

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»**

На правах рукописи

КОСТЕРИН ОЛЕГ ЭНГЕЛЬСОВИЧ

**ЭВОЛЮЦИЯ И ГЕНОГЕОГРАФИЯ
ДИКОРАСТУЩИХ ФОРМ РОДА ГОРОХ (*PISUM L.*)**

03.02.07 – генетика

**Диссертация
на соискание ученой степени
доктора биологических наук**

Новосибирск – 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	33
1.1. Горох как генетический объект.....	33
1.1.1. Горох как объект классической генетики.....	33
1.1.2. Экспансия молекулярных методов генетического анализа и реконструкции филогении	35
1.1.3. Старые долги.....	39
1.1.4. В ожидании генома.....	40
1.1.5. Заключение	45
1.2. Таксономия, биогеография и филогения рода <i>Pisum</i> L.....	45
1.2.1. Род <i>Pisum</i> L. в системе и на филогенетическом дереве семейства <i>Fabaceae</i> Lindl.....	45
1.2.2. Таксономия рода <i>Pisum</i>	51
1.2.2.1. Сущности сверх необходимого: излишнее дробление таксонов за счет альтернативной генетической изменчивости	51
1.2.2.2. «Адаптивная контаминация» таксономии дикорастущих форм <i>Pisum sativum</i> L	55
1.2.2.3. Компромиссная система рода <i>Pisum</i> L. Н. Макстеда и М. Амброуза	58
1.2.2.4. Необходимые дополнения	59
1.2.2.5. Проблема парафилии	62
1.2.2.6. Проблема обоснованности разновидностей, признаваемых внутри <i>P. sativum</i> L. subsp. <i>elatius</i> (Bieb.) Schmalh. в настоящее время	63
1.2.2.7. Статус абиссинского гороха (<i>Pisum abyssinicum</i> A. Br.).....	64
1.2.2.8. Статус гороха Йомарда (<i>Pisum jomardii</i> Schrank)	76
1.2.2.9. Статус закавказского гороха	78
1.2.2.10. Статус азиатского гороха	82

1.2.3. Ареал дикорастущих представителей рода <i>Pisum</i>	85
1.2.4. Аутоэкология дикорастущего гороха	101
1.2.5. Популяции дикорастущего гороха	111
1.2.6. Генетический материал дикорастущих форм гороха	114
1.2.6.1. Дилемма «дикорастущий/культурный» применительно к гороху .	114
1.2.6.1.1. Синдром доместикиции у гороха	114
1.2.6.1.2. Раскрываемость бобов	115
1.2.6.1.3. Период покоя семян	117
1.2.6.1.4. Фактура и окраска семени	119
1.2.6.1.5. Прочие признаки доместикационного синдрома.....	122
1.2.6.2. Дизруптивный отбор диких и культивируемых форм гороха в ситуации импатрии	123
1.2.6.3. Основные мировые коллекции генетических ресурсов гороха.....	125
1.2.6.4. «Темная материя»: отсутствие материала из восточной четверти ареала гороха.	127
1.2.6.5. Иллюзорное изобилие материала: проблема дублирования образцов в мировых коллекциях	128
1.2.6.6. «Таксономия на веру»: не критическое использование первоначального определения образцов	129
1.2.6.7. Контаминация и интрогрессия при воспроизводстве коллекций ..	132
1.2.7. Репродуктивные барьеры в роде <i>Pisum</i> : хромосомные перестройки и/или конфликт ядра и цитоплазмы?	133
1.2.8. Гипотезы о сетчатой эволюции и гибридных таксонах гороха	141
1.2.9. Молекулярная реконструкция филогенетических отношений в роде <i>Pisum</i>	143
1.2.10. Геногеография как решение спорных вопросов эволюции и филогенетики рода <i>Pisum</i>	145
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	148
2.1. Сбор дикого гороха в природе.....	148
2.2. Образцы гороха, использованные в данном исследовании	152

2.3. Выделение коллекции образцов заведомо дикорастущих форм гороха	162
2.4. Выращивание экспериментальных растений.....	163
2.5. Методы оценки репродуктивной совместимости образцов гороха.....	164
2.6. Молекулярные методы.....	168
2.6.1. Выделение ДНК.....	168
2.6.2. Полимеразная цепная реакция, рестрикция эндонуклеазами и секвенирование.....	169
2.6.3. Выделение и электрофорез альбумина семян SCA.....	170
2.6.4. Анализ нуклеотидных последовательностей.....	170
Глава 3. ГЕНОГЕОГРАФИЯ ПО МОЛЕКУЛЯРНЫМ МАРКЕРАМ	172
3.1. Три диморфных диагностических маркера.....	172
3.2. Географическое распространение комбинаций диагностических маркеров	182
3.3. Реконструкции истории расселения дикорастущего гороха в Средиземноморье	185
3.4. Попытка сужения области вероятного происхождения культурного гороха путем анализа межгенного спейсера <i>psbA-trnH</i>	187
3.5. Внешние признаки дикорастущих представителей <i>Pisum sativum</i> в свете их генеографического анализа.	193
Глава 4. ОПЫТ РЕКОНСТРУКЦИИ ФИЛОГЕНИИ РОДА <i>PISUM</i> НА МЕЖВИДОВОМ И ВНУТРИВИДОВОМ УРОВНЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕНОВ ГИСТОНА H1.....	198
4.1. Актуальность филогенетического исследования рода <i>Pisum</i> с использованием генов гистона H1	198
4.2. Изменчивость первичной структуры генов субтипов 5 и 7 гистона H1 гороха	202
4.3. Филогенетический сигнал генов «заменимого» и «незаменимого» субтипов H1-5 и H1-7 гистона H1 гороха.....	209
4.4. Филогеографические следствия филогенетического анализа, проведенного на основании генов гистона H1	216
4.5. Возможная таксономическая интерпретация проведенного генеографического и филогенетического анализа.	218

Глава 5. РЕПРОДУКТИВНАЯ СОВМЕСТИМОСТЬ БАЗОВОГО НАБОРА ОБРАЗЦОВ, ОТРАЖАЮЩЕГО ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ГОРОХА ВОСТОЧНОГО СРЕДИЗЕМНОМОРЬЯ	222
5.1. Базовый набор образцов, отражающий генетическое разнообразие гороха Восточного Средиземноморья.....	222
5.2. Схема эксперимента по диаллельному скрещиванию.....	236
5.3. Скрещивания с культурным посевным горохом (<i>Pisum sativum</i> subsp. <i>sativum</i>) .	238
5.3.1. Эффективность скрещиваний	238
5.3.2. Масса семян гибридов первого поколения	241
5.3.3. Габитус и количественные признаки реципрочных гибридов.....	243
5.3.4. Наследование пластид	252
5.3.5. Фертильность пыльцы гибридов.....	254
5.3.6. Женская фертильность гибридов.....	257
5.3.7. Заключение по скрещиваниям с культурным подвигом <i>Pisum sativum</i> subsp. <i>sativum</i>	258
5.4. Скрещивания с <i>Pisum fulvum</i>	260
5.5. Скрещивания с <i>Pisum abyssinicum</i>	262
5.6. Скрещивания между дикорастущими представителями посевного гороха (<i>Pisum sativum</i> subsp. <i>elatius</i> sensu Maxted et Ambrose lato)	264
5.7. Отношения репродуктивной совместимости образцов базового набора в свете таксономии гороха	271
5.8. Скрещивания сами-с-собой.....	272
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	282
ВЫВОДЫ.....	288
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	291

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Горох (*Pisum sativum* L.) является одной из самых холодоустойчивых зернобобовых культур, возделываемых вплоть до Русского Севера. Мировая продукция зернового гороха в 2009 г. составила 10,4 мегатонн (Smýkal et al., 2012). Бобовые культуры являются почти единственным источником растительного белка, причем у гороха белок составляет 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, территория которой преимущественно расположена в довольно 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 севооборотах в определенной степени восстанавливает плодородие почвы. Неудивительно, что горох является и одной из наидревнейших культур, одомашненных около 10 тысяч лет назад на Ближнем Востоке, 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. Причина такого странного положения состоит в том, что начиная со второй половины XX столетия (выражаясь точнее, после Второй мировой войны) прогресс науки оказался по преимуществу связан с более низкими широтами, 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. Соответственно, в этих регионах он был менее популярен как модельный генетический объект. В последнее же время интенсивные генетические и молекулярно-генетические

работы связаны с более удобными генетическими объектами, не имеющими хозяйственного значения, такими как арабидопсис и люцерна усеченная.

Сельскохозяйственное производство невозможно без селекции. Даже архаичное производящее хозяйство предполагало бессознательный отбор в пользу так называемого доместикационного синдрома (Hammer, 1984; Weeden, 2007). Это автоматически означает отбор на семенную продуктивность, так как она повышает вероятность попадания потомков в следующее поколение. Современное сельское хозяйство основывается на селекции, использующей широкий арсенал методов от традиционных до генно-инженерных. В настоящее время перед селекцией возникли новые задачи, такие как увеличение продуктивности на единицу посевной площади, в связи со стремительно растущим населением Земли, а также адаптация культур к меняющемуся климату.

Продолжающееся сейчас глобальное потепление (в чем бы ни состояли его причины) изменяет условия произрастания сельскохозяйственных культур даже в кратковременном масштабе (десятки лет). Показано, что потепление, наблюдавшееся с 1981 по 2002 гг. по всему земному шару, привело к потерям урожая основных культур – около 40 млн т (что оценивается примерно в 5 млрд долларов) (Lobell, Field, 2007).

Немного известно о реакции на потепление у гороха. Температуры выше +27 °C снижают урожай, а выше +30 °C нарушают прорастание семян. Повышенное содержание CO₂ в атмосфере смягчает негативный эффект высокой температуры на тургор гороха, но может снизить устойчивость фотосинтеза к резким потеплениям. Современные «полубезлистные» (безлисточковые, гомозиготные по мутации *af*) сорта гороха более устойчивы к засухе (Coyne et al., 2011; Redden et al., 2011). Эти немногие исследования проводились на современных сортах, тогда как реакция стародавних сортов, особенно происходящих с более низких широт, и диких форм не изучалась. В долгосрочном масштабе потепление смещает области, благоприятные для возделывания определенных культур, к северу (Hatfield, 2011), при этом климатические аппроксимации показывают, что для большинства культур эти площади сократятся (Ramirez-Villegas et al., 2013).

Любая селекция основана на таком важнейшем факторе, как ресурс исходного генетического разнообразия. Между тем для большинства культур генетическое разнообразие, доступное для традиционной селекции, как бы велико оно не было,

оказывается лишь малой частью потенциально возможного для данного вида растений. Доместикация большинства культурных растений происходила в ограниченном районе (реже в нескольких), откуда практика возделывания данной культуры распространялась вместе с генетическим пулом, который был вовлечен в доместикационное событие. В последнее время данная точка зрения оспаривается сторонниками так называемой продолженной модели доместикации (*protracted mode of domestication*) (Tanno, Wilcox, 2006; Weiss et al., 2006; Fuller, 2007; Allaby et al., 2008; Brown et al., 2009; Glémin, Bataillon, 2009; Fuller et al., 2011, 2012; Asouti, Fuller, 2012). Эти авторы предполагают, что доместикация культур ближневосточного происхождения происходила по всей территории так называемого Плодородного полумесяца, включающего возвышенности Палестины и Ливана, горы Тавр, Антитавр, Загрос и бассейны Иордана, Оронта и истоков Тигра и Евфрата, т. е. на территории размером около $750 \times 1\,500$ км, и была постепенным процессом, продолжавшимся около 3 тыс. лет. Сторонники более традиционной, но несколько утрированной, точки зрения «первоначального ядра» (*core area*), полагают, что доместикация исходного набора ближневосточных культур протекала в течение всего лишь несколько сотен лет и имела место на территории не более 150×250 км, расположенной в двух турецких провинциях, Мардин и Диярбакыр, т. е. в турецком Курдистане (Lev-Yadun et al., 2000; Gopher et al., 2001; Abbo et al., 2010; 2011a, 2012, 2013), где и в настоящее время распространены растительные сообщества, включающие нескольких предков первоначальных культур, совместно наблюдаемых на площадках размером до одного квадратного метра (Abbo et al., 2010). Жаркая дискуссия между этими двумя «партиями» продолжается на страницах самых престижных журналов до сих пор. Целесообразнее взглянуть, как обстоят дела с культурой, которой посвящена наша работа – горохом.

Природное генетическое разнообразие не только рода Горох (*Pisum* L.), но и непосредственно вида горох посевной (*Pisum sativum* L.), дикие представители которого до сих пор широко распространены в Средиземноморье и Передней Азии, осталось за рамками как исследований, проводившихся в первой половине XX столетия, так и селекционной работы с горохом, почти до конца XX в.

Скрытое природное генетическое разнообразие гороха стало выявляться при попытках реконструкции филогении рода молекулярными методами с привлечением его

диких форм. Надо сказать, что общее количество форм, вовлеченных в анализ, было довольно невелико. Тем не менее, данные, полученные с использованием самых разных молекулярных маркеров (Hoey et al., 1996; Lu et al., 1996; Ellis et al., 1998), в частности полиформизма по инсерциям ретротранспозонов (Vershinin et al., 2003; Jing et al., 2010) и первичной структуры кодирующей части ряда структурных генов (Jing et al., 2007; Zaytseva et al., 2012, 2015), однозначно показали, что культивируемый посевной горох представляет лишь одну из множества филетических ветвей гороха, тогда как большинство прочих ветвей было представлено в анализах небольшим числом образцов и к тому же никогда не вовлекалось в селекционный процесс. (Исключение составляет *Pisum abyssinicum* A. Br., для которого все реконструкции указывают на доместикацию, независимую от *P. sativum* L. subsp. *sativum*.) Специальное исследование 121 маркера, включая изозимы и ДНК-маркеры, выявило очень небольшое генетическое разнообразие европейских сортов в сравнении с широким разнообразием, присущим виду в целом (Baranger et al., 2004). В этой работе был, в частности, предложен «ключевой» набор (core collection) из 43 образцов, обладающих в сумме 237 (96 %) аллелями из 245 выявленных у всех 148 исследованных образцов.

Весьма симптоматичен тот факт, что максимальное генетическое разнообразие культурного гороха было выявлено Л.И. Говоровым (1928) в Афганистане. В связи с господствовавшей в то время точкой зрения Н.И. Вавилова, согласно которой центры генетического разнообразия совпадают с центрами доместикации (Вавилов, 1926, 1927, 1929), Говоров (1929) предположил, что Афганистан является одним из двух первичных очагов введения гороха в культуру (вторым таким первичным очагом он считал «горную Абиссинию», а Средиземноморье полагал лишь «вторичным очагом»). Между тем в Афганистане никем никогда не был обнаружен дикий горох. Более того, горох принадлежит к средиземноморскому флористическому комплексу. Восточная граница естественного ареала рода *Pisum*, по всей видимости, совпадает с границей Хорасанской подпровинции Ирано-Анатолийской, или Армено-Иранской флористической провинции и Туркестанской флористической провинции (Zohary, 1973; Тахтаджян, 1978). Эта граница имеет почти меридиональное направление и проходит по Систан-Герирудской депрессии между горами Копет-Дага и Хорасана с одной стороны и Кугитангтау (системы Памиро-Алая), Паропамизом и Среднеафганскими горами (иногда их относят к Иранскому

нагорью, хотя в действительности они являются западными отрогами Гиндукуша) – с другой, т. е. хорошо совпадает с восточной границей нынешнего Ирана. Между тем древнейшие археологические находки гороха сделаны в пределах Леванта (в узком смысле, включающем нынешние Палестину, Израиль, Ливан, Сирию, Иорданию) (Fuller et al., 2011, 2012). Таким образом, Афганистан не является центром доместикации гороха. Точка зрения Н.И. Вавилова о совпадении центров разнообразия и доместикации, критикованная еще при его жизни (Шлыков, 1936, 1937) также в настоящее время в целом отвергнута (Harlan, 1992; Гончаров, 2014) и соответствует действительности лишь в тех случаях, когда доместикация случайно имела место в центре генетического разнообразия вида в природе, как у мягкой пшеницы и ржи (Жуковский, 1971; Гончаров и др., 2007). Возможно, Афганистан, находившийся на пересечении многих культурно-исторических и миграционных волн, аккумулировал разнообразие гороха, возникшее уже в культуре, т. е. менее чем в течение последних 10–12 тыс. лет. Полиморфные варианты могли попадать в регион с новыми волнами миграции из Средиземноморья. Вклад автохтонных диких форм в генофонд некоторых из традиционных афганских форм культивируемого гороха теоретически нельзя исключить, но он требует генетического подтверждения, притом, что присутствие самих таких форм в регионе неизвестно. Так или иначе, генетическое разнообразие дикого гороха в Передней Азии значительно превосходит разнообразие культурного гороха в Афганистане, хотя оно привлекло к себе недостаточно внимания и остается малоизвестным.

Таксономическая трактовка дикорастущих форм гороха никогда не была устойчивой и продолжает пересматриваться. В 2016 г. на основании проведенного ранее молекулярно-филогенетического анализа (Schaefer et al., 2012) было предложено радикальное таксономическое решение - отменить самостоятельный род *Pisum*, перенеся его в качестве секции в род *Lathyrus* (Coulot, Rabaute, 2016), за которым следуют радикальные изменения правильных названий включенных в него таксонов (см. раздел 1.2.2). Это решение выглядит правильным с точки зрения последовательной филогенетической классификации и, скорее всего, будет в дальнейшем принято большинство исследователей. Однако принятие его в данном тексте привело бы к большим сложностям в изложении обширных данных литературы, накопленной более чем за столетие, в которой *Pisum* рассматривается

как род. Поэтому в целях соответствия данного текста существующей на данный момент огромной литературе по гороху мы придерживаемся этой традиционной трактовке. В связи с этим заметим, что в ботанике (как и в зоологии) не существует процедуры «официального перенесения в другой род», «официальной синонимизации» и пр. Действующий в настоящее время (но до сих пор не переведенный на русский язык) «Международный Кодекс Номенклатуры водорослей, грибов и растений» (International ..., 2012) регулирует номенклатурные, но не таксономические вопросы, то есть не вмешивается в научные суждения и решения о ранге, объеме и составе таксонов, а лишь определяет правила обращения с латинскими названиями таксонов исходя из принятых таксономических решений.

Во избежание разнобоя в таксономии мы будем придерживаться системы рода по Н. Макстеду и М. Амброузу (Maxted, Ambrose, 2001), даже если авторы цитируемых источников придерживались иных таксономических трактовок. К сожалению, авторы обзоров и экспериментальных работ, вовлекающих разнородный материал, как правило, избирают иную стратегию и некритично воспроизводят таксономические концепции своих источников, тем самым поддерживая и углубляя существующую таксономическую путаницу. В системе Макстеда и Амброуза (Maxted, Ambrose, 2001) принимаются существующими три вида гороха: горох красно-желтый (*Pisum fulvum* Sibth et Smith.), дикий; 2) горох посевной (*Pisum sativum* L.), представленный двумя подвидами, культурным *P. sativum* L. subsp. *sativum* и диким *P. sativum* L. subsp. *elatius* (Bieb.) Aschers. et Graebn. sensu lato; 3) горох абиссинский (*Pisum abyssinicum* A. Br.), культурный. Более подробно эта система будет рассмотрена ниже в разделе 1.2.2.3.

Генетическое разнообразие дикорастущих форм гороха важно для селекции культурного гороха прежде всего по следующим направлениям:

- 1) устойчивость к вредителям и широкому спектру патогенов (подробно рассмотрено ниже);
- 2) устойчивость к абиотическим стрессам, прежде всего к экстремальным температурам (Ali et al., 1994; Coyne et al., 2011);
- 3) питательная и кормовая ценность (North et al., 1989; Domoney et al., 1991; Bastianelli et al., 1998; Heng et al., 2006);

4) агротехнические преимущества, такие как ветвистость стебля (Murfet, Reid, 1993), возможность перезимовки при озимом посеве;

5) симбиотическая азотфиксация.

Объем данных, имеющийся по каждому из этих пунктов, убывает в порядке их перечисления выше. Лучше всего изучен вопрос устойчивости.

Известно, что *P. fulvum* устойчив к гороховой зерновке (*Bruchus pisorum* L.) (Clement et al., 2002, 2009; Byrne et al., 2008; Aryamanesh et al., 2012, 2014), ржавчине (Barilli et al., 2009, 2010), мучнистой росе (Fondevilla et al., 2007b) и аскохитозу (Wroth, 1998; Fondevilla et al., 2005; Carrillo et al., 2013). Стенки бобов *P. sativum* subsp. *elatius* s.l., как и большинства местных форм культурного гороха, происходящих с Балкан и Передней Азии, реагируют на яйцекладку гороховой зерновки путем каллусообразного разрастания эпидермиса, иногда способного сбросить яйцо жука (Berdnikov et al., 1992). Впервые такая реакция была описана у культурного гороха Вилковой с соавт. (1977)). Небезынтересно, что это явление вообще не свойственно *P. fulvum* (Berdnikov et al., 1992), устойчивость которого к зерновке достигается иными механизмами (Clement et al., 2002; 2009).

Некоторые из диких форм посевного гороха (*P. sativum* subsp. *elatius*) показали устойчивость к нематоде *Heterodera goettigniana* Liebscher (Vito, Perrino, 1978), заразице *Orobanche crenata* Forsk. (Valderrama et al., 2004), мучнистой росе (Fondevilla et al., 2007a, 2008, 2011), фузариозам (McPhee et al., 1999; Hance et al., 2004), аскохитозу (Fondevilla et al., 2005; Carrillo et al., 2014) и белой гнили, вызываемой *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary (Porter et al., 2009). Абиссинский горох продемонстрировал устойчивость к нематоде *H. goettingiana* (Vito, Perrino, 1978) и стеблевой гнили, вызываемой *Pseudomonas syringae* (Holloway et al., 2007).

Дикие формы гороха также рассматриваются как перспективные генетические ресурсы для преодоления различных вариантов абиотического стресса: у *P. fulvum* наблюдается высокая скорость роста и длина корней, у некоторых *P. sativum* subsp. *elatius* снижена испаряемость влаги, а относящийся к этому таксону образец JI2055 из Италии выживает при температурах до $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Ali et al., 1994).

Казалось бы, дикие формы гороха должны быть перспективны и для использования в качестве доноров генетического разнообразия для селекции в направлении интенсивности

симбиотической азотфиксации. Этот вопрос был исследован Т.А. Ли с соавт. (Lie, 1978, 1981, 1984; Lie et al., 1987). Их результаты свидетельствуют о том, что селекция азотфиксации с использованием дикорастущих форм гороха осложнилась бы проблемой совместимости растения и бактериального симбионта и если и возможна, то требует нетривиального подхода. Авторы выявили существенную коэволюцию форм гороха и штаммов *Rhizobium leguminosarum*, приводящую к когерентной региональной дивергенции тех и других. Так, симбиоз с *Pisum fulvum* могли образовывать лишь штаммы ризобия из почв Израиля, примитивная культурная линия гороха из Афганистана только со штаммами из почв Передней и Средней Азии, а в южной Турции была найдена линия гороха, неспособная к симбиозу со штаммами, имеющимися в почвах из других районов страны (Lie, 1981; Lie et al., 1987). В целом штаммы из почв Афганистана, Турции и Израиля обладают широкой специфичностью и индуцируют нодуляцию у большинства форм посевного гороха, тогда как европейские штаммы оказываются совместимыми с европейскими и лишь с частью азиатских культурных форм (Young, Mattews, 1982; Young et al., 1982). Это и неудивительно, так как Передняя Азия – родина культурного гороха. Не исключено, что европейский штамм изначально предсуществовал в природе как симбионт местных диких видов бобовых (каковым он действительно является), а при проникновении в Европу культуры гороха отобрались совместимые с ним формы (Young, Mattews, 1982). Таким образом, если среди диких форм гороха найдутся образцы с повышенной азотфиксацией (чего пока не произошло), селекция с их использованием может потребовать либо одновременного вовлечения полезных генов как растения, так и бактериального симбионта, включая районирование сортов только в областях распространения соответствующих им штаммов ризобия, либо проведения агротехнических мероприятий по инокуляции почв этими штаммами (Борисов и др., 2011).

На пути к использованию генетического разнообразия диких форм гороха в селекции в последнее время достигнуты некоторые, пока довольно скромные, успехи. Речь идет о создании перспективного для селекции генетического материала (чему в англоязычной литературе соответствует термин «pre-breeding», иногда употребляется его русский перевод: «предселекция»). Первым этапом является генетический анализ наследования хозяйственно ценных признаков.

P. fulvum известен устойчивостью к гороховой зерновке, связанной со смертностью личинок сразу после выплота на поверхности бобов, в стенках бобов и семенах (Clement et al., 2009). Коллектив австралийских ученых провел генетический анализ компонент устойчивости гороха к зерновке, связанный с устойчивостью развивающихся семян (а не стенок бобов), в трех поколениях популяции гибридов *P. fulvum* с посевным горохом и сделал вывод о том, что она контролируется тригенно (соотношение фенотипов 1 : 63) одновременным присутствием в трех разных локусах рецессивных аллелей от *P. fulvum* в гомозиготе (Burne et al., 2008). Такая модель наследования предполагала, что устойчивость семян к зерновке может быть перенесена в посевной горох путем беккроссов, но с большим трудом и с использованием многочисленных популяций гибридов. В то же время коллектив американских исследователей (Clement et al., 2009) обнаружил существенную устойчивость к зерновке в не слишком многочисленных популяциях второго и третьего поколений гибридов посевного гороха и *P. fulvum*, причем она определялась свойствами не только семян, но и бобов, в частности, влияющими на поведение выведшихся из яиц личинок (немедленное углубление в толщу стенки боба либо ползание по поверхности).

В дальнейшем австралийская группа применила к популяции гибридов второго поколения QTL-анализ – процедуру, направленную на выявление локусов с количественным эффектом (QTL) на основе сцепления этого эффекта с определенными районами генетической карты, – и обнаружила гораздо более сложную картину наследования (Argamanesh et al., 2014). Три главных и пять второстепенных QTL были ответственны за 95 % изменчивости по устойчивости за счет гибели личинок в семядолях, три главных (из них два сцепленных) и два второстепенных QTL в сумме отвечали за 70 % изменчивости по устойчивости за счет неспособности личинок проникнуть в семена через их оболочку и всего один QTL оказался ответственным за 8,8 % изменчивости по устойчивости за счет неспособности личинок проникнуть внутрь боба. Таким образом, подтвердились полученные ранее данные (Burne et al., 2008) о наследуемости устойчивости на уровне проникновения личинок в семена. Обнаруженные QTL не являлись таковыми, так как на их проявление оказывали значительное влияние доминантность и генное взаимодействие.

Каллусообразные неопластические разрастания на стенках бобов в ответ на яйцекладку гороховой зерновки определяются присутствием доминантного гена *Np* (*Neoplastic pod*) (Berdnikov et al., 1992). Этот ген был хорошо известен и ранее благодаря своему вредному побочному эффекту – спонтанно вызывать подобные, иногда очень интенсивные, разрастания на стенках бобов в условиях теплицы (т. е. при резко сниженной интенсивности ультрафиолетового излучения, задерживаемым стеклом, и при высокой влажности). В указанной работе было выяснено, что такие разрастания индуцируются в открытом грунте и являются адаптивными в качестве фактора устойчивости к зерновке. В дальнейшем физиология данного явления была исследована группой американских исследователей во главе с Робертом Доссом (Doss et al., 2000; Oliver et al., 2000, 2002; Cooper et al., 2005; Doss, 2005), которые даже выделили специальный класс органических веществ – брухины (Schultz et al., 2001), – содержащиеся в секрете самки жука и активирующие неоплазию (конечно, не следует думать, что в этом состоит их «биологическая роль», так как неоплазия для жука нежелательна). Следует, однако, заметить что (по неопубликованным данным коллектива В.А. Бердникова) в условиях поля неоплазия индуцируется самыми разными органическими веществами, поэтому специально называть один из их классов «брухинами», по-видимому, не вполне целесообразно.

У *P. fulvum* был обнаружен ген с доминантным эффектом, обеспечивающий устойчивость к мучнистой росе, вызываемой *Erysiphe pisi*, неаллельный двум генам с подобным эффектом, известным у посевного гороха (Fondevilla et al., 2010). В потомстве второго поколения от скрещивания другого образца *P. fulvum* и культурного гороха та же группа исследователей локализовала один QTL, локус с количественным эффектом, отвечающий за 63 % изменчивости по частичной устойчивости к ржавчине (Barilli et al., 2010), что представляет собой ситуацию, удобную для интрогрессии этого признака в культурный горох.

Образец P665, принадлежащий к *P. sativum* subsp. *elatius*, был облюбован группой исследователей, преимущественно испанских, как источник устойчивости к целому ряду паразитов, таких как заразиха, аскохитоз и стеблевая гниль. Анализ третьего поколения гибридов от его скрещивания с культурным горохом выявил два локуса с количественным эффектом (QTL), отвечающих за устойчивость к заразихе (Valderrama et al., 2004).

Генетический анализ с использованием серии рекомбинантных инбредных линий обнаружил такое же количество QTL устойчивости к стеблевой гнили (Fondevilla et al., 2012). Первоначальный анализ той же популяции показал присутствие семь QTL, ответственных за устойчивость к аскохитозу (Fondevilla et al., 2007a), а более тонкий анализ с привлечением дополнительных SNP довел число таких QTL до 16, причем влияющих на различные аспекты устойчивости, а также позволил предложить гены-кандидаты на роль некоторых из них (Fondevilla et al., 2008, 2011; Carillo et al., 2014).

Совместимость разных форм гороха и штаммов *Rhizobium leguminosarum* стала объектом множества работ по совместному генетическому анализу обоих симбионтов; генетическая и молекулярная природа взаимодействия растительного и бактериального симбионтов детально исследована (Борисов и др., 2011). Отметим, что в эти работы вовлекались европейские сорта, полученные на их основе мутанты и «примитивные» (местные культурные формы, не подвергавшиеся систематической селекции), в частности, из Ирана, Афганистана, Тибета и Индии (Kneen, LaRue, 1984), но не дикие формы гороха. Особым вниманием пользовался так называемый «культурвар Афганистан» (образец Л1357), введенный в научный оборот Т.А. Ли (Lie, 1971, 1978, 1984) и неспособный к нодуляции при инокуляции европейскими штаммами ризобия.

Лишь одна работа, связанная с перспективами использования генетического разнообразия диких форм гороха в селекции, продвинулась дальше констатации наличия полезных свойств и изучения их наследования. Арьяманеш с соавт. (Aryamanesh et al., 2012) выбрали устойчивый к гороховой зерновке гибрид пятого поколения от скрещивания культурного гороха с *Pisum fulvum*, бэккроссировали его на культурный горох, после чего в течение 5 поколений вели отбор на устойчивость, в результате получили 5 устойчивых линий. Таким образом, была осуществлена трансгрессия устойчивости от *P. fulvum* к *P. sativum*. Данные пять линий представляют перспективный материал для селекции. Отметим лишь тот факт, что они пока несут слишком большую долю генома от *P. fulvum* (теоретически ожидалась одна четвертая часть).

Степень разработанности темы диссертации

Опубликованные работы по вовлечению генетического разнообразия дикорастущих форм гороха в селекцию культурного гороха рассмотрены выше столь детально по той причине, что первые шаги к использованию диких форм гороха в селекции, по сути, ими и исчерпываются. Таким образом, до недавнего времени ресурс природного генетического разнообразия гороха оставался, во-первых, невостребованным. Во-вторых, он до сих пор слабо изучен. В мировых коллекциях имеется всего около 100 образцов дикого гороха, которые в ходе обмена семенным фондом между генбанками многократно дублировались, приобретая все новые аффилиации и/или каталожные номера, так что один и тот же образец может присутствовать в одной и той же коллекции под разными номерами и даже возвращаться в исходную коллекцию, приобретая при этом новый номер. Более того, в ходе репродукции этот материал подвергался риску спонтанного скрещивания с другими генотипами, следы чего мы наблюдали в образцах семян, полученных из разных коллекций (например из ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР) и коллекции Вейсбуллхольм, Ландскрона, Швеция). Образцы старых сборов были часто лишены достаточной информации об их происхождении, имели лишь общую привязку, такую как, например, «Палестина» или «Абиссиния».

Лишь в последнее время появился закономерный интерес к максимально широкому сбору природного материала как дикого гороха, так и диких сородичей иных культур (Maxted, Kell, 2009; Maxted et al., 2012). Весьма симптоматично название обзорной статьи 20 авторов, известных в данной области ученых со всего мира, опубликованной в 2011 г. в журнале «BioScience»: «Crop wild relatives – undervalued, underutilized and undertreated?» (Ford-Lloyd et al., 2011: с. 559) – Дикие сородичи культурных растений недооценены, недоиспользованы и под угрозой? (*Пер. автора*). В связи с таким положением дел международная организация «Global Crop Diversity Trust» провела ряд экспертных совещаний по диким родственникам каждой из основных культур. Совещание по диким родственникам гороха состоялось 30 сентября–1 октября 2014 г. в Центре Джона Иннеса, в Великобритании, в котором также принял участие и автор данной работы. К сожалению, резюмирующей статьи по результатам данного совещания пока не появилось.

Следует сказать, что использование природного разнообразия дикого гороха в селекции затруднено репродуктивными барьерами, существующими не только между разными видами гороха, но и внутри вида горох посевной (*P. sativum*). Под репродуктивными барьерами мы в данном случае понимаем частичную или полную стерильность гибридов первого поколения в отношении семян и/или пыльцы, а в некоторых случаях и невозможность получения самих гибридов первого поколения (Kosterin, Bogdanova, 2014). Имеются данные о том, что репродуктивные барьеры между посевным горохом и двумя другими видами рода, *Pisum fulvum*, *P. abyssinicum*, как минимум частично связаны с реципрокными транслокациями (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973; Conicella, Errico, 1990; Errico et al., 1991), которые вызывают нарушения в мейозе, оказавшись в гетерозиготе у гибридов, т. е. влияют на фертильность гибридов первого поколения. Кариологический анализ мейоза гибридов первого поколения позволил предположить, что как минимум одна транслокация участвует и в создании репродуктивных барьеров, и внутри вида посевной горох (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973). Однако роль транслокаций в создании репродуктивной изоляции у гороха сильно преувеличена, поскольку полустерильность пыльцы и даже нарушения спаривания бивалентов могут вызываться конфликтом ядра и пластид (Богданова, Галиева, 2009; Bogdanova et al., 2012; 2014; 2015), а не только быть фенотипическими проявлениями гетерозиготности по реципрокным транслокациям (Lamm, 1951), каковой они обычно и приписываются.

Еще одной, довольно неожиданной, проблемой в использовании дикорастущих форм гороха являются недостаточные знания об их разнообразии у тех, кто пытается его использовать, и прежде всего о таксономии рода Горох и проблемах в этой области. Как правило, таксономия воспринимается генетиками и селекционерами не критично, причем они склонны ее переоценивать в том отношении, что неявно предполагают таксоны достаточно гомогенными внутри и в то же время четко отграниченными друг от друга так, что любой классифицированный каким-либо образом образец неплохо представляет весь таксон (что весьма далеко от действительности). Как следствие, исследователи часто не учитывают географическое происхождение диких образцов, с которыми работают. Такой

подход был назван О.Э. Костериным и В.С. Богдановой «таксономической ловушкой» (Kosterin, Bogdanova, 2014).

Так, в работах испанской группы, детально исследовавшей генетику устойчивости к разным патогенам и вредителям образца P665 (это, кстати, внутреннее обозначение, принятое данной группой) (Valderrama et al., 2004; Fondevilla et al., 2007a, 2008, 2012; Carillo et al., 2014), нигде не приводится происхождение этого образца. Лишь в работе Fondevilla с соавт. (2005) содержалось указание, что он получен из коллекции ICARDA. Как выяснилось, образец был исходно определен в указанной коллекции как *P. fulvum*, правильно переопределен процитированными выше авторами как *Pisum sativum* subsp. *syriacum* Berger (в системе Макстеда и Амброуза соответствует таксону *P. sativum* subsp. *elatius* var. *pumilio* Meikle), но его происхождение далее ими не выяснялось, поскольку авторы полагали, что он является «типичным представителем» данного подвида (личное сообщение д-ра Д. Рубиалиса). В действительности этот таксон весьма гетерогенен в любом из принимаемых его объемов. Не без труда, с привлечением неопубликованных каталогов, удалось выяснить, что имеется в виду образец IG52439, собранный 5 мая 1986 г. в Сирии, в провинции Дамаск, в точке с координатами 33,62111" с.ш., 36,03028" в.д. и на высоте 1110 м над у. м. (согласно базе данных ICARDA), близ озера Зарзар в горах Шир Мансур; других коллекциях он имеет обозначения как 868313, 142-2810 и WG 17093.

Образец PI269818 удостоился чести быть вторым генотипом, для которого была создана библиотека ВАС-клонов. Однако ни в работе, посвященной созданию этой библиотеки (Coune et al., 2007), ни в работах, на которые в ней приведены ссылки, его происхождение и таксономическая принадлежность не упомянуты. Лишь в работах Р. Проввиденти с соавт. (Provvidenti, Alconero, 1988; Provvidenti, Hampton, 1993) имеется указание, что он происходит «из СССР».

Удручающим примером путаницы, возникшей вследствие пренебрежения генетиками и селекционерами знаниями о своем материале, является тот факт, что «культivar Афганистан» – примитивный горох из Афганистана, введенный в научный оборот Т.А. Ли (Lie, 1978, 1984), в дальнейшем упоминался одновременно и как «cv. Afghanistan» (сорт «Афганистан», П1357), и как «wild pea variety Afghanistan» (разновидность дикого гороха «Афганистан») (Geurts et al., 1997). Янг и Мэтьюс специально исследовали этот вопрос

(Yang, Matthews, 1982). Они обнаружили, что линии из Афганистана, устойчивые к европейскому штамму ризобия (симбиотической азотфиксирующей бактерии), фенотипически очень сходны между собой: они имеют мелкие цветки с грязно-окрашенным за счет флавоноидной пигментации венчиком, мелкие семена мраморной окраски, не имеют антоциановой окраски на вегетативных органах и проявляют устойчивость к аскохитозу (Янг и Мэтьюс назвали их облик «диким» в переносном смысле), в то время как афганские образцы, чувствительные к европейскому ризобию, проявляли гораздо большее разнообразие. Фенотип группы устойчивых образцов лучше всего соответствует выделенному Л.И. Говоровым подвиду *P. sativum* subsp. *asiaticum* Govorov (Говоров, 1928), однако в этот подвид были включены большинство весьма разнообразных примитивных форм культурного гороха из Азии и даже из Северной Африки (Говоров, 1937), так что в целом азиатский подвид вряд ли следует рассматривать как реально существующий таксон (Maxted, Ambrose, 2001). Янг и Мэтьюс усмотрели фенотипическое сходство устойчивых афганских образцов с образцом J1241 из Иерусалима, определенным как «*Pisum humile*» и также устойчивым к европейскому штамму. Тем не менее, все устойчивые афганские образцы представляют собой местную традиционную культурную форму – они происходят с рынков по всей территории Афганистана, а их бобы не раскрываются (Yang, Matthews, 1982). Дикий горох в Афганистане никем никогда не регистрировался, а исходя из биогеографических закономерностей, он вряд ли там присутствует. Впрочем, целенаправленные поиски дикого гороха во флоре Паропамиза (северо-западный Афганистан) были бы весьма желательны.

Приведенный выше анализ степени разработанности темы диссертации говорит о необходимости нового, всестороннего и детального, с учетом всей имеющейся информации, прежде всего географической и генетической, исследования диких представителей рода *Pisum* и пересмотра как его современной структуры, так и истории его дивергенции и расселения. Наведение порядка в этой области выглядит даже не столько своевременным, сколько запоздалым, поскольку игнорирование географического происхождения и путаница в таксономической принадлежности материала давно стали дурными традициями. Не следует сбрасывать со счетов и происходящее в наши дни исчезновение естественных местообитаний дикого гороха в связи с трансформацией и

деградацией растительных сообществ вследствие прямого (сельскохозяйственная деятельность, застройка) и непрямого (глобальное изменение климата) воздействия человека. Темпы этого исчезновения неизвестны и скорее всего высоки. Следовательно, в изучении и сохранении дикого гороха в нашем быстроменяющемся мире нельзя терять времени.

Цель и задачи исследования

Работа выполнена в рамках актуальной и перспективной для селекции цели: всестороннее изучение дикорастущих представителей рода Горох (*Pisum L.*), а именно его природного ареала, истории его формирования, эволюционной истории и современного генетического разнообразия.

Задачами данной работы являлись:

1. Рассмотрение генетического разнообразия дикорастущих форм рода Горох в эволюционном, географическом и гибридологическом контекстах, а именно реконструкция илогении рода, истории его дивергенции и расселения его филетических линий по ареалу и характера их взаимодействия между собой.
2. Критический анализ имеющейся литературы по таксономии, биогеографии, экологии, филогенетике, филогеографии и репродуктивной совместимости дикорастущих форм рода Горох; а также проверка принадлежности к дикорастущим формам гороха имеющихся в наличии образцов, отнесенных к таковым в основных коллекциях генетических ресурсов культурных растений.
3. Формирование репрезентативной коллекции диких форм гороха и анализ ее в отношении ряда молекулярных маркеров. Формирование минимального базового набора образцов, представляющего генетическое разнообразие гороха Восточного Средиземноморья.

4. Выявление молекулярных маркеров, удобных для анализа геногеографии дикорастущих форм гороха и выделение на этой основе основных эволюционных линий внутри рода.
5. Проведение филогенетического анализа с использованием генов, кодирующих гистон H1, сопоставление результатов с полученными на основе других маркеров и выделение основных эволюционных линий гороха.
6. Нанесение на географическую карту распространения основных эволюционных линий гороха, выделенных на основе молекулярно-генетического анализа, и реконструкция истории эволюции и расселения рода.
7. Выявление образцов, наиболее близких к дикорастущему предку культурного гороха, и определение их современного ареала.
8. Выявление репродуктивных барьеров между образцами базового набора путем их реципрокного скрещивания по диаллельной схеме. Обсуждение полученных результатов в контексте различных концепций вида и таксономической системы рода Горох.
9. Уточнение внутривидовой таксономии *Pisum sativum* с учетом выявленного генетического разнообразия, генетического родства и репродуктивной совместимости исследованных представителей вида.

Научная новизна работы

Среди культурных растений горох отличается одним из наиболее обширных ареалов своих диких сородичей, простирающимся от Португалии до Ирана и от Нормандии до Саудовской Аравии. Более того, эти сородичи принадлежат к тому же самому виду – (*Pisum sativum* L.) – что и сам культурный горох, тогда как ареалы двух других видов гороха ограничены по площади и полностью перекрываются ареалом гороха посевного. Неудивительно, что на такой территории горох претерпел значительную дивергенцию локальных популяций, что, однако, не нашло своего адекватного отражения в

существующей таксономии. Проведенный филогенетический анализ с точной географической привязкой образцов, в сочетании с геногеографическим анализом распространения аллелей нескольких удобных эволюционных маркеров, позволил выявить основные линии эволюции посевного гороха в природе и, что наиболее важно, проследить их распространение по ареалу рода. Это дало возможность реконструировать историю заселения ареала различными эволюционными линиями гороха. Посредством гибридологического анализа по диаллельной схеме данная картина была дополнена паттерном реципрокной репродуктивной изоляции представителей основных эволюционных линий гороха в Восточном Средиземноморье. В совокупности, эти данные значительно углубляют наши знания о составе, структуре и истории рода горох и тем самым способствует более эффективному использованию его естественного разнообразия.

Теоретическая и практическая значимость работы

Представления о филогенетической структуре рода Горох позволили выбрать представителей различных эволюционных ветвей в качестве небольшого набора линий, наиболее полно представляющих генетическую изменчивость гороха в природе. Такой набор наиболее удобен для использования в качестве исходного материала для селекции гороха с вовлечением генетических ресурсов диких форм. Геногеографическое исследование природного ареала рода горох выявило частные ареалы отдельных эволюционных ветвей, включая их периферические области, где дикие формы существуют в экстремальных природных условиях. Это открывает перспективы для более адресной селекционной работы, направляя поиск скрытого генетического разнообразия дикорастущих форм в природе и облегчая выбор генетически контрастных форм, адаптированных к экстремальным условиям среды. По результатам работы выработана практическая рекомендация по повышению эффективности получения отдаленных гибридов гороха с участием дикорастущих форм. Некоторые результаты работы использованы в курсе лекций «Генетика», читаемом автором на третьем курсе Факультета естественных наук и Медицинского факультета Новосибирского Национального Исследовательского Государственного Университета.

Методология и методы исследования

Работа основана на анализе литературных данных, сборе репрезентативного материала дикорастущих форм гороха и его экспериментальном исследовании.

Анализ литературных данных носил критический характер, прежде всего в отношении дикорастущего либо культурного статуса обсуждаемых форм, принимаемой авторами таксономической системы рода Горох (*Pisum L.*) и используемого ими критерия вида; кроме того, с большой осторожностью рассматривались данные о наличии у тех или иных дикорастущих форм кариологических отличий от культурного подвида гороха.

Репрезентативный материал по дикорастущим формам гороха собирался из разных источников – из мировых генетических коллекций ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (Санкт-Петербург, Россия), фирмы «Агритек» (Шумперк, Чешская Республика), Центра Джона Иннеса (Норидж, Великобритания), а также собственных сборов.

Выращивание растений и их скрещивание проводилось в гидропонной теплице Лаборатории искусственного выращивания растений ФИЦ Институт цитологии и генетики (ИЦиГ СО РАН), г. Новосибирск.

Из молекулярно-биологических процедур в работе использовались электрофорез белков в полиакриламидном геле в кислых денатурирующих условиях, полимеразная цепная реакция, анализ полиморфизма длины рестрикции амплифицированных фрагментов (CAPS-анализ), секвенирование ДНК по Сэнгеру. Обработка последовательностей ДНК проводилась общепринятыми пакетами программ. Подробности приведены в Главе 3 «Материалы и методы».

Личный вклад автора

Анализ литературных данных проводился автором. Поиск и сборы новых природных образцов дикого гороха проводился лично автором либо по его инициативе. Основной объем CAPS-анализа маркеров *rbcL*, *cox1* и электрофоретический анализ SCA проводился автором. Секвенирование спейсера *psbA-TrnH* и генов гистона H1 и филогенетический

анализ последних проводился совместно с О.О. Зайцевой и А.В. Мглинцом.

Геногеографические реконструкции проводились автором. Выращивание образцов гороха и анализ признаков гибридов проводились автором, скрещивания – автором при участии В.С. Богдановой.

