

При царе горохе (*Pisum sativum* L.): непростая судьба первого генетического объекта

О.Э. Костерин

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия; Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия

Горох посевной (*Pisum sativum* L.) является важнейшей зернобобовой, овощной и кормовой культурой и улучшает плодородие почв за счет симбиотической азотфиксации. Горох является первым генетическим объектом, поскольку именно на нем проводил опыты создатель генетики Г. Мендель. У гороха также была найдена первая в истории генетики транслокация. Время генерации гороха может быть сокращено до 35 суток, что сопоставимо с арабидопсисом. Однако небольшие трудноразличимые хромосомы затормозили развитие цитогенетики гороха, а рекомбинационные генетические карты вплоть до 1990-х гг. оставались не вполне адекватными и были исправлены лишь с применением молекулярных маркеров. До сих пор у гороха сосуществуют две разные нумерации – одна для групп сцепления, другая для хромосом как цитологических объектов. В последнее время к гороху с успехом был применен весь арсенал молекулярных маркеров – изоферменты, RAPD-, SSR-, RFLP-, AFLP-, STS-, CAPS-, sCAPS-, SNP-маркеры, а также методы обратной генетики, такие как тиллинг и вирус-индуцированный геномный сайленсинг; ожидается применение ассоциативного картирования. Проведен ряд транскриптомных исследований. В то же время полный ядерный геном гороха до сих пор не расшифрован; его расшифровка ожидается в 2016 г. Для разработки молекулярных маркеров у гороха активно используется синтения его генома с расшифрованным геномом *Medicago truncatula*. Генетическая трансформация гороха весьма затруднена. В качестве модельного генетического объекта горох был использован для исследования таких важных фундаментальных вопросов, как генетический контроль симбиоза с азотфиксирующими бактериями, влияние изменчивости генов гистона H1 на фенотип, механизм конфликта ядра и цитоплазмы в отдаленных скрещиваниях, возникновение В-хромосом у растений, генетический контроль морфологии сложного листа.

Ключевые слова: *Pisum sativum* L., горох; генетический объект, генетические карты, молекулярные маркеры.

Pea (*Pisum sativum* L.): the uneasy fate of the first genetical object

O.E. Kosterin

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia; Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

Pea (*Pisum sativum* L.) is an important vegetable and forage crop capable of improving soils via symbiotic nitrogen fixation. It is of special importance in Russia as a crop adapted to high latitudes and an inexpensive source of plant protein. In addition, pea is the first genetical object used in famous G. Mendel's experiments. The first translocation in the history of genetics was also found in pea. Pea generation time can be shortened to 35 days, which is comparable with *Arabidopsis*. However, small and hardly recognizable chromosomes hampered the development of pea cytogenetics, while recombination genetic maps remained inadequate until 1990s, when they were improved only with the aid of molecular methods. Two different notations for pea linkage groups and chromosomes as cytological objects still coexist. Recently, the whole toolbox of modern molecular methods of genetic analysis was applied to pea, including isozymes, RAPD-, SSR-, RFLP-, AFLP-, STS-, CAPS-, sCAPS-, and SNP-markers, as well as methods of reverse genetics including TILLING and virus-induced genomic silencing. Application of association mapping. Several transcriptome studies have been carried out in pea. Meanwhile, we await the completion of pea nuclear genome sequencing in 2016. For working out new molecular markers in pea, the synteny of its genome to the sequenced genome of *Medicago truncatula* is extensively used. Genetic transformation of pea is very difficult. Pea has been used as an experimental model for investigation of the following fundamental issues: the genetic control of symbiosis with nitrogen fixing bacteria, influence of variation in the histone H1 gene on the phenotype, mechanism of nuclear-cytoplasmic conflict in remote crosses, origin of B-chromosomes in plants, and genetic control of compound leaf morphology.

Key words: *Pisum sativum* L., pea, genetic object, genetic map, molecular markers.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ?

Костерин О.Э. При царе горохе (*Pisum sativum* L.): непростая судьба первого генетического объекта. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(1):13-26.

HOW TO CITE THIS ARTICLE?

Kosterin O.E. Pea (*Pisum sativum* L.): the uneasy fate of the first genetical object. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii – Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2015;19(1):13-26.

УДК 575:633.358

Поступила в редакцию 30.01.2015 г.

Принята к публикации 24.02.2015 г.

© АВТОР, 2015



e-mail: kosterin@bionet.nsc.ru

Горох является одной из самых холодоустойчивых бобовых культур, возделываемых вплоть до русского Севера. Мировая продукция зернового гороха в 2009 г. составила 10,4 Мт, уступив только фасоли (Smýkal et al., 2012). При этом бобовые культуры являются почти единственным источником растительного белка, составляющего у гороха 23–25 % сухого веса семян (Bastianelli, 1998). Но и в будущем горох может приобрести важнейшее значение для продовольственной безопасности нашей самой большой в мире страны, поскольку территория России в основном расположена в высоких широтах.

Горох – уникальная культура, имеющая три важнейших применения: как овощная, зерновая и кормовая культура. Вернее было бы сказать, четыре применения, так как корни гороха, несущие азотфиксирующие клубеньки, являются прекрасным естественным удобрением и использование гороха в севообороте в определенной степени восстанавливает плодородие почвы.

Неудивительно, что горох является и одной из древнейших культур, и старейшим генетическим объектом. Удивительно другое: насколько генетические исследования гороха, хотя и были самыми первыми генетическими исследованиями в мире, отстали от изучения других организмов, догоняя их лишь в самое последнее время. Возможно, причина такого странного положения состоит в том, что начиная со второй половины XX столетия (точнее, после второй мировой войны) прогресс науки по преимуществу сместился в более низкие широты, на которых располагается территория Соединенных Штатов Америки, где в условиях более теплого климата горох в качестве источника растительного белка уступает по значению более продуктивным и кулинарно привлекательным фасоли и сое.

Горох как генетический объект

Когда широкообразованный (однако без диплома) августинский монах Грегор Мендель решил заняться гибридизацией и изучением наследования, он начал с внимательного выбора объекта исследования. В интернете можно найти информацию – правда, в качестве своего рода предания, первоисточники которого теряются, – о том, что у себя в келье Мендель устроил нечто вроде живого уголка. Там он скрещивал различные растения, а также мышей. По всей видимости, объект исследования он выбирал не спеша и очень вдумчиво (вслед за горохом объектами опытов Менделя по изучению наследования стали ястребинка (*Hieracium*) и медоносные пчелы). Знаменитые опыты с горохом, которые Мендель проводил 8 лет и в ходе которых вырастил не менее 12 980 растений (столько упомянуто в его эпохальной статье (Mendel, 1866)), хотя в действительности их наверняка было намного больше, он начал в 1856 г. Однако горох попал в сферу его внимания еще как минимум на два года раньше, так как в 1854 г. он писал своему

преподавателю о том, что вредитель гороха гороховая зерновка (*Bruchus pisorum* L.) зимует в горошине, а не в почве, а яйца откладывает на молодой боб, а не в цветок. Так или иначе, объект, подходящий для поставленной Менделем задачи, был выбран весьма удачно: в наличии имелся ряд контрастных форм, проявляющих большое разнообразие внешних признаков, в отношении которых эти формы были устойчивы при разведении в себе, но при этом технически легко скрещивались друг с другом. Горох являлся однолетним растением, что позволяло получать одно поколение в год – большое преимущество перед многолетними растениями, в том числе деревьями и кустарниками, с которыми проводили свои гибридологические опыты предшественники и современники Менделя. Здесь можно заметить, что потенциал гороха как растительного объекта с коротким временем генерации в действительности оказался гораздо выше. Например, под руководством В.А. Бердникова выведена в качестве F23 от скрещивания образцов ВИР7036 (Непал) × сорт Аванти миниатюрная и скороспелая линия Спринт-1, время генерации которой в условиях микротеплицы составляет около 32–35 дней (Генетика – селекции растений, 1987), что сопоставимо с «растительной дрозофилой» – арабидопсисом (*Arabidopsis thaliana* L. Heynh.).

Результат удачного выбора Менделем экспериментального объекта – гороха – хорошо известен: он позволил Менделю фактически в одиночку основать науку генетику (ястребинка же и пчелы оказались далеко не столь плодотворны, благодаря неизвестным Менделю особенностям своего размножения) (см. Nogler, 2006).

Горох послужил основой еще одного важного генетического открытия: именно у гороха впервые в истории генетики С. Хаммерлундом (Hammarlund, 1923) была найдена транслокация, причем чисто генетическими методами – на основе данных о сцеплении генов. Вскоре эта транслокация была визуализована в профазе мейоза А. Хаканссоном (Håkansson, 1929).

В дальнейшем генетические исследования с горохом затормозились. Одной из причин того были, как это ни странно в свете вышеупомянутого открытия, недостатки гороха в качестве цитогенетического объекта – его хромосомы очень невелики и бедны морфологическими особенностями.

Первый качественный анализ кариотипа гороха был сделан Г.А. Левицким (1931). Две из семи хромосом гаплоидного набора имеют спутники (Pellew, Sansome, 1932; Sansome, 1933), остальные пять не имеют характерных признаков и визуально очень похожи. С. Бликсту (Blixt, 1958) удалось на основе относительной длины (отношение к общей длине кариотипа) хромосом и их плеч предложить определительный ключ для всех семи митотических хромосом; в то же время две самые мелкие хромосомы, 1 и 2, не могут быть достаточно надежно идентифицированы (Hall et al., 1997). Мейотические хро-

мосомы не удается определить ранее второго деления, которое аналогично митозу. В связи с плохой различимостью цитогенетические исследования гороха проводились лишь с использованием транслокаций (Sansome, 1932, 1933, 1938; Lamm, 1951, 1977; Lamm, Miravalle, 1959), стандартный набор которых был предложен Робертом Ламмом (Lamm, 1951, 1977; Lamm, Miravalle, 1959). В середине 1980-х годов Дональду Фолькесону с большим трудом удалось применить к хромосомам гороха метод дифференциального окрашивания (Folkesson, 1984a), однако результат получился не впечатляющим – дифференциальная окраска была не очень отчетливой. Через полтора десятилетия к митотическим хромосомам гороха были применены FISH-технологии: на них были визуализованы кластеры рибосомальных РНК и микросателлиты (Fuchs et al., 1998; De Martino et al., 2000; Neumann et al., 2001).

