12211>
- One Thousand Plant Transcriptomes Initiative. 2019. One thousand plant transcriptomes and the phylogenomics of green plants. — *Nature.* 574 (7780): 679–685.
<https://doi.org/10.1038/s41586-019-1693-2>
- Owens I.N. 1968. Initiation and development of leaves in Douglas fir. — *Can. J. Bot.* 46 (3): 271–278.
- Paysan-Lafosse T., Blum M., Chuguransky S., Grego T., Pinto B.L., Salazar G.A., Bileschi M.L., Bork P., Bridge A., Colwell L., Gough J., Haft D.H., Letunić I., Marchler-Bauer A., Mi H., Natale D.A., Orengo C.A., Pandurangan A.P., Rivoire C., Sigrist C.J.A., Sillitoe I., Thanki N., Thomas P.D., Tosatto S.C.E., Wu C.H., Bateman A. 2022. InterPro in 2022. — *Nucleic Acids Res.* 51(D1): D418–D427.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkac993>
- PPG I (2016). A community-derived classification for extant lycophytes and ferns. — *J. Syst. Evol.* 54: 563–603.
<https://doi.org/10.1111/jse.12229>
- Romani F., Reinheimer R., Florent S.N., Bowman J.L., Moreno J.E. 2018. Evolutionary history of HOMEODOMAIN LEUCINE ZIPPER transcription factors during plant transition to land. — *New Phytol.* 219 (1): 408–421.
<https://doi.org/10.1111/nph.15133>
- Romanova M., Jernstedt J. 2005. Morphogenetic events in the *Ceratopteris richardii* shoot apex. — *Fern. Gaz.* 17: 204.
- Romanova M.A., Borisovskaya G.M. 2004. Principles of structural organization of the vegetative body in ferns: ontogenetic approach. — *Bot. Zhurn.* 89 (5): 705–717 (In Russ.).
- Romanova M.A., Domashkina V.V., Maksimova A.I., Pawlowski K., Voitsekhovskaja O.V. 2023. All together now: Cellular and molecular aspects of leaf development in lycophytes, ferns, and seed plants. — *Front. Ecol. Evol.* 11.
<https://doi.org/10.3389/fevo.2023.1097115>
- Romanova M.A., Naumenko A.N., Evkaykina A.I. 2010. Peculiarities of apical morphogenesis in different taxa of non-seed plants. — *Vestn. of SPb Univ.* 3(3): 29–41 (In Russ.).
- Romanova M.A., Yakovleva O.V., Maximova A.I., Ivanova A.N., Domashkina V.V. 2022. Structure of shoot apical meristems and peculiarities of ultrastructure of their cells in lycophytes and ferns. — *Bot. Zhurn.* 107 (9): 65–85 (In Russ.).
- Ruzin S.E. 1999. Plant microtechnique and microscopy. Oxford. 322 p.
- Sakakibara K., Reisewitz P., Aoyama T., Friedrich T., Ando S., Sato Y. 2014. *WOX13*-like genes are required for reprogramming of leaf and protoplast cells into stem cells in the moss *Physcomitrella patens*. — *Development.* 141 (8): 1660–1670.
<https://doi.org/10.1242/dev.097444>

- Sarojam R., Sappl P.G., Goldshmidt A., Efroni I., Floyd S.K., Eshed Y., Bowman J.L. 2010. Differentiating *Arabidopsis* shoots from leaves by combined *YABBY* activities. — *Plant Cell*. 22 (7): 2113–2130. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.075853>
- Sarvepalli K., Das Gupta M., Challa K.R., Nath U. 2019. Molecular cartography of leaf development – role of transcription factors. — *Curr. Opin. Plant Biol.* 47: 22–31. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2018.08.002>
- Sawa S., Watanabe K., Goto K., Kanaya E., Morita E.H., Okada K. 1999. *FILAMENTOUS FLOWER*, a meristem and organ identity gene of *Arabidopsis*, encodes a protein with a zinc finger and HMG-related domains. — *Genes Dev.* 13 (9): 1079–1088. <https://doi.org/10.1101/gad.13.9.1079>
- Schneider H., Pryer K.M., Cranfill R., Smith A.R., Wolf P.G. 2002. Evolution of vascular plant body plans: a phylogenetic perspective. — In: *Developmental Genetics and Plant Evolution*. P. 330–364. <https://doi.org/10.1201/9781420024982.ch17>
- Skupchenko V.B. 2019. Cell growth and proliferation in ground tissue of developing terminal shoot in *Picea abies* (Pinaceae). — *Rastitelnye Resursy*. 55: 195–212 (In Russ.). <https://doi.org/10.1134/S0033994619020092>
- Skupchenko V.B., Ladanova N.V. 1984. The development of *Picea obovata* (Pinaceae) needles. — *Bot. Zhurn.* 69 (7): 203–206 (In Russ.).
- Spencer V., Venzla Z.N., Harrison C.J. 2021. What can lycophytes teach us about plant evolution and development? Modern perspectives on an ancient lineage. — *Evol. Dev.* 23: 174–196. <https://doi.org/10.1111/ede.12350>
- Steeves T.A., Sussex I.M. 1989. *Patterns in plant development*. Cambridge. 388 p.