Положения, выносимые на защиту

Филогенетическая и геногеографическая реконструкция истории рода требует таксономического переопределения материала, уточнения его дикорастущего либо культурного статуса и учета географического происхождения; многие образцы гороха, значащиеся в мировых генетических коллекциях в качестве дикорастущих, не являются таковыми.

Дикорастущие формы посевного гороха глубоко дивергировали на две эволюционные линии, маркированные комбинациями трех диморфных молекулярных маркеров из трех клеточных геномов и хорошо выявляющиеся на филогенетических реконструкциях на основе генов гистона H1.

Вид *Pisum sativum* возник в Восточном Средиземноморье, имея предковую комбинацию А молекулярных маркеров *rbcL*, *cox1* и *SCA*, расселился на запад по Северной Африке, проник в Южную Европу, приобретя промежуточную комбинацию С, откуда в ходе обратной, восточной миграции в Причерноморье вновь проник в Восточное Средиземноморье, имея апоморфную комбинацию В и встретившись с носителями исходной комбинации А в Закавказье и Малой Азии.

Культурный подвид посевного гороха возник в результате доместикации представителей эволюционной линии В.

Делеция размером в 8 нуклеотидов в пластидном спейсере *psbA-trnH* является удобным молекулярным маркером, специфичным для культурного подвида гороха.

Первичная структура гена *His5* одного из субтипов гистона H1 информативна для разрешения филогении рода *Pisum* на меж- и внутривидовом уровне.

Сложный и нересипрокный характер отношений репродуктивной совместимости между отдаленными представителями посевного гороха (*Pisum sativum*) не может быть адекватно учтен в иерархически организованной ботанической систематике, однако в качестве практического компромисса предлагается система из трех подвидов..

Большинство дикорастущих форм посевного гороха не имеют ресипрокных транслокаций, отличающих их от культурного подвида.

Апробация результатов и степень их достоверности

Апробация работы: материалы диссертации докладывались автором на русско-французской конференции «Проблемы и перспективы биотехнологии растений» 21-24 октября 2008 г., Новосибирск, на международной конференции «Генетика растений, геномика и биотехнология» 7-10 июля 2010 г., Новосибирск, на конференции ВОГиС «Проблемы генетики и селекции» 1-7 июля 2013 г., Новосибирск, на экспертном совещании по диким родственникам гороха 30 сентября – 1 октября 2013 г. в Центре Джона Иннеса в г. Норидж, Великобритания, а также на отчетных сессиях Института цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, 2007, 2008, 2011 и 2016 гг.

Достоверность результатов обеспечена применением надлежащей статистической обработки данных, стандартными условиями выращивания растений в тепличном комплексе Лаборатории искусственного выращивания растений ИЦиГ СО РАН, воспроизводимостью данных по молекулярным маркерам, а также прохождением рецензирования и принятия в печать статей в отечественных и международных журналах по профилю данного исследования, таких как «Доклады Академии Наук», «Вавиловский журнал генетики и селекции», «Heredity», «Plant Science», «Genetical Research», «Gene», «Molecular Biology Reports», «Genetic Resources and Crop Evolution», «Plant Genetic Resources: Characterisation and Utilisation», «Euphytica».

Публикации по теме диссертации

Всего автором по теме диссертации опубликовано 30 статей, среди которых 19 входят в базу данных Web of Science и/или список ВАК, и два учебных пособия.

Статьи по теме диссертации, опубликованные в журналах, входящих в список ВАК и/или базу данных Web of Science (19):

1. Smirnova O.G., Rozov S.M., Kosterin, O.E. 1992. Perchloric acid extractable low-Mr albumins SCA and SAA from cotyledons and seed axes of pea (*Pisum sativum* L.) // Plant Science – Vol. 82 – P. 1-13.

2. Berdnikov, V.A., F.L. Gorel, V.S. Bogdanova, O.E. Kosterin, Y.A. Trusov, S.M. Rozov. 1999. Effect of a substitution of a short chromosome segment carrying a histone H1 locus on expression of the homeotic gene T1 in heterozygote in the garden pea *Pisum sativum* L // Genetical Research – Vol. 70 – P. 93-109.

3. Berdnikov, V. A., Gorel, F. L., Kosterin, O. E., Bogdanova, V. S. 2003. Tertiary trisomics in the garden pea as a model of B chromosome evolution in plants // Heredity – Vol. 91 – P. 577-583.

4. Kosterin, O. E., V. S. Bogdanova. 2008. Relationship of wild and cultivated forms of *Pisum* L. as inferred from an analysis of three markers, of the plastid, mitochondrial and nuclear genomes // Genetic Resources and Crop Evolution – Vol. 55 – Iss. 5. – P. 735-755.

5. Костерин О.Э., Богданова В.С., Горель Ф.Л., Бердников В.А. 2008. Трисомики гороха (*Pisum sativum* L.) демонстрируют легкий ответ на отбор на повышение плодовитости // Докл. Акад. Наук 2008 – Т. 423 – № 3 – С. 417-420.

6. Kosterin O.E., Galieva E.R., Bogdanova V.S. 2009. The first record of tetrasomy in pea (*Pisum sativum* L.) // Euphytica. – Vol. 166. – P. 109-121.

7. Kosterin O. E., Zaytseva O. O., Bogdanova V. S. , Ambrose M. 2010. New data on three molecular markers from different cellular genomes in Mediterranean accessions reveal new insights into phylogeography of *Pisum sativum* L. subsp. *elatuis* (Beib.) Schmahl // Genetic Resources and Crop Evolution. – Vol. 57. – P. 733-739.

8. Smy'kal P., Kenicer G., Flavell A.J., Corander J., Kosterin O., Redden R.J., Ford R., Coyne C.J., Maxted N., Ambrose M.J., Ellis N.T.H. 2010. Phylogeny, phylogeography and genetic diversity of the *Pisum* genus // Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization. – Vol. 2010. – P. 1-15.

9. Zaytseva O.O., Bogdanova V.S., Kosterin O.E. 2012. Phylogenetic reconstruction at the species and intraspecies levels in the genus *Pisum* (L.) (peas) using a histone H1 gene // Gene. – Vol. 504. – P. 192–202.

10. Kosterin, O.E., V.S. Bogdanova, A.A. Kechin, O.O. Zaytseva, A.K. Yadrikhinskiy. 2012. Polymorphism in a histone H1 subtype with a short N-terminal domain in three legume species (Fabaceae, Fabaeae) // Molecular Biology Repots. – Vol. 39 – P. 10681-10695.s

11. Kosterin O.E., Bogdanova V.S. 2014. Efficiency of hand pollination in different pea (*Pisum*) species and subspecies // The Indian Journal of Genetics and Plant Breeding. – Vol. 74. – P. 50-55.

12. Костерин О.Э., Богданова В.С. 2014. Стадия развития цветка, оптимальная для искусственного опыления, варьирует в роде Горох (*Pisum* L.) // Вавиловский журнал генетики и селекции. – Т. 18 – №3. – С. 478-485.

13. Kosterin O.E. 2014. The lost ancestor or the broad bean (*Vicia faba* L.) and the origin of plant cultivation in the Near East // Вавиловский журнал генетики и селекции. – Т. 18. – № 4-1. – С. 831-840.

14. Zaytseva O.O., Gunbin K.V., Mglinets A.V., Kosterin O.E. 2015. 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. – Vol. 556. – P. 235-244.

15. Kosterin O.E., Bogdanova V.S. 2015. Reciprocal compatibility within the genus *Pisum* L. as studied in F1 hybrids: 1. Crosses involving *P. sativum* L. subsp. *sativum* // Genetic Resources and Crop Evolution. – Vol. 62. – Iss. 5. – P. 691-709.

16. Костерин О.Э. 2015. При царе горохе (*Pisum sativum* L.): непростая судьба первого генетического объекта // Вавиловский журнал генетики и селекции. – Т. 19. – №. 1.– С. 13-26.

17. Костерин О.Э. 2015. Перспективы использования диких сородичей в селекции гороха (*Pisum sativum* L.) // Вавиловский журнал генетики и селекции. – Т. 19. – № 2. – С. 154-164.

18. Zaytseva O.O., Bogdanova V.S., Mglinets A.V., Kosterin O.E. 2016. Refinement of the collection of wild peas (*Pisum* L.) and search for the area of pea domestication with a deletion in the plastidic *psbA-trnH* spacer // Genetic Resources and Crop Evolution. E-publication ahead of print. DOI 10.1007/s10722-016-0446-4.

19. Костерин О.Э. 2017. Горох абиссинский (*Pisum schaeferi* Kosterin nom. nov. pro *Pisum abyssinicum* A. Br.) – проблематичный таксон. // Вавиловский журнал генетики и селекции. . – Т. 21. – № 2. – С. 158-169.

Статьи по теме диссертации, опубликованные в журналах и изданиях, не входящих в список ВАК и базу данных Web of Science (11)

1. Смирнова О.Г., Розов С.М., Костерин О.Э. 1990. Белки семян гороха, экстрагируемые хлорной кислотой: характеристике и наследование электрофоретических вариантов // Генетика хозяйственно-ценных признаков высших растений. – Новосибирск: ИЦиГ СО АН СССР – С. 158-179.

2. Berdnikov, V.A., Y.A. Trusov, V.S. Bogdanova, O.E. Kosterin, S.M. Rozov, S.V. Nedel'kina, Y.N. Nikulina. 1992. The neoplastic pod gene (Np) may be a factor for resistance in pea to the pest *Bruchus pisorum* L // Pisum Genetics – Vol. 24 – P. 37-39.

3. Kosterin, O.E., V.S. Bogdanova, F.L. Gorel', V.A. Berdnikov. 1995. Inheritance of a pollen protein and a probable case of inversion in the pea chromosome corresponding to linkage group I // Pisum Genetics – Vol. 27 – P. 5-8.

4. Rozov, S.M., F.L. Gorel, O.E. Kosterin, V.A. Berdnikov. 1997. A new homeiotic gene, *biv*, affects flower and inflorescence structures, and display linkage with *d* // Pisum Genetics – Vol. 29 – P. 24-25.

5. Gorel, F.L., V.A. Berdnikov, S.M. Rozov, O.E. Kosterin. 1997. Linkage relationships of loci *d*, *Pur* and *Astr* // Pisum Genetics – Vol. 29 – P. 32-33.

6. Berdnikov, V.A., F.L. Gorel, O.E. Kosterin. 1999. Two simultaneously induced lethal mutations provide a system for automatic reproduction of a heterozygote for the Hammarlund translocation // *Pisum Genetics* – Vol. 31 – P. 1-4.
7. Gorel, F. L., V. A. Berdnikov, O. E. Kosterin. 1999. A new xantha-type mutation *golden* (*gld*) on the short arm of chromosome 5 // *Pisum Genetics* – Vol. 31 – P. 5-8.
8. Kosterin, O. E., V. A. Berdnikov, F. L. Gorel. 1999. EMS-induced lethal in the vicinity of the locus *lf* // *Pisum Genetics* – Vol. 31 – P. 11-12.
9. Kosterin, O. E., N. V. Pukhnacheva, F. L. Gorel, V. A. Berdnikov. 1999. Location of the breakpoints of four reciprocal translocations involving linkage group V and their influence on recombination distances between neighbouring markers // *Pisum Genetics* – Vol. 31 – P. 13-20.
10. Berdnikov, V. A., Gorel, F. L., Bogdanova, V. S., Kosterin, O. E. 2000. New mutations in the linkage group V have provided stable trisomic lines of pea // *Pisum Genetics* – Vol. 32 – P. 13-15.
11. Smykal, P., G. Kenicer, A.J. Flawell, O. Kosterin, N.T.H. Ellis, M.J. Ambrose. 2009. Morphological and molecular relationship in *Pisum L* // *Grain Legumes*. Vol. 52. P. 22-23.

Учебные пособия по теме диссертации (2):

1. Костерин О.Э. 2015. Основы генетики. Часть 1. Основные понятия, определение пола и смежные вопросы, генетическая рекомбинация. Новосибирск: РИЦ НГУ, 410 с.
2. Костерин О.Э. 2016. Основы генетики. Часть 2. Хромосомные перестройки, полиплоидия и анеуплоидия, мобильные генетические элементы и генетическая трансформация, генетика количественных признаков и популяционная генетика. Новосибирск: РИЦ НГУ, 246 с.

Структура диссертации

Диссертация изложена на 324 страницах, содержит 13 таблиц и 29 рисунков. Она состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов и списка цитируемой литературы. Глава 1 представляют собой обзор литературы. Глава 2 представляет собой материалы и

методы, однако в разделах 2.1 и 2.3 представлена также часть результатов настоящей работы (проверка образцов на принадлежность к дикорастущим и сбор новых образцов в природе), выделение которых в особый раздел неоправданно усложнило бы структуру работы. Главы 3-5, как то: «Геногеография по молекулярным маркерам» (глава 3), «Опыт реконструкции филогении рода *Pisum* на межвидовом и внутривидовом уровне с использованием генов гистона H1» (глава 4) и («Репродуктивная совместимость базового набора образцов, отражающего генетическое разнообразие гороха восточного Средиземноморья» (глава 5) содержат результаты исследований и их обсуждение. Список литературы содержит 391 источник, из которых 65 – на русском языке.

Благодарности

Автор выражает искреннюю благодарность своим коллегам к.б.н. В.С. Богдановой, к.б.н. О.О. Зайцевой, к.б.н. А.В. Мглинцу и В.И. Соловьеву за плодотворное сотрудничество и всестороннюю помощь в исследованиях, своему учителю к.б.н. В.А. Бердникову за привитие должного отношения к науке и за вовлечение в исследования гороха, в частности природного разнообразия его дикорастущих форм, Л.П. Ромкиной за техническое содействие экспериментам с горохом, академику РАН Н.П. Гончарову за плодотворное обсуждение и критический анализ текста, М. Амброзу и П. Смыкалу, Мишелю Папазяну, Хуану Модолеллу и Джозепу Виго за предоставление ценного генетического материала, проф. С.А. Литвинской за консультации по распространению *P. sativum* subsp. *elatius* на Кавказе, д.б.н. В.М. Доронькину, Л.Н. Антимоний и Т.В. Пивоваровой за помощь с труднодоступной литературой, академиком РАН Н.А. Колчанову и В.К. Шумному за настойчивые, но терпеливые призывы к написанию диссертации. Автор благодарен за содействие сотрудникам центров коллективного пользования ФИЦ ИЦиГ СО РАН Лаборатория искусственного выращивания растений и лаборатории геномных исследований, в которых проводилось выращивание экспериментальных растений и анализ продуктов реакции Сэнгера, соответственно. Работа была поддержана грантами РФФИ 10-04-00230-а «Генетический анализ репродуктивной изоляции вследствие ядерно-цитоплазматической несовместимости в отдаленных скрещиваниях в роде горох *Pisum* L.»,

руководитель Богданова В.С, 2010-2012гг., и 13-04-00516-а «Генетический анализ роли генов ядерно-цитоплазматической несовместимости в формировании репродуктивной изоляции в роде горох (*Pisum L.*)», руководитель Костерин О.Э., 2013-2015 гг.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Горох как генетический объект

1.1.1. Горох как объект классической генетики

Когда Грегор Мендель решил заняться гибридизацией и изучением наследования, он начал с внимательного выбора объекта исследования. По всей видимости, объект исследования выбирался им не спеша и очень вдумчиво: наряду с горохом, объектами опытов Менделя по изучению наследования стали ястребинка (*Hieracium*) и медоносные пчелы. Свои знаменитые опыты с горохом, которые он проводил восемь 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 году он писал своему преподавателю о том, что гороховая зерновка 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 им 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 является 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 вегетационным периодом «растительной дрозофилы» - арабидопсиса.

Результат удачного выбора Менделем экспериментального объекта – гороха – хорошо известен: он позволил ему фактически в одиночку основать новую науку - генетику (ястребинка же и пчелы оказались далеко не столь плодотворны, вследствие неизвестных Менделю особенностей 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 и описана транслокация, причем найдена 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. Стигу 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; однако две самые мелкие хромосомы 1 и 2 не могут быть достаточно надежно идентифицированы и этим методом (Hall et al., 1997). Мейотические хромосомы 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, Miravelle, 1959); стандартный набор которых был предложен Робертом Ламмом (Lamm, 1951; 1977; Lamm, Miravelle, 1959). В начале 1980х 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 более чем десять лет 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 – как в дальнейшем стало принято говорить, для классического генетического анализа - должны были довольно скоро привести к созданию подробных рекомбинационных генетических карт. Парадоксальным образом, эта проблема оказалась решена лишь в 90е годы XX столетия и только за счет привлечения молекулярных маркеров. Первая генетическая карта гороха, включавшая шесть групп сцепления, была составлена еще С. Веллензиком (Wellensiek, 1925). Однако ученым, сыгравшим главную роль в построении полной генетической карты, как и положено включавшей семь групп сцепления (при $n=7$), был Герберт Лампрехт (Lamprecht, 1948; 1953; 1954; 1955; 1957; 1961). К 1970м годам его генетическая карта была существенно пополнена генами с видимым фенотипическим проявлением, число которых достигло 169 и которые в результате покрывали ее достаточно густо (Blixt, 1972).

Однако в 1980-90е годы выяснилось, что карта эта 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 данной работы – генов *His7* (Kosterin, 1992, 1993) и *bulbosus* (Kosterin, Rozov, 1993).

1.1.2. Экспансия молекулярных методов генетического анализа и реконструкции филогении

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, от 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, от simple sequence repeats) (Lu et al., 1996; Baranger et al., 2004; Loidon et al., 2005),
- полиморфными по длине фрагментами рестрикции ДНК (RFLP-маркеры, от restriction fragment length polymorphism),
- такими же фрагментами, амплифицированными после присоединения адаптеров (AFLP-маркеры, от amplified fragment length polymorphism) (Lu et al., 1996),
- амплифицированными фрагментами ДНК со случайных праймеров, полиморфными по наличию сайтов рестрикции (STS-маркеры, от sequence tagged sites) (Lu et al., 1996; Weeden et al., 1999),
- полиморфными сайтами встройки ретротранспозонов (RBIP-маркеры, от 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, от 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), и, наконец,
- нуклеотидными заменами в конкретных позициях (SNP-маркеры, от single nucleotide polymorphisms) (Aubert et al., 2006; Deulvot et al., 2010; Bordat et al., 2011; см. также ниже).

Дополним перечень обозначениями еще несколькими классами молекулярных маркеров, употреблявшимися 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- (от sequence-characterised amplified regions), или STS-маркеры (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) – аналог CAPS-маркеров, но сайт рестрикции отсутствует в анализируемой ДНК, а

находится в не вполне гомологичном праймере. Скорость появления новых молекулярных методов столь велика, что за ней с трудом поспевает терминология.

В последнее время, в связи с развитием методов высокопроизводительного секвенирования, позволяющих одновременный анализ практически любого количества маркеров в одном образце (Deulvot, 2010; Bordat et al., 2011), проекты, 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; Smykal et al., 2012). Ситуация развивается стремительно, а настоящий момент – не лучшее время для обобщений.

Количество молекулярных маркеров, помещенных на генетическую карту гороха, возрастает лавинообразно. Генетическая карта гороха, построенная Lorigon 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, 2070 маркеров (Duarte et al. 2014). Группа испанских исследователей независимо построила 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), 1132 cM (Carrillo et al., 2014), 1255 cM (Duarte et al., 2014), 1389 cM (Bordat et al., 2011), 1430 cM (Lorigon et al., 2005), 1458 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 возможных различий в общей интенсивности рекомбинации в зависимости от генотипа (Smykal et al., 2012), на что указывают и наши неопубликованные данные. Данных об изменчивости общего количества хиазм у гороха не публиковалось.

Преимущественное использование в последних работах SNP-маркеров, связанных с кодирующими генами, в какой-то мере воспроизводит ситуацию, существовавшую до конца прошлого века, когда на генетической карте стояли функциональные маркеры,

имеющие фенотипическое проявление. Однако огромное количество маркеров само по себе затрудняет и презентацию результатов, и практическую работу с картой.

Заметим, что многие «молекулярные» рекомбинационные карты возникали в отрыве от «классических», то есть на основании популяций F_2 и серий рекомбинационных инбредных линий, полученных от скрещиваний, в которые было вовлечено слишком мало маркеров с видимым фенотипическим проявлением. В связи с прогрессом и удешевлением (к сожалению, не в нашей стране) современных методов высокопроизводительного секвенирования возникла ситуация, когда разные группы исследователей для решения своих 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 создание универсальной генетической карты гороха осознавалась с самого начала использования молекулярных подходов. К ее решению прилагаются значительные усилия (Gilpin et al., 1997; Aubert et al., 2006; Weeden et al., 1998; Decarie et al., 2012; Bordat et al., 2011; Smykal et al., 2012). Так, в работе Bordat et al. (2011) задействованы данные из шести различных популяций рекомбинантных инбредных линий, полученных на основе скрещивания шести же образцов; а на приведенном в ней консенсусе генетической карты стоят 180 SSR-маркеров, 133 RAPD-маркеров, 6 RFLP-маркеров, 214 маркера, связанных с кодирующими генами, но всего три морфологических маркера. Последующая карта того же коллектива (Duarte et al., 2014), основанная на четырех популяциях RIL, включала 730 маркеров, поставленных на карту ранее.

На смену подходу, связанному с рекомбинантными 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). Этот подход 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 покрытия карты имеющимися маркерами. Первый опыт ассоциативного картирования агрономических признаков и признаков качества у гороха на материале коллекции USDA был опубликован в 2015 г. (Cheng et al., 2015).

1.1.3. 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 парадоксально-прискорбной ситуации, когда группы сцепления рекомбинационной генетической карты и хромосомы в качестве цитогенетических объектов имеют различную нумерацию. Эта проблема была сформулирована, а 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 семь групп сцепления гороха были надежно установлены. В то же время сохранялись затруднения в цитологической идентификации двух наиболее мелких хромосом (Hall et al., 1997; Smykal 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; Smykal 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 Буриданова осла – какую из двух нумераций выбрать (Smykal et al., 2012).

При этом существование двух параллельных номенклатур порождает реальные проблемы. Так, Л. Фучжун и С.А. Гостимский (1998: с. 1269) обсуждают противоречие между собственными и литературными данными относительно того, какие хромосомы вовлечены в семь транслокаций стандартного набора Ламма («К сожалению, неточности в идентификации хромосом у транслокационных линий гороха привели к противоречиям в определении хромосом, участвующих в обменах [ссылки на 5 литературных источников]»), не обратив внимание, что в большинстве случаев это было противоречие между двумя системами нумерации, а не между разными наборами данных, имеющих биологический смысл.

1.1.4. В ожидании генома

В настоящий момент, 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., см. (The International ..., 2010). Во многом это 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, делающим горох неудобным

цитогенетическим объектом. Таким образом, геном гороха слишком мал для цитогенетики, но слишком велик для полногеномного секвенирования.

Однако ситуация близка к исправлению. Создан международный консорциум, который намеревался просеквенировать полный геном гороха в 2016 г., к 160 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 дикого образца PI269818 (Coyne et al., 2007). Последний образец был выбран в связи с его устойчивостью к вирусной мозаике (Keller et al., 1998) и фузариозу (Smykal et al., 2012). Данные библиотеки уже используются для более частных целей: так, с их помощью были идентифицированы два менделевых гена, *a* (Hellens et al., 2010) и *tl* (Hofer et al., 2009). В то же время геном будет просеквенирован только у сорта Камеор. На данный момент (октябрь 2016 г.) последовательности ядерного генома гороха в основном получены (личное сообщение П. Смыкала), но в открытом доступе они так и не появились.

Пластидный геном гороха был впервые расшифрован в 2010 г. (Magee et al., 2010), четыре года спустя он был ресеквенирован у пяти представителей основных эволюционных линий рода Горох (Bogdanova et al., 2015).

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

На данный момент полные геномы прочитаны у трех модельных видов бобовых с очень маленькими геномами – *Medicago truncatula* Gaertn. (люцерна усеченная, триба Trifolieae), *Lotus japonicus* L. (лядвенец японский, триба Loteae, родственная Trifolieae), *Cicer arietinum* L. (нут бараний, триба Ciceraceae, родственная Fabaceae), и одного культурного

растения - *Glycyne max* (L.) Merr. (соя, триба Fabeae). Несмотря на то, что все эти растения принадлежат к другим трибам (хотя Ciceraceae является сестринской для трибы Fabaceae, см. Яковлев, 1991), их геномы демонстрируют неплохую синтению с геномом гороха (Kaló, 2004; Choi et al., 2004; Aubert et al., 2006; Bordat et al., 2011), причем прослеживается даже некоторая взаимная заметная синтения их геномов с геномами таких совсем не родственных растений как виноград, тополь и папайя (Kaló, 2004; Bordat et al., 2011). Геномы как минимум всех бобовых в достаточной мере синтены. Синтением можно воспользоваться для разработки CAPS-маркеров, густо покрывающих определенные фрагменты генетической карты гороха. Для этого в геноме люцерны *M. truncatula* (или других вышеназванных видов с известными геномами) ищут 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 удобные 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 первой позволяли амплифицировать фрагменты генов второго. Затем в амплифицированных фрагментах гороховых генов ищутся полиморфные позиции, создающие сайты узнавания тех или иных эндонуклеаз рестрикции. В тех случаях, когда он 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 (Konovalov et al., 2005). В.С. Богданова с соавторами 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). Используя по сути тот же подход – секвенирование фрагментов выбранных ортологов генов люцерны, амплифицированных с ДНК вовлеченных в опыт родительских форм гороха и поиск полиморфизма в полученных первичных последовательностях, Aubert et al. (2006), Bordat et al. (2011) и (Duarte et al., 2014) поставили на генетическую карту гороха, соответственно,

77, 51 и 730 новых маркеров, связанных с кодирующими генами. Количество «мостов», связывающих генетические карты гороха и люцерны, со временем стремительно росло: их было 45 у Aubert et al. (2006), 56 у Choi et al. (2004), 140 у Bordat et al. (2011), 1252 у Duarte et al. (2014).

Работа 2011 года коллектива французских ученых (Bordat et al., 2011) в полной мере использовала два источника маркеров гороха, связанных с кодирующими генами – последовательности транскриптов гороха и геномов родственных видов. Они проанализировали 30 156 последовательностей ДНК гороха, доступных на тот момент в базах данных, анализ которых позволил распознать последовательности, относящиеся к 13 747 уникальным генам. Из них для 5460 были выявлены ортологи в геноме *M. truncatula*, причем 140 из них, как сказано выше, стояли на полученной в той же работе консенсусной карте гороха. С помощью анализа синтении геномов гороха, люцерны, лядвенца, сои и тополя для этих 5 460 генов были предсказаны предположительные 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 сбивающий с толку неверный перевод «трансляционная геномикой».

В дальнейшем тот же коллектив в целях генетического картирования получил полный транскриптом гороха (Duarte et al., 2014). Он включал транскрипты 68 тысяч генов, из которых 41 тысяча была аннотирована на основе их ортологов в геноме люцерны; в 35 тысячах из них были найдены замены, 1340 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 80 000 генов, был получен немецко-американским коллективом (Franssen et al., 2011).

Почти на десять 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) и устойчивости к холодному стрессу (Dumont et al., 2011), мучнистой росе (Curto et al., 2006), аскохитозу (Castillejo et al., 2010) и заразихе (Castillejo et al., 2004).

К гороху применено несколько современных подходов, 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 4817 линий, фенотип 1840 из которых бы охарактеризован и 464 мутации было идентифицировано на уровне ДНК (Smykal 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 – полного ядерного генома. На данный момент горох оказывается на одном уровне изученности с пшеницей, и, скорее всего, обгонит ее ввиду ее огромного генома и ее амфиплоидной природы.

1.1.5. Заключение

Горох посевной сыграл беспрецедентную роль в науке в качестве модельного объекта, на котором была основана генетика как новая наука, впервые создана частная генетика отдельного вида и сделаны одни из первых цитогенетических исследований. Начиная с середины XX века генетические и молекулярно-генетические исследования гороха отставали от исследований иных сельскохозяйственных культур, однако в последнее время это отставание было скомпенсировано, и на данный момент степень генетической изученности посевного гороха примерно соответствует таковой пшеницы, уступая, однако культурам с малыми геномами, например рису и сое. Обнародование полного генома гороха ожидается со дня на день. Изучение генома культурного растения имеет большое значение для селекции, однако не меньшее значение имеет и другая сторона генетических исследований – изучение генетической изменчивости и разнообразия культурного вида. Подобные исследования гороха достигли известных успехов, однако столкнулись с целым рядом проблем, как объективного, так и субъективного характера, чему и посвящена следующая глава обзора литературы.

1.2. Таксономия, биогеография и филогения рода *Pisum* L.

1.2.1. Род *Pisum* L. в системе и на филогенетическом дереве семейства Fabaceae Lindl.

Последняя таксономическая сводка системы семейства Fabaceae на русском языке принадлежит Г.П. Яковлеву (1991), несколько ранее это семейство было рассмотрено в фундаментальном труде А.Л. Тахтаджяна (1978) «Система магнолиофитов». Оба автора следуют наиболее авторитетной системе семейства, предложенной авторитетным систематиком семейства Р. Полхиллом (Polhill et al. 1981). Бобовые принадлежат к подклассу Rosidae класса двудольных и входят в порядок бобовых, или бобовоцветных, для которого существуют два равноценных названия Fabales Nakai и Leguminales Jones. В составе данного порядка одними авторами признается существующим единственное

семейство, имеющее в этом случае два равноценных названия Fabaceae Lindl. или Leguminosae Juss., либо три семейства – Caesalpiniaceae R. Br., Mimosaceae R. Br. и собственно семейство бобовые, для которого в данном объеме опять-таки существует два равноправных названия: Fabaceae Lindl. и Papilionaceae Gieske. Из альтернативных названий в современной литературе чаще используются Fabales и Fabaceae. Согласно Г.П. Яковлеву (1991), семейство бобовых в широком смысле включает около 18 000 видов, в узком – 12 000-13 000 видов; за прошедшие четверть века эта цифра могла только увеличиться. Вслед за Р. Полхиллом (Polhill et al. 1981) и Г.П. Яковлевым (1991), мы будем принимать семейство бобовых в широком смысле. В этом смысле оно подразделяется 3 подсемейства, из которых наиболее крупным является подсемейство Faboideae, включающее по А.Л. Тахтаджяну (1978) 28 триб, а по Г.П. Яковлеву (1991) 39 триб, в свою очередь объединяемых в таксоны, не соотносимые по рангу с традиционно выделяемыми – союзы, комплексы и линии. В системе Яковлева род Горох (*Pisum* L.) входит в подсемейство Faboideae, милеттоидный союз, галегоидный комплекс (неформальные таксоны вне традиционных рангов, названия которых соответственно образованы от родов *Millettia* Wight. et Arn. и *Galega* L.) и трибу Viciae (Adans.) DC. (Яковлев, 1991).

Однако название трибы Viciae не является действительно обнародованным с точки зрения Международного кодекса ботанической номенклатуры (2009; International ..., 2012), а именно его статьям 18.5 и 19.4 (Lock, Maxted, 2005). Согласно статье 19.4, название любого подразделения семейства, включающего тип принятого законного названия семейства, к которому отнесено данное подразделение, должно быть основано на родовом названии, эквивалентном этому типу (International .., 2012). В статье 18.4 специально приведено два альтернативных названия семейства бобовых, Leguminosae и Fabaceae и указан его тип, род “*Faba* Mill. [= *Vicia* L.]”. Хотя род *Faba* в современной систематике не признается и считается синонимом рода *Vicia*, название семейства основано именно на этом родовом названии. Соответственно, на этом же родовом названии должны быть основаны и все подразделения семейства бобовых, включающие тип рода, вид *Vicia faba*, в том числе и название трибы (Lock, Maxted, 2005). Таким образом, вслед за Локом и Макстедом, а также более поздними авторами, ниже мы будем пользоваться для рассматриваемой трибы названием *Fabeae* Rchb., даже если цитируемые по ходу дела

авторы использовали *Vicieae*. (Любопытно, что один из авторов этой поправки, Найджел Макстед, в своей несколько более поздней работе (Maxted, Kell, 2009) снова пользуется названием *Vicieae* [возможно, текст этой работы был подготовлен много раньше ее публикации].)

Галегоидный комплекс в семействе мотыльковых считается наиболее «продвинутым», т. е. обладающим большим количеством апоморфных признаков, среди которых травянистая жизненная форма, закрытая сосудистая система, двурядное листорасположение и отсутствие подушечек (Яковлев, 1991). По-видимому, в отношении последнего признака у ботаников имеются разночтения, так как считается, что у гороха подушечки имеются, и даже известна его мутация *apulvinus*, фенотип которой состоит в замещении подушечек черешочками (Marx, 1984). Триба *Fabeae* имеет такую весьма заметную апоморфию, как преобразование вершины рахиса и терминальных пар листочков в усики, приспособленные для лазания (Яковлев, 1991).

Согласно традиционной системе (Kuricha, 1981; Яковлев, 1991), триба *Fabeae* включает в себя пять родов: *Vicia* L., *Lens* Mill., *Lathyrus* L., *Vavilovia* A. Fedorov и *Pisum* L. Из рода *Vicia* некоторые авторы выделяют роды *Faba* и *Ervilia* Link., а из рода *Lathyrus* – род *Orobus* L. (в имеющей отношение к нашей теме флористической литературе см., например, Галушко, 1980); другие авторы нередко возвращают род *Vavilovia* A. Fedorov в состав рода *Pisum* L. s. l., в качестве секции *Alophotropis* Jaub. et. Sp.. Роды *Pisum* и *Vavilovia* сближаются с родом *Lathyrus*, в частности на основании такой синапоморфии, как прямо срезанная тычиночная трубка, и противопоставляются последнему по признаку строения столбика – вдоль сложенный у гороха и вавиловии и плоский у чины (Говоров, 1937). Род *Vavilovia* была выделена из рода *Pisum* благодаря своей жизненной форме – высокогорный многолетник, лишенный функциональных усиков (Федоров, 1939). В диагноз рода также были включены мелкие прилистники и наличие ползучих корневищ, за которые автором (Федоров, 1939) были приняты погруженные черешки распростертых листьев, чаще всего лишенные листочков (Бобров, 1948). Согласно Schaefer et al. (2012), триба *Fabeae* включает в себя около 380 видов.

Триба *Fabeae* принадлежит к так называемой «кладе без инвертированного повтора» (Inverted Repeat-lacking Clade, IRLC) в семействе бобовых, представители которой

маркированы такой синапоморфией как делеция одной из двух копий длинного (около 25 кб) инвертированного повтора в пластидном геноме (Lavin et al., 1990), возраст которой оценивается в $39,5 \pm 2,4$ млн лет, что соответствует эоцену. К этой кладе относятся пять традиционных триб: *Fabeae*, *Cicereae*, *Galegeae*, *Hedysareae* и *Trifolieae*, а также несколько родов, традиционно относившихся к трибе *Millettieae*. Это доказывает сборный (полифилетический) характер последней в ее традиционном понимании, так как в одной трибе не могут быть объединены группы, входящие и не входящие в монофилетическую кладу IRLC, которая сама включает несколько триб (Яковлев, 1991).

На основании анализа первичной структуры пластидного гена матуразы K (Lavin et al., 2005), а затем и одновременно шести ядерных и пластидных последовательностей (Schaefer et al., 2012) возникновение трибы *Fabeae* датировано как 16-23 млн лет назад, т. е. миоценом. Центром ее происхождения было Восточное Средиземноморье (Kenicer, 2007; Schaefer et al., 2012), откуда реконструировано 39 инвазий в Евразию, 7 в Америку, 2 в тропическую Африку и 1 (независимая от инвазий в Америку) на острова Макаронезии (Schaefer et al., 2012).

В работе Schaefer et al. (2012) для нас представляет особый интерес датировка времени дивергенции родов *Pisum* и *Vavilovia*, оцененного как 9,8-4,8 млн лет назад, и дивергенция внутри рода *Pisum*: 2,3-0,8 млн лет назад (с точностью до вовлеченных в анализ представителей, среди которых были представители обоих надежно выделяемых видов, *P. sativum* и *P. fulvum*).

Положение рода *Pisum* в традиционной системе бобовых растений не вызывало особых сомнений, за исключением ранга таксона *Vavilovia* (род или подрод). Однако уже первые попытки реконструкции филогении трибы молекулярными методами показали, что традиционное деление на роды не соответствует филогении в том виде, как она надежно реконструируется молекулярными методами: на предварительном древе ветвь *Pisum-Vavilovia* оказалась сестринской роду *Lathyrus*, однако их объединенная ветвь оказалась расположенной внутри рода *Vicia* (Smýkal et al., 2010). Обстоятельная работа по молекулярной реконструкции филогении трибы *Fabeae* на основании шести последовательностей, проделанная Х. Шафером с коллегами (Schaefer et al., 2012), выявила картину еще менее соответствующую традиционной систематике. Ветвь *Pisum-Vavilovia*

топологически оказалась находящейся внутри рода *Lathyrus*, ветвь *Lens* – внутри рода *Vicia*. Небольшая ветвь с хорошей поддержкой, включающая широкораспространенные виды *Vicia hirsuta* (L.) Gray, *V. sylvatica* L. и средиземноморские *V. cypria* Unger et Kotschy, *V. lunata* (Boiss. et Bal.) Boiss., *V. ervilia* Willd., *V. monanthos* (L.) Desf. и *V. articulata* Hornem. (виды *Vicia*, ранее относимые к трем секциям, *Ervillia*, *Ervoides* и *Trogonellopsis*), оказалась сестринской всем остальным представителям трибы, то есть является результатом наиболее ранней дивергенции трибы. (Возможно, к этой ветви относятся также не анализировавшиеся виды *V. koeieana* Rechf. и *V. quadrijuga* P.H.Davis.). Ветвью, сестринской к объединенной ветви *Lathyrus*+*Pisum*+*Vavilovia* является ветвь, соответствующей секции *Ervum* рода *Vicia*, включающая виды *V. tetrasperma*, *V. tenuissima* и *V. pubescens*. На реконструированном дереве малые ветви *Pisum* и *Vavilovia* оказались на одной ветви с такими видами, как *Lathyrus gloeospermus* Warb. et Eig, *L. neurolobus* Warb. et Eig и *L. nissolia* L., относимые к секциям *Clymenium*, *Neurolobus* и *Nissolia*, соответственно. Авторы даже полагают, что генетические ресурсы этих трех видов могут быть каким-то образом использованы в селекции гороха.

Таким образом, оба больших рода, *Vicia* и *Lathyrus*, в традиционном понимании оказались парафилетическими (притом что голофилия небольших родов *Lens* и *Pisum* была подтверждена). Чтобы привести таксономию в соответствие с филогенией, либо их следовало разделить, либо всех представителей трибы следовало считать одним родом *Vicia*. Schaefer et al. (2012) предложили считать вышеупомянутую корневую ветвь из семи видов, традиционно относимых к *Vicia*, отдельным родом *Ervilia* Link. Также заслуживающей восстановления статус рода признавалась ветвь, соответствующая секции *Ervum*. С целью привести таксономию в соответствие с филогенией, род *Lens* предлагалось включить в состав рода *Vicia*. Виды из родов *Pisum* и *Vavilovia* предлагалось включить в состав рода *Lathyrus*, который в результате оказался бы голофилетическим. Деление видов трибы на секции должно было быть полностью пересмотрено. Однако конкретных номенклатурных актов и новых комбинаций в связи с этими рекомендациями в работе Schaefer et al (2012) предложено не было.

Эту неблагодарную работу взяли на себя два французских ботаника, П. Куло и Ф. Работ, в 2016 г. четвертом томе своей «*Monographie de Leguminosae de France*» (Coulot,

Rabaute, 2016), однако выполнили ее лишь частично, предложив новые правильные названия только для таксонов, присутствующих во флоре Франции, и не вполне корректно с точки зрения правил ботанической номенклатуры.

Фактически авторы объединили одновременно опубликованные Линнеем и тем самым имеющие одинаковый приоритет роды *Lathyrus* L. и *Pisum* L., выбрав *Lathyrus* в качестве правильного названия рода, в соответствии со статьей 11.5 Международного кодекса номенклатуры водорослей, грибов и растений («Мельбурнского кодекса») (International Code ..., 2012). Однако номенклатурная трактовка П. Куло и Ф. Работ (Coulot, Rabaute, 2016) не во всем соответствует действующему Международному кодексу номенклатуры водорослей, грибов и растений (International Code ..., 2012). Эти авторы перенесли род *Pisum* в род *Lathyrus* в качестве секции *Lophotropis* Jaubert et Spach., для чего они предложили новую комбинацию *Pisum* L. sectio *Lophotropis* (Jaubert et Spach) H. Schaefer, Coulot et Rabaute для секции, предложенной И.-Ф. Жобером и Э. Шпахом (Jaubert, Spach, 1842) в роде *Pisum* L. Жобер и Шпах разбили род *Pisum* L. на две секции, *Lophotropis* Jaubert et Spach, включавшую *P. sativum* L. (тип рода *Pisum* L.) и другие горохи, и *Alophotropis* Jaubert et Spach, включавшую *Pisum formosum* (Stev.) Boiss. (в настоящее время – *Vavilovia formosa* (Stev.) A. Fed.). Однако согласно статье Кодекса 22.2 название секции *Lophotropis* Jaubert et Spach не является действительно обнародованным, так как оно включает тип рода *Pisum*, но его эпитет не повторяет название рода. Не являясь законным названием, оно непригодно в качестве базионима новой комбинации (статьи 6.10, 12.1), следовательно, *Pisum* L. sectio *Lophotropis* (Jaubert et Spach) H. Schaefer, Coulot et Rabaute также не является действительно обнародованным. В то же время название секции *Alophotropis* Jaubert et Spach является действительно обнародованным, что, согласно статьям 6.8, 22.3 и 32.3, автоматически создало действительно обнародованный в 1842 г. автоним *Pisum* L. sect. *Pisum* (запись согласно статье 22.1) для секции, которая, согласно статье 7.6, основана на том же типе, *Pisum sativum* L., что и род *Pisum* L. и включает все таксоны рода, не отнесенные к секции *Alophotropis* – а это все таксоны, традиционно рассматриваемые в роде *Pisum* как минимум последние полвека, в частности, виды *P. fulvum*, *P. sativum* и *P. abyssinicum*, признаваемые в системе Макстеда и Амброуза (Maxted, Ambrose, 2001).

Это обстоятельство благоприятно, поскольку позволяет сохранить привычное название *Pisum* для гороха, хотя бы и в ранге секции, чем и воспользовался автор данной работы (Костерин, 2017) опубликовав комбинацию *Lathyrus sectio Pisum* (L.) Kosterin, с базионимом *Pisum* L. *sectio Pisum* - автонимом, автоматически созданным при публикации названия *Pisum* L. *sectio Alophotropis* Жобером и Шпахом (Jaubert, Spach, 1842). Типом секции *Lathyrus* L. *sect. Pisum* L. остается тип линнеевского вида *Pisum sativum* L. (статьи 10.1, 10.3) несмотря на то, что правильным названием этого вида в составе рода *Lathyrus* является его гетеротипный синоним *Lathyrus oleraceus* Lamarck (см. ниже).

1.2.2. Таксономия рода *Pisum*

1.2.2.1. Сущности сверх необходимого: излишнее дробление таксонов за счет альтернативной генетической изменчивости

Горох заслужил честь быть первым генетическим объектом не случайно, а ввиду того, что представлял собой набор разнообразных по внешности, но при этом отчетливо отличающихся друг от друга сортов, сохранявших свои признаки в ряду поколений, что Грегор Мендель нашел весьма удобным для своей работы. Эти, выражаясь современным языком, фенотипы прекрасно укладывались в типологическую концепцию вида, поэтому и сам Мендель оговорился, что их вполне можно считать видами, что, однако, не имело никакого значения для поставленных им целей – выяснить законы наследования (Mendel, 1865). Столетие спустя известный генетик гороха Стиг Бликст (Blixt, 1971) во введении к своей важнейшей монографии с несколько тавтологичным названием «Мутационная генетика у *Pisum*» предпринял попытку дать ботанический «диагноз» «экотипа *sativum*», который занял 19 строчек, после чего написал следующее (перевод автора): «Наиболее стоящая упоминания характеристика вышеприведенного описания, и одна из причин, почему оно было дано, состоит в том, что оно лишено чего-либо определенно характеризующего род, что является естественным следствием того, что оно базировалось, почти полностью, на существенной части свободно комбинирующей генетической

изменчивости. Нужно подчеркнуть, что такое условие могло быть только создано человеком» (Blixt, 1971, стр. 10).

Неудивительно, что большое количество сортов, традиционных местных сортов, линий неясного происхождения и дикорастущих форм, относящихся по современной классификации к *P. sativum*, были описаны многими авторами в ранге вида (в основном в XIX веке, краткая история таксономии гороха того времени хорошо изложена Л.И. Говоровым (1937)). Приведем, в алфавитном порядке, их список согласно сводке синонимов в монографии Р.Х. Макашевой (1979): *Pisum album* Gars., *P. arvense* Moris, *P. coccineum* Medic. *P. commune* Calv., *P. biflorum* Stokes, *P. elatius* Bieb., *P. elatum* Sér. in DC, *P. hortense* Aschers. et Graebn., *P. humile* Boiss. et Noë, *P. granulatum* Lloyd, *P. jomardii* Schrank, *P. leptolobum* Reichb., *P. macrocarpum* Sér. in Schur., *P. quadratum* Reichb., *P. ramulare* Reichb., *P. sacharatum* hort. ex Reichb., *P. syriacum* (Berger) C. Lehm., *P. thebaicum* Willd., *P. tetragonum* hort. in Pasq., *P. tuffetii* Lesson, *P. umbellatum* Reichb., *P. uniflorum* Moench, *P. variegatum* Presl., *P. vulgare* Jundz. Несомненно, в данном источнике пропущены некоторые названия, например *P. biflorum* Rafin и *P. humile* Miller. (см. ниже). Все эти «виды» не только никак не соотносятся с биологической концепцией вида, но не признаются даже ботаниками, продолжающими стоять на типологической концепции вида. Отметим, что «виды» *P. biflorum*, *P. granulatum*, *P. tuffetii* и *P. variegatum* описаны по дикорастущим растениям: *P. biflorum* и *P. variegatum* из Сицилии, а *P. tuffeti* из Франции (из окрестностей Рошфора и Нижней Луары, соответственно) (Rafinesque, 1810; Presl, 1826; Lesson, 1835; Lloyd, 1844).