Казалось бы, столь плодотворно замеченные Г. Менделем удачные свойства гороха как объекта для гибридологического анализа наследования внешних признаков, т. е. как стало принято говорить в дальнейшем – для классического генетического анализа, должны были довольно скоро привести к созданию подробных рекомбинационных генетических карт. Парадоксальным образом эта проблема оказалась решена лишь в 1990-е годы и только за счет привлечения молекулярных маркеров. Первая генетическая карта гороха, включавшая 6 групп сцепления, была составлена еще С. Веллензиком (Wellensiek, 1925). Однако ученым, сыгравшим главную роль в построении полной генетической карты, включавшей 7 групп сцепления (при $n = 7$), был Герберт Лампрехт (Lamprecht, 1948, 1953, 1954, 1955, 1957, 1961). Его генетическая карта к 1970-м годам была существенно пополнена генами с видимым фенотипическим проявлением, число которых достигло 169 и которые в результате покрывали ее достаточно густо, так что выглядела она весьма неплохо (Blixt, 1972).

Однако в 1980–1990-е годы выяснилось, что эта карта неадекватна. Различные ее фрагменты оказались неправильно объединенными в группы сцепления за счет переоценки надежности данных, якобы указывавших на дальнейшее сцепление, что в действительности было статистическим артефактом. Это было обнаружено, прежде всего, в работах вышеупомянутого Д. Фолькесона (Folkesson, 1984b, 1990a, b). Дальнейшая перестановка фрагментов карты Лампрехта была связана с локализацией Ианом Мёрфетом гена *gigas* (Murfet, 1990), а автором данного сообщения – генов *His7* (Kosterin, 1992, 1993) и *bulbosus* (Kosterin, Rozov, 1993).

Экспансия молекулярных методов

Вскоре генетическая карта гороха стала наполняться молекулярными маркерами, а именно: генами, кодирующими изоферменты (Weeden, Marx, 1987; Hoey et al., 1996; Baranger et al., 2004);

полиморфными случайно амплифицируемыми последовательностями ДНК (RAPD-маркеры – Random Amplified Polymorphic DNA) (Hoey et al., 1996; Lu et al., 1996; Laucou et al., 1998; Rameau et al., 1998; Cheghamirza et al., 2002; Baranger et al., 2004); микросателлитными маркерами (SSR-маркеры – Simple Sequence Repeats) (Lu et al., 1996; Baranger et al., 2004; Loidon et al., 2005);

полиморфными по длине фрагментами рестрикции ДНК (RFLP-маркеры – Restriction Fragment Length Polymorphism);

такими же фрагментами, амплифицированными после присоединения адаптеров (AFLP-маркеры) (Lu et al., 1996);

амплифицированными фрагментами ДНК со случайных праймеров, полиморфными по наличию сайтов рестрикции (STS-маркеры) (Lu et al., 1996; Weeden, Boone, 1999);

полиморфными сайтами встройки ретротранспозонов (RBIP-маркеры – Retrotransposon-Based Insertion Polymorphism) (Ellis et al., 1998; Vershinin et al., 2003; Jing et al., 2010);

полиморфными по наличию сайтов рестрикции амплифицированными фрагментами кодирующих генов (CAPS-маркеры – Cleaved Amplified Polymorphic Sequences. Если они разрабатываются на основе EST-последовательностей, то иногда называются EST-маркерами, что усложняет «номенклатуру» маркеров) (Gilpin et al., 1997; Konovalov et al., 2005);

нуклеотидными заменами в конкретных позициях (SNP-маркеры – Single Nucleotide Polymorphisms) (Aubert et al., 2006; Deulvot et al., 2010; Bordat et al., 2011).

Дополним перечень обозначениями еще нескольких классов молекулярных маркеров, употреблявшихся в литературе по гороху: SSR-EST-маркеры – основаны на коротких tandemных повторах внутри кодирующих частей генов (Bordat et al., 2011; Decarie et al., 2012); SCAR- или STS-маркеры (sequence-characterised amplified regions, sequence tagged sites) (Rameau et al., 1998) – основаны на RAPD-маркерах, но с дальнейшей разработкой праймеров, специфичных для конкретного фрагмента; dCAPS-маркеры (derived CAPS) (Aubert et al., 2006) – аналоги CAPS-маркеров, но сайт рестрикции отсутствует в анализируемой ДНК, находится в не вполне гомологичном праймере. Скорость прогресса молекулярной генетики столь велика, что терминология названий новых методов с трудом поспевает за их появлением.

В последние десятилетия в связи с развитием методов высокопроизводительного секвенирования, позволяющих проводить одновременный анализ практически любого количества маркеров в одном образце (Deulvot, 2010; Bordat et al., 2011), исследования, направленные на создание генетических карт как таковых и картирование локусов, связанных с хозяйственно ценными признаками, перешли на SNP-маркеры в кодирующих

последовательностях (Jing et al., 2007; Smýkal et al., 2012). Методики генетического картирования развиваются стремительно, и настоящий момент – не лучшее время для обобщений.

Количество молекулярных маркеров, локализованных на генетической карте гороха, возрастает лавинообразно. Генетическая карта гороха, построенная в 2000-х гг. (Loridon et al., 2005), включала 229 SSR-маркеров, из которых 13 находились внутри кодирующих генов, остальные же – в некодирующей ДНК. Карты, построенные коллективом французских ученых, с преимущественным использованием маркеров, связанных с кодирующими генами, включали последовательно 363 маркера (111 внутри кодирующих генов) (Aubert et al., 2006), 536 маркеров (214 в кодирующих генах) (Bordat et al., 2011) и наконец 2 070 маркеров (Duarte et al., 2014). Независимая группа испанских исследователей получила карту, включающую 416 маркеров в кодирующих генах (Carrillo et al., 2014).

Оценки общей длины рекомбинационной генетической карты гороха варьируют в полтора раза: 937 cM (Weeden et al., 1998), 1 132 cM (Carrillo et al., 2014), 1255 cM (Duarte et al., 2014), 1 389 cM (Bordat et al., 2011), 1 430 cM (Loridon et al., 2005), 1 458 cM (Aubert et al., 2006). Первая из оценок была признана соответствующей общему количеству хиазм, наблюдаемых цитологически, а разброс оценок объяснялся рядом артефактов (Кнох, Ellis, 2001, 2002). Однако не следует сбрасывать со счетов возможные различия в общей интенсивности рекомбинации в зависимости от генотипа (Smýkal et al., 2012). Данных об изменчивости общего количества хиазм у гороха, по-видимому, не существует.

Преимущественное использование в последних работах SNP-маркеров, связанных с кодирующими генами, в какой-то мере возвращает ситуацию, когда на генетической карте были локализованы функциональные маркеры, имеющие фенотипическое проявление. Однако огромное количество маркеров само по себе затрудняет и графическое представление результатов картирования, и практическую работу с картой.

Заметим, что многие «молекулярные» рекомбинационные карты строились в отрыве от «классических». В скрещивания, от которых получались исследуемые популяции F2 и серии рекомбинационных инбредных линий, было вовлечено слишком мало маркеров с видимым фенотипическим проявлением. В связи с прогрессом и удешевлением (к сожалению, не в России) современных методов высокопроизводительного секвенирования возникла ситуация, когда разные группы исследователей для решения конкретных задач на основании своего конкретного материала (популяций второго или третьего поколения гибридов или, чаще, рекомбинантных инбредных линий) строят *de novo* весьма подробные генетические карты с густым покрытием многими сотнями маркеров. Такова, например, работа Карилло

с соавт. (Carrillo et al., 2014), которые в целях картирования генов количественных признаков (QTL), связанных с устойчивостью к аскохитозу, проанализировали набор рекомбинантных инбредных линий от одного скрещивания и создали карту, включающую 416 маркеров, связанных с нуклеотидными заменами в кодирующих генах, из которых 117 было добавлено ими *de novo*.

Проблема интеграции новых данных по картированию с полученными ранее и создания универсальной генетической карты гороха осознавалась с самого начала использования молекулярных подходов. К ее решению прилагаются значительные усилия (Gilpin et al., 1997; Weeden et al., 1998; Aubert et al., 2006; Bordat et al., 2011; Decarie et al., 2012; Smýkal et al., 2012). Так, в работе Bordat с соавт. (2011) задействованы данные из 6 различных популяций рекомбинантных инбредных линий, полученных на основе скрещивания 6 образцов; а на приведенном в ней консенсусе генетической карты стоят 180 SSR-маркеров, 133 RAPD-маркера, 6 RFLP-маркеров, 214 маркеров, связанных с кодирующими генами, но всего 3 морфологических маркера. Последующая карта того же коллектива (Duarte et al., 2014), основанная на 4 популяциях RIL, включала 730 маркеров, картированных ранее.

На смену подходу, связанному с рекомбинационными инбредными линиями, приходит дорогостоящий и непрямой, но зато быстрый подход, впервые разработанный на таком неблагодарном генетическом объекте, как человек, и получивший название «ассоциативное картирование» (Zhu et al., 2008). Он предполагает не прямое картирование, не требующее скрещиваний и гибридных популяций, на основе анализа неравновесия по сцеплению изучаемых признаков и генетических маркеров на больших массивах генотипированного и фенотипированного материала. Этот подход ограничивают такие факторы, как родственность исследуемого материала и плотность имеющихся маркеров. На горохе таких работ пока не проводилось, но предварительная оценка имеющегося материала свидетельствует о его пригодности для такой программы (Jing et al., 2007).

Старые долги

Следует признать, что в настоящее время частная генетика гороха в ее классическом виде – постановка на универсальную для данного объекта генетическую карту генов с известной функцией или фенотипическим проявлением – пришла в упадок. Одним из проявлений этого упадка является сохранение в течение вот уже 19 лет прискорбной ситуации, когда группы сцепления рекомбинационной генетической карты и хромосомы как цитогенетические объекты имеют различную нумерацию. Эта проблема была сформулирована, и две системы параллельно использованы в статье С. Тёмных и Н. Видена (Temnykh, Weeden, 1993). Целесообразность сохранения такой ситуации на тот момент состояла в недостаточной

уверенности объединения некоторых фрагментов групп сцепления. Это обстоятельство было отражено в пунктирных участках и пробелах в группах сцепления I, IV и VII на генетической карте гороха, опубликованной в том же выпуске журнала «*Pisum Genetics*» (Ellis et al., 1993). Однако с тех пор, благодаря применению молекулярных маркеров, 7 групп сцепления гороха были надежно установлены. В то же время сохранялись затруднения в цитологической идентификации 2 наиболее мелких хромосом (Hall et al., 1997; Smýkal et al., 2012). Их идентификация возможна с помощью FISH-технологий, в частности с использованием зонда PisTR-B (Fuchs et al., 1998; Neumann et al., 2002). Между тем фактически соответствие двух систем нумерации – хромосом (традиционно обозначаемых арабскими цифрами) и групп сцепления (обозначаемых римскими цифрами) – давно выяснено: 1 = VI, 2 = I, 3 = V, 4 = IV, 5 = III, 6 = II, 7 = VII (Fuchs et al., 1998; Ellis, Poyser, 2002; Smýkal et al., 2012). Однако столь долгожданный акт перенумерации одной из этих систем по нумерации другой до сих пор не осуществлен, как можно понять, по причине невозможности прийти к консенсусу в проблеме, достойной Бурданова осла, – какую из двух нумераций выбрать (Smýkal et al., 2012).