- Stöver B.C., Müller K.F. 2010. TreeGraph 2: Combining and visualizing evidence from different phylogenetic analyses. — *BMC Bioinformatics*. 11: 7. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-7>
- Sundell D., Mannapperuma C., Netoteya S., Delhomme N., Lin Y.C., Sjödin A., Van de Peer Y., Jansson S., Hvidsten T.R., Street N.R. 2015. The Plant Genome Integrative Explorer Resource: PlantGenIE.org. — *New Phytol.* 208 (4): 1149–1156. <https://doi.org/10.1111/nph.13557>
- Szövényi P., Waller M., Kirbis A. 2019. Evolution of the plant body plan. — *Curr. Top. Devel. Biol.* 131: 1–34. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-7>
- Timothy L., Bailey T., Elkan C. 1994. Fitting a mixture model by expectation maximization to discover motifs in biopolymers. — *Proc. Int. Conf. Intell. Syst. Mol. Biol.* 2: 28–36. <https://doi.org/7584402>
- Tomescu A.M.F. 2009. Megaphylls, microphylls and the evolution of leaf development. — *Trends in Plant Science*. 14 (1): 5–12. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.008>
- Tomescu A.M.F., Escapa I.H., Rothwell G.W., Elgorriaga A., Cúneo N.R. 2017. Developmental programmes in the evolution of *Equisetum* reproductive morphology: a hierarchical modularity hypothesis. — *Ann. Bot.* 119 (4): 489–505. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw273>
- Trifinopoulos J., Nguyen L.-T., von Haeseler A., Minh B.Q. 2016. W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. — *Nucleic Acids Res.* 44 (W1): W232–W235. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw256>
- Tsukaya H. 2021. The leaf meristem enigma: The relationship between the plate meristem and the marginal meristem. — *The Plant Cell*. 33 (10): 3194–3206. <https://doi.org/10.1093/plcell/koab190>
- van der Graaff E., Laux T., Rensing S. 2009. The WUS homeobox-containing (WOX) protein family - *Genome Biology*. 10 (12): 248. [pmid:20067590](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20067590/)
- Vanneste K., Sterck L., Myburg A.A., Van de Peer Y., Mizrachi E. 2015. Horsetails Are Ancient Polyploids: Evidence from *Equisetum giganteum*. — *Plant Cell*. 27 (6): 1567–78. <https://doi.org/10.1105/tpc.15.00157>. Epub 2015 May 22. PMID: 26002871; PMCID: PMC4498207
- Vasco A., Ambrose B.A. 2020. Simple and divided leaves in ferns: exploring the genetic basis for leaf morphology differences in the genus *Elaphoglossum* (Dryopteridaceae). — *Int. J. Mol. Sci.* 21 (15): 5180. <https://doi.org/10.3390/ijms21155180>
- Vasco A., Moran R.C., Ambrose B.A. 2013. The evolution, morphology and development of fern leaves. — *Front. Plant Sci.* 4: 345. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00345>
- Vasco A., Smalls T.L., Graham S.W., Cooper E.D., Wong G.K., Stevenson D.W., Moran R.C., Ambrose B.A. 2016. Challenging the paradigms of leaf evolution: Class III HD-Zips in ferns and lycophytes. — *New Phytol.* 212 (3): 745–758. <https://doi.org/10.1111/nph.14075>
- Wang B., Yeun L.H., Xue J.Y., Liu Y., Ané J. M., Qiu Y.L. 2010. Presence of three mycorrhizal genes in the common ancestor of land plants suggests a key role of mycorrhizas in the colonization of land by plants. — *The New Phytol.* 186 (5): 514–525. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.03137.x>
- Wardlaw C.W. 1949. Experimental and analytical studies of pteridophytes: XIV. Leaf formation and phyllotaxis in *Dryopteris aristata* Druce. — *Ann. Bot.* 13 (2): 163–198.
- White R., Turner M. 1995. Anatomy and development of the fern sporophyte. — *Bot. Rev.* 61 (4): 281–305. <https://doi.org/10.1007/BF02912620>
- Wu C.C., Li F.W., Kramer E.M. 2019. Large-scale phylogenomic analysis suggests three ancient superclades of the *WUSCHEL-RELATED HOMEODOMAIN* transcription factor family in plants. — *PloS One*. 14 (10): e0223521. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223521>
- Xia Z., Liu L., Wei Z., Wang F., Shen H., Yan Y. 2022. Analysis of comparative transcriptome and positively selected genes reveal adaptive evolution in leaf-less and root-less whisk ferns. — *Plants*. 11 (9): 1198. <https://doi.org/10.3390/plants11091198>

- Yamaguchi T., Nukazuka A., Tsukaya H. 2012. Leaf adaxial-abaxial polarity specification and lamina outgrowth: evolution and development. — *Plant Cell Physiol.* 53 (7): 1180–1194.
<https://doi.org/10.1093/pcp/pcs074>
- Yang M., You W., Wu S., Fan Z., Xu B., Zhu M., Li X., Xiao Y. 2017. Global transcriptome analysis of *Huperzia serrata* and identification of critical genes involved in the biosynthesis of huperzine A. — *BMC Genomics.* 18 (1): 245.
<https://doi.org/10.1186/s12864-017-3615-8>
- Yip H.K., Floyd S.K., Sakakibara K., Bowman J.L. 2016. Class III HD-Zip activity coordinates leaf development in *Physcomitrella patens*. — *Dev. Biol.* 419 (1): 184–197.
<https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2016.01.012>
- Zimmerman W. 1952. Main results of the “Telome Theory”. — *Paleobotanist.* 1: 456–470.
- Zumajo-Cardona C., Ambrose B. A. 2020. Phylogenetic analyses of key developmental genes provide insight into the complex evolution of seeds. — *Mol. Phylogenet. Evol.* 147:106778.
<https://doi.org/10.1186/s12864-017-3615-8>
- Zumajo-Cardona C., Vasco A., Ambrose B.A. 2019. The evolution of the *KANADI* gene family and leaf development in lycophytes and ferns. — *Plants (Basel).* 8 (9): 313.
<https://doi.org/10.1016/j.ympv.2020.106778>