«Дольше всех продержалось» в качестве видового название *Pisum arvense*, которым было принято обозначать все культурные формы с пурпурными цветками, в отличие от таковых с белыми цветками, которые обозначались как *P. sativum*. Также некоторые авторы включали в *P. arvense* также и сходные с ними дикорастущие, в особенности сорные формы, не отличающиеся высоким габитусом и потому не относимые ими к виду *P. elatius*. Разделение на два «вида», *P. sativum* и *P. arvense*, поддерживалось тем, что в Европе с цветом цветков гороха ассоциировался и некий комплекс габитуальных признаков растений, причина чего достаточно курьезна. Дело в том, что европейские кулинарные традиции немотивированно отдают предпочтение пище светлых тонов, поэтому

европейские овощные и зерновые сорта как правило несут аллель *a* (в частности исследовавшийся Менделем) и не имеют антоциановой окраски ни цветков, ни семян. В то же время все кормовые сорта (в отечественной селекционной традиции обозначаемые польским словом «пелюшка», образованном от общеславянского корня «поле») продолжают нести аллель дикого типа *A* и имеют антоциановую окраску. В связи со своим хозяйственным предназначением, кормовые формы гороха как правило отличаются таким комплексом признаков, как высокий габитус, ветвистость, большая зеленая масса и количество семян, но в то же время небольшие листья и прилистники, мелкие цветки, бобы и семена. Однако такое разделение на пищевые и кормовые сорта характерно только для европейской цивилизации - например, разнообразные эфиопские и афганские культурные формы, используемые в пищу, имеют антоциановую окраску, и являются результатом селекции. Более того, белоцветковые формы возникли в Европе не ранее XIII в. (Lamprecht, 1956). Оба типа сортов сохраняют полную репродуктивную совместимость и в потомстве их гибридов все упомянутые признаки свободно сегрегируют и комбинируются. Многочисленные данные такого рода, полученные в середине XX в. позволили Г. Лампрехту (Lamprecht, 1956a) упразднить *P. arvense* в качестве отдельного вида. Еще ранее Л.И. Говоров (1937) не признал за таксоном *arvense* даже и подвидовой ранг. Тем не менее этот «вид» продолжал признаваться многими ботаниками, работающими преимущественно с дикой флорой, но вынужденными рассматривать в составе флор также растения, убегающие из культуры. Наиболее позднее употребление названия *P. arvense* в литературе зафиксировано автором во «Флоре Европейской части СССР» (Чефранова, 1987).

Однако ботаники, придерживающиеся традиционных подходов, продолжают упорно считать, что любое распознаваемое сочетание признаков может и должно быть описано и таксономически оформлено в том или ином ранге. Наиболее последовательно по этому пути пошла Р.Х. Макашева (1979), предложившая систему рода, включавшую (в сумме по роду) 2 вида, 6 подвидов (у *P. sativum*), 27 конвариаций (у *P. sativum*), 116 вариаций и 158 субвариаций (причем при подсчете конвариаций, вариаций и субвариаций не учтены таксоны более высокого ранга, не разбитые на таксоны мелких рангов).

Свою систему рода предложил Христиан Леман (Lehmann, 1954), в дальнейшем он усовершенствовал ее в соавторстве с известным генетиком гороха Стигом Бликстом (Lehmann, Blixt, 1984); системой Лемана некоторые авторы продолжают пользоваться до сих пор. Леман и Бликст сознательно назвали свою систему рода «искусственной». Она примечательна в том отношении, что основана на комбинации четких альтернативных признаков, определяемых аллелями известных генов. В этом отношении она больше похожа на генетическую запись фенотипа растения, чем на таксономическую систему; тем не менее она оформлена в виде последней и представлена как иерархическая система с традиционными таксономическими рангами и латинскими названиями таксонов. Впрочем, все фигурирующие в этой системе таксоны описаны ранее, в том числе Lehmann (1984). Система включает пять видов, *P. formosum*, *P. fulvum*, *P. humile*, *P. syriacum* и *P. sativum*, последний включает три подвида, *P. sativum* subsp. *asiaticum*, *P. sativum* subsp. *transcaucasicum* и *P. sativum* subsp. *sativum*. Инфраподвидовые таксоны приведены только для последнего подвида, насчитывая 5 конвариаций и 101 вариацию.

Таким образом, Леман и Бликст предприняли попытку совместить таксономию с генетикой. Однако большая изменчивость по свободно комбинируемым альтернативным признакам, подобная наблюдаемой у гороха, не может быть адекватно отражена в таксономической системе. Таксономическая система иерархична, подразумевая, что существуют диагностические признаки для каждого ранга таксонов, а вышестоящие таксоны разбиты на нижестоящие. Альтернативная же изменчивость по многим независимым признакам по природе своей комбинаторна, порождает почти астрономическое количество сочетаний, что отмечал еще Мендель (Mendel, 1865) и лишена какой-либо иерархии – варианты признаков, контролируемых несцепленными генами, комбинируются произвольно. В этой ситуации таксономисту приходится произвольно приписывать признакам роль диагностических для таксонов разного ранга (см., например, Lamprecht, 1974; Lehmann, Blixt 1984) и описывать огромное число таксонов низкого ранга, которые не имеют ни теоретической (в силу вышеизложенного), ни практической ценности, так как не могут с пользой применяться ни в каком контексте.

В качестве противоположной крайности, также мало приемлемой, упомянем точку зрения, опубликованную недавно известным генетиком и специалистом по молекулярной

филогении гороха Ноэлем Эллисом (Ellis, 2011) в монографии, специально посвященной диким родственникам бобовых культур, согласно которой все многообразие гороха целесообразно рассматривать в пределах единого вида *Pisum sativum* L. Это заключение тем более неожиданно, что в своих более ранних работах данный автор придерживался других точек зрения, как правило в той или иной степени совпадавших с системой, предложенной его неизменным соавтором Михаэлем Амброузом (Maxted, Ambrose, 2001), которая будет детально рассмотрена в разделе 1.2.2.3 как наиболее удачная.

Экстравагантная точка зрения Эллиса отражает тот факт, что множество форм гороха действительно затруднительно однозначно классифицировать, однако согласно всем имеющимся данным и совокупного мнения всех остальных авторов (включая самого Эллиса в его более ранних работах), вид *Pisum fulvum* Sibth. et Smith прекрасно отличается от всех прочих представителей рода как по внешним, так и по молекулярным признакам и достаточно репродуктивно от них изолирован. Таким образом, система рода *Pisum* должна включать не менее двух видов, *P. fulvum* и *P. sativum*.

В связи с небольшой теоретической и практической пользой, мы воздержимся от исторического очерка таксономии рода Горох, отослав читателя к монографиям Л.И. Говорова (1937) и Р.Х. Макашевой (1979), где этот вопрос рассмотрен весьма подробно.

1.2.2.2. «Адаптивная контаминация» таксономии дикорастущих форм *Pisum sativum* L.

Вышесказанное о произвольной комбинации альтернативных признаков относится в большей мере к культурному гороху *P. sativum* subsp. *sativum*. Фенотипическое разнообразие дикорастущих представителей того же вида посевной горох гораздо меньше, поскольку имеет естественные адаптивные ограничения. Например, в природе не встречаются растения с аномальной структурой листа, поскольку растение с помощью листьев должно не только фотосинтезировать, но и лазать по кустарникам, и даже с белыми либо розовыми цветками, поскольку пурпурная окраска необходима для привлечения опылителей, а горох – факультативный перекрестник. (С другой стороны, в природе наблюдается высокая изменчивость по наличию и распределению антоциановой окраски на

зеленых частях растения.) В связи с этим таксономическая история дикорастущих *P. sativum* существенно проще и включает меньше названий.

Традиционно все многообразие диких представителей *P. sativum* разделялось на два таксона, существенно различающихся по габитусу и экологии (Говоров, 1937; Ben-Ze'ev, Zohary, 1973; Макашева, 1979):

1) Высокие мезофитные растения дубовых лесов и маквиса (средиземноморские заросли низкорослых деревьев и колючих кустарников) обозначались названием «*elatius*» в ранге от видового (*Pisum elatius* Bieb.) до подвидового (*Pisum sativum* subsp. *elatius* (Bieb.) Aschers. et Graebn. либо *Pisum sativum* subsp. *elatius* (Bieb.) Schmalh.)

2) Низкорослые ксерофитные растения травянистых сообществ, либо сорные в посевах злаков, были ассоциированы с названиями «*humile*» (*Pisum humile* Boiss. et Noë) или «*syriacum*» (*Pisum sativum* subsp. *syriacum* Berger, *P. syriacum* (Berger) Chr. Lehm.). Название *Pisum humile* Boiss. et Noë было предложено в видовом ранге Буассье и Ноем в 1856 г. (Boissier, 1856), но оказалось преокупированным более ранним названием *Pisum humile* Miller, предложенным для одной из форм культурного гороха в 1768 г. Бергер (Berger, 1928) предложил для низкорослого дикого гороха новое название и понизил его ранг до подвидового: *Pisum sativum* subsp. *syriacum* Berger; это название было принято к употреблению в основном отечественными авторами (например Макашевой, 1979), однако было повышено снова до видового ранга С. Леманом (Lehmann, 1954). (Заметим, что Макашева (1979; с. 64) применяла запись авторства подвида с указанием в скобках Буассье и Ноя, «*Pisum sativum* subsp. *syriacum* (Boiss. et Noë) Berger»; что является неправильным, так как речь идет не об изменении ранга с сохранением конечного эпитета, а о новом, замещающем названии, предложенном Бергером именно в этом ранге, т.е. о новом конечном эпитете. Также неправильна и запись его авторства разновидности «*P. sativum* subsp. *elatius* var *pumilio* (Boiss et Noe) Meikle» (Макашева, 1979: с. 67), так как конечный эпитет *pumilio* был предложен именно Мейкле (в работе Davis, 1969), а не Буассье и Ноем.)

Нехама Бен-Зеев и Даниэль Зохари (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973) приводят следующие отличия второй группы от первой: меньшая высота растения, более короткие междуузлия, цветоносы и бобы, более мелкие цветки. Р.Х. Макашева (1979) выражает эти отличия в численном виде: высота растений 20-130 см против 80-250 см, 4 против 6 симподиальных

пучков в верхней части растения, размер цветков 1,3-1,8 см против 2,0-3,5 см, длина бобов менее 5 см против 5,8-8 см. Нетрудно видеть, что все эти различия количественные и имеют прямое отношение к адаптации к двум вышеуказанным типам местообитаний – притененных и открытых. (Заметим, что характеристики подвидов, данные Леманом и Бликстом (Lehmann, Blixt, 1984) слишком жесткие и не вписываются в реальное разнообразие диких форм посевного гороха, известных к настоящему времени.)

Цитогенетический анализ, проведенный Бен-Зеев и Зохари (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973) не подтвердил вышеприведенной морфологической классификации на два подвида. Эти авторы определили три образца «*elatus*» и три образца «*humile*» в качестве относящихся к одной кариологической группе, тогда как два образца «*humile*», из аэропорта Анкары и с вулканических пеплов в окрестностях Эль-Кунейтры на Голанских высотах, относились к другому кариологическому классу, отличающемуся от первого не менее одной транслокацией – а именно к тому же, что и культурный подвид. Авторы ввели для двух последних образцов неформальный «таксон» «северный *humile*», в противоположность трем образцам «южного *humile*» из другого класса (эти авторы работали в Израиле и для них «северными» были образцы из Северного Израиля и Турции). В дальнейшем мы (Kosterin et al., 2010) показали, что образец «*elatus*» из Крыма также не имеет кариологических барьеров при скрещивании с культурным подвидом, родственен ему по молекулярным маркерам и мог бы быть по аналогии назван «северным *elatus*» (Впрочем, вопрос о том, различаются ли эти два класса действительно кариологически, транслокациями, или же генами совместимости ядра и цитоплазмы, влияющими в том числе на правильное расхождение хромосом, остается открытым – см. ниже.)

Присутствие растений с различным габитусом в разных частях ареала указывают на то, что выделяемые на основе габитуса таксоны *elatus* и *syriacum*=*humile* – искусственны. Соответствующий им габитус формируется (по-видимому, достаточно быстро в ходе эволюции) в ходе адаптации к тому или иному типу местообитания и не имеет отношения к эволюционному родству тех или иных форм. Данное родство выявляется молекулярными методами (Hoey et al., 1996; Lu et al., 1996; Ellis et al., 1998; Vershinin et al., 2003; Jing et al., 2007; 2010; Kosterin, Bogdanova, 2008; Kosterin et al., 2010; Zaytseva et al., 2012; 2015), однако не находит отражения в морфологии и не позволяет выделять внутривидовые

таксоны. К выводу об искусственности «высокого» и «низкого» таксонов еще ранее пришли и некоторые ботаники, работавшие с флорой Турции, включающей большое разнообразие диких форм посевного гороха, (Townsend, 1968; Davis, 1970), которые рассматривали все эти формы как принадлежащие к единственному дикорастущему подвиду *P. sativum* subsp. *elatius* s. l.

1.2.2.3. Компромиссная система рода *Pisum* L. Н. Макстеда и М. Амброуза

Наиболее удачная, прежде всего в практическом отношении, система рода *Pisum* была опубликована в 2001 г. Н. Макстедом и М. Амброузом (Maxted, Ambrose, 2001), уже обсуждавшаяся в разделе «Введение», ниже мы будем придерживаться этой системы. Система Макстеда и Амброуза очень проста, что является наилучшим таксономическим решением ввиду очень сложной структуры обширной и недостаточно изученной изменчивости в пределах рода *Pisum*, с трудом вписывающейся в традиционную биологическую классификацию с иерархической системой таксонов. В целом она следует трактовкам, предложенным ранее Таунсендом (Townsend, 1968) и Дэвисом (Davis, 1970). В этой системе принимаются три вида гороха:

1. *Pisum fulvum* Sibth et Smith (в русскоязычной традиции горох красно-желтый) – хорошо морфологически очерченный и признаваемый всеми исследователями дикорастущий вид, распространенный в Леванте (в узком смысле), на юге Анатолии (Davis, 1970) и, по-видимому, заходящий в Аравию (Говоров, 1937; Макашева, 1979).

2. *Pisum sativum* L. (горох посевной), характеризующийся большим морфологическим и генетическим разнообразием. Встречается в диком состоянии на огромной территории Средиземноморья и Передней Азии, в культуре распространен по всему миру. В системе Макстеда и Амброуза принято условное деление посевного гороха на два подвида, дикий и культурный: культурные формы относятся к подвиду *P. sativum* L. subsp. *sativum*, а все дикие формы объединены в подвид *P. sativum* L. subsp. *elatius* (Bieb.) Aschers. et Graebn. sensu lato.

Вслед за Davis (1969), низкорослые дикие формы, ранее рассматривавшиеся как вид *P. humile* Boiss. et Noë или подвид *P. sativum* L. subsp. *syriacum* Berger (см. выше) в системе

Макстеда и Амброуза принимаются в качестве разновидности *P. sativum* L. subsp. *elatus* var. *pumilio* Meikle. (Ввиду до сих пор широкого, но неоправданного употребления в литературе названия «*Pisum humile*», мы вынуждены упоминать его в литературном обзоре, но будем делать это в кавычках.)

3. *Pisum abyssinicum* A. Br. (горох абиссинский) (по другим современным трактовкам, заслуживающим внимания – подвид посевного гороха *P. sativum* subsp. *abyssinicum* (A. Br.) Berger), – генетически весьма однородный таксон, эндемичный для Эфиопии и Йемена, морфологически сходный с *P. sativum* и, по сути, являющийся одной из эволюционных линий последнего.

1.2.2.4. Необходимые дополнения

К приведенной системе необходимо сделать несколько оговорок, как формально-номенклатурного, так и концептуального характера.

Pisum elatus был описан Ф.К. Биберштейном в ранге вида (Bieberstein, 1808). В дальнейшем ранг этого таксона был понижен до подвидового с сохранением названия *elatus*. В вопросе о том, кто осуществил этот акт впервые, нет единодушия. Зарубежные авторы, в частности Макстед и Амброуз (2001) считают, что это сделали Ашерсон и Гребнер (Aschaerson, Graebner, 1910), поэтому записывают название таксона в полной форме как *Pisum sativum* L. subsp. *elatus* (Bieb.) Aschers. et Graebn. Р.Х. Макашева (1979) же отмечает, что впервые данное название в подвидовом ранге было употреблено Шмальгаузенем (1895), как “subspecie γ -*elatus*” (то есть не вполне в формате ботанической номенклатуры), и таким образом признает правильной следующее авторство комбинации: *Pisum sativum* L. subsp. *elatus* (Bieb.) Schmalh. Однако данная проблема теряет актуальность если учесть обстоятельство, изложенное ниже.

В 1992 г. Адриано Солдано в своей статье «Восстановление правильных приоритетных названий подвидовых таксонов итальянской флоры» (Soldano, 1992), на итальянском языке, обратил внимание на номенклатурный казус, связанный с правильным латинским названием дикого подвида посевного гороха, и исправил его. Дело в том, что по современным правилам ботанической номенклатуры (в отличие от зоологической

номенклатуры) принцип приоритета применяется к названиям таксонов независимо для каждого ранга. Таким образом, при изменении ранга таксона название, бывшее приоритетным в одном ранге, может потерять приоритет в другом ранге, если для данного таксона в этом ранге впервые применялось иное название. Так произошло и с диким посевным горохом. Солдано обнаружил, что обсуждаемый таксон - дикий горох Европы – в качестве подвида впервые получил следующее название *Pisum arvense* L. subsp. *biflorum* (Rafin.) Arcangeli, поскольку в 1894 г. Arcangeli (1894) изменил на подвидовой ранг названия *Pisum biflorum* Rafinesque, 1810, предложенного К.С. Рафинеском (Rafinesque, 1810) в ранге вида. Солдано отнес этот подвид к виду *Pisum sativum*, а не к несуществующему виду *P. arvense*. Тем самым он ввел новую комбинацию:

Pisum sativum L. subsp. *biflorum* (Rafin.) Soldano.

Именно это название следовало бы использовать для обозначения дикорастущего подвида посевного гороха в составе рода *Pisum*. Однако ввиду перенесения гороха в род *Lathyrus*, в качестве правильного названия данного подвида должна быть использована иная комбинация (см. ниже), а поскольку в данном тексте мы пока не принимаем это перенесение, то будем ниже последовательно придерживаться системы Макстеда и Амброза (Maxted, Ambrose, 2001) и пользоваться названием *P. sativum* subsp. *elatius*.

Заметим, что поскольку название *biflorum* было употреблено в подвиговом ранге ранее (Arcangeli, 1894), чем свои подвиговые названия предложили Шмальгаузен (1895) и Ашерсон и Гребнер (Ascherson, Graebner, 1910), это снимает актуальность проблемы кто именно из них должным образом употребил название *elatius* в подвиговом ранге.

Упразднение рода *Pisum* и включение видов гороха в качестве секции в род *Lathyrus* (Coulot, Rabaute, 2016), в данном тексте не принимаемое, потребовало важных изменений законных названий видов и подвигов. Посевной горох, всем известный как *Pisum sativum* L., получил правильное название *Lathyrus oleraceus* Lamarck, основанное на ином типе, уже существовавшее в этом роде и предложенное никем иным как Жаном Батистом Ламарком (Lamarck, 1779), дальновидно (?) переписавшим горох именно в составе *Lathyrus*. Культурный подвид получает автономичное название *L. oleraceus* subsp. *oleraceus*. Поскольку дикорастущий подвид встречается во Франции, Куло и Работ (Coulout, Rabaute,

2016) предложили для него новую комбинацию *Lathyrus oleraceus* subsp. *biflorus* (Rafin.) H. Schaefer, Coulout et Rabaute (синоним *Pisum sativum* subsp. *elatius*).

К сожалению, эти авторы воздержались от необходимых номенклатурных новшеств для таксонов, во Франции не встречающихся, хотя в своем обзоре и упомянули все хоть сколько-нибудь важные таксоны. В частности, в «Замечаниях» П. Куло и Ф. Работ (Coulout, Rabaute, 2016: с. 184) упомянули и «*Pisum sativum* subsp. *abyssinicum* (A. Braun) Govorov (= *Pisum jomardii* Schrank)», причем среди четырех культивируемых таксонов, которые они сочли, вероятно вслед за Л.И. Говоровым (1937), результатом вторичной интрогрессии с дикорастущими формами, хотя это справедливо лишь для абиссинского гороха (см. ниже; кроме того, синонимия с *P. jomardii* в данном случае ошибочна). Однако новая комбинация для абиссинского гороха предложена не была, и это было сделано автором данного текста (Костерин, 2017). Ситуация осложнялась существованием действительно обнародованного названия *Lathyrus abyssinicus* A. Br. ex Chiov., являющегося более поздним синонимом *Lathyrus sativus* L. (Campbell, 1997). Согласно статье 53.1, новая комбинация для вида в роде *Lathyrus* с конечным эпитетом, основанным на базиниме *Pisum abyssinicum* A. Br., была бы незаконной как более поздний омоним. Поэтому согласно статьям 6.11, 11.4, 41 и 53.1 для исключения омонимии при перенесении в род *Lathyrus* абиссинский горох получил замещающее название видового ранга *Lathyrus schaeferi* Kosterin (pro *Pisum abyssinicum* A. Braun). Он был назван в честь Ханно Шэфера (Hanno Schaefer), который и оказался «виновником» данной «таксономической революции» в связи со своей молекулярно-филогенетической работой (Schaefer et al., 2012). В той же работе автор (Костерин, 2017) предложил новую комбинацию *Lathyrus fulvus* (Sibthorp et Smith) Kosterin для гороха красно-желтого.

Ниже суммируется соответствие правильных названий таксонов гороха в составе рода *Lathyrus* (Coulout, Rabaute, 2016; Костерин, 2017) с названиям в системе Макстеда и Амброуза (Maxted, Ambrose, 2001):

Lathyrus oleraceus Lamarck – *Pisum sativum* L.

Lathyrus oleraceus Lamarck subsp. *oleraceus* – *Pisum sativum* L. subsp. *sativum*

Lathyrus oleraceus Lamarck subsp. *biflorus* (Rafin.) H. Schaefer, Coulout et Rabaute –
Pisum sativum L. subsp. *elatius* (Bieb.) Aschers. et Graebn.

Lathyrus fulvus (Sibth. et Smith) Kosterin – *Pisum fulvum* Sibth. et Smith

Lathyrus schaeferi Kosterin – *Pisum abyssinicum* A. Br.

В составе рода *Lathyrus* таксоны гороха относятся к секции *Lathyrus* L. sect. *Pisum* (L.) Kosterin, поэтому согласно статье 21A1 их названия могут записываться с включением названия секции в круглых скобках, например *Lathyrus* (sect. *Pisum* L.) *oleraceus* Lamarck, *Lathyrus* (sect. *Pisum* L.) *schaeferi* Kosterin или *Lathyrus* (*Pisum*) *oleraceus* Lamarck, *Lathyrus* (*Pisum*) *schaeferi* Kosterin и т.п. Поскольку обращение с русскими названиями не кодифицировано, не существует препятствий для употребления для этих таксонов традиционного русского названия «горох посевной», «горох абиссинский», «горох красно-желтый».

Напомним, что «Международный кодекс номенклатуры водорослей, грибов и растений» (International Code ..., 2012), как и предшествующие версии Кодекса, не регулирует научные мнения относительно объема и ранга таксонов, которые, как любые научные суждения, определяются убедительностью и авторитетностью научной аргументации (в идеале – консенсусом ученых), а лишь определяет правила обращения с названиями уже после того, как автором приняты те или иные таксономические решения, касающиеся объема и ранга. Поэтому любой автор может продолжать придерживаться традиционной таксономической трактовки, рассматривая таксоны гороха в составе рода *Pisum* L., что мы делается в данном тексте, отдавая, однако, при этом себе отчет, что эта трактовка противоречит филогении (Schaefer et al., 2012).

1.2.2.5. Проблема парафилии

Ввиду того, что культурный горох произошел от дикого, выделение подвида на основе доместицированности в качестве единственного диагностического признака делает предковый, дикий подвид – парафилетичным, что не соответствует принципам строго филогенетической классификации – кладистике (Kosterin, Bogdanova, 2008; Zaytseva et al., 2012), которая в настоящее время занимает господствующее положение в систематике. Также, как мы увидим ниже, *P. abyssinicum* предстает на филогенетических реконструкциях в качестве одной из небольших эволюционных ветвей внутри вида *P.*

sativum, и признание его видового статуса на основании серьезных репродуктивных барьеров в соответствии с биологической концепцией вида, делает парафилетичным уже сам вид *P. sativum*. Мы, однако, считаем возможным придерживаться данной нефилогенетической классификации в качестве удобного практического компромисса, а также ввиду того, что, как мы увидим ниже, построение филогенетической классификации сталкивается с рядом серьезных трудностей: 1) недостаточной информацией о разнообразии и филогенетических отношениях внутри *P. sativum* s.l.; 2) отсутствием внешних диагностических признаков и ботанических названий у некоторых эволюционных ветвей, выделяемых на основании молекулярных признаков и 3) определенной ролью в эволюции рода гибридизации между отдаленными формами. Напомним, что правила ботанической номенклатуры индифферентны к принятой концепции вида, критериям выделения таксонов и ниспослания им тех или иных рангов, а лишь регулируют обращение с научными названиями после принятия исследователем таксономического решения.

1.2.2.6. Проблема обоснованности разновидностей, признаваемых внутри *P. sativum* L. subsp. *elatius* (Bieb.) Schmalh. в настоящее время

В системе Макстеда и Амброуза в составе подвида *P. sativum* subsp. *elatius* наряду с автонимичной разновидностью *P. sativum* L. subsp. *elatius* (Bieb.) Aschers. et Graebn. var. *elatius* признаются еще две разновидности: *P. sativum* L. subsp. *elatius* (Bieb.) Aschers. & Graebn. var. *pumilio* Davis и *P. sativum* L. subsp. *elatius* (Bieb.) Aschers. et Graebn. var. *brevipedunculatum* Davis et Meikle. Обе разновидности предложены в работе П. Дэвиса (Davis, 1969), представляющей собой 19е сообщение серии «Материалы по флоре Турции», в качестве чисто технического таксономического оформления форм гороха, встречающихся в Турции. В этой работе текст, посвященный роду *Pisum*, занимает всего 10 страниц, однако таксономическое решение Дэвиса в настоящее время является общепринятым.

Разновидность *P. sativum* L. subsp. *elatius* var. *pumilio* является синонимом *P. humile* Boiss et Noë и *P. sativum* subsp. *syriacum* и введена лишь в связи с обсуждавшемся выше снижением таксономического ранга низкорослых дикорастущих форм посевного гороха, под новым названием, после включения их в подвид *P. sativum* subsp. *elatius*. Название

разновидности было предложено П. Дэвисом (Davis, 1969); распространение разновидности указано следующим образом: Ливан, Палестина, Кипр, Северный Ирак, северо-западный и западный Иран, северный Египет.

Разновидность *P. sativum* subsp. *elatius* var. *brevipedunculatum* описана из Центральной Анатолии и Кипра, тип происходит из Чанкая около Анкары (“Çankaya, nr. Ankara, c. 1000 m”), в диагнозе указано, что она отличается от var. *elatius* своими «более короткими» цветоносами, меньшими цветами и листьями в основном с двумя парами листочков, каковые признаки сохраняются при культивировании. Данные признаки не назовешь особо убедительными.

Выделение обеих разновидностей представляется нам нецелесообразным ввиду их очевидной полифилетичности (сборного характера). Кстати, и сам Дэвис (Davis, 1969) отмечает, что в природе встречаются экземпляры, промежуточные между всеми тремя выделяемыми им разновидностями *P. sativum* subsp. *elatius*. Экологическая обусловленность и полифилетичность низкорослых дикорастущих форм посевного гороха обсуждалась выше в разделе 1.2.3.2. В мировых коллекциях генетического материала название *brevipedunculata* судя по всему применяется только к образцам, происходящим только из ареала, указанного в первоописании. Однако признаки, указанные в качестве диагностических для *P. sativum* subsp. *elatius* var. *brevipedunculatum*, встречаются практически по всему ареалу дикого гороха. Так, очень короткие (до почти полного исчезновения) цветоносы найдены нами у образцов из Португалии (образец J13557), Греции (J11091), Крыма (CE1) (Zaytseva et al., 2016).

1.2.2.7. Статус абиссинского гороха (*Pisum abyssinicum* A. Br.)

Pisum abyssinicum A. Br. представляет собой небольшую, четко очерченную группу форм, весьма сходных с посевным горохом, но еще более между собой, так что даже Р.Х. Макашева (1979) не разделила его на разновидности и выделила всего лишь три подразновидности, различающиеся окраской оболочки семян (фиолетово-красчатая - subvar. *abyssinicum*, темно-фиолетовая - subvar. *vavilovianum* (Govorov) Makash. или зеленовато-сероватая – subvar. *viridulogriseum* (Govorov) Makash.). Для абиссинского

гороха характерны небольшая длина главного стебля, сильный восковой налет в молодом возрасте, что придает листу серебристый оттенок, умеренно зубчатые прилистниками и листьями, полным отсутствием антоциана на вегетативных частях растения, небольшие, довольно бледно окрашенные цветки и крайняя скороспелость (Говоров, 1937; Макашева, 1979), причем раннее зацветание даже в условиях длинного дня определяется уникальным аллелем гена *lf* (Weeden, 2007). По нашим наблюдениям в теплице, по созревании семян и усыхании главного стебля растение дает множественные прикорневые ветви, которые не уступают по размеру главному стеблю, цветут и плодоносят, в сумме давая урожай гораздо больший, чем главный стебель. По всей видимости, это свидетельствует об адаптации к ариднему климату, причем с возможностью использовать случаи, когда в норме короткий влажный период длится дольше обычного.

Как следует из ботанических описаний данного таксона (Говоров, 1937; Макашева, 1979), большинство признаков данного таксона, как качественных, так и количественных, не выходит за пределы изменчивости посевного гороха (*Pisum sativum* L.). Так, первая ступень ключа Р.Х. Макашевой (1979: стр. 56) для определения шести подвигов последнего, к которым данный автор относит и абиссинский горох в ранге подвида *P. sativum* subsp. *abyssinicum* (A. Br.) Berger, выглядит следующим образом:

«1. Стебель тонкий, ветвящийся от основания, нижние пазушные побеги взрослого растения отходят почти горизонтально от главного стебля. В верхнем ярусе растения с 4 симподиальными пучками. Междоузлия только удлиненные. Цветки мелкие (1,8 см и менее.) Семенная кожура средней толщины, высота клеток палисадного эпидермиса+гиподермы преимущественно от 90-130, реже до 180 мкм

..... 2

+ Стебель средней толщины или толстый, преимущественно неветвящийся или слабо ветвящийся, главным образом не от основания, реже ветвящийся от основания под острым углом, иногда почти под прямым углом, но тогда семенная кожура утолщенная (высота клеток палисадного эпидермиса+гиподермы более 180 мкм), мелкозернистая. В верхнем ярусе растения с 6-11 симподиальными пучками, редко с 4, но тогда семенная кожура мелкозернистая. Междоузлия от длинных до коротких. Цветки от среднемелких (2 см

длины) до крупных (3,5 см). Семенная кожура разной толщины (80)-90-180-250 мкм.....4».

В первой ступени ключа мы видим количественные признаки, континуум которых разделен весьма условно; для некоторых из них для растений с признаками тезы рекомендовано следовать антитезе при наличии у них дополнительного качественного признака – толстой зернистой семенной оболочке (контролируется доминантным аллелем гена *Gty*), характерной для дикорастущих представителей вида *P. sativum*, относимых Р.Х. Макашевой (1979) к подвидам *P. sativum* subsp. *syriacum* Berger и *P. sativum* subsp. *elatus* (Bieb.) Schmalh., но объединяемых в один подвид *P. sativum* subsp. *elatus* Н. Макстедом и М. Амброузом (Maxted, Ambrose, 2001). Однако по нашим данным (Zaytseva et al., 2016) часть этих представителей также имеет тонкую небугорчатую семенную оболочку, что дезавуирует первую ступень ключа Р.Х. Макашевой.

В этом ключе подвид *P. sativum* subsp. *abyssinicum* соответствует тезе и находится ниже на ступени 2, где он противопоставляется другим подвидам (*ssp. asiaticum* Govofov и *ssp. transcaucasicum* Makash.) по признакам однопарности листочков в средней части растения, отсутствия антоциановой окраски у основания прилистников, прилистниками, зубчатыми на 2/3 края и блестящих семян. Однако первые два признака мы находим и у подвидов, отделяемых ступенью 1, которую мы не считаем адекватной (см. выше). Пожалуй, только последний признак абиссинского гороха – блестящая поверхность семян – в целом не свойственен *P. sativum* (другим подвидам *P. sativum* согласно системе Р.Х. Макашевой) и может быть назван диагностическим. Заметим, что у абиссинского гороха семена не вполне шаровидной формы, сплюснутые с боков и слегка вдавленные у корешочка, чаще всего сплошной черной окраски (фенотип U), но иногда фиолетово-крапчатые либо золотисто-серые (Макашева, 1979).

Несмотря на столь значительное сходство посевного и абиссинского гороха, скрещивания между ними в обоих направлениях приводят к гибридам первого поколения с крайне низкой фертильностью, то есть налицо сильнейшая репродуктивная изоляция (Говоров, 1930; Rosen, 1944; Дрозд, 1965; Соболев, Агаркова, 1975; Kosterin, Bogdanova, 2015). Причины этой изоляции принято считать цитогенетическими. Действительно цитогенетические причины могут объяснить высокую стерильность гибридов, поскольку

гетерозиготы по хромосомным перестройкам имеют проблемы с эуплоидным расхождением хромосом в мейозе, но они не могут объяснить низкую завязываемость семян гибридов F_1 при скрещивании посевного и абиссинского гороха (Kosterin, Bogdanova, 2015). Последняя должна объясняться какими-то проблемами с одновременной реализацией двух версий генетической программы развития, объединенных в гибридном эмбрионе, либо презиготическими факторами, препятствующими образованию зигот.

Цитогенетические различия абиссинского и посевного гороха также далеко не однозначны. Фон Розен (Rosen, 1944) обнаружил, что кариотип абиссинского гороха имеет по сравнению с кариотипом европейского культурного гороха реципрокную транслокацию и инверсию в одной из транслоцированных хромосом, а также предположил наличие других мелких перестроек, инверсий либо делеций, влияющих на длины хромосомных плеч. Saccardo (1971) также обнаружил у абиссинского гороха реципрокную транслокацию. Г. Лампрехт (Lamprecht, 1964) на основании генетического анализа пришел к выводу о наличии у абиссинского гороха двух независимых реципрокных транслокаций. Однако к этому сообщению следует подходить с осторожностью, поскольку Лампрехт исходил из генетической карты гороха, впервые составленной им самим, в которой блоки тесно сцепленных генов были в ряде случаев неправильно объединены в группы сцепления (см. главу 2). На основании измерения длин хромосомных плеч у гибридов абиссинского гороха с линией, имеющей стандартный кариотип посевного гороха и с линиями стандартного набора транслокаций Р. Ламма (Lamm, Miravalle, 1959), К. Коничелла и А. Эррико (Conicella, Errico, 1990) предположили, что обе исследованные ими линии *P. abyssinicum* скорее всего имели перичентрические инверсии в хромосоме 6, причем границы инверсий у двух линий не совпадали. У одной из линий, возможно, имелась также делеция в хромосоме 4 (длина которой была уменьшена), но не было реципрокных транслокаций. У другой линии имелась реципрокная транслокация между хромосомами 3 и 4, надежно установленная посредством наблюдения крестообразных структур в метафазе 1-го деления мейоза.

Налицо существенная изменчивость кариотипа абиссинского гороха, в том числе обнаруженная в одном и том же исследовании (Conicella, Errico, 1990), что исключает артефакты, связанные с разницей методов, применяемых разными исследователями. Для

нас важно, что одна из линий не имела транслокаций по сравнению со стандартным кариотипом *P. sativum* subsp. *sativum* и отличалась от него лишь инверсией и, возможно, делецией. Такие отличия не могут быть причиной сильного репродуктивного барьера с культурным горохом, поскольку среди гамет структурных гетерозигот летальными оказываются лишь немногочисленные кроссоверы в пределах инверсий. (Действительно, в анафазе мейоза потомстве гибридов между абиссинским и посевным горохом наблюдались хромосомные мосты (Соболев, Агаркова, 1975), которые указывали на наличие дицентрических фрагментов, возникающих у структурных гетерозигот вследствие кроссинговера в пределах инверсии). Таким образом, репродуктивные барьеры между посевным и абиссинским горохом, проявляющиеся в стерильности гибридов, хотя бы частично должны иметь не цитогенетическую, а какую-то иную природу.

Противоречие между морфологическим сходством и репродуктивной несовместимостью обусловили противоречивую таксономическую трактовку данного таксона. Он был описан (Braun, 1841) в ранге вида и в нем же принимался многими авторами (Говоров, 1937; Ellis et al., 1998; Maxted, Ambrose, 2001; Vershinin et al., 2003; Kosterin, Bogdanova, 2008; 2015; Maxted, Kell, 2009; Kosterin et al., 2010; Jing et al., 2010; Zaytseva et al., 2012; 2015), тогда как другие считают ее подвидом посевного гороха *P. sativum* subsp. *abyssinicum* (A. Br.) Berger (Berger, 1928; Макашева, 1979), либо «экотипом», то есть формой без определенного таксономического содержания (Lamprecht, 1963; Conicella, Errico, 1990). Однако в последнее время большинство авторов, как видим, все же склоняется к видовому рангу абиссинского гороха.

Абиссинский горох известен в культуре из Эфиопии и Йемена (Говоров, 1937; Макашева, 1979; Maxted, Ambrose, 2001). Следует оговорить, что в Эфиопии интенсивно культивируются разнообразные традиционные формы, большинство из которых относится к культурному подвиду посевного гороха, *P. sativum* subsp. *sativum* (Макашева, 1979), и лишь немногие представляют *P. abyssinicum*. Об этом, в частности, свидетельствует обширная коллекция местных форм гороха, собранная в Эфиопии Н.И. Вавиловым, хранящаяся в коллекции ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова и обследованная нами ранее (Berdnikov et al., 1993a). Это обстоятельство иногда приводит к недоразумениям, когда традиционные образцы из Эфиопии относят к

абиссинскому гороху на основании исключительно названия последнего, а не его признаков.

В Эфиопии абиссинский горох, известный под названием «декоко», в настоящее время выращивается почти исключительно на севере, в южной части провинции Тиграй и в бывшей провинции Вело (Волло), в весьма ограниченных масштабах в качестве культуры «холодного времени года» (разница в среднемесячных температурах в этих регионах не превышает 5°C), предназначенной для «фестивальной» традиционной пищи (Gebreslassie, Abraha, 2016).

В литературе, как старой, так и новой, содержатся голословные утверждения о существовании абиссинского гороха в диком состоянии. Однако ранние сообщения такого рода, по всей видимости, являются не более чем предположениями и недостаточно обоснованными экстраполяциями, а более поздние авторы повторяли их вслед за предшественниками. В своей классической обработке рода Горох для «Культурной флоры СССР» Л.И. Говоров (1937) дает противоречивую информацию об абиссинском горохе. На с. 232 этот автор с определенностью считает абиссинский горох культурным видом: «Необходимо признать в роде *Pisum*, помимо возделываемых видов *P. sativum* и *P. abyssinicum*, 4 диких вида: *P. formosum* (Stev.) Boiss., *P. fulvum* Sibth et Sm., *P. elatius* (MB.) Stev. и *P. humile* Boiss et Noë.» На ст. 243 он вскользь упоминает о его существовании в дикорастущем состоянии: «В горных районах Абиссинии, где имеется в диком виде и в культуре эндемичный вид *P. abyssinicum*, более широко распространены особые формы, которые должны быть отнесены к *P. sativum* ssp. *communae*.» На с. 244 обнаруживается, что существование абиссинского гороха в дикости – всего лишь предположение, сделанное в середине XIX в.: «А. Richards (1847) высказывал предположение, что *P. abyssinicum* является дикой формой Абиссинии. Е. Chiovenda (1912) считает, что формы гороха – одни из наиболее древних, вошедших в культуру, и только изредка встречаются в диком состоянии.» П.М. Жуковский передает информацию о распространении абиссинского гороха неопределенно: «растет в Йемене и Эфиопии в горах; культивируется местным населением» (Жуковский, 1964, стр. 332). Р.Х. Макашева (1979, стр. 69) сообщает, что он «известен в культуре, изредка встречается в диком виде в горах на высоте до 2000 м над у.м.» (Макашева, 1979). Судя по всему, никакой конкретной информации о нахождении *P.*

abyssinicum в дикой природе не было опубликовано ни в XIX, ни в XX веке, таким образом абиссинский горох в диком состоянии в историческое время по-видимому представляет собой разновидность научного мифа.

Казалось бы, указания на нахождение *P. abyssinicum* в диком виде появились недавно в обстоятельной работе Найджела Макстеда и Шелага Келла, которые в явной форме утверждают следующее: «Дикий *P. abyssinicum* собран всего в трех точках Эфиопии (в провинциях Тиграй, Вело и Арси)», с подстрочным примечанием «сборы культивируемого материала были сделаны и в других точках (в основном на рынках) Эфиопии» (перевод автора) (Maxted, Kell, 2009, p. 107). Заметим, что после 1995 г. провинций Вело (Волло) и Арси (Арсси) не существовало – первая была поделена между провинциями Тиграй и Амхара и Афар, вторая – включена в провинцию Оромия. В цитируемой работе на рис. 19 имеется карта (с границами провинций, существовавших до 1995 г.) где эти точки отмечены. В подписи к рисунку в качестве источника данных приведена ссылка на базу данных SINGER, доступ к которой был осуществлен через портал GBIF, <http://data.gbif.org/datasets/resource/1430> 18 августа 2008 г. Согласно личному сообщению Шелага Келла, данные о дикорастущем статусе абиссинского гороха в этих точках были получены именно из этой базы данных. Автор настоящего обзора ознакомился с источником и с изумлением обнаружил, что он не содержит никаких данных о диком состоянии указанных образцов абиссинского гороха. Данные точки принадлежат группе образцов коллекции ICARDA с диапазоном номеров ICARDA-51495 – ICARDA 51506, «полевыми номерами» (field numbers) 22770-22880 и точными координатами, несомненно, взятыми с помощью GPS-навигатора. Со всей очевидностью, они были собраны одной экспедицией, скорее всего достаточно недавно, однако сборщик и даты не указаны. Трём локалитетам, приведенным на карте (Maxted, Kell 2009: fig. 19) соответствуют четыре образца ICARDA-51495, ICARDA- 51496 (оба этикетированы «41 км Ю [г.] Назарет, по дороге на [г.] Асела» [провинция Оромия]), ICARDA-51497 (Бурахат, 41 км З [г.] Адиграт» [провинция Тиграй]), ICARDA-51500 («3 км С [г.] Корем» [провинция Тиграй]). (В квадратных скобках приведены пояснения автора.) От прочих образцов данного диапазона они отличаются лишь тем, что в их этикетках отсутствует слово «рынок» («market»), присутствующее в 7 из 8 других образцах из этой серии, и приведены не населенные

пункты, как во всех 8 других образцах, а точки на таком-то расстоянии от населенных пунктов. По-видимому, авторы (Maxted, Kell, 2009) пользовались всего лишь следующей «логикой»: если образец был получен на рынке, то он культивируемый, а если не на рынке и вне населенного пункта, то он дикий, отвлекаясь при этом от того очевидного обстоятельства, что культуры растут не на рынках и не в населенных пунктах, а на полях вне их! (Заметим, что, по наблюдениям автора, Эфиопское нагорье почти полностью освоено в сельскохозяйственном отношении, так что поля покрывают большую часть его площади). Мы видим, что научный миф о существовании дикорастущего абиссинского гороха столь живуч, что заставляет даже маститых авторов совершать столь нелепые ошибки по его поддержанию.

Отсутствие хоть сколько-нибудь заслуживающей доверия информации об абиссинском горохе в дикорастущем состоянии не снимает, а лишь заостряет вопрос о его происхождении. На эту тему Л.И. Говоров (1937: 240) замечает: «Более детальное изучение материала по Юго-Западной Аравии дает больше оснований считать эти формы за особый самостоятельный вид *P. abyssinivum*, эндемичный для Йемена и заносный для Абиссинии.» С этим предположением трудно не согласиться. Род *Pisum*, как и вся триба *Fabeae* – средиземноморского происхождения, Эфиопское нагорье относится к африканскому подцарству палеотропического флористического царства (Тахтаджян, 1978), куда проникают лишь немногие представители трибы (Schaefer et al., 2012). По личным наблюдениям автора в августе 2012 г., в целом представители трибы *Fabea* на Эфиопском нагорье практически не представлены (за две недели полевых исследований встречен единственный представитель). В то же время Аравия имеет флору, переходную от эфиопской к средиземноморской и могла быть родиной особого вида гороха. Исключительная скороспелость абиссинского гороха говорит о его происхождении из районов с очень коротким периодом, благоприятным для вегетации. Это как раз могла быть засушливая Аравия, но также и находящаяся на противоположном берегу Красного Моря низменность Афар (Данакиль).

Однако Л.И. Говоров (1937: 240) выдвигает относительно происхождения абиссинского гороха и предположения, кажущиеся гораздо менее обоснованными. Он предполагает, что *P. abyssinicum*, как и *P. humile*, произошли вследствие гибридизации *P.*

elatus и *P. fulvum*, независимой либо даже однократной: «Не исключена возможность ... что один начальный гибридный комплекс синтезировался от этих двух видов в зоне их настоящего ареала, включающего Малую Азию, Закавказье, Иран и Сирию с Палестиной. Из этого комплекса несомненно возник ... дикий вид *P. humile*. От этого же скрещивания произошел эндемичный вид в горных районах Юго-западной Аравии *P. abyssinicum*, распространившийся затем в горной Абиссинии». Далее Говоров отмечает: «По морфологическим признакам он <*P. abyssinicum*> ближе стоит к *P. fulvum*; рекордная скороспелость также приближает его к эфемеру *P. fulvum* <*P. fulvum* – не эфемер! О.К.>. Несомненно, в синтезе *P. abyssinicum* принимал участие *P. fulvum*. Под влиянием последовавших затем мутирования и скрещивания *P. abyssinicum* с *P. elatus* или с производными ssp. *asiaticum*, с формами из Египта (*proles aegypticum*) произошло разнообразие других культурных форм, широко распространенных в горных районах Абиссинии. ... Влияние *P. abyssinicum* сказывается на формообразовании гороха Центральной Индии. Здесь синтез шел в основном под влиянием азиатских форм (ssp. *asiaticum*), но пильчатость листочков, сильно выраженная антоциановая окраска растений на первых фазах роста, а также скороспелость дают основание предполагать о влиянии аравийского эндема на горох Индии» (Говоров, 1937, стр. 247).