При этом существование двух параллельных номенклатур порождает реальные проблемы. Так, Л. Фучжун и С.А. Гостимский (1998) обсуждают противоречие между собственными и литературными данными относительно того, какие хромосомы вовлечены в 7 транслокаций стандартного набора Ламма: «К сожалению, неточности в идентификации хромосом у транслокационных линий гороха привели к противоречиям в определении хромосом, участвующих в обменах» (Фучжун, Гостимский, 1998. С. 1269). Они не обратили внимание на то, что в большинстве случаев это было противоречие между двумя системами нумерации, а не между разными наборами данных, имеющих биологический смысл.

В ожидании расшифрованного генома

В настоящее время, когда расшифровка геномов оказывается едва ли не рутинной процедурой, ядерный геном гороха до сих пор не прочитан. Ирония момента состоит также в том, что геном гороховой тли *Acyrtosiphon pisum* был просеквенирован еще в 2010 г. (The International Aphid Genomics Consortium ..., 2010). Во многом отставание связано с тем, что геном достаточно велик – примерно 4,42 пг на гаплоидный геном (Greilhuber, Ebert, 1994), что соответствует 4,45 млрд пар оснований (Dolezel, Greilhuber, 2010). Примерно на 40–60 % он состоит из некодирующих повторенных последовательностей (Macas et al., 2007; Novák et al., 2010), причем 20–33 % приходится только на ретротранспозон *Ogre*, принадлежащий к семейству LTR-ретротранспозонов *Ty3/gypsy* (Novák et al., 2010), что существенно усложняет сборку полного генома. Заметим, что на фоне

родственных бобовых из трибы Fabaeae, таких как конские бобы или чина посевная, геном гороха достаточно мал, что находит свое отражение в вышеупомянутом небольшом размере хромосом, делающем горох неудобным цитогенетическим объектом. Таким образом, геном гороха слишком мал для цитогенетики, но слишком велик для легкого полногеномного секвенирования.

Однако ситуация близка к исправлению. Создан международный консорциум, который намерен просеквенировать полный геном гороха к 2016 г., к 150-летней годовщине со дня выхода эпохальной статьи Менделя, давшей начало генетике как науке (Mendel, 1866). Для этой цели созданы две библиотеки ВАС-клонов (bacterial artificial chromosomes): коммерческого сорта Камеор и образца PI269818 (Coyne et al., 2007). Последний был выбран в связи с его устойчивостью к вирусной мозаике (Keller et al., 1998) и фузариозу (Smýkal et al., 2012). Данные библиотеки уже используются для более частных целей: так, с их помощью были идентифицированы два гена, исследовавшихся еще Менделем, – *a* (Hellens et al., 2010) и *tl* (Hofer et al., 2009). В то же время геном будет просеквенирован только у сорта Камеор. Хлоропластный геном гороха был впервые расшифрован в 2010 г. (Magee et al., 2010), 4 года спустя он был ресеквенирован у 5 контрастных форм гороха (Bogdanova et al., 2015).

Пока полный ядерный геном гороха остается недоступным, разработка частной генетики гороха с использованием молекулярных маркеров, связанных с кодирующими генами, делается на основе 1) последовательностей генов родственных видов бобовых, у которых прочитаны полные геномы, и 2) имеющих последовательностей транскриптов генов гороха. В частности, традиционно использовались библиотеки EST-последовательностей (Gilpin et al., 1997). В последние годы для этой цели начали использовать полные транскриптомы, которые возможно получать и в отсутствие референсной последовательности генома (Franssen et al., 2011; Duarte et al., 2014).

К настоящему времени полные геномы прочитаны у трех модельных видов бобовых с очень маленькими геномами: *Medicago truncatula* (вид рода Люцерна, русского названия не имеет, триба Trifolieae), *Lotus japonicus* (лядвенец японский, триба Loteae, родственная Trifolieae), *Cicer arietinum* (нут бараний, триба Ciceraceae, родственная Fabaeae) и одного культурного растения, *Glycyne max* (соя, триба Faseoleae). Несмотря на то что все эти растения принадлежат к другим трибам (хотя Ciceraceae является сестринской для трибы Fabaeae (см. Яковлев, 1991)), их геномы демонстрируют неплохую синтению с геномом гороха (Choi et al., 2004; Kaly, 2004; Aubert et al., 2006; Bordat et al., 2011), причем заметная синтения прослеживается даже с геномами таких совсем не родственных растений, как виноград, тополь и папайя. По-видимому, геномы как минимум всех бобовых в достаточной мере синтены. Этим обстоятельством

можно воспользоваться, например, для разработки CAPS-маркеров, густо покрывающих определенные фрагменты генетической карты гороха. Для этого в геноме *M. truncatula* (или других вышеназванных видов с известными геномами) ищутся ортологи генов гороха, маркирующих соответствующий фрагмент карты, функциональная природа которых известна. Затем во фрагменте генома люцерны, соответствующем фрагменту генетической карты гороха, выявляются кодирующие гены, занимающие подходящие позиции. На основе их первичной структуры разрабатываются праймеры, с которыми проводится полимеразная цепная реакция с геномной ДНК гороха в качестве матрицы. Обычно гомология первичной структуры генов люцерны и гороха оказывается достаточно высокой, чтобы праймеры, разработанные на основании генов люцерны, позволяли амплифицировать фрагменты генов гороха. Затем в амплифицированных фрагментах генов гороха ищутся полиморфные позиции, создающие сайты узнавания тех или иных полимераз рестрикции. В случаях, когда такой сайт обнаруживается, в нужный участок генетической карты гороха удается поставить молекулярный маркер, связанный с кодирующим геном.

Используя этот подход, Ф.А. Коновалов с соавторами насытили CAPS-маркерами генетическую карту группы сцепления III (Kononov et al., 2005). В.С. Богданова с коллегами проделали то же для небольших фрагментов групп сцепления III и V, содержащих обнаруженные и исследуемые ими гены *Scs1* и *Scs2*, вовлеченные в конфликт ядра и пластид в отдаленных скрещиваниях гороха (Bogdanova et al., 2012). Путем секвенирования фрагментов выбранных ортологов генов люцерны, амплифицированных с ДНК вовлеченных в опыт родительских форм гороха и поиска полиморфизма в полученных первичных последовательностях, в работах Aubert с соавт. (2006), Bordat с соавт. (2011), Duarte с соавт. (2014) на генетическую карту гороха были поставлены соответственно 77, 51 и 730 новых маркеров, связанных с кодирующими генами. Количество «мостов», связывающих генетические карты гороха и люцерны, со временем стремительно росло: в 2006–2007 гг. их было 45 (Aubert et al., 2006) и 56 (Choi et al., 2004), в 2011 г. – 140 (Bordat et al., 2011), а в 2014 г. уже 1 252 (Duarte et al., 2014).

В работе коллектива французских ученых (Bordat et al., 2011) в полной мере были использованы два источника маркеров гороха, связанных с кодирующими генами, – последовательности транскриптов гороха и геномов родственных видов. Было проанализировано 30 156 последовательностей ДНК гороха, доступных на тот момент в базах данных, что позволило распознать последовательности, относящиеся к 13 747 уникальным генам. Из них для 5 460 были выявлены ортологи в геноме *Medicago truncatula*, причем 140 из них стояли на полученной в той же работе консенсусной рекомбинационной

карте гороха. С помощью анализа синтении геномов гороха, люцерны, лядвенца, сои и тополя для этих 5 460 генов были предсказаны реположительные позиции на консенсусной генетической карте гороха, на основе чего была разработана интерактивная база данных, позволяющая вводить произвольную последовательность гороха и с высокой вероятностью получать ее предположительную позицию на карте (http://www.thelegumeportal.net/pea_mtr_translational_toolkit). Такой подход получил название «translational genomics», которое в русском переводе обречено оказаться жертвой «ложных друзей переводчика», а именно на неверный перевод: «трансляционная геномика». В английском оригинале слово «translation» подразумевалось в обыденном значении: «перевод с одного языка на другой», а вовсе не в значении трансляции как молекулярно-биологического процесса. Подобная история произошла, например, с широко известным методологическим термином «фальсификация научных теорий», под которой подразумевалось не что иное, как просто «опровержение».

В дальнейшем тот же коллектив авторов в целях генетического картирования получил полный транскриптом гороха (Duarte et al., 2014). Он включал транскрипты 68 тыс. генов, из которых 41 тыс. была аннотирована на основе их ортологов в геноме люцерны; в 35 тыс. из них были найдены замены, 1 340 были впервые поставлены на консенсусную карту.

Чуть раньше, в 2011 г., независимо от предыдущего коллектива и вне задачи картирования, транскриптом из различных тканей гороха, включающий чуть более 80 тыс. генов, был получен немецко-американским коллективом авторов (Franssen et al., 2011).

Почти на 10 лет раньше транскриптома начал анализироваться протеом гороха, в частности при изучении онтогенеза надземных вегетативных органов (Schiltz et al., 2004), регуляции белкового состава семян (Bourgeois et al., 2009, 2011), симбиоза с азотфиксирующими бактериями (Saalbach et al., 2002), а также устойчивости к холодовому стрессу (Dumont et al., 2011), мучнистой росе (Curto et al., 2006), аскохитозу (Castillejo et al., 2010) и заразице (Castillejo et al., 2004).

К «модным» современным подходам, успешно примененным к гороху, относятся несколько методов, объединяемых под еще одним излишне громким названием «обратная генетика». Один из таких подходов, осуществленных на горохе (Dalmais et al., 2008), называется «TILLING» и включает химическую индукцию большого числа мутаций и мутантных линий с последующей идентификацией участков ДНК, затронутых каждой из мутаций, а также фенотипирование полученных мутантных линий. Таким образом, исследователь может выбрать из всего пула таких линий мутации в необходимых ему генах, получить информацию о том, в чем именно состоят эти мутации на уровне ДНК и оценить их влияние на фенотип. К 2012 г. этот набор включал

4 817 линий, фенотип 1 840 из которых был охарактеризован и 464 мутации были идентифицированы на уровне ДНК (Smýkal et al., 2012). Другим подходом обратной генетики, реализованным на горохе, является вирус-индуцированный генный сайленсинг с использованием вируса раннего побурения (Constantin et al., 2004). В частности, с помощью этого подхода были идентифицированы гены гороха, ответственные за арбускулярную микоризу (Gronlund et al., 2010). К недостаткам гороха относится крайняя трудность его генетической трансформации с помощью агробактериальных плазмид, которая удается буквально в считанных лабораториях мира (Somers et al., 2003; Svabova et al., 2005).