Все эти смелые предположения были сделаны вследствие придания филогенетического смысла таким признакам, как скороспелость, зубчатость, антоциановая пигментация. В отсутствие более надежных филогенетических маркеров это можно понять. Кроме того, Л.И. Говоров исходит из неявного допущения, что каждый из этих признаков мог возникнуть в эволюции лишь единожды и его наличие в фенотипе указывает на то, что первоначальный его носитель находился в числе предков; то есть гомоплазия – независимое возникновение одного и того же признака вследствие независимых мутаций в тех же самых или иных генов – полностью исключается. Однако нам представляется несомненным, что все подобные признаки весьма изменчивы, зависят от многих генов, адаптивно нагружены (возможно, за исключением зубчатости) и, как следствие, в ходе эволюции способны легко и многократно изменяться в любом направлении и тем самым совсем не подходят для реконструкции филогенетических отношений.

Современные молекулярные реконструкции филогении рода *Pisum* свидетельствуют о том, что все исследованные образцы *P. abyssinicum* весьма близки друг к другу генетически (в полном соответствии с внешними признаками) и представляет собой небольшую компактную ветвь внутри (!) дерева *P. sativum* s.l. (Ellis et al., 1998; Vershinin et al., 2003; Zaytseva et al., 2012; 2015). Генетическая однородность таксона, по-видимому, свидетельствует о сильном эффекте «бутылочного горлышка» в его предыстории, возможно, связанного с гибридизационным событием (Vershinin et al., 2003). С этой генетической однородностью контрастирует упоминавшаяся выше большая цитогенетическая гетерогенность этого таксона (Lamprecht, 1964; Conicella, Errico, 1990); причины такого противоречия не ясны. Время дивергенции образцов *P. abyssinicum* друг от друга оценено как 4 000 лет назад, что Ellis et al. (1998) резонно посчитали временем доместикиации *P. abyssinicum*, произошедшей независимо от *P. sativum* subsp. *sativum*, дивергенция которого началась 10 000 лет назад с момента его одомашнивания. Оценка времени дивергенции абиссинского гороха приблизительно совпадает с проникновением навыков земледелия в Эфиопию - заметим, что это соответствует началу периода Среднего Царства в Древнем Египте. Однако время дивергенции самой ветви *P. abyssinicum* от прочих представителей рода *Pisum* сопоставимо с таковым для ветви *P. sativum* subsp. *sativum* (Ellis et al., 1998). Следовательно, абиссинский горох дивергировал от культурного подвида посевного гороха раньше, чем был одомашнен. Заметим, однако, что речь идет о независимой доместикиации двух разных таксонов гороха, а не о независимом возникновении практики культивирования гороха и самой идеи земледелия. Абиссинский горох весьма похож на посевной внешне, опознается в качестве гороха без сомнений и мог быть привлечен в культуру случайно, изначально присутствуя в посевах *P. sativum* subsp. *sativum* в качестве примеси, или заменить его при дефиците посевного материала. Каких-либо объективных данных о первоначальном источнике привлекаемого в культуру *P. abyssinicum* не имеется.

В то же время А.В. Вершинин с соавт. (Vershinin et al., 2003) обнаружили у *P. abyssinicum* совпадение значительной доли аллелей молекулярных маркеров с таковыми у *P. fulvum*. Более поздняя работа той же группы (Jing et al., 2010), предпринявшая кластеризацию генетического разнообразия рода в отношении RFLP-маркеров

(полиморфизм по инсерции ретротранспозонов), подтвердила тот же вывод: подгруппа 3.1, образованная *P. abyssinicum*, оказалась равноудаленной от подгрупп 3.2 (“*P. elatius*”) и 3.4 (*P. fulvum*), что отражает факт наличия у абиссинского гороха сопоставимого количества аллелей, общих с каждым из этих двух таксонов.

Эти результаты вдохнули новую жизнь в казавшуюся голословной гипотезу Л.И. Говорова (1937) о возможной гибридной природе абиссинского гороха. Поскольку ни *P. sativum* subsp. *elatius*, ни *P. fulvum* не встречаются в ареале абиссинского гороха, Jing et al. (2010) предположили, что гибридизация между ними имела место в западной части Плодородного полумесяца (Южная Турция, Сирия, Ливан, Израиль, Иордания), после чего гибридная форма, представленная очень небольшой первоначальной популяцией, была взята в культуру и привнесена в Северо-Восточную Африку, где и превратилась в известный нам *P. abyssinicum*. Данное предположение представляется весьма правдоподобным. К нему можно добавить лишь следующее:

- 1) Такой гибрид мог привлечь внимание древнего земледельца именно своей исключительной скороспелостью, позволявшей получить урожай в аридных условиях.
- 2) Обсуждаемая гипотеза предполагает, что *P. abyssinicum* никогда не существовал в дикорастущем состоянии.
- 3) В то же время нет оснований полагать, что первоначальная гибридизация происходила именно в дикорастущем состоянии, а не в культуре, то есть дикого абиссинского гороха могло не существовать в принципе. Древний земледelec, уже имевший идею и навыки возделывания гороха, приобретенные вследствие изначальной доместики гороха с образованием *P. sativum* subsp. *sativum*, мог вовлекать в культуру, наряду с ним или вместо него, и какие-то местные формы *P. s.* subsp. *elatius*, в особенности при недостатке семенного материала культурного гороха в случае неурожая. Такое вовлечение могло происходить вследствие засорения посевов посевного гороха дикими формами. Также в культуру могли быть подхвачены генотипы, возникавшие вследствие спонтанной гибридизации, с одновременным отбором среди сегрегирующих гибридов носителей доместикационного синдрома, прежде всего – нераскрываемости бобов, но также таких входящих в него признаков, как отсутствие периода покоя семян и гладкая оболочка семян. При распространении земледелия за пределы Плодородного полумесяца в

менее благоприятные для него условия, некоторые из таких новых генотипов могли получать преимущество. Например, в аридных условиях Аравии преимущество должны были получать ультраскороспелые формы. Возможно, они и возникли в культуре вследствие спонтанной гибридизации *P. sativum* subsp. *sativum* и/или *P. sativum* subsp. *elatus* с *P. fulvum* и последующей сегрегации, дав начало абиссинскому гороху (подобно тому как мягкая пшеница возникла вследствие гибридизационного события в культуре тетраплоидной пшеницы).

Гибридная природа абиссинского гороха может превратиться в установленный факт либо отвергнута на основании полногеномных исследований, которые пока не проводились.

Джинг с соавт. (Jing et al., 2010) сообщают, что проведенный ими кластерный анализ, также указывает на образцы *P. sativum* subsp. *elatus*, которые представляются наиболее близкими к предполагаемому родоначальнику абиссинского гороха. К сожалению, сопроводительный файл к их статье, содержащий информацию об исследованных образцах, на сайте журнала недоступен, поэтому данную информацию следует считать неопубликованной.

В связи с гибридной теорией возникновения абиссинского гороха следует, однако, отметить, что у всех четырех образцов *P. abyssinicum*, вовлеченных в наш анализ двух паралогичных генов гистона H1 (Zaytseva et al., 2012; 2015), в каждом из паралогов был выявлен идентичный уникальный аллель, не обнаруженный за пределами данного таксона, то есть оказавшийся для него специфичным. Также у трех проанализированных образцов *P. abyssinicum* была найдена уникальная замена в пластидном спейсере *psbA-trnH* (Zaytseva et al., 2012; 2016). Таким образом, эволюционная ветвь *P. abyssinicum* уже после своего возникновения, каким бы оно ни было, успела зафиксировать и уникальные (синапоморфные) аллели в некоторых локусах.

В связи с абиссинским горохом мы вновь сталкиваемся с противоречием биологической и филогенетической концепции вида. Положение ветви *P. abyssinicum* гороха среди ветвей внутри *P. sativum* делает последний вид парафилетичным, тем самым наделение первого видовым рангом противоречит строго филогенетической (кладистической) классификации. Однако сильнейшая репродуктивная изоляция как

минимум от некоторых форм посевного гороха (Kosterin, Bogdanova, 2015; неопубликованные данные) позволяет считать его видом на основании Майеровой биологической концепции вида (Майр, 1968), что уже обсуждалось в наших работах (Kosterin, Bogdanova, 2008; 2015; Zaytseva et al., 2012).

1.2.2.8. Статус гороха Йомарда (*Pisum jomardii* Schrank)»

Точный перевод названия *Pisum jomardii* Schrank на русский язык – «горох Йомардиуса», поскольку латинское окончание родительного падежа *-ii* соответствует окончанию *-ius* в именительном падеже, то есть данное название образовано от предварительно латинизированной фамилии *Jomardius*. Мы, однако, вслед за Р.Х. Макашевой (1979) будем применять название «горох Йомарда».

Под названием *P. jomardii* были описаны (Schrank, 1818) местные культурные формы из Египта, отличающиеся довольно характерным комплексом внешних признаков: мелкие цветки с узким грязно-фиолетовым парусом и узкими грязно-пурпурными крыльями, цельнокрайними листочками и оливково-зелеными семенами без рисунка (Макашева, 1979).

Более поздние авторы принимали обсуждаемый таксон, сохраняя его название, в более низких рангах: разновидности (Alefeld, 1866; Говоров, 1937; Макашева, 1979) либо подвида (Hedrick et al., 1928; Kosterin, Bogdanova, 2008). Говоров (1937) отнес его к признаваемому им азиатскому подвиду в качестве *Pisum sativum* subsp. *asiaticum* prol. *aegypticum* var. *jomardii* (Schrank) Govorov, а Макашева (1979) – к персидской группе разновидностей того же подвида, как *P. sativum* subsp. *asiaticum* convar *persicum* Govorov var. *jomardii* (Schrank) Alefeld. Однако Герберт Лампрехт (Lamprecht, 1956b) на основании фертильности реципрокных скрещиваний, предполагающих идентичный кариотип, и отсутствия в них отклонений в расщеплении маркеров, объявил *P. jomardii* синонимом «*P. arvense*». Учитывая вышесказанное относительно последнего «вида», это означает синонимию *P. jomardii* и *P. sativum*. (В той же работе Лампрехт пришел к такому же выводу относительно «*P. elatius*», однако последний был представлен в его опытах единственной линией WL805 из Анатолии, действительно очень близкой к культурному

подвиду (см. ниже) и никоим образом не представляющей огромное генетическое разнообразие дикорастущего подвида.

Горох Йомарда, возможно, не стоил бы отдельного упоминания здесь, если бы «проблема гороха Йомарда» не была создана нами путем признания его ранее в подвиговом ранге (Kosterin, Bogdanova, 2008), как «*Pisum sativum* L. subsp. *jomarii* (Schrank) Kosterin stat. n. Такое авторство комбинации связано с нашим заблуждением, что это название ранее не применялось в подвиговом ранге, между тем как в этом ранге его использовали ранее А.П. Хедрик (Hedrick, 1928), как “*Pisum sativum jomardii*”. К данному подвиду мы отнесли имеющиеся у нас образцы VIR3424, VIR2429 и VIR2439, а также сомнительный образец VIR3171 с такими же признаками, происходящий из «Мадридского ботанического сада».

Причина признания за одной из столь многих и разнообразных традиционных местных форм гороха столь высокого статуса состояла в том, что она несла плезиоморфный, электрофоретически более подвижный аллельный вариант альбумина семян SCA, встречающийся у части представителей дикорастущего подвида *P. sativum* subsp. *elatius* и у всех исследованных представителей *P. fulvum* и *P. abyssinicum*, но не найденный у *P. sativum* subsp. *sativum* (за двумя исключениями, по всей видимости связанными с загрязнением материала) (Kosterin, Bogdanova, 2008). Мы предполагали, что данный таксон, представляет собой «промежуточное звено» между дикорастущим (*P. sativum* subsp. *elatius*) и культурным (*P. sativum* subsp. *sativum*) подвидами, независимо одомашненную в Египте. Последовательно придерживаясь признания признака «дикий-культурный» в качестве таксономического и установки признавать у гороха парафилетические таксоны, принятыми и в системе Макстеда и Амброуза (Maxted, Ambrose, 2001), мы наделили подвиговым рангом и горох Йомарда (Kosterin, Bogdanova, 2008).

В дальнейшем в ходе гибридологического анализа мы выяснили, что представляющий горох Йомарда образец VIR3439 полностью репродуктивно совместим с культурным горохом в обоих направлениях (Bogdanova et al., 2014), а его пластидный геном имеет делецию в спейсере *psbA-trnH*, характерную именно для культурного подвида (Zaytseva et al., 2012). Последнее обстоятельство практически исключает независимую от

ближневосточного (курдского) очага доместикиацию гороха Йомарда в Египте, которая предполагала бы широкую распространенность данной делеции среди дикорастущего гороха Восточного Средиземноморья, которая не имеет места (Zaytseva et al., 2016). Более вероятной выглядит вторичная интрогрессия плезиоморфного аллеля SCA в местный культивируемый горох за счет спонтанного скрещивания с дикой формой при ее становлении (событие заведомо очень редкое, но все же возможное). Таким образом, в настоящее время мы, вслед за Г. Лампрехтом (Lamprecht, 1856b), считаем наделение «гороха Йомарда» подвидовым рангом ошибочным. Целесообразно вернуться к его трактовке в качестве разновидности (хотя рассмотрение таксономических рангов ниже подвидового не слишком продуктивно).

1.2.2.9. Статус закавказского гороха

Подвид *P. sativum* subsp. *transcaucasicum* Govorov nom. illeg., включающий девять групп разновидностей (proles) был предложен Л.И. Говоровым (1937, стр. 242) в первом издании «Культурной Флоры СССР», в следующей формулировке «Эндемичные формы Закавказья мы выделяем в новый подвид ssp. *transcaucasicum* и относим к виду культурных форм *P. sativum*». Говоров (1937, стр. 283) приводит следующий его диагноз: «Резко отличается от других подвидов продолговатыми, острыми, всегда цельнокрайними листочками. Викообразный габитус всего растения. Цветы средне-крупные. Крылья обычно темно-фиолетовые. Лодочки всегда более или менее интенсивно окрашена антоцианом. Стебли не ветвящиеся или слабо-ветвящиеся у основания, средне высокие. Бобы узкие от мелких до средних, всегда с пергаментным слоем. Семена мелкие, обычно угловатой формы, пигментированные.» Также приводится следующее географическое распространение «Центральное Закавказье, Сев. Кавказ и юго-восток Европейской части Союза». Говоров приводит семь разновидностей (variatio) этого подвида. Информация о происхождении типов не приводится, но названия большинства разновидностей и их групп образованы от географических названий, среди которых находим следующие: Бакуриани, Ахалкалаки, Джавахетия, Волга, Саратов, первые три из которых относятся к территории Грузии, а два последних – к территории России.

Описание подвида и групп разновидностей было дано только на русском языке, что противоречило правилам ботанической номенклатуры и делало соответствующие названия незаконными. Ситуация была исправлена Р.Х. Макашевой (1979), которая повторила описания Говорова на латинском языке, несколько их дополнив, в частности сравнительными диагнозами и информацией о типах, и изменив систему разновидностей: в ее трактовке подвид имеет пять разновидностей, две из которых разделены на две, а одна – на три подразновидности (*subvariatio*). Тем самым именно Р.Х. Макашева является автором данных таксонов как действительно обнародованных. В частности, она (Макашева, 1979, стр. 71) впервые привела сравнительный диагноз подвида: «От близкого подвида *subsp. asiaticum* Govofov отличается 3-4 парными узкими листочками (длина превышает ширину примерно в 2-2,5 раза)». Информация о типах разновидностей и подразновидностей (таковая для номинативной *var. transcaucasicum* отсутствует) дает нам представление о географическом происхождении материала закавказского подвида, имевшегося в руках Р.Х. Макашевой. Поразительно, но при восьми выделяемых таксонах географических пунктов их происхождения всего два – «близ Бакуриани и села Митраба» (*locus classicus* трех разновидностей и еще четырех подразновидностей) и «Саратовская область, в посевах вики»! Таким образом, таксономическому оформлению подвергся полиморфизм, наблюдавшийся всего в двух популяциях.

П.М. Жуковский (1964, стр. 333) добавил подвид *P. sativum subsp. transcaucasicum* Govofov во второе издание своего труда «Культурные растения и их сородичи» со следующей характеристикой: «Мелкосемянные, окрашенные антоцианом формы в луговых травостоях субальпийской зоны Закавказья». В ней можно усмотреть указание на произрастание в дикости, что никак не соответствует как более раннему мнению автора таксона, Л.И. Говорова (1937) отнесшего его «к виду культурных форм», так и более позднему мнению Р.Х. Макашевой (1979, стр. 71): «Формы, возделываемые на корм в Центральном Закавказье и на Северном Кавказе, сорно-полевые формы в посевах вики и чечевицы (до 30х годов) на юго-востоке европейской части СССР». Более детальная и свежая информация о характере возделывания/произрастания данных форм в Закавказье отсутствует.

Другой фенотипической особенностью закавказского подвида является присутствие у него редкого аллельного электрофоретического варианта 2 субтипа 6 гистона H1 (Бердников и др., 1989; Berdnikov et al., 1993a; Kosterin et al., 1994), связанного с заменой остатка пролина на остаток гистидина в С-терминальном домене белка (Kosterin et al. 2012). Заметим, что тот же вариант имеет и образец VIR1851 из Грузии (Тбилиси, ботанический сад), относящийся к дикому подвиду *P. sativum* subsp. *elatius*, обладающего ключевыми признаками дикого гороха – раскрываемостью бобов и бугорчатой семенной оболочкой, но с «нормальным», отнюдь не викообразным габитусом закавказского гороха (Berdnikov et al., 1993a). Второй имеющийся у нас образец из Грузии, VIR2998 (получен из ботанического сада Риги), также с раскрывающимися бобами, бугорчатой оболочкой семян и нормальным габитусом, имеет обычный вариант 1 субтипа 6 гистона H1, широко распространенный как у культурного, так и у дикого гороха. Оба этих образца относятся к эволюционной линии В, родственной культурному подвиду (Kosterin, Bogdanova, 2008).

Такой свойственный закавказскому гороху признак, как три пары цельнокрайних листочков, мы находим и у образца *P. sativum* subsp. *elatius*, WG26109, также из Грузии (Квемо-Картли, Триалетский хр., 7 км С. Партсклиси), относящемуся к эволюционной линии А, не родственной культурному подвиду (Zaytseva et al., 2016). Однако у этого образца листочки имеют другую – обратнаяцевидную – форму, они мягкие несколько свернуты внутрь, тогда как у закавказского гороха они удлиненно-ромбовидные, приостренные, плоские и очень жесткие. Возможно, Жуковский (1964) писал именно о подобных растениях как о «произрастающих в субальпийской зоне Закавказья». Любопытно, что на филогенетическом дереве, реконструированном Эллисом с соавторами (Ellis et al. 1998) четыре образца *P. sativum* subsp. *transcausicum* образовали отчетливый кластер, ответвляющийся рядом с кластером '*P. elatius*'.

Эти факты свидетельствуют в пользу того, что в Грузии имела место генетическая интрогрессия между неродственными друг другу диким и культурным горохом, однако направление интрогрессии и возможность участия тех или иных диких форм в формировании закавказского подвида остаются неясными.

Главная проблема таксономического статуса закавказского гороха состоит в том, следует ли придавать ранг подвида некоей культурной форме гороха, эндемичной для

небольшого региона и имеющей яркие отличительные признаки. Если бы речь шла о диком растении, ответ на данный вопрос был бы сугубо положительным, а возможно, такая форма была бы наделена и видовым рангом. Однако речь идет о традиционной местной культурной форме, ареал которой будет с неизбежностью сокращаться, а границы – размываться вследствие замещения традиционного земледелия более продвинутым: агротехнически более совершенным, частного сельского хозяйства - коммерческим, ориентированным на современные широкораспространенные сорта, а также в связи с доступностью разнообразного семенного материала.

Ранее мы признавали подвид *P. sativum* subsp. *transcaucasicum* (Бердников и др., 1989; Berdnikov et al., 1993a; Kosterin, Bogdanova, 2008), затем уклончиво называли его «подвидом сомнительной валидности» (Zaytseva et al., 2012; 2015). До проведения собственных гибридологических исследований, вовлекающих типичных представителей культурного гороха, представителей закавказского гороха и линии WG26109 мы воздерживаемся от окончательного решения по данному вопросу.

1.2.2.10. Статус азиатского гороха

Выделение в качестве таксономической единицы азиатского гороха в полной мере сталкивается с вышеупомянутой проблемой происходящего на наших глазах «растворения» и исчезновения выделяемой совокупности местных культивируемых форм, являющихся продуктом длительного примитивного традиционного земледелия. Однако дополнительной и еще более серьезной проблемой на пути признания азиатского гороха в качестве таксономической сущности является крайняя размытость его диагностических признаков. Это неудивительно для подвида, в который были объединены примитивные культурные формы гороха, возделываемые, согласно автору подвида, Л.И. Говорову (1937), на столь огромном ареале как «Передняя, Юго-Западная и Центральная Азия и горные районы Северной Африки». Разнообразие признаков данного подвида нашло отражение в числе выделенных в нем таксономом более низкого ранга: 19 разновидностей в работе Л.И. Говорова (1929), в которой подвид описан, 34 разновидности в его же более поздней работе (Говоров, 1937) и 39 разновидностей и подразновидностей (учтены монотипические

разновидности и все разновидности, включая номинальную, у политипических разновидностей) у Р.Х. Макашевой (1979).

В протологе подвида Л.И. Говоров (1929: 32) привел следующие диагностические признаки: «1) наличие своеобразного грязно-розового или кремового оттенка на парусе цветка, обуславливаемого присутствием помимо антоциана особого пигмента из группы флавоноидов, 2) преобладание сочетаний признаков, которые редко встречаются у других подвигов и, наконец 3) особый ареал его распространения, а именно Юго-Западная, Центральная и Восточная Азия, кроме бореальной ее части», далее идет описание о 15 строчках и подробное, на полутора страницах, описание изменчивости. (Заметим, что описания всех таксонов приведены также и на латинском языке.) Нетрудно видеть, что по сути приведен всего один диагностический признак – окраска паруса, так как остальные признаки признаны встречающимися за пределами подвида из второго пункта не конкретизированы, а географическое распространение вообще не является признаком.

Диагноз подвида в позднейшей работе Л.И. Говорова (1937) также весьма размыт: «Цветы мелкие (0,9-1,5 см) обычно с флавоноидным пигментом. Парус узкий, крылья продолговатые до яйцевидных, узкие. Зубцы чашечки короче или равны по длине трубке. Листочки мелкие до средних, яйцевидные, пальчатые или зубчатые. Прилистники зубчатые по всему краю, реже до 2/3-1/3. Стебли ветвящиеся у основания, средние по высоте, редко высокие. Цветоносы обычно короче прилистников, иногда его превышают, об 1, реже о 2 цветках. Бобы мелкие, реже средне-крупные, всегда с пергаментным слоем. Семена мелкие, реже средне-крупные, обычно пигментированные.» Говоров не приводит определительный ключ для подвигов, однако этот недостаток восполнен Р.Х. Макашевой (1979), в ключе которой азиатских горох группируется с подвидами *transcausicum* и *abyssinicum* и противопоставляется подвидам *sativum*, *elatus* и *syriacum* по следующему набору признаков: стебель тонкий против средней толщины либо толстого, ветвящийся от основания против неветвящийся или слабо ветвящийся, ориентации ветвей – почти горизонтально под острым (но иногда почти под прямым) углом, количеству симподиальных пучков «в верхней части растения» - 4 против 6-11 (но иногда тоже 4). Все это – ненадежные, крайне изменчивые количественные признаки. Приведенная

информация с очевидностью свидетельствует, что для выделения азиатского подвида не существовало никаких объективных оснований.

Причины выделения Л.И. Говоровым азиатского подвида культурного гороха связаны исключительно с особенностями его упоминавшихся выше теоретических представлений об эволюции гороха, в частности в культуре, которые он сформулировал следующим образом: «Трудно предполагать, что один какой-либо вид мог заключить в своей генотипической основе все возникшее затем разнообразие культурных форм от западноевропейских влаголюбивых до азиатских засухоустойчивых форм, от теплолюбивых до переносящих температуры в -10°C (а иногда и ниже), от нейтральных к длине дня до требующих продолжительного света...» (Говоров, 1937, стр. 240). Сегодня мы знаем, что исходное генетическое разнообразие дикорастущих форм *P. sativum* оказалось гораздо большим, чем полагал Говоров (впрочем, он вряд ли согласился бы рассматривать их всех в составе одного вида). Говоров полагал, что «В результате мутирования и повторных скрещиваний видов *P. fulvum* и *P. elatius* с их двумя произвольными видами – *P. humile* и *P. abyssinicum* – или от начального скрещивания только первых двух видов пошло расщепление и мутирование гибридного комплекса, подхваченного в различных древних очагах человеческой культуры и положившего начало возникновению нового разнообразия культурных форм...» (Говоров, 1937, стр. 240). Таким образом Говоров, без достаточных объективных оснований, предполагал в естественной истории культурного гороха, во-первых, множественную межвидовую гибридизацию, во-вторых – множественную независимую domestикацию.

Аргументы в пользу выделения азиатского подвида Л.И. Говоров формулирует следующим образом: «В Юго-западной Азии, в одном из первичных древних очагов ... по формообразованию ряда культур, сконцентрировалось разнообразие культурных форм гороха описанных нами ... и отнесенных к ssp. *asiaticum* вида *P. sativum* s. a. При более подробном изучении форм этого подвида с применением комплекса методов физиологии, анатомии и генетики удалось вскрыть гибридное происхождение их от скрещивания вида *P. elatius* и *P. fulvum*» (Говоров, 1937, стр. 240). Следует заметить, что упомянутые в последней фразе данные не опубликованы, а сам вывод об участии генофонда *P. fulvum* в

формировании форм, относимых к subsp. *asiaticum* - не подтвержден современными исследованиями.

Л.И. Говоров (1937, стр. 242) полагал, что подвид, включающий средиземноморские и европейские культурные формы, который он называл *P. sativum* subsp. *commune* (в нашем понимании *P. sativum* subsp. *sativum*) произошел «по мере удаления от двух ... древних очагов культурного гороха – от азиатского и закавказского – на запад в Средиземье» посредством постепенной утраты комплекса «таких доминантных признаков гороха как мелкие размеры цветка, флавоновая его окраска, бурая мраморность семян, нередко сочетающаяся с фиолетовой кранчатостью и черным рубчиком, резко выраженная пильчатость по краям листочков». Таким образом, Говоров фактически объединяет все без исключения «примитивные» культурные формы гороха в подвид *asiaticum*, а «продвинутые», то есть подвергшиеся систематической селекции формы – в подвид «*commune*». Такой взгляд согласуется с его (Говоров, 1928) ошибочным предположением о том, что культура гороха возникла в Афганистане, в связи с выявлением наибольшего разнообразия культурного гороха именно в этом регионе. В действительности же горох в составе культур-основателей, был domestцирован в «плодородном полумесяце» (Zohary and Hopf, 2000; Weiss and Zohary, 2011), то есть в «Средиземье» по терминологии Говорова. Больше же генетическое разнообразие культурного гороха в Афганистане по сравнению с Передней Азией связано частично с сохранением его в условиях примитивного земледелия в Афганистане при частичной утрате в ходе более длительного и «продвинутого» земледелия в Передней Азии, а частично могло возникнуть *de novo* уже в культуре. Заметим, что повсеместно горный рельеф Афганистана способствует изоляции локальных популяций (в том числе и культурных растений) и, как следствие, формообразованию.

Вышесказанного достаточно, чтобы воздержаться от признания подвида *P. sativum* subsp. *asiaticum*, который не имеет ни надежных отличительных признаков, ни четко очерченного ареала и выделяющийся исключительно как широчайший набор «примитивных» (то есть не подвергавшихся сознательной селекции) культурных форм, с точностью до представлений авторов о том, что есть примитивное.

1.2.3. Ареал дикорастущих представителей рода *Pisum*

Успех филогеографического исследования определяется наличием и правильным подбором репрезентативного материала со всего географического ареала исследуемого объекта, поэтому вопрос о границах этого ареала имеет важное значение. В случае дикого гороха он также важен для возможно более полного использования потенциала его генетического разнообразия. К сожалению, большинство современных генетиков и селекционеров имеют весьма туманные представления о природном ареале гороха.

Естественный ареал рода Горох (*Pisum* L.) охватывает огромную территорию Средиземноморья и Передней Азии. Последняя, вместе с горами Средней Азии в географическом смысле, принято в русской и советской науке, относится к так называемому Древнему Средиземноморью – горной области, возникшую в восточной части древнего Средиземного моря, остатками которого являются Черное, Азовское и Каспийское моря. Как мы выяснили выше, в природе заведомо существуют два вида гороха – *P. sativum* s.l. и *P. fulvum*, так что естественный ареал рода *Pisum* сводится к ареалу этих двух видов. Относительно обоих этих ареалов имеется известная неопределенность, связанная как с недостаточной изученностью вопроса, так и с существенным антропогенным изменением как самих территорий, охватываемых ареалами и в то же время имеющих наиболее древнюю историю сельскохозяйственной эксплуатации, так и глобального климата.

Ареал *P. fulvum* невелик. Согласно Л.И. Говорову (1937: 250) это «Малая Азия, Сирия, Палестина, Аравия». На рисунке 99 в указанной работе ареал *P. fulvum* захватывает целиком Турцию и Кипр, северную половину Аравийского полуострова; восточная граница показана вдоль р. Тигр. П.М. Жуковский (1950: 258) идет дальше и утверждает, что «*P. fulvum* приспособился к обитанию в очень сухом субтропическом климате Восточного Средиземноморья и даже плоскостного Йемена». Р.Х. Макашева (1979: 51) дублирует сведения по ареалу из сводки Говорова, лишь заменяя название «Палестина», ставшее к тому времени политически неоднозначным, его расшифровкой: «Малая Азия, Сирия, область в Западной Азии между Средиземным морем на западе, Мертвым морем и р. Иордан на востоке, Аравия». Скорее всего, это неоправданно расширенная трактовка

ареала, который в действительности гораздо уже. Согласно Н. Бен-Зеев и Д. Зохари, ареал этого вида ограничен Израилем, Иорданией, Ливаном, Западной Сирией и Южной Турцией; Аравия не упоминается (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973).

Нет никакого сомнения в присутствии, широком распространении и обилии *P. fulvum* в Израиле/Палестине и Сирии. Так, обширная коллекция из 82 образцов этого вида, имеющаяся в коллекции Центра Джона Иннеса, включает таковые только из Израиля - 22 образца, Сирии – 44 образца (остальные образцы географической привязки не имеют). В то же время нам известно только два указания на конкретные местообитания этого вида в Турции, упомянутые в сводке П.Х. Дэвиса (Davis, 1970), для илов Мугла [Muğla] (Мармарис) в юго-западной Анатолии и Сиирт (Дахараколь к западу от Чата [Çat]) в юго-восточной Турции. Показательно, что *P. fulvum* не был собран Ф.С. Мюльбауэром с коллегами в ходе двух их экспедиций в Турцию с непосредственной целью сбора генетического материала дикого гороха в 1985 и 1989 гг. (Muehlbauer et al., 1990).

Указания же *P. fulvum* для Аравии вызывают сомнения. Никаких конкретных данных по присутствию данного вида в Аравии цитированные выше авторы не приводят. Список литературы по систематике, географии и происхождению гороха в работе Говорова (1937) не содержит источников, которые касались бы флоры Аравии. К сожалению, в современном издании “Flora of the Arabic Peninsula and Soqatra”, начатом в 1996 г., к настоящему моменту вышли только том 1 и первая часть тома 2, которые не охватывают семейство бобовых, поэтому по флоре Аравии в целом в нашем распоряжении имеется только “Flora arabica” Этельберта Блэттера, изданная в 1921 г. (Blatter, 1921). В этом издании *P. fulvum* приводится (по гербарии) лишь для одного пункта – Wells of Moses (Источники Моисея) – оазис Аюн Муса в западной части Синайского п-ова, который к Аравийскому п-ову не относится. Но как минимум, из этого указания вытекает, что *P. fulvum* встречается и на территории Египта.

В коллекции ICARDA имеется образец IG119794 несомненно *P. fulvum*, этикетированный как “Spain, Andalucia”, что, несомненно, является результатом путаницы географических данных, в целом характерной для этой в остальном в высшей степени полезной коллекции – по биогеографическим причинам *P. fulvum* не может встречаться на

Пиренейском полуострове, отдаленный же занос необильного переднеазиатского вида с ограниченным ареалом маловероятен.

Вторым видом гороха, существующим в диком состоянии, является *P. sativum*, представленный в природе подвидом *P. sativum* subsp. *elatius* s.l. в принятой в нашей работе трактовке Макстеда и Амброуза (Maxsted, Ambrose, 2001). Этот подвид включает в ранге вариации таксон *P. sativum* subsp. *elatius* var. *pumilio*, ранее обозначавшийся в зависимости от ранга как *P. humile* в ранге вида или *P. sativum* subsp. *syriacum* в ранге подвида и рассматривавшийся предыдущими авторами отдельно. Ввиду того, что этот таксон выделялся на основе признаков общего габитуса, не имеющих филогенетического значения (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973), его ареал очерчивался достаточно произвольно. Согласно Л.И. Говорову (1937, с. 251) ареал *Pisum humile* - это «Сирия, Палестина, Месопотамия, Иран», однако на рис. 99 в той же работе он включал лишь Левант и Восточную Турцию, захватывая лишь истоки рек Тигр и Евфрат и лишь слегка касаясь западной границы Ирана. Макашева (1979: 66) описывает ареал *P. sativum* subsp. *syriacum* следующим образом: «В первичных местообитаниях известен в диком состоянии - Израиль, Иордания, Ливан, Сирия, Кипр, Турция, Северный Ирак, Северный и Западный Иран».

Во всех таксономических системах (включая принятую в настоящей работе), ареал собственно *Pisum elatius* = *P. sativum* subsp. *elatius* полностью включает в себя ареалы как *P. fulvum*, так и *P. humile*=*P. sativum* subsp. *syriacum*, тем самым его ареал является одновременно и ареалом рода *Pisum*.

Л.И. Говоров (1937: 238) указывает чрезвычайно обширный ареал *P. elatius*, не сопровождая его ссылками на источники информации: «*P. elatius* (MB) Stev. распространен значительно шире: на восток он идет до Тибета и Индии, к северу – до Азово-Черноморья, Украины, юго-восточной Венгрии, Истрии, северной Италии и Ривьеры; южная граница проходит по северному побережью Африки, поднимаясь в восточной части к верховьям Нила (рис. 99).» В этом описании большие сомнения вызывают упоминания Тибета, Индии, Украины (в 1937 г. не включавшей Крым) и верховий Нила. Примечательно, что на рис. 99 в той же работе, на которую ссылается автор, ареал *P. elatius* не включает Украину, на юге ограничен низовьями Нила и северной половиной Аравийского полуострова, а на востоке ограничен восточной границей Ирана. Таким образом, ареал, показанный на

рисунке Л.И. Говорова, соответствует современным данным и, по всей видимости, адекватен, в отличие от его словесного описания. Также весьма адекватно описание ареала *P. sativum* subsp. *elatus* у Р.Х. Макашевой (1979: 57), хотя и с тенденцией к несколько неоправданному его сужению при излишней детализации в пределах каждой из упомянутых стран: «Черноморское побережье Крыма и Кавказа (в нижней и средней зонах гор), Средняя Азия (Копетдаг). Типичные формы приурочены в влажным районам Средиземноморья (Северный Израиль, Ливан, Западная Сирия, Кипр, южное побережье Турции и Греции, адриатическая зона Югославии, о-ва Сицилия и Сардиния, Южная Италия). Известны разбросанные изолированные местобитания в Марокко, Алжире, Тунисе, Южной Испании, Южной Франции, Северной Италии, на Черноморском побережье Турции».

Ареал дикорастущего *P. sativum* в работе Лев-Ядун и др. (Lev-Yadun et al., 2000) показан неоправданно узким, не охватывающим средиземноморское и черноморское побережья Турции, Кавказа и не спускаясь на юг до Красного моря; эта работа не может быть принята во внимание в качестве обобщения.

Каков же естественный современный ареал *P. sativum* subsp. *sativum* s.l. и, следовательно, рода *Pisum* в целом, в свете имеющихся надежных данных? Данные региональных флор имеют второстепенную важность, поскольку зависят от позиции конкретных авторов в отношении дилеммы дикий/культурный (ушедший из культуры), а также принятой таксономической трактовки. Так, признание *P. arvense* в качестве вида и определение его по формальным признакам сразу же делает данную региональную сводку малоинформативной, так как под это определение могут попадать как дикие, так и культурные формы. Поэтому ограниченная доступность множества локальных флор для рассматриваемой огромной территории оказывается не таким уж серьезным недостатком. Гораздо более надежным источником данных являются образцы заведомо дикого гороха с географической привязкой, имеющиеся в мировых коллекциях.

Попробуем очертить его границы ареала дикого гороха, начав с запада на восток по часовой стрелке. По всей видимости он включает весь Пиренейский полуостров, о чем свидетельствуют его локалитеты в разных точках, возможно, за исключением северного побережья. В нашем распоряжении имеются образцы из Саламанки (PIS2844, Camino de la

Plata, 2 km of Puerto de Béjar) и PE1 (=J13557), собранный автором в СВ Португалии (см. главу 5).

Во Франции ареал дикорастущего гороха, казалось бы, должен включать только ее южную часть, в пределах распространения растительных сообществ средиземноморского типа. Однако из свежей монографии Куло и Работ (Coulot, Rabaute, 2016), где его распространение (под названием *Lathyrus oleraceus* subsp. *biflorus*) приведено по департаментам, следует, что его ареал простирается на север до департамента Орн в Нормандии. Имеющиеся отсюда находки дикорастущего гороха у Гуле (48°44' с. ш.) и Аню-сюр-Орн (48°37' с. ш.) являются самыми северными в мире. На юге ареал занимает целиком остров Корсика, регион Прованс-Альпы-Лазурный берег, регион Окситания за исключением западных департаментов Верхние Пиренеи, Тарн-и-Гаронна и Жер (под вопросом департамент Верхняя Гаронна) и юго-восточную часть региона Овернь-Рона-Альпы (департаменты Ардеш, Гренобль, Савойя и Верхняя Савойя, под вопросом департаменты Луара и Канталь). На западе страны дикорастущий горох достоверно известен из департамента Приморская Шаранта региона Новая Аквитания (под вопросом департамент Дё-Севр), департамента Атлантическая Луара региона Пеи-де-ла-Луар (находка возле Шагно, под вопросом департаменты Вандея и Мен-и-Луара), на севере из департамента Орн региона Нормандия, и в регионе Бургундия-Франш-конте под вопросом приводится департамент Ньевр. В департаментах, приведенных под вопросом (следуя «Флоре Франции» Coste, 1937), дикорастущий горох по всей видимости уже исчез. На сайте <http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-49774> дано 15 конкретных точек на юго-востоке страны в пределах Центрального Массива и Альп, где дикий горох и был более всего ожидаем, исходя из биогеографических и климатических предпосылок.

В мировых коллекциях есть два образца как раз из этих регионов, а именно с юга Центрального Массива (PIS7388, Bois de Païolive, Ardeche 44°23'41.02" N 4°11'16.45" E, т.е. охраняемая природная территория округ Ларжантьер кантона Ле Ван департамента Ардеш) – в коллекции Института генетики растений и исследований культурных растений (IPK) в Гатерслебене – и с Прованских Альп (J13553, 43°23'02" с. ш., 05°51'24", лесной массив Сан-Бом коммуна Руже департамента Вар, собран по нашей инициативе, о нем см. ниже).

Далее ареал гороха по-видимому занимает всю Италию, кроме бореальных сообществ Альп. В нашем распоряжении имеются образцы из Кампании (J12055, г. Альбурни) и Лигурии (Pis2850, Камольи-Мортола); в коллекциях есть также образец из Римской области (Pis1675, Аричча, Альбанские горы, г. Джентиле и Кукко), Базилики (J12055, Оттати).

Ареал *P. sativum* subsp. *elatius* охватывает весь Балканский полуостров, кроме высокогорий, но в нашем распоряжении имеется только серия из семи образцов из Халкидики, из окрестностей г. Кариес с п-ова г. Афон (J11091-1096 и P144008). В мировых коллекциях также есть образец из Македонии (Pis7475, Пагаруша, Скопье). Экстраполируя балканские находки, дикий горох следует ожидать также в Словении, однако у нас нет данных о его присутствии в этой стране.

Известна популяция дикого гороха из южной части Венгрии близ границы с Хорватией, откуда в коллекции IPK (Гатерслебен) имеется образец Pis2853 (Szársomlyó District, Baranya, 45°51' N, 18°25' E, 405 m). На данный момент это самый северный образец заведомо дикого гороха из имеющихся в нашем распоряжении. Он происходит с г. Саршомлё, высшей точки Вилланской Планины (нагорья; территория национального парка Данубе-Драва) у деревни Надь-Харшань (Nagyharsány) в Шилкошском районе (Siklósi község) медье Баранья (Baranya megye). Южные склоны этой горы действительно считаются одним из последних северных форпостов средиземноморской растительности. Немногим южнее расположены и локалитеты из Сербии, разбросанные по всей территории на север вплоть до широты Белграда 44 40' с.ш., хотя в последнее время удалось локализовать и исследовать популяции только на юге этой страны, на северных склонах горы Козьяк (Kozjak) в долине р. Пчиня (Pčinja) (Zlatković et al., 2010). Далее к востоку ареал дикого гороха несомненно охватывает горы Стара Планина в Болгарии (Kožuharov, 1976), откуда в нашем распоряжении имеется образец WG-10925 (30 км от пляжа в Альбене, 34°23' N, 28°05' E) из коллекции USDA, а в мировых коллекциях – еще несколько образцов.

«*Pisum elatius*» указан для многих точек в Румынии (Flora republicii populare romîne ... , 1957) (в цитируемом томе V «Флоры Румынии» 1957 г. принято несколько устаревшее деление страны на области, приводим как исторические области, так и современные регионы): в Трансильвании – в Центральном регионе, жудеце Муреш, муниципии Тыргу-

Муреш («Reg. Aut. M.: Tg. Mureș»), в Валахии – в Юго-Западном регионе по Дунаю, т.е. по границе с Западным регионом Трансильвании на границе (румынским Банатом) в жудеце Мехединци – Железные Ворота, Оршова (44°43' с.ш., 22°23' в.д.), Гура-Вейи, Вирциорова, Добрета Турну-Северин (44°34' 22°40') («Reg. Timișoara: V. Dunărei la Cazane (r. Orșova). Reg. Craiova: Porțile de Fier, Gura Văii, Vîrciorova, Schela Cladovei (r. Turnu Severin)»). В этом месте горы Стара Планина сближается с Карпатами, образуя сужение долины Дуная со знаменитыми Железными воротами. Вариация «*var. biflorum* (Raf.) A. et G.» указана как спорадически встречающаяся в Добрудже («*Sporadică în Dobrogea*») (по-видимому, на плато Добруджа и в Мачинских горах). Точки на Дунае расположены в диапазоне 44°34-43' с.ш., 22°23-23°32' в.д., что несколько южнее вышеприведенного локалитета в Венгрии. Однако жудец Муреш расположен севернее (г. Тыргу-Муреш имеет координаты 46°32' 24°33'), в центре Трансильванского плато, окруженного на юге, востоке и севере Карпатами. Отличительными признаками «*P. elatius*» в Румынии признаны длинные цветоносы, выступающие жилки на створках бобов и бугорчатые семена. Это выглядит убедительно, ввиду того, что в Европе бугорчатые семена не встречаются у культурных форм и характерны для всех диких форм.

Приводится *P. sativum* subsp. *elatius* и для Молдовы - для округа северных черешневых дубрав (48°00-30' с.ш.) и округа широколиственных Кодр (46°40-47°20' с.ш.) преимущественно из бука, дуба и граба (Гейдеман, 1975: 298). Это самые северные местонахождения дикого гороха после таковых во французском департаменте Орн. К сожалению, они не подтверждены образцами в мировых коллекциях. Отличительными признаками дикого подвида в указанном источнике признаны длинные цветоносы, темный венчик и сильно выдающиеся жилки на створках бобов. Дикий горох в Европе действительно имеет эти признаки, но такие важные признаки как раскрываемость бобов или хотя бы бугорчатость семян не указаны. «*P. elatius*» для Молдавии приводится и во «Флоре СССР» (Чефранова, 1987).

Если сообщения о диком горохе в Молдове соответствуют действительности, то он должен присутствовать на сходных широтах и на Украинских Карпатах. Однако этот вопрос остается открытым. Во «Флоре УРСР» «*P. elatius*» указывается лишь как возможный элемент дикой флоры Украины: «Можливо, що в дикому стані росте на півдні

степовой части» (Флора УРСР, 1954: 567). *P. elatius* для Украинского Причерноморья упоминается в единственном старом источнике, представляющем собой кратко аннотированный список видов растений территории, охватывающей Одесскую, Николаевскую, Херсонскую и Запорожскую области; он приводится без какой-либо географической информации, со следующим комментарием: «Среди кустарников, на опушках, как сорное. Культивируется как кормовое». Очевидно, что авторы включали в этот таксон культивируемые формы и не имели в виду дикого гороха. Возможно, вследствие этого упоминания в VI томе «Флоры Европейской части СССР» (Чефранова, 1987) «*P. elatius*» также приводится для Причерноморского флористического района с вопросительным знаком. Мы должны заключить, что дикий горох в Украинском Причерноморье отсутствует, что объясняется равнинным характером местности, давно освоенной человеком.

Далее *P. sativum* subsp. *elatius* появляется на Южном берегу Крыма, о чем, в частности, свидетельствуют и наши собственные образцы СЕ1 и СЕ2 (см. главу 5). Во «Флоре УРСР» (1954: 567) он приводится для Крыма лишь предположительно, однако двадцать лет спустя, в «Определителе высших растений Крыма» (Вовк и др., 1972) он приводится (в ранге вида) как редкое для Керченского полуострова, окрестностей Севастополя и Южного берега. Та же информация повторена и во «Флоре Европейской части СССР» (Чефранова, 1987). В дальнейшем «*P. elatius*» приводится для 9 локалитетов в окрестностях Севастополя (Ларина, 2008; Корженевский и др., 2004; Seregin et al., 2015).

Присутствие дикого гороха на Кавказе и в Закавказье общеизвестно. Гроссгейм (1949) приводит два таксона дикого гороха с весьма широким распространением: «*P. elatius*» для девяти флористических районов Кавказа – Западный Кавказ, Восточный Кавказ, Черкесия, Центральное Закавказье, Юго-западное Закавказье, Карабах, Зуванд, и «*P. humile*» для Южного Закавказья и Нахичеванской АССР (немаловажно, что в обоих случаях упоминает среди признаков «бобы при засыхании растрескивающиеся»). Во «Флоре Кавказа» «*P. elatius*» приводится для Западно-предкавказского округа Понтийской флористической провинции, Черкесского округа Таврической провинции Средиземноморской области, Кубанского, Терского, Прикаспийско-Кавказского, Кабристанского, Карталинского и Иберийского округов Кавказской флористической провинции области горных лесов

Южной Европы, Аджарского округа Колхидской провинции древней средиземноморской флоры, Сомхетского, Карабахского, Мегринского округов Переходной провинции Малого Кавказа, Джавахетского округа Малоазийской флористической провинции, Армянского и Диабарского округов Иранской флористической провинции и Талышинского округа Гирканской провинции области древней средиземноморской флоры. «*P. humile*» приводится для Армянского (Норк, Арзани) и Нахичеванского (Нахичевань) округов Иранской флористической провинции (Гроссгейм, 1952). На карте для двух указанных таксонов в этом источнике приводится в сумме 89 точек. Во «Flora Iranica» *P. sativum* subsp. *sativum* приводится по старым указаниям К.А. фон Мейера для предгорий Талыша (Rechinger, 1972). А.Л. Тахтаджян и А.А. Федоров (1972) во «Флоре Еревана» приводит *P. sativum* subsp. *elatius* для четырех местонахождений Араратской котловины (Арзни, Эчмиедзин, Гохт, Цахкашен). Во «Флоре Абхазии» (Колаковский, 1985: с. 87) «*P. elatius*» приводится с припиской «Вероятно, заносное р.».

Для нас особый интерес представляют находки дикого гороха в российской части Кавказа. Довольно неожиданно с точки зрения местной природной среды, «*P. elatius*» приводится для его крайней западной точки - Тамани (Гроссгейм, 1952). В.П. Малеев (1931) приводит его для двух точек Черноморского побережья Кавказа в пределах нынешнего Краснодарского края: Малый Утриш и хр. Марктох над Новороссийском. По-видимому на основании последней точки в «Определителе высших растений северо-западного Кавказа и Предкавказья» (Косенко, 1970) «*P. elatius*» приводится для Новороссийска. Местонахождение в окр. с. Малый Утриш, расположенного у подножия скалистого приморского склона Навагирского хребта на п-ове Абрау, было впоследствии подтверждено А.П. Серегиным и Е.Г. Суловой (2007) и О.Н. Деминой с соавт. (2015) в ходе полевых работ, регулярно проводившихся с 1997 г.; «*P. elatius*» приводится ими в качестве редкого растения. Во «Флоре Северного Кавказа» (Галушко, 1980) «*P. elatius*» приводится для следующих флорогенетических районов: Таманского, Чалымско-Кубанского, Ходыженского, Верхне-Лабинского, Тебердино-Зеленчукского, Пятигорского, Моздокского, Чеченского (Сунжа), Каспийского. Обратим внимание, что в списке представлены среднегорные районы, но в него не включены районы, расположенные как в высоких горах, так и в предгорьях, причем как северных, так и южных, причерноморских

(за исключением Таманского района). В том числе не включен и Новороссийский район, где дикий горох присутствует (Малеев, 1931; Косенко, 1970; Серегин, Сусллова, 2007; Демина, 2015), хотя в более ранней «Флоре Кавказа» (Гроссгейм, 1952) соответствующий ему Черкесский округ приводится. В «Определителе сосудистых растений Северного Причерноморья» А.С. Зернова (2002) «*P. elatius*» приводится в качестве частого для Анапского и Новороссийского флористических районов и редкого в Туапсинском районе. Наши собственные наблюдения в Анапском и Новороссийском флористических районах (см. раздел 2.1) противоречат этим сведениям и говорят о том, что дикий горох там как максимум крайне редок. Тот же автор (Зернов, 2006) во «Флоре Северо-Западного Кавказа» приводит «*P. elatius*» для Таманского, Новороссийского и Сочинского районов, но, в отличие от Т.С. Галушко (1980), не приводит его для Ходыженского и Майкопского районов (последний включает Верхне-Лабинский район и часть Тебердино-Зеленчукского и Чалымо-Кубанского районов по Галушко). Таким образом, в распространении дикорастущего гороха в Краснодарском Крае нет ясности.

Далее на восток в Российской части Кавказа «*P. elatius*» приводится:

- в качестве редкого для Лабинско-Невинномысского флористического района Ставропольского Края (Иванов, 2001);

- в качестве редкого же для пяти из семи флористических районов Карачаево-Черкесии - Преградненского, Хабезского, Малокарачаевского (все три района Скалистого хребта, отнесены к предгорной зоны), Зеленчукского и Верхнекубанского (два из четырех районов Бокового и Главного Кавказского хребтов; отнесены к высокогорной зоне) (Шильников, 2010);

- для Чеченской Республики (Умаров, Тайсумов, 2011);

- для предгорий Дагестана (Муртазалиев, 2009). В частности, в Дагестане дикорастущий горох произрастает в Талгинское ущелье в окрестностях Махачкалы (С.А. Литвинская, личное сообщение, изображение в «Атласе растений природной флоры Кавказа» (Литвинская, 2011) было сделано по растениям оттуда).

Заметим, что при таком широком распространении, из российской части Кавказа в мировых коллекциях не имеется ни единого образца дикого гороха! Согласно данным М. Амброуза и Т.Г.Н. Эллиса (Ambrose, Ellis, 2008), образец VIR1947 (=JI2201) из

Краснодарского края (без дальнейших уточнений локалитета), определенный в ВИР как *P. sativum* subsp. *elatus*, имеет нераскрывающиеся бобы, т.е. диким горохом не является и тем самым не принадлежит этому таксону.

Так или иначе, на Кавказе горох распространен от Азовского до Каспийского морей. В нашем распоряжении имеются образцы из Закавказья – Грузии (VIR1851, Тбилиси; VIR2998; WG-26019, 7 км С Партсклиси, 20 км от Манглиси, 44,52° с.ш., 41°60' в.д.), Азербайджана (VIR4014, Ленкорань) и ни одного образца с территорий Армении и России. В мировых коллекциях есть еще несколько образцов дикого гороха из Грузии (включая такой интересный регион как Сванетия) и Армении, но не из России.

К востоку от Каспийского моря дикий горох произрастает в горах Копет-Дага. В «Определителе растений Туркменистана» «*P. elatus*» указывается для Юго-Западного (Иолдере) и Восточного (Чарлык, Дейча) Копетдага (Никитин, Гельдиханов, 1988). Образцов оттуда в основных коллекциях генетического разнообразия нет. Восточнее дикий горох в литературе неизвестен. Тем не менее, вопрос о восточной границе рода *Pisum* и вида *P. sativum* открыт и исключительно актуален. Скорее всего, она совпадает с границей Хорасанской подпровинции Ирано-Анатолийской, или Армено-иранской флористической провинции и Туркестанской флористической провинции (Zohary, 1973; Тахтаджян, 1978). Эта граница имеет почти меридиональное направление и проходит по Систан-Герирудской депрессии между горами Копет-Дага и Хорасана с одной стороны и Кугитангтау (системы Памиро-Алая), Паропамизом и Среднеафганскими горами (иногда также относимыми к Иранскому нагорью, однако в действительности являющимися западными отрогами Гиндукуша) с другой, то есть хорошо совпадает с восточной государственной границей Ирана. Это умозрительные заключения основаны на том факте, что в Афганистане дикий горох никем никогда не находился. С другой стороны, флора Афганистана изучена недостаточна и целенаправленные поиски дикого гороха во флоре Паропамиза (северо западный Афганистан) были бы весьма желательны.

Вопрос о восточной границе дикого гороха осложнен путаницей понятий: «сорт Афганистан» (“cultivar Afghanistan”) - примитивный культурный горох из Афганистана, введенный в научный оборот Т.А. Ли (Lie, 1978; 1984), в дальнейшем (Geurtz et al., 1997) упоминался одновременно и как «cv. Afghanistan» (сорт «Афганистан», Л1357), и как «wild

pea variety Afghanistan» (разновидность дикого гороха «Афганистан»). По-видимому, она возникла оттого, что Янг и Мэтьюс (Yang, Matthews, 1982) позволили себе назвать их облик «диким» в переносном смысле. Эти авторы усмотрели фенотипическое сходство подобных афганских образцов, устойчивых к *Rhizobium leguminosarum*, с образцом J1241 из Иерусалима, определенным ими как «*Pisum humile*».

Литературные сведения о диком горохе в Иране ограничиваются изданием «Flora Iranica», том которой, посвященный трибе Viciae (современное название - Fabaeae), вышел в 1972 г. (Rechinger, 1972). В нем для *P. sativum* subsp. *elatius* приводятся три точки из провинции Лурестан в Западном Иране (Бишех, 2100 м над у.м.; Шах-Базан, 600 м над у.м.; Доу Руд) и четыре точки в Северном Иране – одна в провинции Горган (ныне провинция Голестан) (окрестности Зиарата) и три в провинции Гилян (Бандар-е Пахлави (Бандар-Энзели); у оз. Мордаб западнее Бандар-е Пахлави, 26 м над у.м.; Астара). В указанном источнике для территории Ирана не приводится ни одного местонахождения *P. sativum* subsp. *elatius* var. *pumilio* (притом что они приводятся для территории Ирака). В то же время на карте, приведенной Н. Макстедом и Ш. Келлом (Maxted, Kell, 2009: fig. 18) на территории Западного Ирана показано пять местонахождений *P. sativum* subsp. *elatius* var. *pumilio* и ни одного *P. sativum* subsp. *elatius* var. *elatius*. В качестве источника информации для этой карты авторы ссылаются на неопубликованную диссертацию A.S. Mumtaz, защищенную в 2005 г. в Бирмингемском Университете. По всей видимости мы в данном случае сталкиваемся с уже обсуждавшейся неустойчивостью таксономических трактовок разными авторами.

С огромной территории Ирана на данный момент в мировых коллекциях имеется всего два образца дикого гороха! Первый - IG65050, Iran, Lorestan, 33,667° N 48,55° E, коллекция ICARDA - происходит с гор Загроса, а именно с хребта Кухе-Сефи, разделяющего бассейны рек Керхе и Абе-Диз. Локалитет расположен приблизительно на широте Израиля, известного своим богатством дикорастущим горохом. Второй – J11030 (=PI140295) имеет координаты 34° с.ш., 56° в.д. и указание “Khorassan”, однако приведенные координаты, возможно, ошибочны, поскольку они проецируются на невысокие и пустынные Тебесские горы между Большой соляной пустыней (Деште-Кевир) и пустыней Деште-Лут, в остане Южный Хорасан. Автору пока не удалось исследовать эти

образцы, в отличие от предполагавшегося третьего иранского образца дикого гороха JI2105 (ITPDB 104333, = PI227258, из географической информации в коллекции Института Джона Иннеса имеются лишь координаты 32,659° N, 51,671° E, проецирующихся в окрестности г. Исфахан), который на поверку не оказался диким (Kosterin et al., 2010).

Таким образом, с территории Ирана дикорастущий горох достоверно известен из центральной части нагорья Загрос и западной и восточной части хребта Эльбурс. Кроме того, имеется указание на его нахождение в Хорасане, а его присутствие в Туркмении делает весьма вероятным его распространение в южных предгорьях Копет-Дага на территории остана Северный Хорасан. Таким образом, дикорастущий горох распространен по долготе на всем протяжении Ирана с запада на восток. Следовательно, территория Ирана составляет около трети ареала рода *Pisum* по долготе. Общеизвестно, что земледелие и domestикация растений возникли на так называемой Тавро-Загросской дуге – горном поясе, включающем Голанские высоты, хребты Тавр и Антитавр в Турции и горы Загроса (Zohary, 1999). Большая часть последних находится на территории Ирана (частично заходят в Иракский Курдистан) и составляют около двух третей всей дуги. О южной границе ареала дикого гороха в Иране не известно вообще ничего. Теоретически она могла бы доходить до Персидского залива.

P. sativum subsp. *elatius* var. *elatius* приводился для севера Ирака (Иракского Курдистана) (мухафаза Эрбиль, Салах-ад-Дин, 750 м над у.м.; мухафаза Киркук, Джармо; горы Авроман, д. Тавилла, 1200-1400 м над у.м.) (Rechinger, 1972). В том же источнике для территории Ирака приводится несколько больше точек для *P. sativum* subsp. *elatius* var. *pumilio* – в Курдистане (Салах-ад-Дин; Кух Сефин, окр. Шаклава; окр. Харир; Кани Ватман; Джармо), мухафазах Мосул (ныне Найнава) (горы около Сирсанга; Савара Тука; Гоижа; Пира Магрун; окр. Азмир; Палегавра; Халабджа) и Дияла (Джабал Хамрин). Все местонахождения дикого гороха в Ираке ожидаемо приурочены к западной части гор Загроса.

Наиболее хорошо изученными странами в отношении дикого гороха являются Турция, Израиль и Сирия, откуда в мировых коллекциях и в нашем распоряжении имеется множество образцов. П.Х. Дэвис (Davis, 1970) характеризует ареал подвида *P. sativum* subsp. *elatius* в составе трех разновидностей: var. *elatius* распространен в Европейской

Турции, Внешней Анатолии и на островах, var. *brevipedunculata* – в Центральной Анатолии и «Аманусе» (г. Нур в провинции Хатай) и var. *pumilio* – в основном в Восточной Анатолии и, локально, в северо-восточной и южной Анатолии (включая провинцию Хатай); растения, промежуточные между var. *elatus* и var. *pumilio* приводятся для илов Сиирт и Диярбакыр в Восточной Анатолии. Кроме того, он (Davis 1970: 371) не исключает, что на базальтах северного склона г. Каракадаг «диким или тщательно натурализовавшимся» является горох, классифицируемый им как *P. sativum* subsp. *sativum* var. *arvense* (L.) Poiret (по всей видимости это дикий горох, который следует условно классифицировать как *P. sativum* subsp. *elatus*). В составе общего ареала var. *elatus* он упоминает Западную Сирию, а в составе ареала var. *pumilio* – Западную Сирию, Сирийскую пустыню и Северный Ирак. В мировых коллекциях имеется три образца из соседствующего с Сирией Ливана (IPK-4075, IG49238, IG123085) и один из Иордании (IG52564, Ирбид).

Дикий горох, по-видимому, присутствует на всех главных островах Средиземного моря. Для Кипра П.Х. Дэвисом (Davis, 1970) приводятся одновременно две разновидности дикого гороха: *P. sativum* subsp. *elatus* var. *brevipedunculata* и var. *pumilio*. В нашем распоряжении есть образцы дикого гороха из Сицилии (PI344557, Палермо, Фикуцца; PIS2845, Палермо, Бальце ди Кульяче в Палаццо Адриано), Сардинии (723, = JI3271, = 560060, =L106, Калигари) и Менорки (JI2724, Магон), но нет с Кипра, Крита, Мальты, Корсики и Майорки.

Детали распространения дикорастущих форм гороха в Аравии остаются неясными. Во “Flora arabica” Блэттера (Blutter, 1921), *P. elatus* приводится, причем только по литературным данным, только для региона Arabia petraea. Это античное название указывается на историческую область (провинцию Римской империи) с центром в г. Петра, охватывающую Синайский полуостров и крайний северо-запад Аравийского п-ова на той же широте, что и полуостров. Данных о присутствии дикорастущего гороха в горах Хиджаза, а тем более Эль-Асир, Эль-Ахдар, Эль-Хаджар и на плато Хадрамут, нам не известно.

Дикорастущий горох присутствует и, судя по всему, весьма широко распространен Магрибе, имея естественную южную границу в виде пустыни Сахара. В Марокко *P. elatus* приводится для следующих флористических районов: южного «степного», северо-

западного, юго западного, п-ова Танжер, гор Эр-Риф (Рифский Атлас), Средний Атлас и Большой Атлас и восточного прибрежного массива Бени-Снассен, относящегося к системе Телль-Атлас; в горах встречается до 1500 м (Jahandiez, Marie, 1931-1933). Отметим его присутствие не только в горах, но и на равнинах. «*Pisum sativum* subsp. *elatius* (Stev.) P. Four.» (по неясной причине именно с таким авторством) приводится для Алжира как весьма обычный в горной системе Телль-Атлас (“CC [très commun]: dans le Tell”) (Quezel, Santa, 1962: p. 523). Во флоре Марокко (Jahandiez, Marie, 1931-1933) упоминается присутствие *P. elatius* в Киренаике, т.е. в северо-восточной Ливии.

Нами проверено пять имеющихся в мировых коллекциях образцов, считавшихся дикорастущими. Два образца из Марокко (IG123313 = АТС4285 и IG52459) и один из Алжира (IG52596) оказались культурными. Дикорастущими же оказались два только два: IG64350, Алжир, Блида, и IG108291, Тунис, Сильяна. Местонахождение первого из них соответствует хребту Атлас-Блида, второго – хребту Дорзаль, оба относятся к северной, прибрежной части горной системы Телль-Атлас. При этом анализ молекулярных маркеров (см. ниже) показал, что образцы из Алжира и Туниса принадлежат весьма далеким друг от друга эволюционным линиям, так что нельзя исключить, что имела место путаница этикеток, довольно характерная для коллекции ICARDA (П. Смыкал, личное сообщение).

Вопрос о присутствии дикорастущего гороха в Египте не очень прост. В своей фундаментальной сводке по флоре этой страны Р. Мушлер (Muschler, 1912) считает разновидность *P. sativum* var. *elatius*, имеющей пурпурные цветки и зернистые, серые с коричневыми пестринами семена, широко культивируемой в пойме Нила; по всей видимости, к этому подвиду он относит действительно культивируемые в Египте и Судане формы культурного подвида, имеющие, подобно большинству дикорастущих форм, бугорчатую поверхность (см. раздел 1.2.6.4). Для Дельты же он указывает этот подвид как натурализовавшийся в Телль-эль-Кебуре (Tell-el-Kebir); возможно, на самом деле имелись в виду изначально дикорастущие популяции *P. sativum* subsp. *elatius*. П. Дэвис (Davis, 1970) при описании ареала разновидности *P. sativum* subsp. *elatius* var. *pumilio* упоминает северный Египет. На упомянутой выше карте в работе Макстеда и Келла (Maxted, Kell, 2009: fig. 18) показаны также два местонахождения *P. sativum* subsp. *elatius* var. *pumilio* в



Рис. 1. Ареал дикорастущих таксонов гороха, *P. fulvum* (красные линии) и *P. sativum* subsp. *elatius* (черные линии); составлено автором по литературным данным. Вопросительные знаки указывают на возможное присутствие, точечные линии связывают отрезки сухопутных границ по акваториям.

Египте к западу от Дельты; как уже отмечалось, источник этой информации не опубликован.

Совершенно загадочным является образец J1254, происходящий с рынка в Джимме ($07^{\circ}10'$ с.ш., $36^{\circ}35'$, 1964 г.) в ЮЗ Эфиопии. Это ярко-выраженный дикий горох, относящийся к той же эволюционной ветви, что и дикий горох Балкан и Западной Европы и габитуально схожий с образцами из Греции. Джимма находится в достаточно низко расположенной части Эфиопии с тропическим климатом и сугубо африканской флорой. Такое происхождение, вопреки всем биогеографическим закономерностям, тем более происхождение совершенно дикого гороха с рынка, вызывает подозрение, что имела место путаница этикеток или контаминация образца культурного гороха генотипом дикого, с последующим вытеснением исходного типа в ходе репродукции.

Ареал двух дикорастущих таксонов гороха, *P. fulvum* и *P. sativum* subsp. *elatus*, изображен, с точностью до наших знаний, на Рис. 1.

1.2.4. Аутоэкология и охрана дикорастущего гороха

При рассмотрении местонахождений гороха в Европе обращает на себя внимание, что практически все они расположены на лесистых известняковых массивах. Таковы каталонский локалитет в горах Прадес, французские локалитеты в массивах Буа де Пайолив и Сан Бом, венгерский локалитет на г. Саршомлё, крымские локалитеты в Симеизе и на Карадаге. Даже сами названия локалитетов иногда указывают на карстовые формы рельефа, характерные для известняковых массивов: так, названия греческого города Кариес и болгарско-сербской реки Пчиня означают «пещера». По всей видимости, эти факты говорят об определенной кальцефильности европейского *P. sativum* subsp. *elatus*, хотя могут быть и в какой-то мере связаны с лучшим сохранением естественных местообитаний на известняковых массивах ввиду их как правило резко расчлененного рельефа.

Известняковые местообитания специально упомянуты во «Флоре Румынии» и «Определителе растений Румынии»: «Pe stînci calcaroase, tuferișuri, rar printre semănături sau ruderalizată» («По известняковым скалам, кустарникам, редко среди культур или рудеральной растительности») (Flora republicii populare romîne ... , 1957); «Rară și nestabilă cîmpie, coline (etajul colinar), ogoare, pîrloage, culturi de mazăre, tufărișuri, stîncării, calcaroase (goci), ruderală» «Редко на нестабильных (?) равнинах, холмах (холмистый ярус), полях, в посадках гороха, кустарниках, скалах, на известняковых породах, среди рудеральной растительности» (Beldie, 1977). Однако уже для Молдовы известняки не упоминаются: «На лесных опушках, полянах, в кустарниках, в нижнем поясе и на низм.» (Гейдеман, 1975: 298).

Что касается ценотических связей, дикий горох в Западной Европе как правило связан с разреженными лесами и редколесьями с участием различных видов дуба. В Португалии он найден нами у дубов (*Quercus ilex*), ограничивающих покос, в массиве Сен Бом во

Франции собран в разреженном дубовом (*Quercus pubescens*) лесу (см. ниже), в Молдавии приводится для черешневых дубрав и дубово-буково-грабовых лесов (Гейдеман, 1975).

В Крыму *P. sativum* subsp. *elatius* был найден нами также на известняковых массивах в Симеизе и на г. Святая в Карадаге, в местных вариантах средиземноморского маквиса: в можжевелевом редколесье и на опушке дубового криволесья, соответственно (см. ниже).

Литературные сведения об экологических связях дикого гороха на Кавказе довольно противоречивы. Любопытно, что П.М. Жуковский утверждает о существовании на Кавказе двух форм дикого гороха, низкогорной и субальпийской. В 1933 г. он еще не решается отнести их к конкретным таксонам: «В восточной Грузии существует, несомненно, 2 самостоятельных дикорастущих вида гороха, из которых один характерен, как сорное растение на хлебных пашнях Борчалинского района (его путают с *P. elatius*), и другой обитает по кустарникам нагорно-лесной части Белоключинского и Бакурианского районов» (Жуковский, 1933: 366). В первом издании своей известной книги «Культурные растения и их сородичи» (Жуковский, 1950: 258-260) он применяет к ним названия *P. elatius* и *P. arvense*: «*P. elatius* М.В. ... В диком состоянии – по всему Кавказу (кроме южн. Закавказья) в нижней и средней зонах, обитает на лугах, по кустарникам и лесным опушкам. В Восточной Грузии – сорное растение в посевах хлебных злаков. ... Вид *P. elatius* характерен для средней и нижней горных зон; помимо естественного произрастания на лугах и по кустарникам, он приспособился также к засорению хлебов и успевает самовысеяться до уборки хлебов, часть его семян попадает в урожай зерна. ... *P. arvense* L. В диком состоянии – на субальпийских высокотравных лугах в районе Бакуриани (Грузия). Обыкновенный посевной горох в диком состоянии неизвестен, но он очень близок к виду *P. arvense*, который в Боржомско-Бакурианском районе Грузии, в субальпийском разнотравии и по опушкам лесов из *Acer trautvettreri*, несомненно, встречается в диком состоянии. ... Вид *P. arvense* является субальпийским по своей природе и поэтому холодоустойчивым; его способность к быстрому росту есть приспособление к произрастанию в высокотравном сообществе.». Во втором издании той же книги П.М. Жуковский (1964) заменил название таксона с *P. arvense* на *P. sativum* ssp. *sativum* convar. *speciosum* (включая синоним *P. arvense* part.), в остальном текст остался без изменений. Отсюда следует, что Жуковский считал *P. arvense* возделываемым на корм (пелюшкой), но

также существующим и в диком состоянии. Эта точка зрения не поддержана последующими исследователями (Макашева, 1979 и др.), которые справедливо полагали, что дикий посевной горох Кавказа не является непосредственным предком местных культивируемых форм и кормового гороха вообще (пелюшек) и относили его к таксону *P. sativum* subsp. *elatus*.

В издании 1964 г. П.М. Жуковский (1964) приводит следующие местообитания для выделяемых им видов дикого гороха: *P. syriacum*: «на щебнистых склонах, сорное растение поливных районов». *P. elatus*: «в нижней и средней зонах, обитает на лугах, по кустарникам и лесным опушкам. В Восточной Грузии – сорное растение в посевах хлебных злаков». Заметим, что в мировых коллекциях отсутствуют образцы упомянутого Жуковским дикого гороха из субальпийской зоны района Бакуриани.

В литературе по Кавказу и Закавказью местообитания дикорастущего гороха приводятся следующим образом:

- Во «Флоре Кавказа» (Гроссгейм, 1952: с. 413): «в орошенной зоне на сорных местах» для «*P. humile*»; «До среднего горного пояса. В кустарниках, по опушкам, на лугах, сорное в зерновых и т.д.» для «*P. elatus*».
- Во «Флоре Арарата» (Тахтаджян, Федоров, 1972: с. 170): «в кустарниках и в посевах» (для *P. sativum* subsp. *elatus*).
- Во «Флоре Абхазии» (Колаковский, 1985: с. 87): «В приморской полосе, среди кустарников, в садах у заборов. Вероятно, заносное р.» (для *P. elatus*).
- Во «Флоре Дагестана» (Муртазалиев, 2009: с. 116): «В кустарниках, по опушкам, в нижнем горном поясе» (для *P. elatus*).
- В «Конспекте флоры Карачаево-Черкесии» (Шильников, 2010: с. 158): «Лесные поляны, опушки, заросли кустарников, в нижнем поясе» (для *P. elatus*).
- Во «Флоре северо-западного Кавказа» (Зернов, 2006: с. 358) «На травяных и щебнистых склонах, в разреженных лесах и зарослях кустарников» (для *P. elatus*).
- В «Конспекте флоры государственного заповедника «Утриш»» (Демина и др., 2015): «Опушки, обочины дорог, редколесья в приморской полосе» (для *P. elatus*).
- Во «Флоре Северного Кавказа» (Галушко, 1980: с. 179), «На лесных опушках, полянах, кустарниках, в нижнем поясе и на низм. Редко» (для *P. elatus*). Отметим, что в последнем

источнике дикий горох не указывается для Новороссийского флористического района, климат и растительность которого, представленная преимущественно шебляком – дубово-грабовыми зарослями, вариантом маквиса, можжевельново-фисташковыми и можжевельновыми лесами, более всего соответствуют южному берегу Крыма (Малеев, 1930; 1938). Однако согласно многим другим источникам, в том числе и более ранним, *P. sativum* subsp. *elatius* в Новороссийском районе все же присутствует, хотя и редок (Малеев, 1931; 1938; Зернов, 2002; 2006; Серегин, Сулова, 2007, Демина и др., 2015). В то же время Галушко (1980) указывает его для соседних чисто лесных Ходыженского и Верхне-Лабинского районов. На основании информации Жуковского (1933; 1950; 1964) и Галушко (1980) складывается впечатление, что кавказский горох, возможно, несколько отличается от крымского большей экологической связью именно с лесами, чем с гемиксерофитной растительностью маквиса и его аналогов (шебляков).

Таким образом, экологическая приуроченность дикого гороха на Кавказе неоднозначна, а данные о связи с типом горных пород отсутствуют. Нет таких данных и для Копет-Дага и Хорасанских гор, однако заметим, что Копет-Даг сложен преимущественно меловыми породами.

Дикий посевной горох наиболее разнообразен на Ближнем Востоке. Здесь присутствуют два широко известных морфологических и экологических типа дикого посевного гороха, к которым традиционно применялись названия «*Pisum elatius*» и «*Pisum humile*». Первые представляют собой высокие (до 3-4 м) растения, типичные для маквиса и вьющиеся по низкорослым дубам и другим деревьям и кустарникам, спорадически встречающиеся также по живым изгородям полей и придорожным зарослям; они никогда не бывают многочисленными и формируют небольшие, редкие колонии (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973). (Маквис – широко распространенное средиземноморское растительное сообщество – низкорослые листопадные леса достаточно высокой сомкнутости с преобладанием дуба пушистого (*Quercus pubescens*) и участием колючих вечнозеленых кустарников - по сути вторичное сообщество, возникшее в результате длительной антропогенной деградации средиземноморских лесов.) Ш. Аббо с соавторами (Abbo et al. 2008) подчеркивают, что данный экологический тип гороха растет в наиболее увлажненных участках маквиса, например вдоль вади, в которых несколько месяцев в году имеются водотоки, и на полянах

дубовых лесов (например на г. Кармель и в Верхней Галилее), почти исключительно в первичных природных сообществах. Популяции его всегда невелики. Поразительно, но для всех пяти местообитаний, исследованных в этой работе (Abbo et al., 2008: tables 1, 4), в качестве коренной породы приводятся только известняк и доломит, а в качестве почв – терра для четырех и аллювиальный вертисоль для одной. Таким образом, высокорослые представители дикорастущего *P. sativum*, известные под названием «*Pisum elatius*», и в Израиле являются облигатными кальцефилами (что является скорее аргументом в пользу генетической и таксономической обособленности гороха высокого).

Второй экологический тип диких представителей *P. sativum* на ближнем востоке, традиционно называемый «*P. humile*», а после работ П.Х. Дэвиса (Davis, 1970) – *P. sativum* subsp. *elatius* var. *pumilio* – низкорослые растения открытых сообществ. Они встречаются в двух типах местообитаний.

1) В «первичной степи» и степеобразных травянистых сообществах»; на севере Израиля, в Сирии, Южной Турции и горах Загроса – «в травянистых формациях пояса дубрав» в тесной связи с известняковыми склонами, базальтами и вулканическими пеплами (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973); в «степных травянистых сообществах наряду с чечевицами, виками и люцернами в северной части Израиля, например на Голанских высотах и г. Хермон» (Abbo et al., 2008). Для четырех местообитаний этого типа в этой работе в качестве коренной породы указывается грубый вулканический шлак и коричневая базальтовая почва.

Отметим, что в Средиземноморье нет как таковых степей, для которых, кроме доминирования злаков, характерны определенные типы почв и другой режим увлажнения в течение года (преимущественно летом, а не зимой); в данном случае под «степями» по-видимому понимается травянистый компонент саванноидных средиземноморских формаций с доминированием колючих деревьев суданского происхождения, *Ziziphus spina-christi* и *Acacia albida* (Danin, 1992).

2) Во вторичных, нарушенных человеком местообитаниях: «по краям полей и в качестве сорняка в посевах злаков» (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973); по «залежам, краям полей, покинутым садам, обочинам дорог» (Abbo et al., 2008), в заброшенных оливковых рощах (Abbo et al., 2013).

Любопытно, что по наблюдениям Ш. Аббо с соавторами (Abbo et al., 2013), в предгорьях Иудейских гор горох из таких вторичных местообитаний, обладая всеми признаками дикого (раскрывающиеся бобы, крапчатые семена с ярко выраженным периодом покоя) никогда не проникает в менее нарушенные естественные местообитания. Таким образом, даже среди низкорослых форм скрываются два экологических типа, приспособившихся к первичным и вторичным местообитаниям.

Бен-Зеев и Зохари (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973) отмечают присутствие морфологически промежуточных форм в местообитаниях промежуточного характера, что можно также интерпретировать и как то, что бинарная классификация этих двух форм не вполне адекватна изначально. Действительно, было показано, что эти две группы не монофилетичны и тем самым не заслуживают таксономического оформления, а представляют собой результат независимой адаптации к двум типам природной среды, сопровождавшейся формированием двух типов общего габитуса (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973; Kosterin, Bogdanova, 2008). Так, низкорослая форма Ближнего Востока на основании кариологических данных была разделена Бен-Зеев и Зохари (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973) на «северный *humile*» и «южный *humile*». «Северный *humile*» в их анализе был представлен всего двумя образцами – из оркестностей аэропорта Анкары, Турция (образец 717) и в 3 км СЗ Эль-Кунейтры на Голанских высотах (Сирия/Израиль, спорная территория) (образец 716 = J174). Первый собран на заброшенных полях, второй – среди травянистой растительности на вулканических пеплах.

Турция более обширна по территории, чем Израиль, и представляет большее разнообразие природных условий. Данных по экологии дикого гороха в Турции немного. В качестве местообитаний *var. elatius* в этой стране П.Х. Дэвис (Davis, 1970) приводит скалистые или травянистые склоны, руины и края полей на высотах от уровня моря до 1700 м над ним; а для выделенной им *var. brevipedunculatum* – поля, виноградники, впадины, обочины дорог на высоте 700-1000 м над у.м. Фактически, это те же местообитания, которые этот автор приводит и для *var. pumilio* - среди кустарников, на каменистых склонах и залежах на высотах 700-1800 м над у.м. (Davis, 1970)

Интересно сообщение о том, что в провинции Мардин, входящей в район первоначального изобретения производящего хозяйства согласно сторонникам «гипотезы

первоначального ядра» (Lev-Yadun et al., 2000; Abbo et al., 2010; 2011; 2012; 2013; Gopher, 2001), «*Pisum humile*» произрастает совместно с дикими предками четырех других культур первоначального земледельческого набора, а именно ячменя (*Hordeum spontaneum* (K. Koch) Thell.), чечевицы (*Lens orientalis* (Boiss.) Schmalh.), нута (*Cicer reticulatum* Ladiz.) и горькой вики (*Vicia ervilia* (L.) Willd.) (Abbo et al., 2010). К сожалению, растительное сообщество не названо, на приведенных же фотографиях видна низкорослая травянистая растительность на каменистых склонах.

В Магрибе дикорастущий посевной горох в основном приурочен к прибрежным горам, однако приводится и для равнинных районов Марокко; его местообитания в этой стране охарактеризованы так: «разреженные леса, кустарники, осыпи оврагов на равнинах и низкие горы до 1500 м» (Jahandiez, Marie, 1932: с. 438) Имеющиеся в нашем распоряжении образцы из Алжира и Туниса, этикетированные, соответственно, «Блида» и «Сильяна», по всей видимости, происходят с невысоких, но резко расчлененных (скорее всего известняковых) возвышенностей в окрестностях этих городов, относящихся, соответственно, к хребтам Атлас-Блида и Дорзаль (оба являются частью горной стемы Телль-Атлас). Небезынтересно, что Алжир является единственной страной, во флоре которого дикорастущий горох приводится как очень обычное растение (Quezel, Santa, 1962), а широкое распространение дикорастущего гороха в Марокко (Jahandiez, Marie, 1932) находится в соответствие с таковым же известняковых массивов.

В целом можно заключить, что естественные местообитания дикого посевного гороха всегда связаны с выходами коренных горных пород, в Европе - почти исключительно с известняковыми массивами, а в Передней Азии – также с изверженными горными породами, вплоть до вулканических пеплов. В Европе дикий горох представлен лишь высокорослыми формами, связанными с маквисом и частично с лесами, а на Ближнем Востоке и в Закавказье присутствуют также низкорослые формы, связанные с травянистыми сообществами, естественными и рудеральными, в частности в качестве сорняка в посевах злаков; на изверженных породах отмечены только эти формы.

По Л.И. Говорову (1937: 239), *P. fulvum* – «эфемер, однолетнее растение, поселяющееся на рыхлых перегнойных наносах среди скал». Согласно П.М. Жуковскому (1950: 258), «*P. fulvum* приспособился к обитанию в очень сухом субтропическом климате

Восточного Средиземноморья и даже плоскостного Йемена». Сведения, сообщаемые Жуковским, не находят подтверждения в более поздних статьях израильских ученых, работавших непосредственно в ареале этого вида.

Согласно Н. Бен-Зеев и Д. Зохари, горох красно-желтый встречается лишь в регионах с типичным средиземноморским климатом (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973), согласно Ш. Аббо с соавт. (Abbo et al., 2008) это самый обыкновенный вид дикого гороха в Израиле, распространенный по Средиземноморскому поясу Израиля от южных Иудейских гор до г. Хермон на севере. По Бен-Зеев и Зохари (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973), его основными местообитаниями являются заросли карликовых кустарников и гарига (она же фригана - средиземноморское бездревесное растительное сообщество вечнозеленых кустарников), где он проявляет явную склонность к выходам коренных пород, но растет также на краях полей, «кучах камней и террасах». В этикетках среди семи образцов, с которыми работали эти авторы, упомянуты такие местообитания, как «среди камней», «на кучах камней», «каменистые места», «выходы базальта», «формация карликовых кустарников на известняках», «вьются по карликовым кустарникам» «вьются по кустарникам», «поляны в маквисе», «края заброшенных полей», «у дорог». В работе Ш. Аббо с соавторами (Abbo et al., 2008: tables 1, 3) *P. fulvum* предстает индифферентным к литологическим и эдафическим условиям – для десяти обследованных местообитаний (больше, чем для других форм дикорастущего гороха) среди коренных пород упоминаются известняк, доломит, мел, карбонатный конгломерат и базальт, а среди почв – терра росса, коричневая и серая рендзина и коричневая базальтовая почва..

Местообитания *P. fulvum* в Турции характеризуются П.Х. Дэвисом (Davis, 1970) совершенно определенно: скалистые известковые склоны. Однако данному автору было известно всего два местонахождения этого вида в Турции, а интервал высот в 30-1500 м над у.м. приводится им всего лишь на основании высот двух этих находок.

В свою очередь, эти вышеупомянутые сведения по аутоэкологии входят в некоторое противоречие с более поздними данными уже упомянутой выше группы израильских ученых, Аббо с соавт. (Abbo et al., 2008), которые оценивали эффективность сбора семян двух видов гороха в естественных сообществах, моделируя деятельность древних собирателей. Они указывают, что *P. fulvum* – это растение полузатененных местообитаний

разреженных лесов, карабкающееся по кустарникам и низкорослым дубам и фисташкам. Любопытно, что наиболее многочисленная популяция была найдена по разреженным местам и дорогам в охраняемых сосновых посадках в окрестностях Эльякима. Лишь изредка *P. fulvum* выходит на открытые травянистые поляны парковых лесов. В так называемых формациях бата (batha) – вариант гариги, образованный низкорослыми кустарниками и однолетними и многолетними травами – встречаются лишь немногочисленные популяции *P. fulvum*, составленные из низкопродуктивных ползучих растений, что лишний раз доказывает происхождение этой формации от деградировавшей лесной. В местах с интенсивным выпасом горох красно-желтый обнаруживается лишь среди густых колючих кустарников, например, жестера (*Rhamnus*).

Таким образом, *P. fulvum* оказывается преимущественно лесным видом, связанным с маквисом и индифферентным к литологическим и эдафическим условиям.

Среди негативных экологических факторов, лимитирующих распространение и численность дикорастущего гороха, следует назвать два – мелкий рогатый скот и гороховую зерновку (*Bruchus pisorum* L.). По крайней мере, в течение последних двух тысяч лет, а в особенности в наше время, в местообитаниях дикорастущего гороха повсеместно выпасается мелкий рогатый скот, среди прочих равных отдающий предпочтение бобовым. В результате горох сохраняется обычно лишь в труднодоступных для него местах – среди колючих кустарников, на скалах, за изгородями (Abbo et al., 2008; 2013). Наш опыт сбора дикорастущего гороха в популяции в северо-восточной Португалии свидетельствует о серьезном поражении семян гороховой зерновкой, так что лишь около 10% остаются неповрежденными (см. раздел 2.1 ниже).

Макстед и Келл (Maxted, Kell, 2009) ссылаются на неопубликованную диссертацию A.S. Mumtaz, защищенную в 2005 г. в Бирмингемском Университете, автор которой провел анализ данных по распространению гороха с помощью ГИС-технологий и как следствие предложил для охраны разнообразия диких форм гороха два района – один на границе турецкой провинций Хатай и сирийской провинции Алеппо, другой в юго-западной Сирии на границе с Израилем и Иорданией.

Макстед и Келл (Maxted, Kell, 2009) ранжировали таксоны гороха по приоритетности для охраны. Наивысшим приоритетом (high priority) они наделили *P. abyssinicum* (однако

ниже показано, что этот таксон не является диким) и *P. sativum* subsp. *elatus* var. *brevipedunculatum*; среди приоритетных назвали *P. fulvum* и *P. sativum* subsp. *elatus* var. *pumilio* (а также *Vavilovia formosa* (Stev.) A. Fed., которую они рассматривали в составе рода *Pisum*). Таксон *P. sativum* subsp. *elatus* var. *elatus* они не сочли приоритетным ввиду его широкого распространения. На этом основании, Макстед и Келл (Maxted, Kell, 2009) предложили для охраны природного биоразнообразия гороха четыре района:

1) Горы Троодос на Кипре возле деревни Пини (Phini) – в качестве одного из немногих местонахождений *P. sativum* subsp. *elatus* var. *brevipedunculatum*, к тому же находящегося вблизи такой охраняемой территории, как Национальный лесной парк Троодос.

2) Джабаль Симеон, провинция Алеппо в Сирии – как возможность одновременно охранять многочисленную популяцию как *P. fulvum*, так и *P. sativum* subsp. *elatus*, а также диких сородичей других культур, бобовых и злаковых. Наличие цитадели Св. Симеона предполагало некий уже существующий уровень охраны данной местности и открывало перспективы для организации там экотуризма (что, с другой стороны, повышала риск заноса однолетников из других регионов). Однако последние события в регионе вряд ли позволяют надеяться на это в обозримом будущем.

3) Сальхад, провинция Сувейда в Сирии – как имеющая популяции *P. fulvum*, *P. sativum* subsp. *elatus* var. *elatus* и *P. sativum* subsp. *elatus* var. *pumilio*.

4) Акна Лич, Гегамский хр., провинция Ереван, Армения – как имеющая наибольшую из известных в Армении популяций *V. formosa*.

Не называя конкретного района, авторы отмечают, что по их данным, «горячей точкой» в плане присутствия всех приоритетных таксонов также является Ливан и предлагают тщательное исследование этой страны с последующим выделением охраняемых территорий.

Как видим, два из четырех предложенных для охраны районов два находятся в Сирии. Ввиду последних печальных событий возможность установления там в обозримом будущем какого-либо охранного режима практически исключена, да и само сохранение указанных популяций находится под вопросом. Для охраны не предложено ни одного района в Израиле, известного своим разнообразием дикого гороха (Ben-Ze'ev, Zohary,

1973), что может быть связано с хорошим уровнем охраны природы по стране в целом. В то же время совершенно проигнорирован турецкий Курдистан, где ряд исследователей предполагает район первичного возникновения земледелия и domestikации культур-основателей, в том числе гороха (Lev-Yadun et al., 2000; Gopher et al., 2001; Abbo et al., 2010a; 2011a, 2012, 2013). Скорее всего, это связано с недостатком данных оттуда, а также с несколько формальным подходом к данным, использованным при выделении районов для охраны (Maxted, Kell, 2009). Само собой разумеется, что почти полное отсутствие данных из Ирана (всего пять точек *P. s. elaius* var. *pumilio* и одна *V. formosa* на карте Maxted, Kell, 2009) приводит к тому, что актуальный вопрос об охране или хотя бы исследовании дикого гороха в этой стране никем не поднимается.

Недавно *P. sativum* subsp. *elaius* был внесен в «Красную Книгу Крыма» в качестве уязвимого вида (Волошин, Рыфф, 2015).

1.2.5. Популяции дикорастущего гороха

Специальных работ, посвященных структуре и характеру популяций дикорастущего гороха, не существует, хотя необходимость в таких исследованиях остро ощущается. Больше всего косвенной информации, касающейся данного вопроса, содержится в упоминавшейся работе Шахала Аббо с соавторами (Abbo et al., 2008), которые предприняли сбор семян дикорастущего гороха в Израиле с целью экспериментально оценить его потенциальную роль в качестве источника пищи для общества охотников и собирателей. Эти авторы характеризуют диких родственников культурных бобовых как имеющих «patchy population structure and erratic year to year establishment» (Abbo et al., 2008: p. 123), что можно перевести как «прерывистую популяционную структуру и нерегулярное появление от года к году».

По данным этих авторов, *P. fulvum* в лесных местообитаниях Израиля имеет местами большие популяции, включающие множество растений, занимающие довольно большие площади позволяющие собрать существенный урожай семян (до 234 г в час одним человеком!). Популяции же «*P. elaius*», хотя и могли достигать большой плотности, занимали весьма малую площадь – так, популяция «Сурсук А», позволившая собрать

наибольший урожай семян (около 430 г., т.е. около 3 тысяч, в четыре приема с 27 апреля по 14 мая 2006 г.), представляла собой пятно размером всего 5×5 м.

Данные, полученные за пределами Израиля для высокорослых дикорастущих *P. sativum* subsp. *elatus*, как правило, также говорят об очень малых территориях и численностях популяций дикорастущего гороха. Тот же Ш. Аббо с коллегами в другой своей работе (Abbo et al., 2013) ссылается на рукописный (на иврите) полевой дневник Гидеона Ладизинского, где упомянута находка единственного растения «*Pisum elatus*» на каменистой тропе в оливковой роще близ Адриатического побережья в окрестностях Примостена Хорватии в 1980 г. Ш. Аббо посетил это местообитание в 2011 г. и обнаружил там несколько растений этого же гороха. Личный опыт автора (см. раздел 2.1. ниже) также свидетельствует о том, что популяции дикорастущего гороха чаще представлены считаными растениями. Так, из двух популяций, обнаруженных в 1991 г. на южном берегу Крыма, одна насчитывала около десятка растений, а вторая – всего два. В то же время популяция, обнаруженная на северо-востоке Португалии, включала около сотни растений, но также была весьма ограниченной в пространстве ($80-100 \times 10-20$ м). Важным фактором, ограничивающим площадь и численность популяций дикорастущего гороха, как сказано выше, является выпас (и перевыпас) мелкого рогатого скота.

Небольшой размер популяций дикорастущего гороха также обусловлен его весьма ограниченной способностью к расселению. Основным механизмом расселения дикорастущего гороха является баллистическое рассеивание семян на расстояние до 3,6 м (Ambrose, Ellis, 2008) при взрывном раскрытии зрелых бобов (см. раздел 1.2.6.1.2). Зоохорию следует исключить из возможных факторов расселения, поскольку горох не имеет никаких адаптаций для нее. Напротив, его семена имеют окраску, криптическую на фоне каменистого грунта, за счет нескольких типов пятен, обеспечиваемых целым рядом генов - *M*, *Fs*, *U*, *Fu* и др. (см. ниже в разделе 1.2.6.1.4). Такая окраска призвана обеспечить незаметность семян для зерноядных птиц и млекопитающих, которые питаются семенами гороха, тем самым уничтожая, а не распространяя их.