В целом можно сказать, что в последнее время горох, несмотря на заметное отставание, наконец-то становится в один ряд с культурными растениями, хорошо изученными в молекулярно-генетическом отношении. Недостаёт лишь последнего штриха – расшифрованного полного ядерного генома. А пока горох оказывается на одном уровне изученности с пшеницей и, скорее всего, обгонит ее, ввиду ее огромного генома и амфилоидной природы.

Научные плоды гороха

Создание генетики

Модельный генетический объект ценен не сам по себе, а как инструмент получения фундаментальных знаний о природе наследственности. Такова дрозофила, не имеющая практического значения (кроме некоторого вреда в виноделии), но позволившая подтвердить хромосомную теорию наследственности и подарившая нам генетические карты и др. (Юрченко и др., 2015). В этом отношении вклад гороха в развитие фундаментальных знаний беспрецедентен, так как он подарил нам саму генетику как науку, о чем знает любой школьник. В отличие от дрозофилы горох имеет огромное практическое значение, и развитие его генетики весьма востребовано в селекции. Однако любой генетический объект всегда имеет фундаментальное научное значение. Какие же еще общеприкладные проблемы помог решить старейший из них?

С изучения гибридов гороха начались не только генетика, но и цитогенетика. Как уже отмечалось выше, у этого объекта была обнаружена первая транслокация в истории генетики (Hammarlund, 1923). В цитогенетике горох почти сразу же уступил пальму первенства дрозофиле, по счастливой случайности оказавшейся обладательницей политенных хромосом. Как следствие, в цитогенетическом отношении горох остался «недоисследованным».

Генетика симбиоза растения и бактерии

Среди всех модельных генетических объектов только горох обладает ярчайшим примером симбиоза между эукариотами и прокариотами – симбиотической азот-

фиксацией, которая осуществляется бактериальным симбионтом *Rhizobium leguminosarum* в специальных органах – клубеньках, развитие которых, однако, индуцируется симбионтом бактериальным. Горох также способен к образованию арбускулярной микоризы. Обе способности свойственны всем бобовым растениям, но среди них только горох является модельным генетическим объектом в полном смысле слова. В мире проведен огромный объем генетических и молекулярных исследований обоих участников симбиоза в их взаимодействии, эти работы хорошо известны. В России такие работы проводятся под руководством И.А. Тихоновича в Институте сельскохозяйственной микробиологии РАСХН, а также под руководством К.К. Сидоровой в Институте цитологии и генетики СО РАН. Любая попытка обзора этих работ привела бы к неоправданному увеличению объема данной статьи, поэтому ограничимся ссылкой на один краткий обзор ведущих мировых специалистов (Борисов и др., 2011). Эти исследования даже послужили основой для претензии на создание новой науки – симбиогенетики (Тихонович, Проворов, 2012).

Изменчивость генов гистона H1, ее влияние на фенотип и роль в эволюции

Горох оказался наилучшей моделью для изучения фенотипических эффектов изменчивости по такому облигатному компоненту эукариотического хроматина, как гистон H1, проводившегося коллективом под руководством В.А. Бердникова, результаты которого кратко рассмотрены ниже. В отличие от коровых гистонов, гистон H1 отличается большой эволюционной пластичностью, являясь одним из самых изменчивых белков эукариот. Эта изменчивость преимущественно приурочена к протяженному положительно заряженному С-терминальному гидрофильному домену, взаимодействующему с отрицательно заряженной линкерной ДНК и, тем самым, являющемуся важной функциональной частью молекулы. Высокий уровень изменчивости обеспечивается, в частности, присутствием в данном домене коротких повторов и мотивов, склонных генерировать делеции и дупликации, в том числе у гороха (Trusov et al., 2004; Kosterin et al., 2012; Zaytseva et al., 2012, 2015). Как обязательный и в то же время весьма лабильный компонент эукариотического хроматина гистон H1 является элементом молекулярной среды, в которой происходит действие всех, в том числе и специфических, генных активаторов и репрессоров. Изменения в структуре молекулы, влияющие либо на силу связывания гистона H1 с ДНК, либо на характер его взаимодействия с другими белками хроматина (в том числе и с другими, паралогичными субтипами того же гистона H1), могли бы влиять на дифференциальную экспрессию самых разных генов. Таким образом, изменчивость генов гистона H1 могла бы оказывать непредсказуемое влияние на самые разные количественные признаки организмов, определяемые

многими генами, делая эти гены «полигенами общего действия» (Berdnikov et al., 1993a, b).

Это предположение и было с успехом проверено на горохе, оказавшемся для этой цели идеальной экспериментальной моделью. Выяснилось, что горох имеет не менее 7 неаллельных субтипов гистона H1, кодируемых уникальными генами, каждый из которых проявляет аллельную изменчивость, регистрируемую даже на уровне электрофоретической подвижности их белковых продуктов (Berdnikov et al., 1993a; Kosterin et al., 1994). Наиболее подвижный субтип H1-7 характерен тем, что присутствует только в хроматине активно делящихся тканей, тогда как по мере старения дифференцированных тканей хроматин их клеток несколько обогащается наименее подвижным и наиболее обильным субтипом H1-1, а также субтипом H1-6 (Kosterin et al., 1994). Благодаря тому что горох является достаточно хорошо изученным генетическим объектом, эти гены были картированы в три генетических локуса на двух хромосомах; один из этих локусов представляет собой кластер генов субтипов H1-2–H1-6, расположенных в пределах 0,1 сМ (Розов и др., 1986; Kosterin et al., 1994). Путем беккроссов (в том числе на сверхскороспелую линию Спринт-1) либо путем отбора одного гетерозиготного растения в ряду поколений было создано несколько пар и серий почти изогенных линий, различающихся аллельными вариантами тех или иных субтипов H1, которые сравнивались по многим количественным признакам в выровненных условиях теплицы. Как и ожидалось, замена аллельных вариантов отдельных субтипов гистона H1 оказывала небольшой, но статистически значимый эффект на некоторые количественные признаки общего характера (Bogdanova et al., 1994, 2007; Berdnikov et al., 1999a). Эффекты на более конкретные признаки, которые в задействованных экспериментальных моделях были связаны с низким уровнем экспрессии по гомеозисным генам, контролирующим морфологию листа, оказались еще менее предсказуемыми: от 20 % эффекта в случае проявления гена *Tl* (в норме направляющего развитие парных органов терминального отдела листа в усики) в гемизиготе (Berdnikov et al., 1999a), до полного отсутствия эффекта в случае «подтекающей» мутации *uni^{lac}* гена *Uni* (в норме ответственного за развитие сложного листа с парными органами на рахисе).

Удалось проследить следующую закономерность: удлинение С-терминального домена, а следовательно, и усиление сродства с ДНК у субтипа H1-7, специфичного для активно делящихся тканей, оказывало положительный эффект на скорость роста растения (Bogdanova et al., 2007), тогда как его удлинение у субтипа H1-6, накапливающегося в хроматине неделящихся тканей, воздействовало на скорость роста отрицательно (Kosterin et al., 2012). Возможная интерпретация этого наблюдения довольно прозрачна: увеличение присутствия H1-7 в хроматине «омолаживает» его, способствуя

экспрессии генов, обслуживающих митотический цикл, а увеличение присутствия H1-6 «старит» хроматин; аллельные же варианты каждого из субтипов различаются по сродству к ДНК и тем самым влияют на их представленность в хроматине.

Недостатком этих работ была существенная – до 20 сМ – теоретически рассчитанная длина участка вокруг генов гистона H1, не затронутая изогенизацией, которая заведомо включала десятки неизвестных генов помимо генов гистона H1, аллели которых могли нести различия, характерные для исходных линий. Данный недостаток был преодолен в опытах с использованием пар изогенных линий родственников гороха – чечевицы и чины посевной, у которых аномальный мутантный аллель гистона H1 имел недавнее мутантное происхождение (Berdnikov et al., 2003a).

На горохе было получено также свидетельство роли изменчивости гистона H1 в ходе «культурной эволюции» – эволюции культивируемого растения под действием естественного отбора в условиях примитивного традиционного земледелия вне влияния целенаправленной селекции (Бердников и др., 1989). Частота одного из аллельных вариантов субтипа H1-5 в региональных выборках примитивных культивируемых форм гороха обратно коррелировала с суммой температур вегетационного периода, так что наиболее обогащенными этим вариантом оказались выборки из Северной России, Таджикистана и Афганистана (Бердников и др., 1989; Berdnikov, 1993a). На уровне первичной структуры ДНК было обнаружено, что во всех региональных выборках, насколько бы они ни были удалены географически, присутствует идентичный аллель, по-видимому, распространившийся по Старому Свету в ходе миграции культур и поддержанный естественным отбором в регионах с холодным климатом (Zaytseva et al., 2012).

Эти исследования сопровождалось получением попутных результатов: во-первых, привели к существенному уточнению рекомбинационной генетической карты гороха, во-вторых, способствовали расширению знаний об изменчивости генов гистона H1. Так, у бобовых растений трибы *Fabaeae* в гене субтипа H1-1, продукт которого составляет около половины всего гистона H1, была обнаружена регулярная зона, кодирующая совершенный tandemный повтор пентапептида Ala-Ala-Lys-Pro-Lys (с заменами в синонимичных позициях), число копий которого варьирует за счет явления, названного авторами внутригенной конверсией (Berdnikov et al., 2003a; Trusov et al., 2004). Достаточно неожиданным оказался тот факт, что значительная внутривидовая изменчивость по субтипам H1-1 и H1-6 не сопровождается столь же значительной межвидовой изменчивостью у видов из близких родов *Lathyrus*, *Vicia* и *Lens*. Таким образом, эта изменчивость выглядит возникающей *de novo* в одном и том же довольно широком диапазоне, разрешенном в трибе *Fabaeae* (Berdnikov

et al., 2003a; Trusov et al., 2004; Kosterin et al., 2012). В-третьих, гены гистонов H1 были протестированы на горохе в качестве новых молекулярных маркеров для реконструкции филогении (Zaytseva et al., 2012, 2015). Последовательность гена минорного субтипа H1-5 оказалась весьма информативной, успешно разрешив филогению рода *Pisum*, причем как на видовом, так и на внутривидовом уровнях (Zaytseva et al., 2012), тогда как ген специфичного для молодых тканей субтипа H1-7 оказался неэффективным в этом качестве, по-видимому, за счет более жестких функциональных ограничений на его продукт (Zaytseva et al., 2015).