Следует заметить, что фактическая численность локальных популяций дикорастущего гороха несколько больше, чем кажется, поскольку вследствие ярко выраженного многолетнего периода покоя семян, большая часть растений по-видимому пребывает в

составе банка семян в почве, и только небольшая часть вегетирует и размножается в каждом конкретном сезоне. Специальные исследования (Abbo et al., 2011b) показывают, что лишь от 1,3 до 19% нескарифицированных семян различных форм дикорастущего гороха Израиля прорастают осенью того года, в который они были образованы, тогда как для прорастания остальных требуется два или три года (Abbo et al., 2008). В таком случае фактическая численность популяций (если учитывать семена, которые в конечном счете взойдут) должна быть в два-три раза больше, чем «видимая численность», оцениваемая по количеству одновременно вегетирующих растений.

Тем не менее, фактический размер популяций дикорастущего гороха весьма мал. Ввиду самоопыления в качестве преимущественной формы размножения, эффективная численность этих популяций, несомненно, исключительно низка, хотя оценить ее затруднительно.

Исходя из вышеизложенного, следует ожидать, что популяции дикорастущего гороха отличаются крайне низким внутрипопуляционным генетическим разнообразием. Это допущение является методологическим основанием для того, чтобы в работах по филогеографии, подобных нашей, считать одно растение полноценным представителем локальной популяции.

Экспериментальные данные по внутрипопуляционному генетическому разнообразию чрезвычайно скудны, но подтверждают данное предположение. Так, А.В. Мглинец (см. Zaytseva et al., 2015) расшифровал последовательность гена *His5* (включая кодирующую часть, интрон и небольшие фланкирующие некодирующие области) субтипа 5 гистона H1 у 19 индивидуальных растений из популяции, собранной автором данной работы на северо-востоке Португалии (см. ниже в разделе 2.1). Нуклеотидные последовательности данного гена оказались идентичны у всех проанализированных растений. По личному сообщению П. Смыкала (Университет Палацкого, Чешская Республика), он также обнаружил высокую генетическую гомогенность популяции дикорастущего гороха из Армении.

1.2.6. Генетический материал дикорастущих форм гороха

Анализ генетического разнообразия любого биологического объекта требует качественного первичного материала, который должен быть:

- 1) надежно классифицирован, как минимум в качестве принадлежащего именно к этому объекту;
- 2) надежно этикетирован в отношении своего происхождения, для диких форм – прежде всего географического, а также даты и обстоятельств сбора и фамилии сборщика, для культурных форм или модельных генетических объектов – авторство и то, кем, на основе какого материала и каким образом он был получен;
- 3) по возможности уникален, то есть вовлеченные в анализ образцы не должны друг друга дублировать.

Имеющийся в мировых коллекциях генетического разнообразия материал по дикорастущим формам гороха относительно невелик и не вполне отвечает всем трем вышеупомянутым критериям качества.

1.2.6.1. Дилемма «дикий/культурный» применительно к гороху

Материал гороха, доступный в мировых коллекциях генетического разнообразия, не всегда надежно классифицирован в качестве представляющего дикорастущие либо культурные формы. Такая классификация предполагает четкие представления о тех признаках, которые отличают первые от вторых.

1.2.6.1.1. Синдром доместикиции у гороха

Понятие «доместикационный синдром» введено Карлом Хаммером (Hammer, 1984) и определяется как устойчивый комплекс признаков, свойственный самым разным зерновым (включая зернобобовые) культурам и позволяющий растению существовать в культуре. Норман Виден (Weeden, 2007) специально исследовал этот синдром у гороха, сравнивал эти результаты с результатами, полученными у фасоли и пришел к выводу об отсутствии у

бобовых культур (в отличие от злаковых), единого генетического фундамента этого синдрома, так что domestикация каждого вида сопровождалась сходными изменениями фенотипа за счет изменений в разных (неортологических) генах.

К признакам domestикационного синдрома у гороха относятся отсутствие спонтанной раскрываемости бобов, отсутствие периода покоя семян, редукция текстуры и окраски оболочки семян, увеличенный размер семян и растения в целом; в качестве дополнительных признаков можно указать сниженную тенденцию к ветвлению у основания стебля, увеличенную массу корней, отсутствие реакции на фотопериод (Weeden, 2007). Оказалось, что у гороха за domestикационный синдром отвечает не так уж много генов, а также, в отличие от злаковых культур, не обнаружено «кластеризации» генов, ответственных за различные признаки синдрома, которая может подразумевать как тесное сцепление таких генов, так и их сильный плейотропный эффект на domestикационные признаки.

1.2.6.1.2. Раскрываемость бобов

Практически любая форма гороха может быть однозначно классифицирована как дикая либо культурная по ключевому признаку – «спонтанная раскрываемость бобов» (Waines, 1975; Ladizinsky, 1979; Weeden, 2007; Ambrose, Ellis, 2008; Kosterin et al., 2010). Обычно применяющийся в русскоязычной литературе термин «растрескиваемость» недостаточно адекватно описывает явление, так как никаких «трещин» не образуется. При созревании и высыхании створки бобов диких форм внезапно спонтанно раскрываются по верхнему и нижнему шву. Утолщенные и удлиненные клетки экзокарпа и слои склеренхимы эндокарпа направлены диагонально относительно швов и перпендикулярно друг другу (Эсау, 1980). При подсыхании они создают натяжение, которое внезапно разрешается при раскрывании. В результате створки боба стремительно спирально закручиваются вдоль своей оси в противоположных друг другу направлениях, придавая раскрытым бобам характерный V-образный облик, причем в то время как нераскрывшийся боб был наклонен вниз, раскрывшиеся створки расположены в более или менее горизонтальной плоскости (Рис. 2). При этом семена приобретают импульс, направленный

преимущественно вверх и выстреливаются на значительное расстояние – вплоть до 360 см (Ambrose, Ellis, 2008).

Отметим, что по нашим наблюдениям как в теплице, так и в природе (в провинции Траш-уш-Монтш Португалии, см. раздел 2.1), при раскрытии бобов дикорастущего гороха довольно много (до трети) семян остается зажатыми в спирально закрученных створках. Любопытно, но не отражено в литературе то обстоятельство, что при намокании или помещении в воду раскрытые створки в течение одной-двух минут разворачиваются и возвращаются к плоской форме (наши данные). По всей видимости, во влажную погоду семена, зажатые в створках при их раскрытии, свободно падают вниз и обеспечивают репродукцию дикорастущего гороха на месте своего произрастания.

Бобы культурных форм либо не раскрываются вовсе, либо раскрываются спустя значительное время при высоких температурах, при этом их створки слабо или почти не сворачиваются и семена не выстреливаются.

Раскрываемость бобов определяется (полу)доминантным аллелем гена *Dpo* (*Dehiscing pod*) в группе сцепления III (Marx, 1971; Weeden, 2007). Дополнительный количественный эффект на раскрываемость бобов связан с менделевским геном *gp* в группе сцепления V, рецессивный аллель которого определяет отсутствие хлорофилла в молодых бобах и стеблях, а также редуцирует склеренхиму створок бобов (Weeden, 2007). (Заметим любопытное обстоятельство, что в тех же самых районах генома находятся два гена, кодирующие субъединицы пластидного, гетеромерного ферментного комплекса ацетил-коА-карбоксилазы, обеспечивающие совместимость с пластидным геномом культурного гороха, см. Bogdanova et al., 2015). Сообщается также о дополнительном генетическом факторе, оказывающим количественный эффект на раскрываемость бобов, расположенном в группе сцепления VII и обозначенным *Dpo2* (Weeden, 2007). В условиях теплицы негативное влияние на раскрываемость бобов оказывают каллусоподобные разрастания на стенках бобов, определяющиеся доминантным аллелем *Np* (Weeden, 2007). Мы наблюдали этот эффект в теплице ИЦиГ СО РАН: у образцов с сильной экспрессией *Np*, у которых разрастания покрывали всю створку, например у образцов *P. sativum* subsp. *elatius* var. *brevipedunculatum* Л3433 и Л3434 из Сирии.

Однако ни ген *gp*, ни ген *Np* не были вовлечены в первоначальное доместикационное событие у гороха, так как большинство «примитивных», не затронутых систематической селекцией культурных форм, происходящих из низких широт, имеют аллель дикого типа *Np*, и все такие формы и большинство европейских сортов имеют аллель дикого типа *Gp*. Заметим, что в условиях открытого грунта, т.е. как в природе, так и в культуре, аллель *Np* не вызывает спонтанных разрастаний стенок боба (Berdnikov et al., 1992; Weeden, 2007); и не оказывает влияние на их раскрываемость, а слабый аллель *Np*, свойственный большинству дикорастущих и культурных форм, не оказывает такого эффекта и в условиях теплицы.

Хотя по склонности к раскрываемости бобов имеется изменчивость (Ambrose, Ellis, 2008), никаких сомнений по классификации бобов (как раскрывающихся или нераскрывающихся) не возникает. В наших исследованиях по генетике гороха, проводившихся с середины 1980-х годов по настоящее время, мы не сталкивались с промежуточным состоянием признака. В частности, в условиях теплицы ИЦиГ СО РАН гибриды первого поколения между диким и культурным горохом всегда имеют раскрывающиеся бобы, т. е. аллели соответствующих генов проявляют доминантность. Два образца *P. sativum* subsp. *elatius*, Л199 и Л2201 (= VIR1947) из Израиля и Краснодарского края, соответственно, о которых сообщается в работе Ambrose и Ellis (2008) как об имевших нераскрывающиеся бобы, в связи с этим не следует относить к данному таксону (Kosterin et al., 2010).

1.2.6.1.3. Период покоя семян

Период покоя семян гороха связан с сохранением семенной оболочкой непроницаемости для воды в течение длительного времени после образования семени. В диком состоянии такие семена сохраняются в почве в течение нескольких лет, не прорастая и образуя природный «банк семян», позволяющий популяции переживать неблагоприятные годы.

Норман Виден (Weeden, 2007) в двух скрещиваниях выявил три QTL, влияющих на лежкость семян. Любопытно, что их всех удалось идентифицировать в качестве генов, хорошо известных по их внешним проявлениям, а именно:



Рис. 2. Дикий горох *Pisum sativum* subsp. *elatius* (образец PE1 = J13557) в засохшем состоянии, с раскрытыми створками бобов, на склонах холмов левого борта долины р. Ангуэйра в 1,4 км к СВ от с. Ува, муниципалитет Вимиозу, округ Браганса, провинция Траш-уш-Монтш э Альто Дору, Португалия, 8 июля 2010 г. (Фото автора.)

1) Локус *r*, с которым работал еще Мендель, кодирующий крахмал-ветвящий фермент, превращающий амилозу в амилопектин. Хорошо известный рецессивный аллель по этому гену в гомозиготе приводит к морщинистой форме семян, способствующий образованию микротрещин в семенной оболочке, делая ее проницаемой для воды даже у недавно образовавшихся семян.

2) Лocus *s*, рецессивный аллель которого приводит к выделению значительного количества камеди, склеивающий семена внутри боба друг с другом. Разделение склеенных семян также сопровождается образованием микротрещин.

3) Лocus *a*, с которым также работал Мендель, рецессивный аллель которого лишает растение антоциановой пигментации и, как оказалось, негативно сказывается на периоде покоя семян. Влияние этого гена на окраску семян очевидно, тогда как на проницаемость для воды – неочевидно.

Следует отметить, что аллели *r* и *a* свойственны сортам гороха европейской селекции, однако все три упомянутых выше аллеля отсутствуют практически у всех «примитивных», не подвергшихся сознательной селекции культурных форм гороха Азии и Африки. Таким образом, ни один из этих двух генов в доместикации гороха не участвовал. Следовательно, либо доместикация гороха не сопровождалась сокращением периода покоя семян, либо она была достигнута за счет пока не выявленных генетических факторов.

В скрещивании JI261 (оригинальная очень низкорослая форма *P. sativum* subsp. *elatius*) × *P. abyssinicum* выявлено также влияние локуса *ep2* (предположительная идентификация) группы сцепления II, ответственного за толщину оболочки семени, однако в скрещиваниях непосредственно дикорастущего и культурного гороха эффект этого участка генома выявлен не был (Weeden et al., 2007).

1.2.6.1.4. Фактура и окраска семени

Фактура семенной оболочки культурных растений и их диких сородичей как правило не проявляет существенных отличий; так что данный признак актуален именно и только для гороха. Большинство дикорастущих форм посевного гороха (*P. sativum* subsp. *elatius*) обладают мелкобугорчатой поверхностью (фенотип *Gty*). Этот признак немедленно ощущается, если взять в руку несколько таких семян, поскольку их трение друг о друга создает характерную отчетливую вибрацию, субъективно воспринимаемую как «скрип», хотя его и не слышно в качестве звука. (Данным признаком обладают также многие дикорастущие виды близкого рода *Lathyrus*.) Этот признак определяется присутствием доминантного аллеля *Gty* (*Gritty*), соответствующий лocus находится в группе сцепления

VI (Blixt, 1971; Weeden, 2006). *Pisum fulvum* имеет гладкую и притом очень толстую, орехоподобную семенную оболочку, однако он обладает доминантным аллелем *Gty*, так как уже гибриды первого поколения от его скрещиваний с посевным горохом имеют бугорчатую оболочку, а фенотипы гибридов второго поколения расщепляются в отношении 3 *Gty* : 1 *gtu* (см. раздел 5.3.3).

Имеется ряд дикорастущих форм посевного гороха, имеющих гладкую семенную оболочку (фенотип *gtu*), однако до завершения проверки нашей коллекции «на дикость» мы затрудняемся указать их долю среди дикорастущих образцов. Бугорчатая семенная оболочка жестче и толще гладкой и создает определенные кулинарные неудобства. Поэтому культурные формы гороха почти неизменно имеют гладкую семенную оболочку (*gtu*); в частности такова оболочка у всех известных образцов *P. abyssinicum*. Исключение составляют лишь некоторые «примитивные» культурные формы *P. sativum* из Судана (например, образец JI281) и Канарских островов, где даже существует особое местное блюдо *arvejas compuestas*, приготовляемое из подобного гороха, правда, в незрелом состоянии (личное сообщение М. Амброуза). Несомненно, они возникли вследствие вторичной гибридизации культурного и дикого гороха. Неясен статус некоторых образцов с Кавказа с бугорчатой семенной оболочкой (таких как VIR2998), определенных как дикорастущий *P. sativum* subsp. *elatius*, но имеющих нераскрывающиеся бобы – они являются либо подобными же «примитивными» культурными формами, либо продуктами недавней гибридизации.

Таким образом, можно заключить, что гладкая семенная оболочка, определяемая рецессивным аллелем *gtu*, несомненно принадлежит к доместикационному синдрому, но только у гороха.

Семенная оболочка *P. sativum* subsp. *elatius* имеет пеструю окраску благодаря наличию как минимум некоторых из трех типов пятнистости. Мелкие и густые коричневые пятна, образующие так называемый «мраморный рисунок» определяются доминантным аллелем локуса *M*, мелкие темнофиолетовые пятна – доминантным аллелем локуса *Fs*, вытянутые темнофиолетовые мазки – аллелем *Ust* локуса *U*; локус *Fu* контролирует наличие светлой «вилочки» вокруг корешочка, аллель *Pl* – черную окраску рубчика (Blixt, 1971). Все эти элементы окраски создают камуфляж, в природе скрывающий семена от

птиц и млекопитающих на фоне щебнистой поверхности почвы. *P. fulvum* имеет темно-коричневую окраску семян, генетический анализ показывает, что он несет как минимум доминантный аллель *U* локуса *U*, свойственный также некоторым «примитивным» культурным формам и определяющим сплошную темнофиолетовую, почти черную окраску семени. Нередко подобные семена образуются у генотипов, имеющих аллель U^{st} , причем черными оказываются либо единичные семена, либо семена, образующиеся только на одной створке боба и поэтому расположенные в бобе через одно, либо все семена в бобе, либо бобы с черными семенами чередуются с нормальными через один, либо черным оказывается лишь половина семени. Черная окраска таких семян не наследуется, выращенные из них растения имеют фенотип U^{st} (наши неопубликованные данные). Такой фенотип получил обозначение *Obs* (Blixt, 1971). Вся эта феноменология очень напоминает таковую в случае окраски семян кукурузы, классические исследования которой Барбарой Мак-Клинток привело к открытию мобильных генетических элементов (McClintock, 1950; 1953). По-видимому в нашем случае имеет место присутствие аналогичного транспозона, покидающего локус *U* или его непосредственное окружение в соматическом клеточном клоне, из которого в конечном счете формируется оболочка семян, причем этот клон может занимать целый ортостих на стебле, либо отдельный боб, либо одну из створок боба, либо одно семя (Bogdanova, Verdnikov, 2001). Ген, «освободившийся» от транспозона, начинает экспрессироваться и приводит к продукции большого количества антоциана. Скорее всего, неправильной формы пятна «нормального» фенотипа *Fs* также определяются запрограммированной эксцизией гипотетического мобильного элемента на определенной стадии развития семенной кожуры. Не исключено, что такую же природу имеют и пятна фенотипов *M* и U^{st} .

Все эти гены и определяемые ими варианты окраски встречаются и у большинства примитивных культурных форм, особенно из Азии, а также у европейских кормовых сортов. Однако лишь в редких случаях все три типа пятнистости встречаются одновременно, как у большинства дикорастущих форм. Большинство примитивных культурных форм имеет фенотип *M*, часто встречается фенотип *Fs*, редко встречаются фенотипы U^{st} и *U*. Таким образом, гены окраски семени также в целом не претерпели изменений во время доместикации гороха, хотя культурные формы и обогащены

рецессивными нуль-аллелями *m*, *fs* и *u*. Большинство европейских зерновых и овощных сортов несут аллель *a*, эпистатичный всем вышеперечисленным генам, в результате чего семена полностью теряют фиолетовую окраску, а мраморная коричневая окраска, определяемая аллелем *M*, становится малозаметной. Впрочем, большинство этих сортов несет также и рецессивный аллель *m*.

1.2.6.1.5. Прочие признаки доместикационного синдрома

Среди генов, влияющих на прочие признаки, относимые Н. Виденом (Weeden, 2007) к доместикационному синдрому, также оказались в основном хорошо известные рецессивные аллели локусов с сильным альтернативным эффектом на фенотип, которые заведомо не были вовлечены в событие доместикации гороха, поскольку примитивные культурные формы гороха имеют в этих локусах аллели дикого типа. На размер семян по очевидным причинам влияли уже упоминавшиеся выше гены *r* и *Np*, а также еще два QTL в группах сцепления I и IV. Заметим, что хотя среди культурного гороха европейской селекции встречаются сорта с очень крупными семенами, «примитивные» формы культурного гороха по всему миру не отличаются по этому параметру от дикорастущих, а кормовые сорта даже имеют в среднем более мелкие семена. На ветвистость растения у основания главного стебля (считающуюся «диким») признаком влиял ранее известный ген *Rms1*. На высоту растения оказывали влияние Менделев ген *le* (карликовость, группа сцепления III) и ген бета-гидроксилазы гиббереллина 2, однако заметим, что культурные и дикие формы гороха имеют одинаковый диапазон изменчивости по этому признаку и по-видимому не отличаются по этому параметру и в среднем. Из четырех факторов, влияющих на время (узел) зацветания и выявленных в скрещиваниях дикого и культурного гороха, три совпали с ранее известными генами, влияющими на этот признак – *hr*, *e* и *le*; в скрещиваниях дикого и абиссинского гороха выявлен эффект локусов *sn*, *e*, *le* и *lf*.

Только один район генома, в группе сцепления III, был номинирован Н. Виденом (Weeden, 2007) на роль обладателя коадаптивного комплекса генов, вовлеченных в доместикацию, а именно генов *rms1* (ветвистость у главного стебля), *hr* (чувствительность

к фотопериоду) и QTL, влияющего на соотношение надземной и подземной биомассы, хотя последний эффект может оказаться плейотропным эффектом *hg*.

1.2.6.2. Дизруптивный отбор диких и культивируемых форм гороха в ситуации симпатрии

Среди признаков, формально относимых к доместикационному синдрому у зернобобовых культур, только два действительно участвовали в первоначальном событии доместикации гороха: раскрываемость бобов и фактура семенной оболочки. Н. Виден (Weeden, 2007) не придает значения второму признаку, но допускает увеличение размера семян на первой стадии доместикации, что нам представляется сомнительным. Раскрываемость бобов является ключевым признаком доместикации, бугорчатая оболочка семени свойственна большинству дикорастущих форм, а гладкая – подавляющему большинству культурных форм.

Раскрываемость бобов имеет решающее значение, так как она связана с противоположными стратегиями размножения диких и культурных форм: первые сталкиваются с проблемой расселения в природе и в данном случае решают ее баллистически, путем выстреливания семян, вторые «ожидают жнеца» (Waines, 1975; Ladizinsky, 1979; Weeden, 2007). Таким образом, растения с нераскрывающимися бобами не могут успешно распространяться в природе, а с раскрывающимися невозможно эффективно культивировать (по крайней мере с уборкой в зрелом состоянии). В данной ситуации действует дизруптивный отбор, направленный на сохранение диких форм дикими, а культурных – культурными (Smartt, 1990; Glémin, Battailon, 2012). Тем самым даже потомки от спонтанных скрещиваний между культурными и дикими формами (возможность которых не исключается) сразу существуют либо как дикие, либо как культурные растения, в зависимости от генотипа по *Dpo*, и пополняют собой соответствующие генофонды.

Это обстоятельство часто упускается исследователями, работающими с дикими и местными формами гороха на уровне образцов из генетических коллекций. Они допускают легкость интрогрессии и существование множества «полудиких форм». Так, на сайте

генетической коллекции гороха Центра Джона Иннеса (<http://data.jic.bbsrc.ac.uk/cgi-bin/germplasm/pisum/>) даже присутствует категория «semiwild». Действительно, в природе могут быть встречены и формы, не обладающие способностью к баллистической дисперсии семян, а именно культивируемые формы, случайно ушедшие из культуры, а также недавние продукты гибридизации диких и культурных форм. Так, Аббо с соавт. (Abbo et al., 2008) в ходе полевой работы в Израиле во вторичных местообитаниях неоднократно обнаруживали формально «*Pisum humile*», неотличимый от возделываемых кормовых форм, и потому вообще воздержались от того, чтобы рассматривать их в качестве диких. По всей видимости, популяции «полудиких» форм гороха существуют лишь в качестве временных. В любом случае они не должны включаться в состав собственно дикорастущих форм и анализироваться вместе с ними.

Сделаем оговорку, что сказанное о «полудиких формах» не относится к низкорослым формам гороха, существующим на Ближнем Востоке (как минимум в Израиле) в качестве сорняков в посевах злаков. Образец 712 (=L100) из Израиля, собранный в качестве сорняка в посевах ячменя, и 711, 712 и 713, собранные по обочинам дорог и полей, обладают раскрывающимися бобами. Действительно, ввиду совершенно иной формы и массы семян, сорные формы гороха не обладают «аэродинамической мимикрией», их семена не обмолачиваются вместе с семенами злаков; наоборот, их популяции поддерживаются за счет баллистической дисперсии семян, как и популяции совершенно дикого гороха.

Полевые исследователи как правило хорошо осведомлены о принципиальной разнице дикого и культурного гороха. Показательно высказывание Л.И. Говорова (1933: 375-376) относительно гороха Турции: «Не останавливаясь на описании диких видов, все же является естественным вопрос, не влияли ли дикие виды гороха, дошедшие до наших дней, как реликты, на формообразовательный процесс культурных форм гороха. На это мы даем вполне отрицательный ответ. Мы не имеем прямых доказательств в наличии хотя бы переходных форм от дикарей к культурным формам. Таких промежуточных форм по комплексу признаков в Анатолии нет. Предположение о возможном исчезновении этих форм, их «вымывании» в течение многих веков или геологических эпох, остается недоказуемым.»

1.2.6.3. Основные мировые коллекции генетических ресурсов гороха

Генетическое разнообразие гороха, в том числе дикорастущих его форм, аккумулировано в нескольких мировых коллекциях. Приводим список тех из них, в которых год хранилось более тысячи образцов гороха, в порядке убывания этого количества, с указанием его, стандартных аббревиатур коллекций согласно работе Smýkal et al. (2008), а также стандартных префиксов образцов из этих коллекций:

1. ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия (VIR; в России образцы из данного института имеют префиксы к-, в международной литературе – как правило VIR), 6790 образцов. Коллекция гороха и других зернобобовых ВИР охарактеризована в недавнем обзоре Вишняковой с соавт. (2016).
2. Australian Temperate Field Crop Collection, Хоршан, Австралия (ATFC, образцы имеют префикс АТС), 6567 образцов.
3. International Centre for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA, образцы имеют префикс IG), Алеппо, Сирия, 6105 образцов.
4. Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, Гатерслебен, Германия (GAT; образцы из этой коллекции имеют префикс IPK либо префикс отражает название культуры, в нашем случае это PIS), 5336 образцов.
5. Istituto del Germoplasma, Бари, Италия (BAR), 4297 образцов.
6. Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Пекин, Китай (ICAR), 3837 образцов.
7. Plant Germplasm Introduction and Testing Research Station, Пуллман, США (USDA; долгое время образцы из этой коллекции имели префикс PI, от Pullman Institute; в настоящее время они имеют префиксы WG), 3710 образцов.
8. John Innes Centre, Норидж, Великобритания (JIC, образцы имеют префикс JI), 3194 образцов.
9. Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin - Państwowy Instytut Badawczy, Блоне, Польша (WTD, образцы имеют префикс WT-), 2899 образцов.

10. Институт по растителни генетични ресурси «К. Малков», Садово, Болгария (SAD), 2787 образцов.
11. NordGen, Nordic Genetic Resource Centre, Алнарп, Швеция (NGB; в литературе образцы из этой коллекции имеют префиксы NGB или WL – по названию в прошлом отдельной коллекции Вейсбулльхолм в Ландскроне - Weisbullholm, Landscrona), 2724 образца.
12. INRA, Station de génétique et d'amélioration des plantes, Дижон, Франция (INRA), 1891 образец.
13. Институт рослинництва ім В.Я. Юр'єва НААН, Харьков, Украина (UKR), 1671 образец.
14. AGRITEC Research, Breeding and Services Ltd., Шумперк, Чехия (CZE), 1273 образца.
15. Institute for Agrobotany, Тапиосекле, Венгрия (HUN), 1188 образцов.
16. Centre for Genetic Resources, Вагенинген, Нидерланды (CGN), 1008 образцов.

Следует заметить, что из 16 приведенных коллекций лишь девять (причем не всегда самые представительные по части гороха) фигурируют в исследованиях генетического разнообразия гороха за последние десятилетия, а именно JIC, VIP, ICARDA, USDA, GAT, NGB, ATFC, WTD, AGRITEC (перечислены приблизительно в порядке убывания частоты вовлеченности в исследования).

Одной из самых молодых, богатых образцами дикого гороха и интересных мировых коллекций до недавнего времени являлся ICARDA, образованный в 1983 г. со штаб-квартирой в Алеппо, Сирия. Коллекция постоянно пополнялась экспедициями, в том числе в регионы Передней Азии и Эфиопии, труднодоступные для западных исследователей, и насчитывала более 150 000 образцов, 65% которых представляли собой местные формы. В отношении таких культур как ячмень, бобы и чечевица это была самая большая коллекция в мире. В связи с началом военных действий в Сирии коллекция была частично эвакуирована в Ливан, Тунис и Египет. В 2014 г. 80% коллекции было продублировано в холодном хранилище, организованном совместно Global Crop Diversity Trust (GCDDT), Nordic Genetic Resource Center и Правительством Норвегии в г. Свалбард на Шпицбергене (ICARDA Press Release, 2014). Согласно личному сообщению Ханеса Демпевольфа (GCDDT) от 15.10.2014, в этой части коллекции содержалось 3796 из более чем 6 500 образцов, имевшихся в коллекции ICARDA. По наблюдениям нашим и Петра Смыкала (личное

сообщение), в коллекции гороха ICARDA наблюдается определенная путаница этикеток и/или семенного материала – некоторые генотипы заведомо не могут происходить из указанных мест. Поэтому данные и материалы из этой коллекции следует использовать с осторожностью. Прискорбные события последних двух лет явно не прибавили данной коллекции надежности.

При внушительных цифрах общего количества образцов гороха в мировых коллекциях, приведенных выше, общее количество образцов дикорастущих форм гороха удручающе мало. Smukal et al. (2010) оценивают его всего в 103 образца. Однако и эта цифра завышена в связи с неверной классификацией некоторых образцов в качестве диких, что особенно часто имело место в отдаленном прошлом. Мы имели возможность убедиться в этом в ходе «проверки на дикость» исследуемых нами образцов (см. главу 5.2). Таково же мнение, которого придерживается и известный специалист по генетическому разнообразию гороха Петр Смыкал (личное сообщение).

1.2.6.4. «Темная материя»: отсутствие материала из восточной части ареала гороха

Анализ информации о генетическом материале гороха, хранящемся в мировых коллекциях приводит к печальному выводу о том, что около трети естественного географического ареала рода *Pisum*, детально охарактеризованного в предыдущей главе, никак не представлено в мировых коллекциях. В них полностью отсутствуют дикорастущие формы гороха из таких стран и регионов, как Египет, весь Аравийский полуостров, российская часть Кавказа, Туркменистан. Огромная часть ареала дикого гороха находится на территории Ирана, откуда в мировых коллекциях имеется всего три образца, из них один, JI2105 (окрестности Исфахана) на поверку не оказался диким горохом (Kosterin et al., 2010), а два других нами не исследовались.

Несомненно, что генетическое разнообразие дикого гороха из восточной трети его ареала представляет как большую научную ценность, поскольку он необходим для адекватной реконструкции истории и современной структуры рода в целом и дикорастущего подвида *P. sativum* subsp. *elatius* в частности, так и огромную практическую

ценность как исходный материал для селекции. Необходимо в кратчайшие сроки организовать сбор такого материала в природе, пока существующие ныне популяции не исчезли.

В некоторых регионах время уже упущено. Так, по мнению П. Смыкала (личное сообщение), дикий горох исчез из многих местообитаний в Саудовской Аравии, известных по старым гербарным сборам из-за аридизации климата вследствие глобального потепления: в настоящее время соответствующие долины заняты пустынными сообществами, исключая существование дикого гороха.

1.2.6.5. Иллюзорное изобилие материала: проблема дублирования образцов в мировых коллекциях

Мировые коллекции активно обмениваются материалом. Как следствие, генетический материал в коллекциях частично дублируется, и общее количество хранящихся в них уникальных образцов не может быть оценено путем суммации количества образцов, хранящихся в каждой из них (приведены в разделе 1.2.6.3). Оценить его затруднительно, поскольку степень дублирования образцов в разных коллекциях выяснить непросто. Каждый вовлеченный в обмен образец изначально имеет уникальный номер согласно номенклатуре коллекции-донора и получает уникальный номер согласно номенклатуре коллекции-акцептора. Информация об обозначении образца в коллекции-доноре сохраняется в его описании в коллекции-акцепторе, но не всегда доступна, в частности не всегда доступна online. (Хорошим примером доступности информации по всем образцам является online-каталог коллекции гороха JIC: <http://data.jic.bbsrc.ac.uk/cgi-bin/germplasm/pisum/>; online-каталог в прошлом имела и коллекция ICARDA, но в настоящее время он недоступен). Не исключено, что какие-то образцы после серии обменов даже вторично вернулись в свою изначальную коллекцию.

Далеко не все коллекции имеют оригинальные образцы, полученные непосредственно в ходе полевых или селекционных исследований, а не из других коллекций. Наибольшее количество оригинальных образцов дикого гороха по-видимому имеют коллекции ICARDA (в соответствии с первоначальной целью этой коллекции – сбора образцов из аридных

регионов) и ВИР (благодаря экспедиционной активности Н.И. Вавилова и его коллег), интересные образцы, собраны в ходе турецких экспедиций Фреда Мюльбауера для коллекции USDA, несомненно оригинальные образцы имеются в коллекции GAT. Судя по всему, весь материал по дикорастущему гороху в коллекциях ATC и WTD получен из коллекций других учреждений.

В отдельных лабораториях или у отдельных ученых образцы гороха имеют свою собственную номенклатуру и нумерацию. Так, образцы, с которыми работали Бен-Зеев и Зохари (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973) имели трехзначные номера без префиксов. Образцы коллекции Лампрехта имели префиксы L. Такой же префикс (несомненно, всего лишь означающий «line» – «линия») и независимую нумерацию имели и образцы в коллекции (личное сообщение Н. Видена); некоторые образцы под этими номерами, например L99, L100, L101 активно упоминались в наших работах (Bogdanova et al., 2014; Kosterin, Bogdanova, 2008; Kosterin et al., 2010; Zaytseva et al., 2012; 2015), включая данный текст; причем это были как раз образцы из работы Бен-Зеев и Зохари, имевшие иные трехзначные номера.

В таблице 1 к нашей статье (Kosterin, Bogdanova, 2008) мы приведем синонимичные обозначения одних и тех же образцов в разных коллекциях. Оказалось, что некоторые образцы имеют до шести синонимичных номеров (например, образец 723 = JI3271 = PI1273209 = 460060 = L106 = 82-20). Однако за недостатком информации об обменах между коллекциями такая работа вряд ли может быть проведена с исчерпывающей полнотой.

1.2.6.6. «Таксономия на веру»: некритическое использование первоначального определения образцов

Генетические коллекции культурных растений и их сородичей существуют более столетия; в нашей стране их формирование связано с именами Р.Э. Регеля и Н.И. Вавилова (Гончаров, 2014). За это время таксономия растений в целом и рода *Pisum* в частности многократно менялась, постоянно оставаясь проблематичной, как это обсуждается в главе 3. Различные исследователи придерживались разных концепций таксономических

категорий разного ранга (рода, вида, подвида и пр.) в целом и трактовок объема и ранга отдельных таксонов в частности. Не все коллекции поддерживаются специалистами по данной культуре, как это было в ВИР, где коллекция гороха поддерживалась Л.И. Говоровым и Р.Х. Макашевой, поэтому поступившие образцы как правило регистрируются с определением, принадлежащим донору. Но даже в случае когда коллекция поддерживается специалистами, сменяющие друг друга кураторы могут придерживаться разной таксономической системы. Таким образом, в большинстве случаев имеет место таксономический разнобой. Так, в коллекции ЛС имеется множество образцов, обозначенных как *Pisum humile* несмотря на то, что 1) видовой статус подразумеваемого таксона не выдерживает критики и 2) название *P. humile* незаконно, так как является младшим синонимом названия (см. главу 3). В той же коллекции находим и вид *Pisum tibeticum* (без автора таксона), никем в наше время в качестве вида не признаваемый.

Такое положение дел терпимо, когда образцы используются для ботанической систематики или селекции – в первом случае исследователь сам в курсе таксономии и ее проблем, во втором случае точное определение с практической точки зрения не так уж важно, притом что любая существующая таксономическая система не помогает даже предсказать репродуктивную совместимость образцов (см. главу 5).

В то же время совершенно другая ситуация складывается при попытках изучения генетической структуры рода и филогенетической реконструкции различных ее представителей. С одной стороны, в таких исследованиях используются современные молекулярные методы, что предполагает выход на более высокий уровень исследований. С другой стороны, эти исследования как правило проводят исследователи, имеющие квалификацию генетиков, молекулярных биологов и информатиков. Обычно они не очень хорошо ориентируются в таксономии, в частности не догадываются о ее плачевном состоянии в случае рода Горох, и предполагают, что они делают свою часть работы, а таксономисты сделали свою. Как следствие, генетический материал вовлекается в молекулярные исследования вместе с его оригинальной таксономической атрибуцией в генетических коллекциях, то есть в одно и то же исследование вовлекается материал, определенный в соответствии с самыми разными таксономическими концепциями, существовавшими за последнюю сотню лет. В результате на молекулярных

реконструкциях филогенетического древа мы можем одновременно видеть таксоны *P. humile* (незаконный омоним), *P. sativum* subsp. *syriacum* (синоним предыдущего, но в ранге подвида), *P. elatius* (как правило в узком, генетически необоснованном понимании «любой дикий горох высокого габитуса») и даже «*P. tibeticum*».

Приведем несколько примеров. Тарьян с коллегами (Tar'an et al., 2005) охарактеризовали исследуемый ими в отношении RAPD-, SSR- и inter-SSR-маркеров материал как «65 образцов *Pisum sativum* и 21 образец дикорастущих подвидов (subsp.) *Pisum* - *abyssinicum*, *asiaticum*, *elatius*, *transcausicum* и var. *arvense*!» (Следует заметить, что в их анализе «дикие» образцы кластеризовались отдельно от культурных форм (cultivated varieties) из Канады, среди которых, по-видимому, были лишь достаточно родственные формы европейской селекции.) Насири с коллегами (Nasiri et al., 2009) приняли таксономию, принятую в коллекции ICARDA, откуда они получили свой материал доя гороха. В этой системе в составе рода *Pisum* разумно признаются только два вида, *P. fulvum* и *P. sativum*; в то же время в составе последнего не критически сохраняется целых семь подвидов: *thebaicum* (из России и Индии!), *abyssinicum*, *asiaticum*, *arvense*, *elatius*, *transcausicus* и *sativum*. В составе подвида *P. sativum* subsp. *arvense*, по-видимому, объединялся весь культурный, но не сортовой материал (из Алжира, Эфиопии, Таджикистана, Ирана, Индии), а в составе *P. sativum* subsp. *sativum* – весь сортовой материал (из Германии, Польши, России и Ирана).

Впрочем, некритическое смешение продуктов разных таксономических систем составляет гораздо меньшую проблему, нежели неверная трактовка материала в качестве дикого либо культивируемого, отнюдь не редкая в случае гороха (см. разделы 1.2.6.1 и 2.3). Ошибки такого рода особо критичны для филогеографических исследований. В случае дикого гороха речь идет о генотипах, существовавших в том или ином регионе задолго до возникновения земледелия – возможно сотни тысяч, если не миллионы лет, тогда как культурные генотипы в любом районе Земного шара появились не ранее нескольких тысяч, а то и сотен лет, причем везде, за исключением районов первоначальной доместикиции, они были привнесены человеком извне. Некоторого количества таких ошибок не избежали и мы в наших более ранних филогеографических реконструкциях (Kosterin, Bogdanova, 2008; Kosterin et al., 2010), доверившись сопроводительной информации, полученной из

генетических коллекций, прежде всего ВИР и NGB. Весь наличный материал, полученный в качестве дикорастущего гороха, был нами высажен в теплице ИЦиГ СО РАН и перепроверен только в 2015-2016 г. (см. раздел 2.3).

Таким образом, вся мощь современных молекулярных подходов оказывается потраченной впустую, если материал, вовлекаемый в подобные исследования, не проходит стадии тщательной ботанической верификации.

1.2.6.7. Контаминация и интрогрессия при воспроизводстве коллекций

Загрязнение генетического материала в коллекциях может носить двоякий характер:

- 1) примесь чужеродного генетического материала вследствие механического засорения при высевах, сборе, пакетировании и хранении семян и
- 2) интрогрессия вследствие перекрестного опыления с чужеродным растительным материалом при воспроизводстве коллекций.

Загрязнение первого рода представляется менее вероятным, поскольку предполагает небрежное отношение к хранению и воспроизводству материала со стороны человека, тогда как загрязнение второго рода возникает как в связи с человеческим фактором (недостаточные меры по исключению перекреста), так и спонтанно (при помощи природных опыляющих агентов). Горох принято считать самоопылителем, поэтому его цветки как правило не изолируют при репродукции коллекций. Однако, несмотря на самоопыление, горох сохраняет способность к энтомофильному перекрестному опылению посредством пчелиных, прежде всего шмелей, с определенной вероятностью происходит и у гороха при выращивании в открытом грунте (Loenning, 1984; Bogdanova, Berdnikov, 2000). В наших опытах в полевых условиях результатом переопыления оказывается до 1% семян (неопубликованные данные).

С контаминацией генетического материала гороха, полученного из мировых коллекций, сталкивались использующие его исследователи, но такие данные редко публикуются и масштабы проблемы оценить достаточно трудно. По нашим данным (неопубл.) 6 из 10 образцов дикорастущего гороха (*P. sativum* subsp. *elatius* s.l.), полученных в 80е годы прошлого века из ВИР оказались гетерогенными, причем характер

примеси позволял предположить загрязнение генетическим материалом культурного гороха. Образец АТС3274 из коллекции Хобарт, Австралия, обозначенный как синоним VIR1851, не совпадал по фенотипу с этим образцом, полученным из ВИР.

Очистка образцов от примесей чужеродного генетического материала требует детальных данных о номинальном фенотипе каждого образца, которые в большинстве случаев попросту отсутствуют, и внимательного анализа фенотипа семян и растений; как правило, оно не проводится. В результате чужеродный генетический материал может полностью вытеснить исходный при многократном пересеве образца. Исследователь, производящий сравнительный анализ многих образцов гороха, как правило, не располагает информацией об их номинальном фенотипе и берет в анализ растения, выбранные случайным образом, причем в случае молекулярных исследований они даже не выращиваются до взрослого состояния, а ДНК выделяется из этиолированных проростков. Таким образом, контаминация и интрогрессия являются дополнительными источниками ошибок при исследовании генетической изменчивости гороха, и особенно – его дикорастущих представителей.

1.2.7. Репродуктивные барьеры в роде *Pisum*: хромосомные перестройки и/или конфликт ядра и цитоплазмы?

Репродуктивным барьерам в отдаленных скрещиваниях внутри рода *Pisum* посвящена обширная литература, ценность которой снижается тем, что многие авторы, особенно ранние, идентифицировали скрещиваемый материал путем отнесения его к тем или иным ботаническим таксонам, то есть, в терминах О.Э. Костерина и В.С. Богдановой (Kosterin, Bogdanova, 2015), попадали в «таксономическую ловушку». Выше мы убедились, что таксоны внутри рода горох весьма условны и обладают «малой предсказательной силой», т.е. весьма гетерогенны, часто не отражают подлинного филогенетического родства включенных в них форм, а их состав и объем сильно различается у разных авторов, так что свойства того или иного образца сложно предсказать на основании свойств другого образца из того же таксона. Как минимум в случае дикорастущих форм, только указание конкретного образца делает результаты скрещиваний воспроизводимыми (с точностью до

гетерогенности и контаминации некоторых образцов). В связи с этими обстоятельствами мы воздержимся от детального анализа обширной литературы о репродуктивных барьерах в скрещиваниях гороха (тем более что наша экспериментальная часть посвящена этому вопросу в систематической форме), отметим лишь самые общие моменты.

Некоторые таксоны гороха все же достаточно гомогенны в отношении репродуктивной совместимости, и принадлежность к ним имеет определенную прогностическую силу.

Так, скрещивания внутри культурного подвида *P. sativum* subsp. *sativum* как правило не осложнены репродуктивными барьерами – пыльца и семяпочки полностью фертильны, реципрокные гибриды неразличимы и часто демонстрируют гибридную силу. Исключением здесь являются генотипы, имеющие реципрокные транслокации; у гибридов F_1 от скрещиваний между представителями культурного подвида, различающимися одной реципрокной транслокацией, с хорошей точностью нежизнеспособны половина пыльцевых зерен и семяпочек (Lamm, 1951). Создан набор линий-носителей реципрокных транслокаций, в сумме затрагивающих все хромосомы гороха (Lamm, Miravalle, 1959).

Скрещивания между видами гороха, признаваемыми в системе Макстеда и Амброуза (Maxsted, Ambrose, 2001) неизменно демонстрируют серьезные репродуктивные барьеры. Они могут выражаться в низкой завязываемости гибридных семян (или невозможности их получения) и/или во в той или иной степени выраженности мужской и/или женской стерильности. Барьеры второго типа несомненно являются постзиготическими, относительно же низкой завязываемости семян подобный вывод сделать сложно, поскольку семя может не развиваться как вследствие отсутствия оплодотворения, так и вследствие нарушения эмбриогенеза у зиготы. (Последнее нам представляется более вроятным.)

В скрещиваниях между *P. abyssinicum* и *P. sativum* выход семян гибридов первого поколения весьма невелик, а сами эти гибриды – крайне низко фертильны. Низкая фертильность гибридов может быть также списана на транслокации, однако Коничелла и Эррико (Conicella, Errico, 1990) нашли реципрокную транслокацию относительно нормального кариотипа культурного гороха, затрагивающую хромосомы 1 и 4 по номенклатуре Р. Ламма (Lamm, Miravalle, 1959), только у одной из двух исследованных ими линий *P. abyssinicum*. Низкий выход семян в скрещиваниях с посевным горохам линии

абиссинского гороха, не имеющей по сравнению с ним транслокаций, должен иметь иное объяснение.

Гибридизация между *P. fulvum* и *P. sativum* также затруднена. Считается, что гибриды образуются лишь если *P. sativum* выступает в качестве материнского родителя (Дрозд, 1965; Errico et al., 1991, 1996), что свидетельствует о вовлечении в данный случай репродуктивного барьера конфликта ядра и цитоплазмы (Errico et al., 1991, 1996). Нехам Бен-Зеев и Даниэль Зохари (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973) скрещивали *P. fulvum* с дикими и культурными представителями *P. sativum* (в нашем современном понимании). Скрещивания *P. fulvum* × *P. sativum* subsp. *sativum* давали лишь невыполненные abortивные семена. Скрещивания в этом направлении (с *P. fulvum* в качестве материнского растения) с дикими формами *P. sativum* были несколько более успешны. Авторы отмечали хорошую завязываемость семян в направлениях *P. fulvum* × «*P. elatius*» и *P. fulvum* × «*P. humile*», но эти семена давали угнетенные растения, погибавшие через несколько недель. Однако в тепличных условиях им удалось преодолеть эту критическую стадию и дорастить несколько гибридных растений *P. fulvum* × «*P. humile*» до взрослого состояния; впрочем, о мейозе и фертильности этих растений ничего не сообщается.

Гибриды первого поколения *P. sativum* subsp. *sativum* × *P. fulvum* отличались высокой жизнеспособностью, но очень низкой фертильностью пыльцы – 25-30% и семян – 25-28% (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973). Это объяснялось различием кариотипа этих таксонов по двум реципрокным транслокациям, затрагивающих хромосомы 3-5 и 1-7 (Errico et al., 1991). Кроме того, на стадии проростков эти растения характеризовались как угнетенные и проявляющие аномалии хлорофилльной окраски, однако в дальнейшем их рост нормализовывался (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973). Однако, Бен-Зеев и Зохари (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973) наблюдали на метафазных пластинках первого деления мейоза материнских клеток пыльцы в среднем 5,0-5,2 бивалента (с преобладанием «палочковидных» бивалентов, то есть с количеством хиазм, недостаточным для фиксации обоих плеч), 0,5-0,6 унивалентов, 0,2-0,3 тривалента и 0,6 тетравалента, что более соответствует одной реципрокной транслокации; впрочем, «часто рядом с квадривалентом располагались два унивалента». Гетерозиготность по двум реципрокным транслокациям должна приводить к фертильности пыльцы на уровне 30-35% (Lamm, 1951), и это очень хорошо соответствует

экспериментальным данным. Также хромосома 5 *P. fulvum* несет дополнительный, третий ядрышковый организатор (перетяжку), отсутствующий у *P. sativum*, причем это никак не связано с упомянутыми двумя реципрокными транслокациями, так как ни одна из них не вовлекает одновременно хромосому 5 и одну из спутничных хромосом у обоих видов (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973; Errico et al., 1996; De Martino et al., 2000).

Любопытно, что для доказательства гибридной природы растений, полученных от скрещивания *P. sativum* subsp. *sativum* × *P. fulvum*, Очатт с соавторами (Ochatt et al., 2004) привлекли комплекс таких продвинутых технологий как изоферменты, проточная цитометрия, GISH-технологии и рестриктный анализ амплификатов спейсера ITS. И это притом, что подобные гибриды всегда имеют яркий узнаваемый фенотип и проявляют доминантные признаки обоих родителей (см. раздел 5.3.3).

Кроме того, путем бэкроссирования в ряду поколений гибридов *P. fulvum* и *P. sativum* с использованием последнего в качестве рекуррентного родителя и сохранением в кариотипе спутничных хромосом *P. fulvum*, вплоть до элиминации транслокаций, итальянская группа цитогенетиков обнаружила, что выживают лишь зиготы, несущие спутник хромосомы 7 от *P. fulvum* (в одной или двух дозах) и лишь при наличии в кариотипе спутника хромосомы 5 также от *P. fulvum* (Errico et al., 1996; De Martino et al., 2000). Фактически некий фактор, содержащийся в спутнике *P. fulvum* от хромосомы 5, является супрессором доминантного летального эффекта фактора, присутствующего в спутнике хромосомы 7 от *P. fulvum*, на фоне цитоплазмы и большей части ядерного генома от *P. sativum* subsp. *sativum*. Также можно сказать, что соответствующий участок хромосомы 5 культурного гороха (не являющийся спутником ввиду отсутствия у культурного гороха ядрышкового организатора на этой хромосоме) и спутник хромосомы 7 *P. fulvum* образуют синтетическую леталь.

Гибриды первого поколения от опыления дикорастущих форм *P. sativum* пыльцой *P. fulvum* показывают фертильность пыльцы на уровне 31-50%, а семян – 23-55% (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973); большой разброс показателей может быть объяснен кариотипическим разнообразием дикорастущих форм *P. sativum*, некоторые из которых могут иметь транслокацию, общую с *P. fulvum* (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973).

Труднее анализировать литературу, касающуюся репродуктивных барьеров внутри вида *Pisum sativum* sensu lato в понимании Макстада и Амброуза (Maxsted, Ambrose, 2001) – во-первых в связи с его огромной генетической гетерогенностью (см. раздел 1.2.2.3), во-вторых в связи с неустойчивостью таксономии диких форм *P. sativum*, что регулярно приводило к недопониманию между исследователями. Так, большинство авторов оперировали таксонами «*P. elatius*» и «*P. humile*» в ранге видов. В связи с этим обстоятельством рассмотрим здесь лишь наиболее важные работы.

Среди первых исследователей репродуктивных барьеров внутри *P. sativum* (в современном понимании этого вида) был А.Н. Лутков (1930), который скрещивал белоцветковый культурный горох с «*Pisum humile* Boiss.». В его работе номера образцов не поименованы. «*P. humile*» характеризовался зубчатыми листочками, отсутствием антоцианового кольца на прилистниках, серо-коричневой с черными пятнами бугорчатой семенной кожурой, то есть был, по всей видимости, близок к образцам «южного *humile*» из Израиля, например, к образцу 712 по Zohary, Ben-Ze'ev (1973) (= L100). При использовании «*P. humile*» в качестве материнского растения, Луткову удалось получить всего четыре семени F₁ на 3 скрещенных цветка, против 44 семян на 12 скрещенных цветков в реципрокном направлении. Гибриды F₁ характеризовались 40-41% фертильностью пыльцы и давали в среднем 0,95 семян на боб, причем 6 растений вообще не дали семян (о значениях фертильности пыльцы у этих 6 растений не упоминается). Не упоминается также и о каких-либо различиях реципрокных гибридов. К сожалению, потомство F₂ и F₃ было получено только в направлении скрещивания «*P. humile*» × *P. sativum*, гибриды сильно и ожидаемо варьировали по фенотипу и семенной фертильности, вплоть до полной стерильности. Среди 193 гибридов F₃ выщепилось 3 нежизнеспособных альбиноса, 14 были сильно угнетены, «выглядели деформированными» и вскоре погибли, а 5 растений были «полуэтиолированные, с различного рода неправильностями в развитии и проявлении признаков растений, листочки и прицветники которых иногда имели совершенно несвойственную *Pisum* ланцетовидную форму с ясно выраженным антоцианом по краям. Высота их не превышала 20-25 см. Часто листочки не развивались вовсе, и тогда такие растения образовывали совершенно голые стебли, имевшие вид плетей, без листьев, прилистников и усиков» (Лутков, 1930: 356-357). Мейоз всех гибридов проходил без каких-

либо нарушений. Поскольку такой фенотип не проявлялся среди гибридов F_1 , мы можем заключить, что Лутков столкнулся с конфликтом генетических программ обоих родителей, проявляющийся в тех случаях, когда аллель какого-то гена (каких-то генов), полученный от одного родителя, оказывались в гомозиготе, при условии присутствия в генотипе аллеля какого-то другого, взаимодействующего с первым, гена (генов), полученного от другого родителя. Поскольку реципрокное скрещивание не изучалось, остается неясным, принимали ли участие в этом конфликте гены, кодируемые геномами органелл. Нельзя, однако, не обратить внимание, что описываемые Лутковым аномальные фенотипы, выщеплявшиеся среди гибридов F_3 , полностью соответствуют фенотипам всех гибридов первого поколения от скрещиваний $VIR320 \times P. sativum$ subsp. *sativum* (но не реципрокных гибридов!), изучавшихся В.С. Богдановой с соавторами (Bogdanova, Berdnikov, 2001; Богданова, Костерин, 2006).

Обстоятельное, в полном смысле классическое исследование по скрещиванию друг с другом (а также с *P. fulvum*) дикорастущих и культурных форм, ныне относимых к *P. sativum* s.l., проделали Н. Бен-Зеев и Д. Зохари (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973). Авторы оперировали названиями «*P. elatius*» и «*P. humile*», хотя и сделали в конце вывод, что они должны быть отнесены к тому же биологическому виду, что и культурный горох. В этой работе вовлеченные в него таксоны гороха скрещивались по принципу «все со всеми», однако данный принцип не применялся ко всем образцам, которые считались всего лишь представителями своих таксонов, поэтому не все образцы были скрещены друг с другом и не во всех направлениях. Анализировались габитус, мейоз и фертильность реципрокных гибридов первого поколения.

В этом исследовании прежде всего вскрылась гетерогенность так называемого «*P. humile*», что потребовало от авторов разделение его на два неформальных класса вне ботанической номенклатуры – «северный *humile*», не имеющий репродуктивных барьеров с культурным горохом, и «южный *humile*», гибриды которого с культурным горохом демонстрировали определенную степень стерильности, а отсутствие репродуктивных барьеров наблюдалось как раз-таки в скрещиваниях с «*P. elatius*». В профазе мейоза материнских клеток пыльцы у гибридов первого поколения от скрещиваний этих двух типов «*humile*» между собой (а именно скрещивания образцов 714 \times 716 и 716 \times 711, где

711 и 714 представляли «южный *humile*», а 716 = Л1794 – «северный *humile*») в среднем наблюдалось 5 бивалентов, 1,2 унивалента, 0,3 тривалента и 0,4-0,5 квадривалентов, то есть 5 пар хромосом конъюгировали нормально, фертильность пыльцы составляла около 45%. Эти данные позволяли предположить различия по одной реципрокной транслокации, тем более что соотношение коротких плеч у хромосом 4 и 6 у «южного *humile*» отличалась от стандартной для гороха. В полном соответствии с вышеприведенными результатами, скрещивания «северного *humile*» с *P. sativum* subsp. *sativum* были полностью фертильны в обоих направлениях, а в скрещиваниях с ним «южного *humile*» наблюдались признаки реципрокной транслокации – достаточно стабильное присутствие кольцеобразного тетравалента в мейозе (с частотой 0,6-0,8, при частоте унивалентов 0,2-0,6 и тривалентов 0-0,2), фертильность пыльцы 36-58% и фертильность семян 27-30%. О различиях в реципрокных скрещиваниях не сообщается, однако наименьшие значения фертильности пыльцы – 36-41% наблюдались в тех двух скрещиваниях, где «южный *humile*» выступал в роли материнского растения.

Исследованные Бен-Зеев и Зохари образцы «*P. elatius*» (все - из Израиля) были полностью репродуктивно совместимы между собой. Гибриды F₁ с «южным *humile*» имели нормальный мейоз, однако фертильность пыльцы варьировала на уровне 47-90%, причем в реципрокных скрещиваниях всегда была ниже у гибридов от скрещиваний, где «южный *humile*» был материнским растением; фертильность семян варьировала в пределах 39-75%. Таким образом, «*P. elatius*» имели тот же самый кариотип, что и «южный *humile*», однако в скрещиваниях между ними обнаруживался некий дополнительный репродуктивный барьер, снижающий фертильность и зависящий от направления скрещиваний. Скрещивания «*P. elatius*» с культурным горохом также свидетельствовали о наличии одной транслокации – квадривалент в мужском мейозе присутствовал с частотой 0,7-0,9 (униваленты – с частотой 0,2-0,3%), фертильность пыльцы находилась на уровне 48-67%.

Бен-Зеев и Зохари (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973) пришли к выводу, что «южный *humile*» и «*P. elatius*» принадлежат к одному кариологическому классу, отличающемуся от *P. sativum* subsp. *sativum* одной реципрокной транслокацией между хромосомами 4 и 6 (обратим внимание, что *P. fulvum* имеет другие транслокации по сравнению с *P. sativum* subsp.

sativum). Мы видим, что эти два класса не совпадали с традиционным таксономическим разделением на два таксона, *elatius* и *humile*, на основе габитуса.

Итак, генетическая интерпретация снижения фертильности гибридов в отдаленных скрещиваниях гороха зарубежными авторами сводилась преимущественно к хромосомным перестройкам, а именно реципрокным транслокациям. В частности, Бен-Зеев и Зохари (Ben'Ze'ev, Zohary, 1973) искали исключительно цитогенетические причины репродуктивных барьеров, подсчитывая тетраваленты, триваленты и униваленты в мейозе. Исключение составляет лишь признание очевидной роли цитоплазмы в трудностях получения гибридов в направлении *P. fulvum* × *P. sativum* subsp. *sativum* (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973; Errico et al., 1996; De Martino et al., 2000), констатированное, в частности, и самими Зохари и Бен-Зеев. Однако поскольку эти авторы изучали гибриды в цитогенетическом отношении и по определению не могли проанализировать мейоз у несуществующих гибридов, данное явление не привлекло их внимания. Кроме того, выявлялись отдельные случаи конфликта генетических программ – А.Н. Лутков (1930) наблюдал аномалии развития у гибридов третьего поколения, а итальянская группа цитогенетиков (Errico et al., 1996; De Martino et al., 2000) выявила синтетическую леталь, состоящую из двух факторов, связанных участками хромосомами 5 и 7, полученных от разных родителей, *P. sativum* subsp. *sativum* и *P. fulvum*, на фоне цитоплазмы и большей части ядерного генома от *P. sativum* subsp. *sativum* (см. выше).

Совсем другое представление о наиболее распространенной причине низкой завязываемости гибридных семян и фертильности гибридов первого поколения в отдаленных скрещиваниях гороха следует из работ В.С. Богдановой с коллегами: открыв (Bogdanova, Verdnikov, 2001) и изучив (Богданова, Костерин, 2006; Bogdanova, 2007) феноменологию конфликта ядра и цитоплазмы в скрещиваниях отдельно взятой линии *P. sativum* subsp. *elatius* s.l., VIR320, с культурным горохом и проведя генетический анализ этого феномена (Bogdanova et al., 2009; 2012; 2014; Богданова, Галиева 2009; Ядрихинский, Богданова, 2011), им удалось связать данный конфликт с несовместимостью друг с другом некоторых субъединицы важного ферментного комплекса ацетил-СоА-карбоксилазы, кодируемой в пластидном геноме, с некоторыми из его субъединиц, кодируемых в ядре (Bogdanova et al., 2015). Оказалось, что за снижением фертильности пыльцы во многих

других отдаленных скрещиваниях гороха, вовлекающих *P. sativum* subsp. *sativum*, *P. sativum* subsp. *elatius* s.l. и *P. abyssinicum*, также стоит конфликт ядра и цитоплазмы той же самой природы (Ядрихинский, Богданова, 2011; Bogdanova et al., 2014). Он же, по-видимому, ответственен и за то, что зародыш гибридных семян в направлении скрещивания *P. fulvum* × *P. sativum* subsp. *sativum* в большинстве случаев не развивается (Bogdanova, Kosterin, 2007).

Кроме того, в скрещиваниях культурного подвида с популярным у исследователей дикорастущим образцом П1794 (так называемого «северного *humile*») с Голанских высот были выявлены признаки «ядерно-ядерного конфликта», то есть конфликта генетических программ вовлеченных в скрещивание генотипов (Bogdanova et al., 2014).

Судя по всему, в репродуктивные барьеры в отдаленных скрещиваниях внутри рода *Pisum* вносят свой вклад как хромосомные перестройки, прежде всего транслокации, так и конфликт ядра и цитоплазмы, причем роль первых ранее переоценивалась, а второго – недооценивалась. Эти два класса барьеров различаются прежде всего по симметрии (первый) либо асимметрии (второй) фенотипических проявлений репродуктивной несовместимости в реципрокных направлениях скрещиваний, однако при их совместном присутствии различить вклад каждого непросто. Ядерно-ядерные конфликты (также симметричные в отношении реципрокных скрещиваний) также могут играть весьма значительную роль, но они на данный момент наименее изучены.

1.2.8. Гипотезы о сетчатой эволюции и гибридных таксонах гороха

Гипотезы о гибридном происхождении отдельных форм гороха выдвигались неоднократно. Их можно условно разбить на два класса – основанные на внешних и на молекулярных признаках. Гипотезы о гибридном происхождении, основанные на внешних признаках, принадлежат Л.И. Говорову (1937), который, судя по всему, считал гибридизацию едва ли не главным способом эволюции гороха в диком состоянии и предположил не менее пяти таких событий. Согласно его гипотетическому сценарию, *P. abyssinicum* и «*P. humile*» произошли от многократной или однократной гибридизации *P. elatius* и *P. fulvum*, подвид *P. sativum* subsp. *asiaticum* – от того же скрещивания или от

скрещивания этих видов уже с их гибридными производными *P. abyssinicum* и «*P. humile*», в частности эфиопские культурные формы *P. sativum* – от гибридизации *P. abyssinicum* с *P. elatius* или с *P. sativum* subsp. *asiaticum*, культурные формы *P. sativum* из Центральной Индии – от гибридизации *P. abyssinicum* и *P. sativum* subsp. *asiaticum* (см. разделы 1.2.2.7 и 1.2.2.10).

При этом Говоров, судя по всему, исключает гомоплазию, т. е. исходит из того, что сходные признаки растений имеют единственный источник – например, сильная зубчатость листочков непременно указывает на участие в происхождении данной формы от *P. abyssinicum*, таким образом, Говоров, по сути, исключает у гороха возможность гомоплазии – независимого возникновения сходных признаков вследствие независимых мутаций в тех же генах или иных генах со сходным эффектом. Такой упрощенный подход потребовал от Говорова допущения слишком многих событий гибридизации в истории рода горох, тем самым в равной мере обесценив все эти гипотезы. Большинство из них не получило дальнейшего развития.

По понятным причинам, гибридизационные гипотезы второго класса, основанные на молекулярных данных, появились лишь в последнее время. Из них наибольшего внимания заслуживает детально рассмотренная в разделе 1.2.2.7 гипотеза об участии *P. fulvum* в формировании *P. abyssinicum* (Vershinin et al., 2003; Jing et al., 2010), у которого были обнаружены аллели молекулярных маркеров соответствующие как *P. fulvum*, так и *P. sativum* subsp. *elatius*.

Некоторые гипотезы о роли гибридизации в эволюции гороха, основаны на молекулярных данных носят, если можно так выразиться, сугубо компьютерный характер, то есть обязаны своим возникновением появлению программного обеспечения, специально разработанного для поиска таких гибридизационных событий. Речь идет о специальных программах, например TOPALi (Milne et al., 2004), которые выявляют химерные последовательности, возникшие вследствие рекомбинации ранее дивергировавших последовательностей. Существуют программы, например известная Splits Tree (Hunson, Bryant, 2006), позволяющие на этом основании построить «сетчатые деревья», то есть сетчатые диаграммы, представляющие собой суперпозицию альтернативных филогенетических деревьев, которые могут быть реконструированы на основе данных,

включающих рекомбинантные последовательности (так называемый *split decomposition approach*). Применение программы к последовательностями 39 белок-кодирующих генов у 39 образцов гороха позволило Jing et al. (2007) выявить 9 рекомбинантных последовательностей, построить «сетчатое филогенетическое дерево» и на этом основании заключить, что традиционное дивергентное дерево неадекватно отражает эволюционные и генетические отношения внутри рода. Следует, однако, заметить два обстоятельства – степень ретикуляция дерева, полученного программой *Splis Tree4*, зависит от произвольно задаваемого параметра, характеризующего чувствительность к предположительным рекомбинационным событиям, благодаря чему на одних и тех же данных могут быть получены «сетчатые деревья» разной степени «сетчатости», визуально оставляющие самое разное впечатление – от почти традиционных дивергентных дендрограмм до сетей со множеством коллатералей. Выбор же значения параметра и его основания остается за кадром публикаций. Во-вторых, ретикуляция «сетчатого дерева», представленного Jing et al. (2007) касается в основном самого основания филогенетических ветвей, то есть отражает события времен ранней дивергенции рода, надежность реконструкции которых заведомо не очень высока. Лишь ветвь, ведущая к *P. fulvum*, от которой отходит и единственный вовлеченный образец *P. abyssinicum* характеризуется «длинным сетчатым основанием». Этот факт фактически еще одним методом подтверждает правдоподобность гибридного происхождения *P. abyssinicum*.

Таким образом, в ходе эволюции рода *Pisum* действительно происходили редкие события гибридизации и интрогрессии, однако они, по всей видимости, не оказали сильного влияния на филогенетический паттерн рода. Единственным вероятным исключением является *P. abyssinicum*, по-видимому действительно представляющий собой гибридогенный вид, возникший в результате спонтанного скрещивания *P. sativum* (в широком смысле) и *P. fulvum*.

1.2.9. Молекулярная реконструкция филогенетических отношений в роде *Pisum*

Филогения представителей рода *Pisum* реконструировалась молекулярными методами неоднократно разными авторами (Hoeuy et al, 1996; Lu et al, 1996; Ellis et al, 1998; Vershinin

et al, 2003, Jing et al, 2007; 2010), в том числе и нами (Zaytseva et al., 2012; 2015). Анализировались данные по аллозимному спектру (Hoey et al., 1996), полиморфизму рестрикционных фрагментов (RFLP) (Lu et al., 1996), полиморфизму фрагментов, амплифицированных со случайных праймеров (RAPD) (Lu et al., 1996; Hoey et al., 1996; Tar'an et al., 2005), полиморфизму длины амплифицированных фрагментов, в том числе микросателлитов (AFLP, microsatellite AFLP) (Lu et al., 1996), полиморфизму сайтов инсерций ретротранспозонов (Ellis et al., 1998; Vershinin et al., 2003; Jing et al., 2005, 2010), полиморфизму микросателлитов (Tar'an et al., 2005; Nasiri et al., 2009), кодирующих последовательностей структурных генов (Jing et al., 2010), в том числе генов гистона H1 (Zaytseva et al., 2012; 2015).

Все эти реконструкции с хорошей поддержкой выявляют ветви, включающие представителей видов *P. fulvum* и *P. abyssinicum*. Однако ветвь *P. fulvum* является базальной, то есть отделяется в качестве первой дивергенции рода, отделяющей ее от общей ветви *P. sativum*+*P. abyssinicum*, тогда как небольшая ветвь *P. abyssinicum* всегда находится внутри последней, оказываясь сестринской многим ветвям *P. sativum*. Фактически она находится внутри вида *P. sativum*, делая его парафилетическим.

К сожалению, среди всех процитированных работ по реконструкции филогении рода горох, только работа Hoey et al. (1996) двадцатилетней давности и наши (Zaytseva et al., 2012; 2015) включали набор линий, использованных в классической работе Бен-Зеев и Зохари (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973), причем работа Hoey et al. (1996) ограничивалась именно и только этими линиями. В этой работе на всех реконструкциях выявлялся только один четко очерченный кластер «южного *humile*», тогда как отношения между «*elatius*», «северным *humile*» и культурным подвидом были противоречивы.

Обширные исследования, проводившиеся в Центре Джона Иннеса (Ellis et al, 1998; Vershinin et al, 2003, Jing et al, 2005, 2007, 2010), основывались на гораздо большем количестве образцов, но данный набор, к сожалению, не использовали. В этих работах филогенетические отношения между многочисленными ветвями дикорастущих форм *P. sativum* оставались неясными и не могли быть соотнесены с кариологическими классами Бен-Зеев и Зохари. Во многом эти исследования оказывались неинформативными ввиду уже обсуждавшегося выше недостатка – некритического использования, вслед за донорами

материала, названий *elatus*, *humile*, *sativum* и ряда других, положение определенных таким образом образцов на филогенетических деревьях отражали скорее разницей в таксономии, нежели чем филогенетические отношения реальных таксонов. Так, в работах (Ellis et al., 1998; Jing et al. 2007) ветви, ведущие к образцам, определенным как «*P. humile*» располагались как среди культурных форм *P. sativum*, так и среди «*P. elatus*», лишняя раз подчеркивая искусственность таксона «*humile*».

1.2.10. Геногеография как решение спорных вопросов эволюции и филогенетики рода *Pisum*

В целом от исследований по реконструкции филогении рода Горох было сложно ожидать многих содержательных результатов, так как большинство вовлеченных образцов представляли в них всего лишь каталожными номерами, не сопровождаясь никакой иной информацией помимо часто сомнительных ботанических определений. Филогения реконструировалась, но оставалось совершенно неясным, что же выявленные ветви и кластеры представляли собой.

Какого же рода информацию следовало еще учесть? Внешние признаки в пределах рода варьируют очень сильно, но, по-видимому, не коррелируют с филогенетией, а отражают – для диких форм - локальные экологические условия произрастания, а для культурных форм – особенности бессознательного или целенаправленного отбора, которые по сути также являются экологическими условиями, правда антропоического характера.

По нашему мнению, одной из главных характеристик, которые необходимо учесть, является дикорастущий или культурный характер образца, о чем было много сказано выше, в разделе 1.2.6.1. Дикорастущие формы рода Горох претерпевали естественную эволюцию в течение длительного времени, как минимум 0,8-2,3 млн., что составляет время дивергенции рода по оценкам Schaefer et al. (2012). Культурные формы претерпевали быструю эволюцию в условиях культуры («культурную эволюцию» по терминологии Бердникова и др. 1989), то есть в течение не более 10 тысяч лет. Для получения осмысленных результатов две эти большие группы образцов следует анализировать не

только и не столько совместно, но и по отдельности. Для корректного исследования такого рода принадлежность каждого образца к дикорастущим либо культурным должна быть специально проверена, желательно одними и теми же исследователями и по одним и тем же принципам. В данной работе такая попытка делается, тогда как в опубликованных работах по молекулярной реконструкции филогении рода Горох этот ключевой признак не получал должного внимания, то есть не определялся специально, а всего лишь выводился из ботанического определения изучаемого генетического материала его донорами. Частично этим же недостаткам обладали и наши предыдущие работы (Zaytseva et al., 2012; 2015).

Заметим, что естественная эволюция дикорастущих форм гороха и «культурная эволюция» культурных форм происходили во многом на одной и той же территории, поскольку огромный природный ареал рода Горох – Древнее Средиземноморье в широком смысле – находится целиком внутри всемирного ареала гороха как сельскохозяйственной культуры. Более того, в течение первых тысячелетий существования ближневосточного очага земледелия оно было распространено как раз в пределах естественного ареала рода Горох. Это обстоятельство делает практически невозможным учет географического фактора при совместном анализе культурных и дикорастущих форм, так как по всему Древнему Средиземноморью дикие формы гороха, возраст которых оценивается в 1-2 млн лет (Schaefer et al., 2012) растут бок о бок с культурными, которые появились на этих территориях не менее чем на два порядка позже, будучи привнесенными вместе с культурой земледелия. Учитывая, что в мировых коллекциях имеется всего около сотни образцов дикорастущего гороха, подавляющее большинство образцов в любом совместном анализе будет принадлежать культурным образцам, притом что фракция дикорастущих образцов будет характеризоваться гораздо более глубокой дивергенцией.

Реконструировать молекулярными методами историю культуры гороха на разных территориях было бы крайне интересно, но очевидно весьма затруднительно, учитывая интенсивные миграционные волны и культурные связи разных частей человечества за последние 10 тысяч лет. Такая попытка была проделана В.А. Бердниковым с соавторами (Бердников и др., 1989; Berdnikov et al. 1993a) в ходе изучения закономерностей географического распространения аллелей и гаплотипов генов гистона H1. Исследования

структуры генетического разнообразия как такового на основе полиморфизма сайтов встраивания ретротранспозонов показало сложную структуру разнообразия культурного гороха, в котором Байесовскими методами выявляется от 7 до 14 кластеров (Jing et al., 2010; Smykal et al., 2010), что хорошо отражает сложную историю культуры гороха в мировом масштабе.

Удивительно, но до сих пор в литературе имеется только две статьи (Kosterin et al., 2010; Zaytseva et al., 2016), посвященные отдельному анализу исключительно дикорастущих форм гороха, причем она представляет часть результатов филогеографического характера, вошедших в настоящую работу. Можно также назвать три работы (Hoeuy et al., 1996; Zaytseva et al., 2012; 2015) по молекулярной филогении гороха, в которых дикорастущие формы представляли большинство исследованного материала, две из которых также выполнены в нашем коллективе.

В то же время отдельное всестороннее исследование только заведомо дикорастущих форм, несомненно, являлось бы очень информативным, так как отражало бы дивергенцию представителей рода Горох в природе в течение одного-двух миллионов лет (Schaefer et al., 2012) и историю их естественного расселения по ареалу, не стертую интенсивными недавними миграциями народов, культур и семенного материала, как в случае культурных форм. Поскольку естественное расселение растений происходит медленно, его историю можно отследить на материале, представленном только дикорастущими формами и имеющем географическую привязку. Дикорастущий материал позволяет исследовать как филогению, так и биогеографию исследуемой группы, а также изучить оба этих аспекта одновременно. Такие исследования принято называть филогеографическими.

Тем самым мы на основе обзора существующей литературы обосновали актуальность цели данной работы – изучение эволюционной истории дикорастущих представителей рода Горох (*Pisum* L.), а именно его генетического разнообразия и геногеографии, истории формирования этого разнообразия в ходе дивергенции, формирования природного ареала рода и истории расселения по нему отдельных эволюционных линий и выявление этих линий с помощью удобных генетических маркеров.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Сбор нового материала дикого гороха в природе

Недостаточное количество образцов дикого гороха в мировых коллекциях, в особенности из Западного Средиземноморья, мотивировал определенные усилия по его поиску. Географическая удаленность места работы автора от естественного ареала гороха и специфика основных исследований предполагала возможность такого поиска лишь в ограниченных случаях, а также ориентацию на помощь коллег. Из трех попыток поиска и сбора дикого гороха в разных регионах две оказались успешными.

На Южном берегу Крыма фисташково-можжевеловые редколесья, шебляки, широколиственные леса, вторичные травянистые сообщества в нарушенных человеческой деятельностью местообитаниях, обследовались от Коктебеля до Фороса в течение 11 дней с 29 июня по 9 июля 1991 г. экспедицией ИЦиГ СО АН СССР в составе Ю.А. Трусова, И.В. Макунина и автора, основная цель которой состояла в выявлении и сборе диких видов чечевиц (*Lens* spp.). Дикий горох, *P. sativum* subsp. *elatius*, был найден всего дважды – в окрестностях Симеиза и в Карадагском заповеднике. В обоих случаях были обнаружены крошечные популяции во вполне естественных местообитаниях.

В окрестностях Симеиза, на обращенном к морю склоне выше поселка, над скалисто-каменистым выходом (44°24' с.ш., 33°59' в.д.), среди средней густоты можжевелового редколесья около десятка растений были найдены 6 июля 1991 г. недалеко друг от друга, вьющимися по кустарникам. Они находились на стадии созревания, семена еще были в бобах. Небезынтересно, что на створках бобов обнаружались множественные пустые кладки и входные каналы гороховой зерновки (*Bruchus pisorum* L), однако семена оказались не зараженными этим вредителем. Также заслуживает внимание, что неподалеку были найдены два диких вида чечевиц: большое пятно *Lens nigricans* (M. Vieb.) Godr. и, в небольшом количестве, *L. ervoides* (Brign.) Grande. Соответствующий образец получил внутреннее лабораторное название СЕ1 (СЕ – Crimean elatius); в коллекции Центра Джона Иннеса, Норвич, обозначен как J12629.

В Карадагском заповеднике 8 июля 1991 г. близ гребня г. Святая (44°56' с.ш., 35°13' в.д.) на обращенной к степному южному склону опушке леса, занимающего северный склон, в дубовом криволесье под скальным уступом было найдено всего два полностью засохших растения, вившихся по кустам скумпии кожевенной (*Cotinus coggygia* Scop.). Растения были невелики, одно вообще не имело бобов, на втором было два полностью раскрытых боба. Однако два семени удалось обнаружить среди окружающего их щебня. Они дали начало образцу СЕ2; в коллекции Центра Джона Иннеса обозначен как J2630.

Оба крымских образца обладают признаками, характерными для дикого гороха – раскрывающимися бобами (фенотип Dpo, решающий признак), бугорчатой оболочкой (Gty, признак, практически не встречающийся у культурных форм) очень темного, оливково-черноватого цвета, еще более темного вокруг микропиле (Rf), с едва читающимся мраморным рисунком (M) и фиолетовыми крапинками (Ust), черным рубчиком (Pl), присутствием антоциановой окраски (A). Однако они оказались далеки от генетической идентичности: СЕ2 имеет длинные цветоносы, несущие по два хорошо раскрытых и окрашенных цветка, и, в условиях теплицы, гораздо более сильную неоплазию на бобах (Nr) (вплоть до угнетения развития бобов и образования щуплых семян).

Проведенный автором в частном порядке поиск дикого гороха на Черноморском побережье Кавказа, на территории Анапского, Новороссийского и Геленджикского округов (окр с. Натухаевская, Б. Утриш, Южная Озереевка, Кабардинка, Марьина Роща, оз. Абрау, пригорода Шесхарис и г. Геленджик), с 27 июля по 5 августа 2015 г. и с 4 по 10 июля 2016 г. (в сумме 17 дней) не дал результатов. Район поиска был выбран на основе наиболее сухого на кавказском побережье климата, подобного таковому Крыма, и флористического сходства с южным берегом Крыма (Малеев, 1931, 1938), вследствие которого А.Л. Тахтаджян (1978) выделил Крымско-Новороссийскую флористическую провинцию Средиземноморской области. Район имеет оптимальную для гороха растительность: можжевеловые, можжевелово-фисташковые и дубово-грабовые (шебляк) перелески и редколесья. Следует заметить, что бобовых трибы *Fabeae* было в целом меньше, чем на южном берегу Крыма.

Поиск и сбор дикого гороха в Португалии проводился 7-14 июля 2010 г. автором в составе пост-симпозиальной экспедиции 1го Европейского Одонатологического

Симпозиума, проводившегося в Ваирау, Португалия, при финансовой поддержке участия автора со стороны Worldwide Dragonfly Association (WDA). В течение шести дней, с 7 по 12 июля 2010 г., обследовась провинция Траш-уш-монтш э альту Дору (Trás-os-Montes e Alto Douro), расположенный на северо-востоке страны между горами Сьерра де Мараяу (Sierra de Marão) на западе и пограничной с Испанией рекой Дору (Дуэро) на востоке (Zaytseva et al., 2015). Как следует из его неформального названия Терра Фриа Траншмонтана (Terra Fria Transmontana) – «Морозная земля за горами» – он отличается от прибрежной Португалии более холодным климатом, но главное отличие состоит в его большей сухости. Как следствие, сюда не распространился завезенный из Австралии агрессивно инвазивный эвкалипт шаровидный (*Eucalyptus globulus* Labill.). Вся прибрежная часть севера Португалии ныне почти полностью (за исключением полей) покрыта древостоями эвкалипта с подлеском из орляка, которые практически вытеснили естественный растительный покров. Однако эвкалиптовые «леса» на удивление резко заканчиваются по гребню достаточно невысоких гор Сьерра де Мараяу, так что провинция Траш-уш-монтш э альту Дору сохраняет естественную средиземноморскую растительность. Он был обследован достаточно интенсивно, однако, несмотря на обилие благоприятных местообитаний, дикий горох *P. sativum* subsp. *elatius* был найден, 8 июля 2010 г., лишь в одном месте: на склонах холмов левого борта долины р. Ангуэйра (к востоку от нее) в 1,4 км к СВ от с. Ува, муниципалитет Вимиозу, округ Браганса, провинция Альту Дору (41°30' с.ш., 06°29' з.д.). Довольно большое количество – около сотни - особей дикого гороха вилось по кустам раkitника (*Cytisus* sp.), дубовому подросту, реже среди злаков, на участке около 80-100 на 10-20 м вдоль границы небольшого покоса, ограниченного невысокими каменными стенами и рядами высоких каменных дубов (*Quercus ilex* L.). Все растения были полностью созревшими и засохшими, бобы – раскрывшимися (см. Рис. 2). Тем не менее, в спирально свернутых сухих створках сохранилось достаточное количество застрявших семян, чтобы собрать их 297 штук, однако большинство из них оказались поражены гороховой зерновкой, так что всхожими оказалось лишь несколько десятков. Образец получил лабораторное обозначение PE1 (“Portugese elatius”) и обозначение JI3557 в коллекции Центра Джона Иннеса.

Кроме того, по просьбе автора данной работы два образца дикого гороха, относящегося к *P. sativum* subsp. *elatius*, были собраны коллегами в Испании и Франции.

Образец дикого гороха был собран в Испании в июне 2010 г. предположительно сотрудниками охраняемой территории «Долина монастыря Поблет» (Vall de Monestir de Poblet) или «Горы Прадес» (Muntanyes de Prades), при посредничестве Джозепа Виго (Барселона) и Хуана Модолелла (Мадрид) в двух точках с координатами 41°21'06" с. ш., 01°03'41" в. д. и 41°20'19" с. ш., 01°03'24" в. д. на расстоянии 1,7 км друг от друга по течению реки Барранк де Кастеллфоллит (Barranc de Castellfollit) в горах Прадес, комарка (округ) Конка де Барбера (comarca de Conca de Barberà), Каталония, Испания. Семена были объединены в один образец, получивший обозначение SE1 (от Spanish *Elatius*) в нашей лаборатории и J3558 в Центра Джона Иннеса.

Во Франции Мишель Папазян (Марсель) в июне 2008 г. собрал образец дикого гороха в разреженном лесу из пушистого дуба (*Quercus pubescens* Willd.) в точке с координатами 43° 23'02'' с. ш., 05 ° 51'24'' в. д., находящейся в коммуне Руже (Rougiers) кантона Бриньоль (Brignoles) департамента Вар (Var) региона Прованс (Provence), на территории лесного массива Сен-Бом (Massif de la Sainte-Baume) примерно в 50 км от Марселя. Образец получил лабораторное обозначение FE1 (от French *Elatius*), в Центре Джона Иннеса обозначен как J3553.

Новые образцы из Франции и с Пиренейского полуострова также демонстрировали набор признаков, характерный для дикого гороха: растрескивающиеся бобы (Dpo), бугорчатую (Gty) семенную кожуру, с коричневым мраморным рисунком (M) фиолетовыми штрихами (Ust) (плохо выражены у образца из Марселя), темное пятно возле микропиле (Rf), большой (Him, признак, встречающийся только у дикого гороха) черный (Pl) рубчик семян, присутствие антоциановой окраски (A).

Северо-западный сектор Эфиопского нагорья, в треугольнике, образованном Аддис-Абебой, Бахир-Даром и Волдией, с абсолютными высотами в интервале 1000-3500 м (преимущественно 1400-2500 м) над у.м., обследовался автором на предмет возможности существования диких популяций *Pisum abyssinicum* в течение 10 дней с 29 июля по 7 августа 2012 г. (в частном порядке, при финансовой поддержке Н.Е. Вихрева). Флора данного региона оказалась совершенно экзотической и практически не имела общих

элементов со средиземноморской (к тому же большие площади покрыты древостоями эвкалипта *E. globulus*). Симптоматично, что из всей трибы *Fabeae*, к которой принадлежит горох, было встречено (29 июля 2012 г. в Дебрэ Либаносе, на высоте 2500 м над у.м.) единственное растение *Vicia* sp., причем оно поднималось из середины небольшого пруда как полуводное растение. Этот факт приводит к убеждению, что автохтонное обитание здесь каких-либо представителей рода *Pisum* исключено. С другой стороны, 9 августа 2012 г. автор пересек по маршруту Волдия – Миле – Аваш - Назарет юго-западный угол низменности Афар (Данакиль), с абсолютными высотами 500-600 м, к сожалению, без возможности обследовать местность. Подножия Эфиопского нагорья, обращенные к пустыне Афар, покрыты акациевой саванной, во время обследования находившейся на сезонном пике вегетации и имевшей ярко-зеленый аспект, которая несколько более, хотя и все еще отдаленно, напоминает средиземноморские сообщества. Учитывая, что Афарская низменность обращена к Йемену (где также допускается возможная родина абиссинского гороха) и отделена от него лишь Красным морем, имеет смысл обследовать данные предгорья на предмет дикорастущего *P. abyssinicum*, хотя и без особой надежды на успех. Удобнее всего это сделать в окрестностях города Аваш.

2.2. Образцы гороха, использованные в данном исследовании

Учитывая характер нашей задачи, использованные образцы (Kosterin, Bogdanova, 2008; Kosterin et al., 2010; Zaytseva et al., 2015) классифицированы на три категории:

1) Дикорастущие формы; всего 11 образцов *P. fulvum* и 44 образца *P. sativum* subsp. *elatius* (Таблица 1).

2) Формы, классифицированные в генетических коллекциях как дикорастущие, но исключенные нами из числа таковых в связи с отсутствием спонтанной раскрываемости бобов (см. раздел 1.2.6.1), всего 15 образцов (Таблица 2).

3) Культурные формы, анализировавшиеся в целях сравнения с дикорастущими, всего 7 образцов *P. abyssinicum* и 44 образца *P. sativum* subsp. *sativum* (Таблица 3).

Исследованный материал получен из следующих источников, перечисленных в порядке убывания числа полученных образцов: из ВНИИ растениеводства им Н.И. Вавилова ВАСХНИЛ (Ленинград) (ныне ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург) при содействии Р.Х. Макашевой, К.А. Белеховой и О.И. Романовой, от Нормана Видена из Корнельского Университета (Нью-Йорк), от Петра Смыкала из фирмы Агритек Лимитед (Шумперк), от Майкла Амброуза из Центра Джона Иннеса (Норидж), от Стига Бликста из института Вейсбуллхольм (Ландскрона), от Н. Поланса (ДеКалб), от Мишеля Папазяна (Марсель) и Хуана Модолелла (Мадрид).

Сделаем особую оговорку насчет образца VIR320, поскольку выделенная из него линия VIR320 имеет большое значение из-за конфликта ядра и пластид у ее гибридов с культурным горохом, имеющим яркое фенотипическое проявление и детально изученное В.С. Богдановой с коллегами (Bogdanova, Verdnikov, 2001; Богданова, Костерин, 2006; Bogdanova et al., 2009; 2012; 2014; 2015). Этот образец существует в коллекции ВИР как гетерогенный и содержит несколько контрастных генотипов, описанных Р.Х. Макашевой в качестве четырех самостоятельных подразновидностей: *P. sativum* subsp. *syriacum* subvar. *unianulum* Makasheva (соответствует нашей линии VIR320), *P. sativum* subsp. *syriacum* var. *syriacum* subvar. *syriaco-marmoratum* Makasheva, *P. sativum* subsp. *syriacum* var. *pulchristipulatum* Makasheva subvar. *pulchristipulatum* Makasheva и *P. sativum* subsp. *syriacum* var. *pulchristipulatum* Makasheva subvar. *pulchristipulato-marmoratum* Makasheva (Макашева, 1979). В сопроводительных материалах к данному образцу значится следующее: «Палестина. Получен от Sutton, Франция, Вавилов, 1922 г.» Е.У. Саттон опубликовал специальную статью о диком горохе из Палестины и его гибридизации с культурным (Sutton, 1914). Однако описанный им горох, найденный «в отдаленном местечке Палестины» в 1904 г. не соответствовал образцам VIR320 и VIR320*: он имел высоту около 2 футов (VIR320 - около полутора метров), сильную зубчатость прилистников и листочков (нет у VIR320), отсутствие антоциана в пазухах листьев (у VIR320 присутствует, D^{co}), целиком пурпурно-фиолетовые цветки (у VIR320 двуцветные как у большинства *P. sativum*), губчатый слой изнутри стенок бобов, крапчатые семена (равномерно оливковые у VIR320) с белым рубчиком и гладкой оболочкой (как у VIR320). При опылении его

пыльцой культурного гороха образовывались щуплые, пустые семена (у VIR320 несовместимость с культурным горохом имеет то же направление, но носит иной характер). За исключением отсутствия антоциана в пазухах листьев и гладкой семенной оболочки, эти признаки прекрасно соответствуют группе образцов 711-713 из Израиля. В то же время линия VIR320 не может быть и продуктом перекреста образца Саттона с культурным горохом, так как она имеет уникальный геном пластид (В.С. Богданова, личное сообщение). Таким образом, данный генотип появился в коллекции ВИР как контаминат, а место его действительного происхождения остается совершенно неизвестным.

Таблица 1. Использованные в работе образцы дикорастущих форм гороха.

Определение материала согласно таксономической системе, принятой в данной работе, приводится в виде подзаголовков жирным шрифтом. Материал приведен согласно следующему порядку приоритетов информации: принятая нами таксономическая принадлежность, географическое происхождение, коллекция-источник, полнота информации.