Конфликт ядра и цитоплазмы

В скрещиваниях диких и культурных форм гороха посевного (*Pisum sativum* L.), а также *P. sativum* и *P. fulvum* Sibth et Smith был зафиксирован конфликт ядра и цитоплазмы, обычно проявляющийся в частичной стерильности гибридов первого поколения, но иногда имеющий и яркое фенотипическое проявление в виде мозаичного недоразвития листовых органов и хлорофилльной пигментации у гибридов первого поколения, полученных в одном из направлений реципрокных скрещиваний (Лутков, 1930; Ben-Ze'ev, Zohary, 1973; Bogdanova, Berdnikov, 2001; Kosterin, Bogdanova, 2014). В.С. Богдановой с коллегами был проведен детальный генетический анализ этого явления (Богданова, Костерин, 2006; Bogdanova, 2007; Богданова, Галиева, 2009; Bogdanova et al., 2009, 2012, 2014), а затем и сравнительный анализ пластидных геномов (Bogdanova et al., 2015). В результате данный конфликт удалось с высокой степенью вероятности связать с несколькими ядерными и одним пластидным генами, кодирующими субъединицы важнейшего ферментного комплекса – пластидной гетеромерной формы ацетил-коА-карбоксилазы (Bogdanova et al., 2015), который осуществляет первую стадию в биосинтезе жирных кислот. Ядерный ген *Scs1*, являющийся главным участником конфликта со стороны ядра, по-видимому, кодирует белок-переносчик биотина и карбоксила, а со стороны пластид в конфликте участвует ген *accD*, кодирующий β-субъединицу карбоксилтрансферазы (Sasaki, Nagano, 2004). При этом для гена *accD* характерен высокий уровень изменчивости, в частности, связанный с делециями и дупликациями коротких повторенных участков. Возможно, некоторые из них являются детерминантами функциональной связи с субъединицами, кодируемыми в ядре (Bogdanova et al., 2015).

Таким образом, впервые был открыт случай, когда конфликт ядерного и цитоплазматического геномов вызван нарушениями работы мультимерного ферментного комплекса, субъединицы которого кодируются разными клеточными геномами. Ранее такой механизм конфликта ядра и цитоплазмы признавался весьма вероятным, но описан не был (Burton et al., 2013). Тем самым, у гороха данный ферментный комплекс, пластидная гетеромер-

ная ацетил-коА-карбоксилаза, оказывается уникальной генетической моделью. С одной стороны, она позволяет реконструировать молекулярные взаимодействия между субъединицами методами генетического анализа, с другой, на этой основе можно предсказывать совместимость ядерных и цитоплазматических генов от отдаленных форм гороха, что может быть важно для вовлечения генетического разнообразия диких форм гороха в селекционный процесс.

Возникновение В-хромосом у растений

Горох послужил экспериментальной моделью, воспроизводящей первые этапы возникновения сверхчисленных В-хромосом растений от третичных трисомиков, возникающих, согласно гипотезе В.А. Бердникова, вследствие неправильного расхождения хромосом в мейозе гетерозигот по реципрокным транслокациям (Berdnikov et al., 2003b). Теоретическая модель опирается на перекрестное опыление, а выбранная экспериментальная модель – горох – самоопылитель и предсказуемо не имеет В-хромосом. Однако эксперимент включал в себя контролируемый перекрест посредством скрещиваний. Тестируемая гипотеза предполагала, что в малых популяциях третичная трисомия могла спасти растения от летальных мутаций, возникших в районе генома, перекрытых добавочной хромосомой. В дальнейшем, в случае исключения кроссинговера с хромосомами основного набора добавочная хромосома теряет свое генетическое содержание вследствие диплоидизации при спонтанном мутировании лишних копий генов. (Под диплоидизацией понимается приближение к 2 средней дозы функциональных аллелей по локусам затронутого трисомией района генома – по мере мутационного «выключения» одного из трех аллелей, изначально имевшихся у трисомика.) На основе транслокации Хаммерлунда, дающей небольшую обменную хромосому, морфологической мутации *cri* и целенаправленно полученных спорофитных леталей, перекрытых дополнительной хромосомой, была создана стабильная, размножающаяся в чистоте, трисомная линия гороха Trust (Berdnikov et al., 1999b, 2003b). Отбор этой линии на повышение семенной продуктивности и жизнеспособности растений оказался весьма эффективен (Костерин и др., 2008), как и предполагалось моделью, исходящей из того, что любая аморфная или гипоморфная мутация по генам, представленным в трех копиях, ведет к диплоидизации и уменьшает генный дисбаланс.

Эксперимент продолжается, причем для ускорения диплоидизации за счет индуцированных мутаций добавлен химический мутагенез. В качестве конечного результата предполагается получить генетически пустую «искусственную В-хромосому», которая могла бы спонтанно менять свою дозу в кариотипе. Насыщение ее генами устойчивости к патогенам методами генетической трансформации превратило бы ее в уникальный вектор,

способный в ответ на пресс патогенов накапливаться в кариотипе за счет естественного (!) отбора, действующего непосредственно в процессе культивирования (В.А. Бердников. Неопубл.). Заметим, что такой вектор можно создать на основе естественных В-хромосом у тех объектов, у которых таковые имеются, например у кукурузы и ржи.

Архитектоника сложного листа

Горох обладает непарноперистым сложным листом, структура которого дополнительно усложнена трансформацией дистальных парных и непарного терминального листочков в усики (потеря листовой пластинки, приобретение центральной жилкой способности обвивать предметы) и гипертрофией листовидных прилистников, которые по размеру превосходят листочки. В этом горох имеет огромное преимущество по сравнению с «растительной дрозофилой» – арабидопсисом, который имеет простые листья и не может служить генетической моделью для изучения генетической базы усложнения листовой морфологии, характерной для столь многих растений, включая культурные. Генетический контроль архитектоники сложного листа опирается на гены, относящиеся к гомеозисным, т. е. переключающие программы развития зачатков в направлении тех или иных органов (Gourlay et al., 2000). Так, мутации *tl^w* (Blixt, 1972) и *tl2* (Berdnikov, Gorel, 2001, 2005) формально превращают усики в листочки. Мутация *afila* заменяет листочки на ветвящиеся усики, соответствующие терминальным доменам нормального листа (Gourlay et al., 2000) (хотя часто упрощенно говорится, что она превращает листочки в усики). Мутации *coch* (Ferguson, Reid, 2005; Couzigou et al., 2012), *sil* (Husbands et al., 2003) и в особенности комбинация мутаций *sil* и *ins2* (Berdnikov, Gorel, 2004) превращают прилистник в самостоятельный сложный лист с парой прилистников и центральным рахисом, несущим парные органы, в результате чего каждый узел, по сути, получает мутовку из более чем одного сложного листа. Кроме того, мутация *coch* также приводит к эктопическому появлению корней на узелках. Аморфные мутации по всем генам, контролирующим развитие сложного листа, имеют яркие фенотипические проявления, а их различные сочетания приводят к неожиданным вариантам морфологии, далеко выходящим за пределы, характерные для семейства Fabaceae в норме (Blixt, 1972). Комбинацией мутаций *tl^w* и *ins2* удалось рекапитулировать у гороха дважды перистый лист без усиков (Berdnikov et al., 2000), считающийся характерным для предков порядка Fabales (Яковлев, 1991), а мутация *uni* приводит к формированию ложноп простого листа (Hofer, Ellis, 1996), подобного листу туполодочника однолистного (*Gueldenstaedtia monophylla* Fisch.). Некоторые локусы, контролирующие развитие сложного листа гороха, были впервые обнаружены в ИЦиГ СО РАН в исследованиях

под руководством В.А. Бердникова: *adt* (*air dots*) (Gorel et al., 2002), *ins2* (*insecatus2*) (Berdnikov et al., 2000), *tl2* (*tendriless2*) (Berdnikov, Gorel, 2001, 2005).

Оказалось, что многие гены, ответственные за архитектуру сложного листа, ортологичны гомеозисным генам, хорошо известным из генетики развития арабидопсиса и львиного зева. Так, ген *Uni* (*Unifoliata*), ответственный за развитие сложного листа, а именно за способность листовой меристемы порождать парные органы в акропетальной последовательности, оказался ортологом *FLORICAULA* львиного зева и *LEAFY* арабидопсиса – гомеозисных генов, экспрессия которых в апикальной меристеме этих растений переключает ее с развития в сторону побега на развитие в сторону цветка. Примечательно, что этот ген направляет развитие листа по сложному типу только у представителей так называемой IRLC-ветви бобовых (группа триб травянистых бобовых, куда относится и горох, утратившая инвертированный повтор в хлоропластном геноме).

В данной группе ген *Uni* перехватывает эту роль у генов класса *KNOTTED1*, выполняющих ее у остальных бобовых и прочих растений (Champagne et al., 2007). Ген *Tl* (*Tendrill-less*) оказался гомеодомен-содержащим лейциновым зиппером класса 1, а его экспрессия стимулируется геном *Uni*, для чего он имеет вблизи точки инициации так называемый мотив связывания с *LEAFY* (Hofer et al., 2009). Ген *Coch* (*Cochleata*) ортологичен генам *BOP1* и *BOP2* (*BLADE-ON-PETIOLE1-2*) арабидопсиса (Couzigou et al., 2012). Аморфная мутация гена *Cri* (*Crispoid*) у гороха размывает границы домена прилистников, придавая рахису крылатость и снабжая его добавочными прилистничками у основания листочков, а также нарушает идентичность адаксиальной поверхности листочков. Этот ген оказался ортологичен гену *PHAN* (*PHANTASTICA*). Экспрессия этого гена необходима для развития листовой пластинки и идентичности ее адаксиальной поверхности у львиного зева, томата и арабидопсиса, но не у гороха (Tattersall et al., 2005).

Интересно, что развитие листа гороха как сложного зависит от ортолога *KNOTTED1* и не зависит от ортолога *PHAN*, в то время как у томата, имеющего ортологи тех же двух генов, дело обстоит ровно наоборот: не зависит от ортолога *KNOTTED1* и зависит от ортолога *PHAN*. Все эти результаты подчеркивают очень важное обстоятельство: в разных семействах сосудистых растений сходные конструктивные решения в архитектонике и развитии листа достигаются разными схемами взаимодействия одного и того же набора ортологичных гомеозисных генов.

Фенотипы, наблюдаемые в исследованиях по генетике архитектоники сложного листа гороха, являются одними из самых ярких и наглядных в генетике развития. При этом они демонстрируют более сложную картину взаимодействия генов (в частности, менее очевидное разделение кадастровой и селекторной функции генов),

чем гены знаменитого «ABC флорогенеза» – генетического контроля идентичности органов цветка. Кстати, у гороха этот контроль идентичен таковому арабидопсиса и львиного зева, тем самым подтверждая монофилию двудольных растений.

Исследования по генетике сложного листа получили неожиданное и весьма полезное практическое применение начиная с работ Б. Сноуда (Snoad, 1974). Благодаря этим работам, многие коммерческие сорта гороха в экономически развитых странах в настоящее время созданы на «безлистной» основе, имея генотип рецессивных мутаций *af* (*afila*, «листочки вместо усиков») и *le* (карликовость за счет укороченных междоузлий). Мутация *af* замещает листочки сложного листа на ветви рахиса, соответствующие его терминальному домену, несущему не листочки, а усики.

Как следствие, сложный лист несет на ветвящемся рахисе множество усиков, но лишен листочков. Влияние гена *afila* не распространяется на крупные листовидные прилистники, характерные для гороха (но не для других бобовых, за немногими исключениями). У таких растений прилистники берут на себя основную часть фотосинтеза. Продуктивность их не страдает, кроме того, «безлистный горох» имеет меньший удельный вес соломы и более устойчив к засухе.

Однако наиболее важно то, что он получает неожиданное агротехническое преимущество: клубок переплетенных усиков наподобие перекаги-поля формирует упругий каркас, благодаря которому побеги располагаются вертикально и не полегают на поле. Таким образом, был преодолен «первородный грех» гороха – слабый стебель, неспособный самостоятельно поддерживать вес побегов. С таким фенотипом с изумлением столкнулись многие наши соотечественники, решившие вырастить эти семена гороха из США.

Благодарности

Работа поддержана бюджетным проектом VI.53.1.3 и грантом РФФИ 13-04-00516а. Автор благодарен И.К. Захарову за ценные замечания.

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

- Бердников В.А., Богданова В.С., Розов С.М., Костерин О.Э. Формирование многообразия генов гистона H1 в ходе культурной эволюции гороха. Вавиловское наследие в современной биологии. М.: Наука, 1989:72-89.
- Богданова В.С., Галиева Э.Р. Нарушения мейоза как проявление ядерно-цитоплазматической несовместимости при скрещивании подвидов посевного гороха. Генетика. 2009;45(5):711-716.
- Богданова В.С., Костерин О.Э. Случай аномального наследования хлоропластов в скрещиваниях посевного гороха с участием одной из диких форм. Докл. АН. 2006;406(2):256-259.
- Борисов А.Ю., Штарк О.Ю., Жуков В.А., Наумкина Т.С., Пинаев А.Г., Ахметова Г.А., Ворошилова В.А., Овчинникова Е.С., Рычагова Т.С., Цыганов В.Е., Жернаков А.И., Кузнецова Е.В., Гришина О.А., Сулима А.С., Федорина Я.В., Чеботарь В.К., Бисселинг Т., Лемансо Ф., Джианинази-Пирсон В., Ратэ П., Санхуан Х., Стоугаард Й., Берг Г., Макфи К., Эллис Н., Тихонович И.А. Взаимодействие бобовых с полезными почвенными организмами: от генов растений к сортам. С.-х. биология. 2011;3:41-47.
- Генетика – селекции растений. Районированные сорта и перспективные формы сельскохозяйственных растений Института цитологии и генетики СО АН СССР за 30 лет. Проспект (Ред. В.К. Шумный). Новосибирск, 1987.
- Даль В.И. Толковый словарь живого великорусского языка. М.: Рус. язык, 1955;1.
- Костерин О.Э., Богданова В.С., Горель Ф.Л., Бердников В.А. Трисомии гороха (*Pisum sativum* L.) демонстрируют легкий ответ на отбор на повышение плодовитости. Докл. АН. 2008;423(3):417-420.
- Левицкий Г.А. Морфология хромосом. Тр. по прикл. ботан., генет. и селекции. 1931;27:103-173.
- Лутков А.Н. Межвидовые гибриды *Pisum humile* Boiss. × *Pisum sativum* L. Тр. Всесоюз. конгр. по генетике, селекции и семеноводству. Л., 1930;2:353-365.
- Розов С.М., Богданова В.С., Бердников В.А. Различия в хромосомной локализации генов, кодирующих фракции гистона H1 гороха. Генетика. 1986;22:2159-2166.
- Тихонович И.А., Проворов Н.А. Развитие подходов симбиогенетики для изучения изменчивости и наследственности надвидовых систем. Генетика. 2012;48:437.
- Фучжун Л., Гостимский С.А. Исследования транслокаций у гороха. Генетика. 1998;34(9):1269-1276.
- Юрченко Н.Н., Иванников А.В., Захаров И.К. История открытий на дрозофиле – этапы развития генетики. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015;19(1):39-49.
- Яковлев Г.П. Бобовые земного шара. Л.: Наука, 1991.
- Aubert G., Morin J., Jacquin F., Loridon K., Quillet M.C., Petit A., Rameau C., Lejeune-Hénaut I., Huguet T., Burstin J. Functional mapping in pea, as an aid to the candidate gene selection and for investigating synteny with the model legume. *Medicago truncatula*. Theor. Appl. Genet. 2006;112:1024-1041.
- Baranger A.G., Aubert G., Arnau G., Lainé A.L., Deniot G., Potier J., Weinachter C., Lejeune-Hénaut I., Lallemand J., Burstin J. Genetic diversity within *Pisum sativum* using protein – and PCR based markers. Theor. Appl. Genet. 2004;108:1309-1321.
- Bastianelli D., Grosjean F., Peyronnet C., Duparque M., Regnier J.M. Feeding value of pea (*Pisum sativum*, L.). 1. Chemical composition of different categories of pea. Anim. Sci. 1998;67:609-619.
- Berdnikov V.A., Bogdanova V.S., Gorel F.L., Kosterin O.E., Trusov Y.A. Large changes in the structure of the major histone H1 subtype result in small effects on quantitative traits in legumes. Genetica. 2003a;119:167-182.
- Berdnikov V.A., Bogdanova V.S., Rozov S.M., Kosterin O.E. Geographic patterns of histone H1 allelic frequencies formed in the course of *Pisum sativum* L. (pea) cultivation. Heredity. 1993a;71:199-209.
- Berdnikov V.A., Gorel F.L. A mutation, *tl2*, in pea (*Pisum sativum* L.) affects leaf development only in the heterozygous state. Theor. Appl. Genet. 2005;110:1086-1091.
- Berdnikov V.A., Gorel F.L. Combination of mutations *sil* and *ins2* can cause conversion of stipules into compound leaves. *Pisum Genet*. 2004;36:3-5.
- Berdnikov V.A., Gorel F.L. *Tl2*, a new locus resembling *Tl* in action. *Pisum Genet*. 2001;33:1-4.
- Berdnikov V.A., Gorel F.L., Bogdanova V.S., Kosterin O.E. Interaction of a new leaf mutation *ins2* with *af*, *unitac* and *tl^w*. *Pisum Genet*. 2000;32:9-12.

- Berdnikov V.A., Gorel F.L., Bogdanova V.S., Kosterin O.E., Trusov Y.A., Rozov S.M. Effect of a substitution of a short chromosome segment carrying a histone H1 locus on expression of the homeotic gene *Tl* in heterozygote in the garden pea *Pisum sativum* L. *Genet. Res.* 1999a;70:93-109.
- Berdnikov V.A., Gorel F.L., Kosterin O.E. Two simultaneously induced lethal mutations provide a system for automatic reproduction of a heterozygote for the Hammarlund translocation. *Pisum Genet.* 1999b;31:1-4.
- Berdnikov V.A., Gorel F.L., Kosterin O.E., Bogdanova V.S. Tertiary trisomics in the garden pea as a model of B chromosome evolution in plants. *Heredity.* 2003b;91:577-583.
- Berdnikov V.A., Rozov S.M., Temnykh S.V., Gorel F.L., Kosterin O.E. Adaptive nature of interspecies variation of histone H1 in insects. *J. Mol. Evol.* 1993b;36:497-507.
- Blixt S. Cytology of *Pisum*. II. The normal karyotype. *Agr. Hortique Genet.* 1958;16:221-237.
- Blixt S. Mutation genetics in *Pisum*. *Agr. Hortique Genet.* 1972;30:1-294.
- Bogdanova V.S. Inheritance of organelle DNA markers in a pea cross associated with nuclear-cytoplasmic incompatibility. *Theor. Appl. Genet.* 2007;114:333-339.
- Bogdanova V.S., Berdnikov V.A. Observation of the phenomenon resembling hybrid dysgenesis in a wild pea subspecies *Pisum sativum* ssp. *elatius*. *Pisum Genet.* 2001;33:5-8.
- Bogdanova V.S., Galieva E.R., Kosterin O.E. Genetic analysis of nuclear-cytoplasmic incompatibility in pea associated with cytoplasm of an accession of wild subspecies *Pisum sativum* subsp. *elatius* (Bieb.) Schmahl. *Theor. Appl. Genet.* 2009;118:801-809.
- Bogdanova V.S., Galieva E.R., Yadrikhinskiy A.K., Kosterin O.E. Inheritance and genetic mapping of two nuclear genes involved in nuclear-cytoplasmic incompatibility in peas (*Pisum sativum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 2012;124:1503-1512.
- Bogdanova V.S., Kosterin O.E., Berdnikov V.A. Phenotypic effect of substitution of allelic variants for a histone H1 subtype specific for growing tissues in the garden pea (*Pisum sativum* L.). *Genetica.* 2007;130:61-72.
- Bogdanova V.S., Kosterin O.E., Yadrikhinskiy A.K. Wild peas vary in their cross-compatibility with cultivated pea (*Pisum sativum* subsp. *sativum* L.) depending on alleles of a nuclear-cytoplasmic incompatibility locus. *Theor. Appl. Genet.* 2014;127:1163-1172.
- Bogdanova V.S., Rozov S.M., Trusov Y.A., Berdnikov V.A. Phenotypic effect of substitutions of short chromosomal segments containing different alleles of histone H1 genes in garden pea (*Pisum sativum* L.). *Genet. Res.* 1994;64:35-41.
- Bogdanova V.S., Zaytseva O.O., Mglinets A.V., Shatskaya N.V., Kosterin O.E., Vasiliev G.V. Nucleic-cytoplasmic conflict in pea (*Pisum sativum* L.) is associated with nuclear and plastidic genes encoding Acetyl-CoA carboxylase subunits. *PLoS One.* 2015;10(3):10.1371/journal.pone.0119835
- Bordat A., Savoies V., Nicolas M., Salse J., Chauveau A., Bourgeois M., Potier J., Houtin H., Rond C., Murat F., Marget P., Aubert G., Burstin J. Translational genomics in legumes allowed placing in silico 5460 unigenes on the pea functional map and identified candidate genes in *Pisum sativum* L. G3: Genes, Genomes, Genetics. 2011;1:93-103.
- Bourgeois M., Jacquin F., Savoies V., Sommerer N., Labas V., Henry C., Burstin J. Dissecting the proteome of pea mature seeds reveals the phenotypic plasticity of seed protein composition. *Proteomics.* 2009;9:254-271.
- Bourgeois M., Jacquin F., Cassecuelle F., Savoies V., Belghazi M., Aubert G., Quillien L., Huart M., Marget P., Burstin J. A PQL (protein quantity loci) analysis of mature pea seed proteins identifies loci determining seed protein composition. *Proteomics.* 2011;9:1581-1594.
- Burton R.S., Pereira R.J., Barreto F.S. Cytonuclear genomic interactions and hybrid breakdown. *Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 2013;44:281-302.
- Carrillo E., Satovic Z., Aubert G., Boucherot K., Rubiales D., Fondevilla S. Identification of quantitative trait loci and candidate genes for specific cellular resistance responses against *Didymella pinodes* in pea. *Plant Cell Rep.* 2014;33:1133-1345.
- Castillejo M.A., Amieur N., Gaudot E.D., Rubiales D., Jorrin J.V. A proteomic approach to studying plant response to crenate broomrape (*Orobancha crenata*) in pea (*Pisum sativum*). *Phytochemistry.* 2004;65:1817-1828.
- Castillejo M.A., Curto M., Fondevilla S., Rubiales D., Jorrin J.V. Two-dimensional electrophoresis based proteomic analysis of the pea (*Pisum sativum*) in response to *Mycosphaerella pinodes*. *J. Agric. Food Chem.* 2010;58:12822-12832.
- Champagne C.E.M., Goliber C.E., Wojciechowski M.F., Mei R.W., Townsley B.T., Wang K., Paz M.M., Geeta R., Sinha N.R. Compound leaf development and evolution in the legumes. *Plant Cell.* 2007;19:3369-3378.
- Cheghamirza K., Koveza O., Kononov F., Gostimsky S. Identification of RAPD markers and their use for molecular mapping in pea (*Pisum sativum* L.). *Cell. Mol. Biol. Lett.* 2002;7:649-655.
- Choi H.K., Mun J.H., Kim D.J., Zhu H., Baek J.M., Mudge J., Roe B., Ellis N., Doyle J., Kiss G.B., Young N.D., Cook D. Estimating genome conservation between crop and model legume species. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2004;101:15289-15294.
- Constantin G.D., Krath B.N., MacFarlane S.A., Nicolaisen M., Johansen I.E., Lund O.S. Virus-induced gene silencing as a tool for functional genomics in a legume species. *Plant J.* 2004;40:622-631.
- Couzigou J.M., Zhukov V., Mondy S., el Heba G.A., Cosson V., Ellis T.N., Ambrose M., Wen J., Tadege M., Tikhonovich I., Mysore T.S., Putterill J., Hofer J., Borisov A., Ratet P. *NODULE ROOT* and *COCHLEATA* maintain nodule development and are legume orthologs of *Arabidopsis* *BLADE-ON-PETIOLE* genes. *Plant Cell.* 2012;24:4498-4510.
- Coyne C.J., McClendon M.T., Walling J.G., Timmerman-Vaughan G.M., Murray S., Meksem K., Lightfoot D.A., Shultz J.L., Keller K.E., Martin R.R., Inglis D.A., Rajesh P.N., McPhee K.E., Weeden N.F., Grusak N.A., Li C.-M., Storlie E.W. Construction and characterization of two bacterial artificial chromosome libraries of pea (*Pisum sativum* L.) for the isolation of economically important genes. *Genome.* 2007;50:871-875.
- Curto M., Camafeita E., Lopez J.A., Maldonado A.M., Rubiales D., Jorrin J.V. A proteomic approach to study pea (*Pisum sativum*) responses to powdery mildew (*Erysiphe pisi*). *Proteomics.* 2006;6: S163-S174.
- Dalmis M., Schmidt J., Le Signor C., Moussy F., Burstin J., Savoies V., Aubert G., Brunaud V., de Oliveira Z., Guichard C., Thompson R., Bedahmane A. UTILdb, a *Pisum sativum* in silico forward and reverse genetics tool. *Genome Biol.* 2008;9:43. DOI: 10.1186/gb-2008-9-2-r43
- De Martino T., Errico A., Lassandro A., Conicella C. Distorting segregation resulting from pea chromosome reconstruction with alien segments from *Pisum fulvum*. *J. Hered.* 2000;91:322-325.
- Decarie J., Coyne C., Brumett S., Shultz J. Additional pea EST-SSR markers for comparative mapping in pea (*Pisum sativum* L.). *Plant Breed.* 2012;131:222-226.
- Deulvot C., Charrel H., Marty A., Jacquin F., Donnadiou C., Lejeune-Hénaut I., Burstin J., Aubert G. Highly-multiplexed SNP genotyping for genetic mapping and germplasm diversity studies in pea. *BMC Genomics.* 2010;11. DOI: 10.1186/1471-2164-11-468

- Dolezal J., Greilhuber J. Nuclear genome size. Are we getting closer? *Cytometry*. 2010;77:635-642.
- Duarte J., Rivière N., Baranger A., Aubert G., Burstin J., Cornet L., Lavaud C., Lejeune-He'naut I., Martinant J.P., Pichon J.P., Pilet-Nayel M.L., Boutet G. Transcriptome sequencing for high throughput SNP development and genetic mapping in pea. *BMC Genomics*. 2014;Feb 12;15:126. DOI: 10.1186/1471-2164-15-126
- Dumont E., Bahrman N., Goulas E., Valot B., Sellier H., Hilbert J.L., Lejeune-Hénaut I., Delbreil B. A proteomic approach to decipher chilling response from cold acclimation in pea (*Pisum sativum* L.). *Plant Sci*. 2011;180:86-98.
- Ellis T.H.N., Hellens R.P., Turner L., Lee C., Domoney C., Welham T. On the pea linkage group. *Pisum Genetics*. 1993;25:5-12.
- Ellis T.H.N., Poyser S.J. An integrated and comparative view of pea genetic and cytogenetic maps. *New Phytol*. 2002;153:17-25.
- Ellis T.H.N., Poyser S.J., Knox M.R., Vershinin A.V., Ambrose M.J. Polymorphism of insertion sites of *Ty1-copia* class retrotransposons and its use for linkage and diversity analysis in pea. *Mol. Gen. Genet*. 1998;260:9-19.
- Ferguson B.J., Reid J.B. *Cochleata*: getting to the root of legume nodules. *Plant Cell Physiol*. 2005;49:1583-1589.
- Folkesson D. Assignment of linkage segments to chromosomes 3 and 5 in *Pisum sativum* L. *Hereditas*. 1990a;112:249-255.
- Folkesson D. Assignment of linkage segments to chromosomes 4 and 7 in *Pisum sativum* L. *Hereditas*. 1990b;112:257-263.
- Folkesson D. The use of BSG-staining in making a more detailed nomenclature possible for interchange systems in *Pisum sativum* L. *Hereditas*. 1984a;101:119-122.
- Folkesson D. Free segregation between a (3S-7S) interchange and genes within linkage group VII in *Pisum sativum* L. *Hereditas*. 1984b;101:127-133.
- Franssen S.U., Shrestha R.P., Brätigam A., Bronberg-Bauer E., Wever A.P.M. Comprehensive transcriptome analysis of the highly complex *Pisum sativum* genome using next generation sequencing. *BMC Genomics*. 2011;12:277.
- Fuchs J., Kühne M., Schubert I. Assignment of linkage groups to pea chromosomes after karyotyping and gene mapping by fluorescent *in situ* hybridization. *Chromosoma*. 1998;107:272-276.
- Gilpin B.J., McCallum J.A., Frew T.J., Timmerman-Vaughan G.M. A linkage map of the pea (*Pisum sativum* L.) genome containing cloned sequences of known function and expressed sequence tags (ESTs). *Theor. Appl. Genet*. 1997;95:1289-1299.
- Gorel F.L., Berdnikov V.A., Kosterin O.E. Mutation *air dots* (*adt*) with slight *uni^{iac}*-like effect on the leaf. *Pisum Genet*. 2002;34:1-2.
- Gourlay C.W., Hofer J.M.I., Ellis T.H.N. Pea compound leaf architecture is regulated by interactions among the genes *UNIFOLIATA*, *COCHLEATA*, *AFILA*, and *TENDRIL-LESS*. *Plant Cell*. 2000;12:1279-1294.
- Greilhuber J., Ebert I. Genome size variation in *Pisum sativum*. *Genome*. 1994;37:646-655.
- Gronlund M., Olsen A., Johansen I.E., Jakobsen I. Protocol: Using virus-induced gene silencing to study the arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Pisum sativum*. *Plant Methods*. 2010;6. DOI: 10.1186/1746-4811-6-28
- Hall K.J., Parker J.S., Ellis T.H. The relationship between genetic and cytogenetic maps of pea. I. Standard and translocation karyotypes. *Genome*. 1997;40:744-754.
- Håkansson A. Chromosomenringe in *Pisum* und ihre mutmassliche Genetische Bedeutung. *Hereditas*. 1929;12:1-10.
- Hammarlund A. Über einen Fall von Koppelung und freie Kombination bei Erbsen. *Hereditas*. 1923;4:235-238.
- Hellens R.P., Moreau C., Lin-Wang K., Schwinn K.E., Thomson S.J., Fiers M.W.E.J., Frew T.J., Murray S.R., Hofer J.M.I., Jacobs J.M.E., Davies K.M., Allan A.C., Bendahmane A. Identification of Mendel's white flower character. *PLoS One*. 2010;5. Art. e1323. DOI: 10.1371/journal.pone.0013230
- Hoey B.K., Crowe K.R., Jones V.M., Polans N.O. A phylogenetic analysis of *Pisum* based on morphological characters, and allozyme and RAPD markers. *Theor. Appl. Genet*. 1996;92:92-100.
- Hofer J., Turner L., Moreau C., Ambrose M., Isaac P., Butcher S., Weller J., Dupin A., Dalmais M., Le Signor C., Bendahmane A., Ellis N. Tendril-less regulates tendril formation in pea leaves. *Plant Cell*. 2009;21:420-428.
- Hofer J.M.J., Ellis T.H.N. The effect of *Uni* on leaf shape. *Pisum Genet*. 1996;28:21-22.
- Husbands A., Emirzade T., DeMason D. Stipulae morphologies of the *sinuate leaf* (*sil*) mutants. *Pisum Genet*. 2003;35:6-9.
- Jing R., Johnson R., Seres A., Kiss G., Ambrose M.J., Knox M.R., Ellis T.H.N., Flavell A.J. Gene-based sequence diversity analysis of field pea (*Pisum*). *Genetics*. 2007;177:2263-2275.
- Jing R., Vershinin A., Grzebota J., Shaw P., Smýkal P., Marshall D., Ambrose M.J., Ellis T.H.N., Flavell A.J. The genetic diversity and evolution of field pea (*Pisum*) studied by high throughput retrotransposon based insertion polymorphism (RBIP) marker analysis. *BMC Evol. Biol*. 2010;10. Art. 44
- Kaló P., Seres A., Taylor S.A., Jakab J., Kevei Z., Kereszt A., Endre G., Ellis T.H.N., Kiss G.B. Comparative mapping between *Medicago sativa* and *Pisum sativum*. *Molecular and General Genomics*. 2004;272:235-246.
- Keller K.E., Johansen E., Martin R.R., Hampton R.O. Potyvirus genome-linked protein (VPg) determines pea seed-borne mosaic virus pathotype-specific virulence in *Pisum sativum*. *Mol. Plant-Microbe Interactions*. 1998;11:124-130.
- Knox M.R., Ellis T.H.N. Stability and inheritance of methylation states at *PstI* sites in *Pisum*. *Mol. Genet. Genomics*. 2001;265:497-507.
- Knox M.R., Ellis T.H.N. Excess heterozygosity contributes to genetic map expansion in pea recombinant inbred populations. *Genetics*. 2002;162:861-873.
- Kononov F.A., Toshchakova E., Gostimsky S. A CAPS marker set for mapping in linkage group III of pea (*Pisum sativum* L.). *Cell. Mol. Biol. Lett*. 2005;10:163-171.
- Kosterin O.E. Mapping of the third locus for histone H1 genes in peas. *Pisum Genet*. 1992;24:56-59.
- Kosterin O.E. Genes *a* and *d* may not be in the same linkage group. *Pisum Genet*. 1993;25:23-26.
- Kosterin O.E., Bogdanova V.S. Reciprocal compatibility within the genus *Pisum* L. as studied in F1 hybrids: 1. Crosses involving *P. sativum* L. subsp. *Sativum*. *Genet. Res. Crop Evol*. 2014. DOI: 10.1007/s10722-014-0189z (E-pub ahead of print).
- Kosterin O.E., Bogdanova V.S., Gorel F.L., Rozov S.M., Trusov Yu.A., Berdnikov V.A. Histone H1 of the garden pea (*Pisum sativum* L.): composition, developmental changes, allelic polymorphism and inheritance. *Plant Sci*. 1994;101:189-202.
- Kosterin O.E., Bogdanova V.S., Kechin A.A., Zaytseva O.O., Yadrikhinskiy A.K. Polymorphism in a histone H1 subtype with a short N-terminal domain in three legume species (Fabaceae, Fabaceae). *Mol. Biol. Rep*. 2012;39:10681-10695.
- Kosterin O.E., Rozov S.M. Mapping of the new mutation *blb* and the problem of integrity of linkage group I. *Pisum Genet*. 1993;25:27-31.
- Lamm R. Cytogenetical studies on translocations in *Pisum*. *Hereditas*. 1951;37:356-372.
- Lamm R. Transpositions in *Pisum*. *Pisum Newslett*. 1977;9:28-29.
- Lamm R., Miravalle R.J. A translocation tester set in *Pisum*. *Hereditas*. 1959;45:417-440.

- Lamprecht H. The variation in linkage and course of crossingover. *Agr. Hortique Genet.* 1948;6:10-48.
- Lamprecht H. Further studies on the interchange between the chromosomes III and V of *Pisum*. *Agr. Hortique Genet.* 1953;11:141-148.
- Lamprecht H. Die Koppelung des Gens *wsp* und die Genkarte von Chromosom VII von *Pisum*. *Agr. Hortique Genet.* 1954;12:115-120.
- Lamprecht H. Ein Interchange zwischen den Chromosomen I and VII von *Pisum*. *Agr. Hortique Genet.* 1955;13:173-182.
- Lamprecht H. Die Genkarte von Chromosom VI und das Interchange der Chromosomen IV/VI von *Pisum*. *Agr. Hortique Genet.* 1957;15:115-141.
- Lamprecht H. Die Genkarte von *Pisum*. *Agr. Hortique Genet.* 1961;19:360-401.
- Laucou V., Haurogne K., Ellis N., Rameau C. Genetic mapping in pea. I. RAPD-based linkage map of *Pisum sativum*. *Theor. Appl. Genet.* 1998;97:905-915.
- Loridon K., McPhee K.E., Morin J., Dubreuil P., Pilet-Nayel M.L., Aubert G., Rameau C., Baranger A., Coyne C.J., Lejeune-Hénault I., Burstin C. Microsatellite marker polymorphism and mapping in pea (*Pisum sativum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 2005;111:1022-1031.
- Lu J., Knox M.R., Ambrose M.J., Brown J.K.M., Ellis T.H.N. Comparative analysis of genetic diversity in pea assessed by RFLP- and PCR-based methods. *Theor. Appl. Genet.* 1996;93:1103-1111.
- Macas J., Neumann P., Návrtilová A. Repetitive DNA in the pea (*Pisum sativum* L.) genome: Comprehensive characterization using 454 sequencing and comparison to soybean and *Medicago truncatula*. *BMC Genomics.* 2007;8. Art. 427
- Magee A.M., Aspinall S., Rice D.W., Cusack B.P., Sémon M., Perry A.S., Stefanović S., Milbourne D., Barth S., Palmer J.D., Gray J.C., Kavanagh T.A., Wolfe K.H. Localized hypermutation and associated gene losses in legume chloroplast genomes. *Genome Res.* 2010;20:1700-1710.
- Mendel G. Versuche über Pflanzenshybriden. *Verhandlungen des naturforschenden Vereines in Brünn. Bd. IV für das Jahr 1865 (Abhandlungen).* 1866;3-47.
- Murfet I.C. The *gi* locus shows linkage with *gp*, *r* and *tl*. *Pisum Newstlett.* 1990;22:38-40.
- Neumann P., Nouzová M., Macas J. Molecular and cytogenetic analysis of repetitive DNA in pea (*Pisum sativum* L.). *Genome* 2001;44:716-728.
- Neumann P., Požárková D., Vrána J., Dolezel J., Macas J. Chromosome sorting and PCR-based physical mapping in pea (*Pisum sativum* L.). *Chromosome Res.* 2002;10:63-71.
- Nogler G.A. The lesser-known Mendel: his experiments on *Hieracium*. *Genetics.* 2006;172:1-6.
- Novák P., Neumann P., Macas J. Graph-based clustering and characterization of repetitive sequences in next-generation sequencing data. *BMC Bioinformatics.* 2010;11:378. DOI:10.1186/1471-2105-11-378
- Pellew C., Sansome E.R. Genetical and cytological studies on the relation between Asiatic and European varieties of *Pisum sativum*. I. Partial Sterility in hybrids of a Thibetian and a European variety (by C. Pellew). II. Chromosome association in *Pisum* (by E.R. Sansome). *J. Genet.* 1932;25:25-54.
- Rameau D., Dénoue D., Fraval F., Haurogné H., Jossierand J., Lacuou L., Batge S., Murfet I.C. Genetic mapping in pea. 2. Identification of RAPD and SCAR markers linked to genes affecting plant architecture. *Theor. Appl. Genet.* 1998;97:916-928.
- Saalbach G., Erik P., Wienkoop S. Characterisation by proteomics of peribacteroid space and peribacteroid membrane preparations from pea (*Pisum sativum*) symbiosomes. *Proteomics.* 2002;2:325-337.
- Sansome E.R. Segmental interchange in *Pisum sativum*. *Cytologia.* 1932;2:200-219.
- Sansome E.R. Segmental interchange in *Pisum sativum*. II. *Cytologia.* 1933;5:15-30.
- Sansome E.R. Segmental interchange lines in *Pisum sativum*. *Nature.* 1938;142:674-675.
- Sasaki Y., Nagano Y. Plant acetyl-CoA carboxylase: structure, biosynthesis, regulation, and gene manipulation for plant breeding. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2004;68:1175-1184.
- Schiltz S., Gallardo K., Huart M., Negroni L., Sommerer N., Burstin J. Proteome reference maps of vegetative tissues in pea. An investigation of nitrogen mobilization from leaves during seed filling. *Plant Physiol.* 2004;135:2241-2260.
- Smykal P., Aubert G., Burstin J., Coyne C.J., Ellis N.T., Flavell A.J., Ford R., Hýbl M., Macas J., Neumann P., McPhee K.E., Redden R.J., Rubiales D., Weller J.L., Warkentin T.D. Pea (*Pisum sativum* L.) in the genomic era. *Agronomy.* 2012;2:74-115.
- Snoad B. A preliminary assessment of 'leafless peas'. *Euphytica.* 1974;23:257-265.
- Somers D.A., Samac D.A., Olhofs P.M. Recent advances in legume transformation. *Plant Physiol.* 2003;131:892-899.
- Svabova L., Smykal P., Griga M., Ondrej V. *Agrobacterium*-mediated transformation of *Pisum sativum* *in vitro* and *in vivo*. *Biol. Plant.* 2005;49:361-370.
- Tattersall A.D., Turner L., Knox M.R., Ambrose M.J., Ellis T.H.N., Hofer J.M.I. The mutant *crispa* reveals multiple roles for PHANTASTICA in pea compound leaf development. *Plant Cell.* 2005;17:1046-1060.
- Temnykh S.V., Weeden N.F. A brief synopsis of the current status of pea cytogenetics. *Pisum Genet.* 1993;25:1-4.
- The International Aphid Genomics Consortium. Genome sequence of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *PLoS Biol.* 2010;8:e1000313. DOI: 10.1371/journal.pbio.1000313
- Trusov Y.A., Bogdanova V.S., Berdnikov V.A. Evolution of regular zone of histone H1 in Fabaceae plants. *J. Mol. Evol.* 2004;59:546-555.
- Vershinin A.V., Allnutt T.R., Knox M.R., Ambrose M.J. Transposable elements reveal the impact of introgression, rather than transposition, in *Pisum* diversity, evolution, and domestication. *Mol. Biol. Evol.* 2003;20:2067-2075.
- Weeden N.F., Boone W.E. Mapping the *Rb* locus on linkage group III using long PCR followed by endonuclease digestion. *Pisum Genet.* 1999;31:36.
- Weeden N.F., Ellis T.H.N., Timmerman-Vaughan G.M., Swiecicki W.K., Rozov S.M., Berdnikov V.A. A consensus linkage map for *Pisum sativum*. *Pisum Genet.* 1998;30:1-3.
- Weeden N.F., Marx G. Further genetic analysis and linkage relationships of isozyme loci in the pea: Confirmation of the diploid nature of the genome. *J. Hered.* 1987;78:153-159.
- Wellensiek S.J. Genetic monograph on *Pisum*. *Bibliographia Genetica.* 1925;2:343-476.
- Zaytseva O.O., Bogdanova V.S., Kosterin O.E. Phylogenetic reconstruction at the species and intraspecies levels in the genus *Pisum* (L.) (peas) using a histone H1 gene. *Gene.* 2012;504:192-202.
- Zaytseva O.O., Gunbin K.V., Mglinets A.V., Kosterin O.E. Divergence and population traits in evolution of the genus *Pisum* L. as reconstructed using genes of two histone H1 subtypes showing different phylogenetic resolution. *Gene.* 2015;556:235-244.
- Zhu C., Gore M., Buckler E.S., Yu J. Status and prospects of association mapping in plants. *Plant Genome.* 2008;1:5-20.