Образец ¹	Место происхождения согласно сопроводительной информации или литературе	Определение в исходной коллекции
<i>Pisum fulvum</i>		
701; =L93 (=J13265; =PI560062)	Израиль, долина Креста, среди деревьев	<i>Pisum fulvum</i>
702 (=L94; =J13266; =PI560063)	Израиль, Верхняя Галилея, 2 км В Сафеда, г. Канаан	<i>Pisum fulvum</i>
703, =L95; (=J13267; =PI560064)	Израиль, около 15 км ЮЗ Иерусалима, окр. Бар Гийоры, кустарник	<i>Pisum fulvum</i>
706, = L96, (= J13268, = PI560065) ²	Израиль, Рухама, прибрежная равнина, на известковых песчаниках, в формации карликовых кустарников	<i>Pisum fulvum</i>
707, (=L97, =J13269, =PI560066)	Israel, W Galilee, Adamit. Opening in maquis and roadside.	<i>Pisum fulvum</i>

Продолжение Таблицы 1

708, (=L98; =JI370, =PI560067)	Израиль, 2 км З Иерусалима, Иерусалимский лес, на кучах камней и заброшенных полях	<i>Pisum fulvum</i>
VIR2523; =JI2203 (=WL1256; =PI595947)	Палестина, 1925	<i>Pisum fulvum</i> var. <i>nitidum</i> Makasheva
VIR3397 (=WL2030)	Палестина, 1925	<i>Pisum fulvum</i> var. <i>incisum</i> Post subvar. <i>inciso-brunneum</i> Makasheva
VIR6070	Палестина, предгорья приibl. 30 км ЮЗ Иерусалима, 1960	<i>Pisum fulvum</i> var. <i>integrifoliatum</i> Makasheva et var. <i>virescens</i> Makasheva
VIR6071	Палестина, предгорья приibl. 30 км ЮЗ Иерусалима, 1960	<i>Pisum fulvum</i> var. <i>striatum</i> Makasheva
WL2140; =Wt303 (=WL2029, =JI224; = PI560061)	Израиль, Долина Креста	<i>Pisum fulvum</i>
<i>Pisum sativum</i> subsp. <i>elatius</i>		
IG64350	Алжир, Блида	<i>Pisum fulvum</i>
IG108291	Тунис, Сильяна	<i>Pisum sativum</i>
JI254	?Эфиопия, рынок в Джимме, 1964 г. [07°10'N, 36°50'E]	<i>Pisum elatius</i>
JI3557, PE1	Португалия, провинция Траш-уш-Монтш е Альту Дору, район Браганса, муниципалитет Вимиозу, 1,4 км СВ д. Ува, 41°30' N, 06°29' W, склон холма по левому борту долины р. Ангуэйра, по кустам <i>Cytisus</i> и подросту дуба, собрал О. Костерин	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>
Pis2844	Испания, Саламанка, 2 км от Пуэрто де Бехар, Камино де ла Плата, 740 м над у.м.	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>
JI3558; =SE1	Испания, Каталония, Мунтаньяс де Прадес, комарка Конка де Барбейра, долина Барранк де Кастель- фоллит, 41°20-21' N, 01°03'24-41" E	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>
JI2724	Испания, Менорка, Махон	<i>P. elatius</i>

Продолжение Таблицы 1

ЛЗ3553; =FE1	Франция, департамент Вар, коммуна Рожье, лес Сен Бом, 43°23'02'N, 05°51'24'E, собрал М. Папазян	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>
Pis2850	Италия, [Лигурия], Камольи- Мортولا	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>
Л2055	Италия, г. Альбурни [40°33'N, 15°18'E]	<i>P. elatius</i>
PI344537	Италия, Сицилия	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>
Pis2845	Италия, [Сицилия], Палермо, Бальце ди Кульяче – Палаццо Адриано	
Л11091	Греция, Кариес, 400 м [над у.м.] [40°15'N, 24°20'E]	<i>P. elatius</i>
Л11092	Греция, г. Афон, 200 м [над у.м.] [40°10'N, 24°20'E]	<i>P. elatius</i>
Л11093	Греция, Кариес, 270 м [над у.м.] [40°15'N, 24°20'E]	<i>P. elatius</i>
Л11094	Греция, п-ов г. Афон, 200 м [над у.м.] [40°10'N, 24°20'E]	<i>P. elatius</i>
Л11095	Греция, п-ов г. Афон, 200 м [над у.м.] [40°10'N, 24°20'E]	<i>P. elatius</i>
Л11096	Греция, Кариес, 450 м [над у.м.] [40°15'N, 24°20'E]	<i>P. elatius</i>
PI344008	Греция, 1 км Ю Дафне, п-ов г. Афон	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>
Pis2853	Венгрия, медье Баранья, [Siklósi község, Nagyharsány env.,] [г.] Саршомлэ	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>
WG10925	Болгария, около 30 км от пляжа Альбены, крутая солнечная обочина тропы	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>
CE1	Крым, Симеиз (сборы Ю. Трусова, О. Костерина и И. Макунина в июле 1991)	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>
CE2	Крым, Кара-Даг (сборы Ю. Трусова, О. Костерина и И. Макунина в июле 1991)	<i>P. sativum</i> ssp. <i>elatius</i>
WG26109	Грузия, [область Квемо-Картли, Триалетский хребет], 20 км от Манглиси, 7 км С Партсклиси, склон у дороги с травянистой растительностью	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>
VIR2998 ³	Грузия (из Рижского ботанического сада)	<i>P. elatius</i> subsp. <i>caspicum</i> Govorov
VIR4014	Азербайджан, Ленкорань, на полях озимой пшеницы	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i> var. <i>elatius</i> subvar. <i>elatius-marmoratum</i> Makash. et var. <i>brevipedunculatum</i> Davis et Meikle

Продолжение Таблицы 1

Л1794; =716	Голанские Высоты, 3 км СЗ Кунейтры, Тель Абу Нида, на вулканических пеплах	<i>Pisum humile</i> , «северный»
VIR320	? Палестина (получена Н.И. Вавиловым из Франции от Саттона в 1922 г.) ⁵	<i>P. sativum</i> subsp. <i>syriacum</i> var. <i>syriacum</i> subvar. <i>unianulum</i> Makasheva
VIR320* ⁵	примесь к предыдущему образцу	<i>P. sativum</i> subsp. <i>syriacum</i> var. <i>pulchristipulatum</i> Makasheva
VIR2521 (=WL2034)	Палестина, Кинерет, 1923	<i>P. sativum</i> subsp. <i>syriacum</i> var. <i>marginatifoliatum</i> Makash.
711, (=99; (=Л3272, =PI560068)	Израиль, 2 км З Иерусалима, Иерусалимский лес, края покинутых террасных полей	<i>Pisum humile</i> , 'southern'
712, =L100 (=Л3273, =PI560069)	Израиль, 19 км Ю Беер-Шевы, русло вади с отложениями лёсса, сорное в посевах ячменя	<i>Pisum humile</i> , 'southern'
713; =L101 (=Л3274, =PI560070)	Израиль, Беит Кама, южная прибрежная равнина, края полей и обочины дорог	<i>Pisum humile</i> , 'southern'
714 (=L102; =Л3275, =PI560071)	Израиль, между Бет Шемешем и Бет Гурвином, края полей и обочины дорог	<i>Pisum humile</i> , 'southern'
721; =L104 (=Л3262; =PI560058)	Израиль, г. Кармель, 5 км СВ Зихон Яаков, в маквисе	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatus</i>
722 (=L105 (=Л3263; =PI560059)	Израиль, З. Галилея, Адамит, поляны в маквисе и обочины дорог	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatus</i>
Л3233	Сирия	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatus</i> var. <i>brevipedunculata</i>
Л3234	Сирия	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatus</i> var. <i>brevipedunculata</i>
Л261 (=WL2038)	Турция, [пров. Мерсин], Гиляндире	<i>Pisum humile</i>
P002 ³ ; 050689-0302	Турция, пров. Мардин, 1050 м (сборы Ф. Мюльбауэра с коллегами 1989 г.)	<i>P. sativum</i> subsp. <i>humile</i>
P012; 050785-0109	Турция, пров. Адиямен, 380 м (сборы Ф. Мюльбауэра с коллегами 1989 г.)	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatus</i>

Продолжение Таблицы 1

P013; 190785-0105	Турция, пров. Токат, 750 м (сборы Ф. Мюльбауэра с коллегами 1989 г.)	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>
P015 ³ ; 090785-03	Турция, пров. Диярбакыр, 1250 м (сборы Ф. Мюльбауэра с коллегами 1989 г.)	<i>P. sativum</i> ssp. <i>humile</i>
P017; 270685-0105	Турция, пров. Мерсин, 790 м (сборы Ф. Мюльбауэра с коллегами 1989 г.)	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>

¹ С точностью до имеющейся информации, приводятся каталожные номера в разных коллекциях, в скобках если образцы, полученные непосредственно из этих коллекций нами не исследовались. Префиксы, принятые в разных коллекциях, приводятся в разделе 1.2.6.3; также Р – образцы, собранные в Турции Ф. Мюльбауэром, Вашингтонский Государственный Университет; L – образцы из коллекции Х. Лампрехта (личное сообщение М. Амброуза); 701-723 без префиксов – линии из работы (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973). Таблица может содержать скрытые синонимы, особенно среди образцов из коллекции Вятрово.

² 706 и L96 указаны как синонимы, но образцы, полученные нами под этими номерами, существенно различаются.

³ Бобы этих образцов менее склонны к самопроизвольному раскрыванию, чем у остальных дикорастущих образцов (Dpo) – они раскрываются существенно позже, а их створки менее склонны к скручиванию вокруг своей оси.

Таблица 2. Образцы гороха, полученные в качестве дикорастущих, но не являющиеся таковыми и трактуемые нами как *P. sativum* subsp. *sativum* или продукты гиридизации *P. sativum* subsp. *sativum* x *P. sativum* subsp. *elatius*.

Образец	Место происхож деня согласно сопроводит. информации или литературе	Определение в исходной коллекции
IG52459	Марокко, «центр-север»	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>
JL2115	Испания, [Саламанка, Пуэрто де Бехар, 1978 г. [40°21'N, 05°50'E]	<i>P. elatius</i>
VIR3115 (=WL2028)	Италия, Катания	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i> var. <i>catanicum</i> Makash. et var. <i>italicum</i> Makash.
723 (=JL3271; =560060; =L106)	Италия, Сардиния, окр. Кальяри	<i>Pisum elatius</i>
VIR1851	Грузия, Тбилиси, Ботанический сад	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i> var. <i>elatius</i> subvar. <i>elatius-maculatum</i> Makash.
VIR2524 (=WL1488)	Северная Галилея, в макии Таршиша и Пецции	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i> var. <i>palestinicum</i> Makash. et <i>galilaeicum</i> Makash.
WL2123	долина Иордана	<i>P. elatius</i>
P008 120689-0202	Турция, пров. Сиирт, 630 м (сборы Ф. Мюльбауэра с коллегами 1989 г.)	<i>Pisum sativum</i> subsp. <i>humile</i>
P016; 290685-01	Турция, пров. Денизли, 16 км от Самандага по дороге на Яйбдаги, 430 м (сборы Ф. Мюльбауэра с коллегами 1989 г.)	<i>P. sativum</i> subsp. <i>elatius</i>
VIR7327	Турция	<i>P. sativum</i> ssp. <i>syriacum</i>
VIR7328	Турция	<i>P. sativum</i> ssp. <i>syriacum</i>
VIR7329	Турция («получено из США»)	<i>P. sativum</i> ssp. <i>syriacum</i>
WL805	Турция, Анатолия	<i>Pisum elatius</i>
PI343993; =82-15 (=WL2035)	Турция, 5 км СЗ Кале, сухая ферма, темная глинистая известковая почва, 100 м над у.м., 1969	-
JL2105 (=PI22725)	Иран, собрано в 1955 г.	<i>P. elatius</i>

Таблица 3. Использованные в работе образцы культурных форм гороха (за вычетом перечисленных в таблице 2).

Образец	Место происхождения согласно сопроводит. информации или литературе	Определение в исходной коллекции
<i>Pisum abyssinicum</i>		
VIR2759 (=WL149 1, =WL204 2)	Эфиопия	<i>P. sativum</i> ssp. <i>abyssinicum</i> var. <i>vavilovianum</i> Govorov
Л1876 (=PI 358610)	Эфиопия, Макале, рынок Адишена	<i>P. sativum</i> subsp. <i>abyssinicum</i>
VIR3567	Йемен, Даммар	<i>P. sativum</i> subsp. <i>abyssinicum</i>
WL808	неизвестно	<i>Pisum abyssinicum</i>
WL1445	неизвестно	<i>Pisum abyssinicum</i> var. <i>vavilovianum</i>
WL1446	неизвестно	<i>Pisum abyssinicum</i> var. <i>viridulogriseum</i> Govorov
Wt6	неизвестно	<i>Pisum abyssinicum</i>
<i>Pisum sativum</i> subsp. <i>sativum</i>		
VIR3249	Грузия, Гори	<i>P. sativum</i> subsp. <i>transcaasicum</i> var. <i>mitabicum</i> Makasheva
VIR4871	Грузия	<i>P. sativum</i> subsp. <i>transcaasicum</i>
VIR3424	Египет	<i>P. sativum</i> subsp. <i>asiaticum</i> var. <i>jomardii</i>
VIR3429	Египет	<i>P. sativum</i> subsp. <i>asiaticum</i> var. <i>jomardii</i>
VIR3439	Египет, Асуан	<i>P. sativum</i> subsp. <i>asiaticum</i> var. <i>jomardii</i>
VIR3171	Неизвестно (Мадридский ботанический сад)	<i>P. sativum</i>
VIR1884	Афганистан. Маймене, 2860 м над у.м., рынок	<i>P. sativum</i> subsp. <i>asiaticum</i>
VIR1915	Афганистан, Катаган, кишлак Тли, 3050 м	<i>P. sativum</i> subsp. <i>asiaticum</i> var. <i>candagaricum</i> Makash. subvar. <i>candagarico-fuscum</i> Makash.

Продолжение Таблицы 3

VIR1975	Афганистан, Герат	<i>P. sativum</i> subsp. <i>asiaticum</i> var. <i>ivanovii</i> Makash. subvar <i>ivanovii-marmoratum</i> Makash
VIR3513	Афганистан, Вахан	<i>P. sativum</i> subsp. <i>asiaticum</i>
VIR6560	Афганистан, дорога Герат-Шандор, 1 140 м над у.м.	<i>P. sativum</i> subsp. <i>asiaticum</i>
VIR178	Таджикистан, Памир	<i>P. sativum</i> subsp. <i>asiaticum</i>

Продолжение таблицы 3

VIR261	Таджикистан, Памир	<i>P. sativum</i> subsp. <i>asiaticum</i>
VIR1448	Таджикистан, Дарваз, Тоби-Дара	<i>P. sativum</i> subsp. <i>asiaticum</i>
VIR3940	Таджикистан, р. Шах-Дара, кишлак Шитам	<i>P. sativum</i> subsp. <i>asiaticum</i>
VIR3954	Таджикистан, Шугнанский р-н, кишлак Эмч	<i>P. sativum</i> subsp. <i>asiaticum</i>
VIR4974	Таджикистан, Горный Бадахшан, Ишкашимский р-н	<i>P. sativum</i> subsp. <i>asiaticum</i>
VIR5195	Таджикистан	<i>P. sativum</i> subsp. <i>asiaticum</i>
VIR7335	Таджикистан, Горно-Бадахшанский Автономный Округ, Рушанский р-н, кишлак Сипондж, 25000 м	<i>P. sativum</i> subsp. <i>asiaticum</i>
VIR4911	Тибет, Лхаса, 4200 м над у.м.	<i>P. sativum</i> subsp. <i>asiaticum</i>
VIR990	Китай, Внутренняя Монголия, Цаган- Мугжан на Бара-Голе	<i>P. sativum</i> subsp. <i>asiaticum</i>
VIR1464	Китай, Манчжурия	<i>P. sativum</i> subsp. <i>asiaticum</i>
VIR5166	Китай, Шенси, Учун	<i>P. sativum</i> subsp. <i>asiaticum</i>
VIR1007	Монголия, китайская ферма в долине Усу- Сере	<i>P. sativum</i> subsp. <i>asiaticum</i>
VIR6191	Белоруссия	<i>P. sativum</i> subsp. <i>sativum</i>
VIR1120	Белоруссия, Зубилово	<i>P. sativum</i> subsp. <i>sativum</i>
VIR5078, сорт Vinko	Голландия	<i>P. sativum</i> subsp. <i>sativum</i> var. <i>pseudoalbiflorum</i> Makash.
VIR5432	Франция	<i>P. sativum</i> subsp. <i>sativum</i>
VIR1937	Австрия	<i>P. sativum</i> subsp. <i>sativum</i>
VIR3188	Испания	<i>P. sativum</i> subsp. <i>sativum</i>
VIR6144	Греция, «зимний горох»	<i>P. sativum</i> subsp. <i>sativum</i>
VIR2593	Кипр, Никозия	<i>P. sativum</i> subsp. <i>sativum</i>
VIR2501	Турция, Денизли	<i>P. sativum</i> subsp. <i>sativum</i>
VIR3262	Турция	<i>P. sativum</i> subsp. <i>sativum</i>
P014; 190785-02	Турция, пров. Токат, 900 м (сборы Ф. Мюльбауэра с коллегами 1989 г.)	<i>P. sativum</i> subsp. <i>arvense</i>
VIR7163	Ливан	<i>P. sativum</i> subsp. <i>sativum</i>
VIR7006	Сирия, Дамаск	<i>P. sativum</i> subsp. <i>sativum</i>

Продолжение таблицы 3

VIR2516	Палестина	<i>P. sativum</i> subsp. <i>sativum</i>
VIR2172	Палестина, Прош-Пина, Агелет Хошахас	<i>P. sativum</i> subsp. <i>sativum</i>
VIR6103	Марокко, Рабат	<i>P. sativum</i> subsp. <i>sativum</i>
JI281	Судан	<i>P. sativum</i> subsp. <i>sativum</i>
VIR1853	Эфиопия	<i>P. sativum</i> subsp. <i>sativum</i>
VIR5414	Эфиопия, провинция Годжан, Тахр-Дар	<i>P. sativum</i> subsp. <i>sativum</i>
WL1238	тестерная линия, создана Х. Лампрехтом	<i>P. sativum</i> subsp. <i>sativum</i>

2.3. Выделение коллекции образцов заведомо дикорастущих форм гороха.

Как обсуждалось в разделе 1.2.6.1.2, условием перманентного существования популяций гороха в дикой природе является его облигатная способность к баллистическому рассеиванию семян при внезапном спонтанном раскрытии и скручивании створок боба. Это дает нам возможность объективной проверки образцов на принадлежность к природным, дикорастущим формам. К сожалению, ранее и мы принимали на веру указания о дикорастущем характере образцов гороха, в качестве каковых в ряде наших работ фигурируют образцы, таковыми не являющиеся (Kosterin, Bogdanova, 2008; Zaytseva et al., 2012; 2015). Систематически проверять вновь поступивший материал «на дикость» мы начали с 2010 г. (Kosterin et al., 2010), основная же проверка была осуществлена в 2015-2016 гг.

С этой целью растения высаживали в гидропонной теплице ИЦиГ СО РАН, в которой признак спонтанной раскрываемости бобов (Dpo) проявляется очень хорошо. Бобы растений, не обладающих таким свойством (dpo), в условиях теплицы как правило раскрываются примерно через неделю после полного высыхания, но это раскрытие не носит взрывной характер, створки очень слабо сворачиваются или почти не сворачиваются, семена не выстреливаются и остаются в бобе.

Проблему составляет часть образцов с очень сильной экспрессией фенотипа Nr, створки которых в условиях теплицы сплошь покрываются неопластическими каллусоподобными разрастаниями и поэтому не развиваются нормально. В 2016 г. такие

образцы (P008, P016, VIR7328, VIR7329, JI3233, JI3234) были дополнительно высажены на открытом воздухе.

В результате «проверки на дикость» достаточно много – 15 – образцов, приведенных в Таблице 2, были дезавуированы в качестве дикорастущих. Больше всего «псевдо-диких» образцов – 6 – происходит из коллекции ВИР, по 2 – из коллекций Центра Джона Иннеса, генбанка Нордик (Nordik Genbank) и сборов Ф. Мюльбауэра в Турции, по одному – из набора Бен-Зеев и Зохари, и из коллекций ICARDA и USDA.

Эта категория может включать в себя несколько типов материала:

- Культурные формы, ушедшие из культуры и собранные в природе.
- Продукты недавней гибридизации диких и культурных форм, возможно имевшей место уже при воспроизведении коллекций. В эту категорию скорее всего следует отнести образцы (например VIR1851), имеющие нераскрывающиеся бобы, но бугорчатую семенную оболочку (Gty), которая является почти исключительно диким признаком.
- Чужеродный генетический материал культурных образцов, случайно попавший в оригинальные образцы диких форм при их воспроизводстве, ошибки в этикетировании материала при сборе и воспроизводстве. Последнее наиболее вероятно для гетерогенных образцов.

В результате проведенной ректификации набора несомненно дикорастущих образцов гороха из четырех образцов, происходящих из Закавказья, остался один, что сделало этот регион сильно недопредставленным в коллекции.

2.4. Выращивание экспериментальных растений

Растения выращивали в теплице центра коллективного пользования «Лаборатория искусственного выращивания растений» ИЦиГ СО РАН (Рис. 3), в наполненных керамзитом гидропонных стеллажах размером 4 × 1 м, с трехкратной в сутки подачей стандартного раствора Кнопа (нитрат кальция 0,8 г/л, сульфат магния 0,2 г/л, фосфорнокислый калий 0,2 г/л; нитрат калия 0,2 г/л, фосфат железа в следовых количествах). Растения освещались дневным светом в среднем 8 ч в сутки, в остальное время искусственным светом от калиевых ламп интенсивностью 10 000 – 12 000 люкс.

Для дополнительной проверки спонтанной раскрываемости бобов некоторые образцы были высажены в 2016 г. на открытом воздухе в ящиках, наполненных вермикулитово-керамзитовой смесью. ДНК выделяли в том числе из этиолированных или зеленых проростков, выращенных на смеси керамзита и вермикулита с ручным поливом водой.

Для скрещивания у бутонов материнского растения незадолго до появления антоциановой окраски заточенным глазным пинцетом разрезалась по саггитальной линии лодочка, пыльники удалялись и пинцетом же на рыльце наносилась пыльца, взятая из раскрытого цветка отцовского растения. Когда материнскими растениями служили образцы WL2140, VIR2759, VIR320 и 721, пыльца как правило наносилась на рыльце на следующий день после кастрации (Kosterin, Bogdanova, 2014; 2015; Костерин, Богданова, 2014). Для восьми образцов вопрос оптимального времени нанесения пыльцы исследовался специально (см. результаты, а также Kosterin, Bogdanova, 2014; Костерин, Богданова, 2014).

2.5. Методы оценки репродуктивной совместимости образцов гороха

Для исследования совместимости восемь образцов были скрещены в весенней (февраль-май) тепличной вегетации 2007 г. и в осенние (октябрь-декабрь) вегетации 2007 и 2008 гг. в обоих реципрокных направлениях друг с другом по диаллельной схеме, то есть по принципу все-со-всеми, а также сами с собой; всего $28 \times 2 + 8 = 64$ направления скрещиваний. Делалось по возможности не менее 30 скрещиваний в каждой комбинации, в некоторых случаях – в частности, когда материнским растением был *P. fulvum* - гораздо больше. Всего в рамках этой программы было сделано 1831 скрещивание (Рис. 3). В ходе дополнительного исследования по оптимизации метода скрещивания, проведенного в весеннюю и осеннюю вегетацию 2010 г. и в весеннюю вегетацию 2012 г., было сделано еще 1233 скрещивания (Kosterin, Bogdanova, 2015).

Гибриды F_1 выращивались в теплице в весенние тепличные вегетации в следующие годы:

2008 г. – часть растений из всех комбинаций скрещиваний с участием образцов WL2140 и WL1238, но без участия VIR2759, также не высаживались гибриды L100 ×

WL1238, поскольку они были задействованы ранее в другом опыте (Ядрихинский, Богданова, 2011);

2009 г. – часть гибридов WL2140 и WL1238 с VIR2759, 721 и JI1794;

2010 г. – часть гибридов WL2140 и WL1238 с WL2140, VIR2759, 721, JI1794 и CE1;

2013 г. – скрещивания VIR2759 с представителями *P. sativum* subsp. *elatus*;

2014 г. - все комбинации скрещиваний между собой образцов, относящихся к *P. sativum* subsp. *elatus*.



Рис. 3. Скрещиваемые образцы гороха в теплице ИЦиГ СО РАН. (Фото автора.)

Ввиду спонтанного раскрытия бобов у гибридов с участием дикого гороха, с каждого растения они собирались индивидуально по мере созревания. Для каждой комбинации оценивалась эффективность скрещивания $e = Nh / Nc$, где Nc – число скрещенных бутонов, а Nh – число полученных жизнеспособных гибридов F_1 . Гибридная природа растений подтверждалась их фенотипом, заведомо отличающимся от фенотипа

материнских линий. Для скрещиваний с участием WL1238 таким контролем служило присутствие узкой листовой пластинки на усиках (фенотип «плоские усики»), что является характерным фенотипом гетерозиготы по полудоминантным аллелям *Tl/tlw*. Гибриды с участием *P. fulvum* (WL2140) характеризуются кирпично-красным венчиком цветков, не встречающимся у гомозиготных образцов. В большинстве остальных случаев гибридная природа растений опознавалась по присутствию в фенотипе признаков мужского родителя, отсутствующих у женского родителя и определяющихся доминантными аллелями. Однако поскольку мы исследуем реципрокные скрещивания, наилучшим критерием гибридизации является одновременное присутствие у гибрида признаков, определяемых доминантными аллелями и от одного, и от другого родителя. В случае гибридов с участием *P. fulvum* (WL2140) такие признаки касаются стенок бобов: доминантным аллелем, уникальным именно для этого образца, является *Astr*, определяющий присутствие характерных фиолетовых мазков на стенках бобов, а его уникальным рецессивным аллелем является *n*, определяющий мясистую стенку бобов, тогда как все остальные образцы имеют доминантный аллель *N*, определяющий тонкую стенку бобов. В остальных случаях контрольные доминантные аллели определяются конкретной комбинацией скрещиваемых образцов. Ими могут являться аллели в локусах *d*, *fl*, *Np* и др. В немногих случаях ни один из родителей не имел удобных доминантных признаков и вывод о гибридной природе делался на основании промежуточного общего габитуса.

Фертильность пыльцы гибридов F_1 анализировали на цитологических препаратах, окрашенных ацетокармином (Singh, 2003) путем подсчета под микроскопом жизнеспособных (наполненных содержимым и прокрашенных) и мертвых (пустых) пыльцевых зерен, всего около 200-400 зерен, взятых из одного открытого цветка или бутона. Оценивали долю жизнеспособной пыльцы, f (в %). Обычно анализировалось три цветка (иногда до пяти) с растения; Проводился анализ дисперсии, а также тест на гомогенность данных, полученные от разных растений одного типа, путем сравнения меж- и внутрииндивидуальных дисперсий посредством критерия Фишера. Если для данного типа гибридов разница между этими дисперсиями не достигала 1% уровня значимости, данные по всем цветкам всех растений данного типа объединялись в единую выборку, для которой оценивалось среднее и среднеквадратическое отклонение величины f , а размер

выборки представлял общее количество проанализированных цветков (Kosterin, Bogdanova, 2015).

Прочие количественные признаки анализировались у почти засохших растений, закончивших свой онтогенез (однако созревшие бобы, в силу их раскрываемости, собирались по мере их созревания). Некоторые бобы на боковых ветвях к этому моменту оставались недозревшими, они учитывались лишь среди биомассы, но не в числе бобов и семян. Для анализа биомассы растения срезались на уровне первого узла и вместе со створками бобов помещались в бумажные пакеты и высушивались на воздухе в течение не менее двух недель; сухая биомасса взвешивалась на весах CAS MW 150-t. Некоторые гибридные растения (например, поврежденные во время роста) не анализировались в отношении всех признаков (например, длины главного стебля или общего урожая семян) (Kosterin, Bogdanova, 2015).

Статистическая значимость различий между значениями количественных признаков оценивалась с помощью t-критерия Уэлша (T), представляющего собой обобщение t-критерия Стьюдента для случая возможного неравенства дисперсий сравниваемых генеральных совокупностей (Welsh, 1947) (в отечественной литературе критерий Уэлша часто также называют критерием Стьюдента). Эффективность скрещиваний, e , оценивалась как среднее значение числа гибридных семян, образованных после индивидуального скрещивания, E . Последнее есть сложный параметр, представляющий собой произведения вероятности образования боба после скрещивания (в случае когда пестик не был механически поврежден), числа семязачек в пестике и вероятности успешного оплодотворения и развития зародыша после скрещивания (Kosterin, Bogdanova, 2015). Экспериментальная оценка дисперсии величины e была бы возможна на основании данных о количестве семян, образовавшихся в индивидуальных бобах, которые отсутствуют. Мы получили такие данные в наших специальных опытах по опылению восьми образцов гороха своей собственной пылью (см. раздел 5.8, а также Костерин, Богданова, 2014; Kosterin, Bogdanova, 2014) и обнаружили, что выборочная оценка стандартного отклонения величины E , σ_E , сравнима с ее выборочным средним e и как правило очень близка к последнему (особенно когда e мало). Поэтому для приблизительной оценки статистической значимости различий величины e в реципрокных скрещиваниях с

использованием t-критерия Уэлша, мы приписывали величине σ_E значение, равное значению e . Поскольку во многих случаях зарегистрированы различия были очень велики, достигая двух порядков, нужды в более точной оценке не было.

2.6. Молекулярные методы

2.6.1. Выделение ДНК

ДНК выделяли экспресс-методом в модификации, предложенной В.С. Богдановой (Kosterin, Bogdanova, 2008; Bogdanova et al., 2009). Около 100-150 мг листочков взрослого растения или (предпочтительнее) молодого растения на стадии нескольких узлов протирались тефлоновым пестиком через сетку из нержавеющей стали с ячейей 1×1 мм (чайное ситечко) в пластиковый сосуд (подставку для ситечка), содержащий 1.5 мл 0,15 М NaCl. Гомогенат центрифугировали на микроцентрифуге Eppendorf 5415D при 4000 g в течение 5 мин в пробирках типа Eppendorf на 1,5 мл, осадок ресуспендировали в 200 мкл буфера, содержащего 100 mM Tris-HCl (pH 8,0), 100 mM NaCl, 5 mM EDTA, 0,5% (вес/объем) SDS, встряхивали и оставляли на 30 мин при комнатной температуре для экстракции ДНК. Затем центрифугировали при 8000 g в течение 5 мин, супернатант собирали и для очистки от РНК и белков смешивали с равным объемом 5M LiCl, встряхивали и оставляли на 15 мин на льду. Затем смесь центрифугировали при 8000 g в течение 5 мин, супернатант собирали, смешивали с 1 мл 96% этанола и оставляли не менее часа на льду для осаждения ДНК. Преципитат собирали центрифугированием при 8000 g в течение 10 мин, промывали 100 мкл 75% этанола и центрифугировали в течение 5 мин. Осадок высушивали в течение 5 мин при 50°C в термостате и растворяли в 50 мкл деионизованной воды. В случае присутствия нерастворимых контаминантов, от них избавлялись дополнительным центрифугированием при 8000 g в течение 10 мин, перенося супернатант в свежие пробирки.

2.6.2. Полимеразная цепная реакция, рестрикция эндонуклеазами и секвенирование

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) проводилась в амплификаторе БИС2 производства Вектор, Кольцово, или BIO-RAD MyCycler. Последовательности использованных праймеров приведены в соответствующих работах: для фрагментов генов *rbcL* и *cox1* – в (Kosterin, Bogdanova, 2008), для гена *His5* субтипа 5 гистона H1 (включая его некодирующие окрестности) и его частей – в (Zaytseva et al., 2012), для гена *His7* субтипа 7 гистона H1 и его частей – в (Zaytseva et al., 2015). Для амплификации фрагментов генов *rbcL* и *cox1* применялась следующая одноступенчатая программа: первичная денатурация 95°C – 1 мин; 35 циклов: денатурация 94°C – 59 сек, отжиг при 56-58°C в зависимости от праймера - 59 сек, элонгация при 72°C – 1 мин (Kosterin, Bogdanova, 2008). Для амплификации генов гистона H1 и их фрагментов использовалась двухступенчатая программа: первичная денатурация при 94°C – 2 мин 30 с; 1я ступень, 5 циклов: денатурация при 94°C – 30 с, отжиг при 58°C – 30 с, элонгация при 70°C – 1 мин 30 сек; 2я ступень, 35 циклов: денатурация при 93°C – 20 с, отжиг при 56°C - 30 с, элонгация при 72°C - 1 мин 30 с (Zaytseva et al., 2012). Для ПЦР брали 1 мкл препарата ДНК (около 20 нг ДНК); ПЦР проводилась в объеме 20 мкл с использованием различных товарных марок Taq-полимераз производства фирм «Сибэнзим» и «Лаборатория Медиген»; . Продукты реакции анализировались посредством электрофореза в 1.5% агарозном геле с буфером TAE и 6 10⁻⁵ % бромистого этидия.

Рестрикцию проводили согласно рекомендациям производителя в объеме 10 мкл, куда брали 5 мкл реакционной смеси после ПЦР и 5 единиц активности эндонуклеаз рестрикции. Для рестрикции амплифицированного фрагмента гена *rbcL* использовали эндонуклеазу рестрикции *AspLEI* производства «Сибэнзим», для рестрикции фрагмента гена *cox1* - эндонуклеазу рестрикции *PsiI* того же производителя (Kosterin, Bogdanova, 2008).

Для секвенирования продукты ПЦР очищались с использованием наборов Invisorb® Spin Filter PCRapid Kit или аналогичных, согласно инструкции. Реакция Сэнгера

проводилась с использованием Big Dye Terminators версии 3.0 или 1.1 ABI PRISM в Центре геномных исследований СО РАН (Zaytseva et al., 2012; 2015).

2.6.3. Выделение и электрофорез альбумина семян SCA

Около 30 мг сухих семядолей перетирали в ступке до муки, гомогенизировали в 1 мл 5% HClO_4 , центрифугировали в центрифуге Eppendorf 584R в стеклянных пробирках при 1500 g в течение 5 мин, супернатант добавляли к 6 объемам ацетона, содержащего 0.5 М серной кислоты и инкубировали при 4°C в течение 2 часов. Осадок белка центрифугировали и растворяли в 0,2 мл раствора, содержащего 0,9 М уксусной кислоты, 8 М мочевины и 15% (весовых) сахарозы (Smirnova et al., 1992). При необходимости применяли менее селективный экспресс-метод, позволяющий, однако, электрофоретически определить фенотип в отношении белка SCA – сухой горошиной, частично очищенной от оболочки, натиралась дорожка муки на рашпеле, на нее автоматической пипеткой капалось 0,2 мл образцового раствора, мука ресуспендировалась в капле и суспензия наносилась непосредственно в стартовое углубление геля.

Препараты анализировались электрофоретически в кислых денатурирующих условиях по модифицированному (Verdnikov et al., 1993 a,b; Smirnova et al., 1992) методу Панима и Чокли (Panyim, Chalkley, 1969), в пластинах 15% полиакриламидного геля, содержащего 0,5% метиленабисакриламида, 6,25 М мочевины и 0.9 ТЕМЕД в жидкостном электрофоретическом аппарате (Verdnikov et al., 1993 a,b). После электрофореза гели окрашивались в 0.01% (весовые) растворе Кумасси бриллиантового голубого R250 в 0,9 М уксусной кислоты и открашивались диффузией в 0,9 М уксусной кислоты.

2.6.4. Анализ нуклеотидных последовательностей

Секвенограммы анализировались при помощи пакета программ Staden (Staden *et al.*, 2000).

Гомологическое выравнивание производилось автоматически с использованием алгоритма ClustalW (Larkin, 2007), реализованного в пакете MEGA версий 4.0.2 или 6.0.6.

(Tamura *et al.*, 2007; 2013) или MultAlin (Corpet, 1988) с последующей ручной оптимизацией с учетом реконструированной последовательности аминокислотных остатков. Анализ нуклеотидного разнообразия выполнялся с помощью пакетов MEGA 4.0.2 и DnaSP v5 (Librado, Rozas, 2005).

Филогенетический анализ проводился для кодирующих последовательностей (без интрона) генов *His5* (Zaytseva *et al.*, 2012) и *His7*, по отдельности или конкатенированных (Zaytseva *et al.*, 2015). В качестве аутгрупп использовались либо последовательности паралогичных генов гистона H1 гороха: гена *His3*, субтипа 3 и неидентифицированного субтипа *PsH1b*, доступного в ENA (Zaytseva *et al.*, 2012), либо ортологичные последовательности родственного бобового *Vavilovia formosa* (Zaytseva *et al.*, 2015). Гены *His5* и *His3* находятся на расстоянии 0,3 сМ в кластере *His(2-6)* пяти или шести генов гистона H1 общей длиной 1,5 сМ (Kosterin *et al.*, 1994).

Филогенетические реконструкции методами ближайших соседей и максимальной парсимонии осуществлялись с использованием пакетов MEGA 4.0.2 или 6.0.6. При использовании метода ближайших соседей эволюционные дистанции вычислялись модифицированным методом Неи-Годжбори с использованием модели замен Джукса-Кантора. При использовании метода максимальной парсимонии применялся метод subtree-purifying-regrafting, 10 исходных деревьев, M search level 1. Филогенетические реконструкции методом максимального правдоподобия выполнялись с использованием пакета PHYLIP (Felsenstein, 1989) или MEGA 6.0.6. Использовалась модель Тамура-Наи, равные скорости мутирования для сайтов, опции Nearest-Neighbor Interchange heuristic method и very strong branch swap filter. Для каждой реконструкции выполнялось 500 бутстрап-реплик.

Байесовский филогенетический анализ (Zaytseva *et al.*, 2015) с использованием пакета MrBayes 3.2.1 (Huelsenbeck, Ronquist, 2001) с использованием модели замен НКУ с подразделением кодона на две части (позиции 1-2 и 3), переменные скорости замен учитывались с использованием дискретного гамма-распределения с 6 категориями. Байесовские деревья визуализировались бета-версией программы Archaeopteryx 0.9901 (Han, Zmasek, 2009)

Глава 3. ГЕНОГЕОГРАФИЯ ПО МОЛЕКУЛЯРНЫМ МАРКЕРАМ

3.1. Три диморфных диагностических маркера

В работе нам удалось найти три диморфных молекулярных маркера из трех клеточных геномов (ядерного, митохондриального и пластидного), которые позволили разбить все многообразие рода Горох на три линии, хорошо различимые и на филогенетических реконструкциях.

В конце 1980х годов при электрофоретическом исследовании альбуминов сухих семян гороха, растворимых, подобно гистону H1, в растворах хлорной кислоты, нами был обнаружен низкомолекулярный (около 100 аминокислотных остатков) белок, названный SCA (Seed Cotyledon Albumin) и достигающий высоких концентраций в семядолях спелых семян, но низких – в оси семени, где высоких концентраций достигает сходный с ним по массе, аминокислотному составу и иммунологически белок SAA (Seed Axis Albumin) (Smirnova et al., 1992). По-видимому, оба белка обладают дегидрин-подобной функцией замещения и связывания воды в сухих семенах. Белок SAA оказался электрофоретически мономорфным, тогда как белок SCA был представлен двумя электроморфами, «верхней» SCA^s, содержащей 9 остатков лизина (определено методом неполного сукцинилирования) и «нижней» SCA^f, содержащей 10 остатков лизина (не считая одного случая предположительного возникновения сцепленного паралога с измененной подвижностью путем дупликации) (Smirnova et al., 1992). Соответствующий ген SCA был картирован в группе сцепления V (Smirnova et al., 1992). В ходе широкомасштабного скрининга оказалось, что подавляющее большинство образцов культурного подвида *P. sativum* subsp. *sativum* (за двумя исключениями) имеет менее электрофоретически подвижный («медленный») вариант SCA^s, среди дикорастущих образцов *P. sativum* встречается как «медленный», так и более электрофоретически подвижный («нижний») вариант SCA^f, а виды *P. fulvum* и *P. abyssinicum* имеют только «нижний» вариант, который на этом основании можно считать предковым для рода (Smirnova et al., 1992).

Около 20 лет спустя для проводимых в нашем коллективе исследований конфликта ядра и цитоплазмы и наследования органелл в отдаленных скрещиваниях гороха потребовались удобные молекулярные маркеры, с контрастными аллелями у образцов VIR320 и WL1238. Наиболее удобным нам представлялся CAPS-анализ. В качестве такого маркера для пластидного генома был выбран фрагмент гена *rbcL* (Bogdanova, Kosterin, 2005), для митохондриального генома – фрагмент гена *cox1* (Bogdanova, Kosterin, 2006). В случае обоих генов амплифицированный участок имел сайт опознавания определенной эндонуклеазой рестрикции (см. раздел 2.6.2) у образца VIR320 (соответствующие аллели обозначены как *rbcL+* и *cox1+*) и не имел у WL1238 (аллели *rbcL-* и *cox1-*).

По результатам типирования в отношении этих двух CAPS-маркеров нескольких дикорастущих и культурных образцов гороха (Bogdanova, Kosterin, 2005; 2006) была выявлена конкордантность их аллельного состояния друг с другом и с аллельными вариантами белка SCA. Медленная электроморфа SCA всегда сопровождалась минус-аллелями обоих CAPS-маркеров, а быстрая электроморфа – плюс-аллелями. Таким образом, на этой стадии исследований мы обнаружили только две из восьми возможных комбинаций трех маркеров. Три обсуждаемых гена находятся в разных геномах и никак функционально не связаны; более того – сайт рестрикции в гене *rbcL* создается синонимичной заменой, не влияющей на функции белка. Такая картина могла получиться, если одна из устойчивых комбинаций аллелей является предковой, а аллели, создающую альтернативную комбинацию, зафиксировались в какой-то эволюционной линии гороха, давшей начало образцам, несущим эту комбинацию.

Широкомасштабный скрининг коллекции гороха (Kosterin, Bogdanova, 2008) в целом подтвердил предварительные данные о существовании двух устойчивых комбинаций трех функционально не связанных маркеров из трех клеточных геномов, хотя в качестве редких выявились пять из шести остальных комбинаций. Среди исследованных 92 образцов, 24 имели комбинацию аллелей SCA^f, *rbcL+*, *cox1+*, получившую обозначение комбинация А, и 49 имели противоположную комбинацию SCA^s, *rbcL-*, *cox1-*, обозначенную комбинация В. Поскольку комбинация А встречалась у всех трех видов гороха и была единственной комбинацией у *P. fulvum* и *P. abyssinicum*, а комбинация В была найдена только у *P. sativum*

(причем ее имело подавляющее большинство образцов культурного подвида), комбинация А была признана предковой для рода (плезиоморфной), а комбинация В - производной.

Комбинация В с необходимостью произошла из комбинации А путем фиксации по одной мутаций в каждом из маркеров, то есть через цепочку как минимум двух других комбинаций. Однако имевшийся на тот момент материал (Kosterin, Bogdanova, 2008) не позволял реконструировать последовательность событий. В этом материале было всего два дикорастущих образца из Западного Средиземноморья, получение и анализ которых было нашей следующей задачей. Десять образцов из Испании, Италии, Греции, Италии и Эфиопии было получено из коллекции Центра Джона Иннеса благодаря любезности Майкла Амброуза, из разных коллекций благодаря любезности Петра Смыкала и по образцу было специально собрано Мишелем Папазяном во Франции, коллегами Джозепа Виго в Испании и автором в Португалии. Анализ этого материала позволил выявить еще одну нередкую комбинацию, обозначенную как комбинация С и распространенную в Греции, на Апеннинском полуострове, в Южной Франции (Kosterin et al., 2010), Испании, Португалии и Венгрии (Табл. 4) Она отличалась от комбинации А одной аллельной заменой в направлении комбинации В, а именно *cox1+* на *cox1-*. Тем самым было определено направление эволюции аллельного сосотияния трех маркеров от комбинации А к комбинации В в следующей последовательности:

$$A \rightarrow C \rightarrow D \rightarrow B,$$

где комбинациям, обозначенным этими четырьмя буквами, соответствуют следующие аллели: комбинация А: $SCA^f, rbcL+, cox1+$; комбинация С: $SCA^f, rbcL+, cox1-$; комбинация D: $SCA^f, rbcL-, cox1-$; комбинация В: $SCA^s, rbcL-, cox1-$.

Неалфавитная последовательность букв связана с тем, что исторически первыми были обнаружены две крайние комбинации А и В (Kosterin et al., 2008). Комбинация D была выделена в той же работе, что и С (Kosterin et al., 2010), и также в качестве промежуточной в цепочке мутационных событий, превративших комбинацию А в комбинацию В. Однако сейчас выяснилось, что это промежуточное состояние в нашей коллекции по-видимому представляет единственный дикорастущий образец PI344537, а остальные несколько носителей этой комбинации являются скорее не «промежуточным звеном» эволюции, а результатом вторичной интрогрессии, вследствие которой они приобрели ее вторично.

Таковыми же продуктами рекомбинации, по всей видимости, являются и другие три комбинации, не вписывающиеся в вышеуказанную схему и в целом обозначаемые нами буквой R (от английского «rare»).

Комбинации трех диагностических маркеров указаны для всего исследованного нами материала в Таблицах 4-6, в которых представлена наиболее полная к настоящему моменту информация на этот счет. Приведем количественные характеристики, которые также проиллюстрированы на Рис. 4:

Комбинация А найдена у всех 11 исследованных образцов *P. fulvum* (100%), у всех 7 исследованных образцов *P. abyssinicum* и у 12 (27%) из 44 исследованных образцов *P. sativum* subsp. *elatius*.

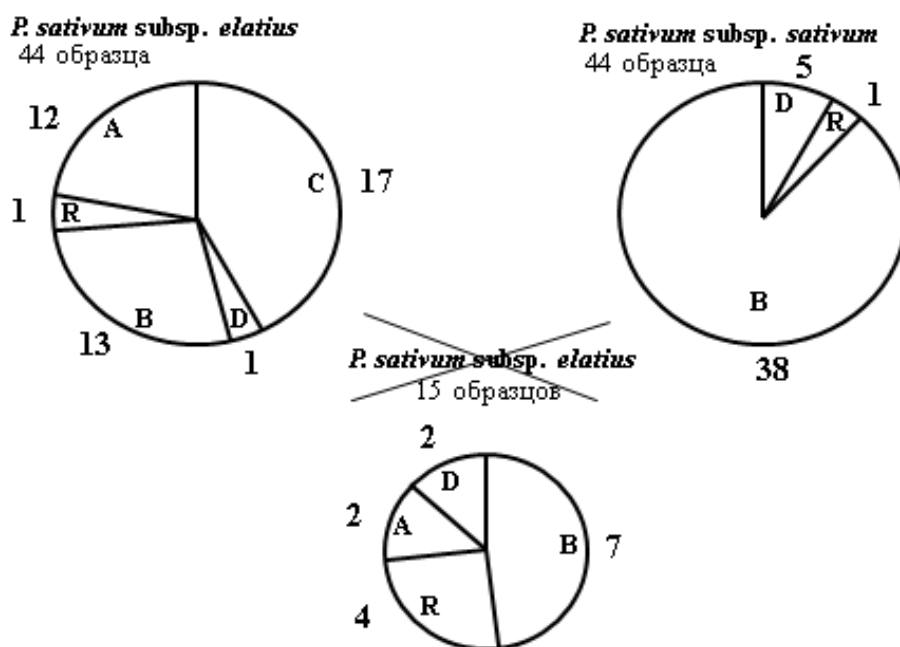


Рис. 4. Количественные соотношения образцов посевного гороха (*P. sativum*), имеющих комбинации А, С, D, В и R (редкие комбинации) трех молекулярных маркеров *rbcL*, *cox1*, *SCA* в выборках дикорастущих форм *P. sativum* subsp. *elatius* (Табл. 4), культурного подвида *P. sativum* subsp. *sativum* (Табл. 6) и образцов, первоначально классифицированных как дикорастущие, но не оказавшиеся таковыми (обозначены зачеркнутым названием *P. sativum* subsp. *elatius*; табл. 5).

Комбинация С найдена только у *P. sativum* subsp. *elatus*, а именно у 17 исследованных образцов (37%).

Комбинация D найдена у единственного образца *P. sativum* subsp. *elatus* с Сицилии и у 5 из 44 образцов (11%), относящихся к *P. sativum* subsp. *sativum*, из которых три принадлежат сомнительному таксону *jomardii*, образованному староместными культурными формами из Египта (см. раздел 1.2.2.8).

Комбинация В найдена у 13 (30%) образцов *P. sativum* subsp. *elatus* и у 38 (86%) образцов *P. sativum* subsp. *sativum*.

Редкие комбинации найдены у одного образца *P. sativum* subsp. *elatus* (2%) и у одного образца культурного подвида (2%).

Таблица 4. Комбинации аллелей трех диморфных молекулярных маркеров и отличия последовательности пластидного спейсера *psbA-trnH* от ее консенсуса по роду *Pisum* у проанализированных образцов дикорастущих форм гороха.

Комбинация А: *rbcL*⁺, *cox1*⁺, *SCA*^f; комбинация С: *rbcL*⁺, *cox1*⁻, *SCA*^f; комбинация D: *rbcL*⁻, *cox1*⁻, *SCA*^f; комбинация В: *rbcL*⁻, *cox1*⁻, *SCA*^s; R: редкие (все остальные) комбинации (здесь + и – означают присутствие/отсутствие сайтов рестрикции для *Asp*LEI и *Psi*I в генах *rbcL* и *cox1*). Для спейсера *psbA-trnH* указаны позиций отличий от консенсуса («нет» - нет отличий, «-» – нет данных). Приведен также фенотип бугорчатости/гладкости семенной оболочки (Gty / gty). Подробности происхождения образцов приведены в Табл. 1.

Образец	Страна или регион происхождения	Фено-тип Gty / gty	Комбинация	Отличия от консенсуса <i>psbA-trnH</i>
<i>Pisum fulvum</i>				
701	Израиль	Gty ¹	A	-
702	Израиль	Gty ¹	A	-
703	Израиль	Gty ¹	A	нет
706	Израиль	Gty ¹	A	-
707	Израиль	Gty ¹	A	нет
708	Израиль	Gty ¹	A	нет
VIR2523;	Израиль	Gty ¹	A	-
VIR3397	Израиль	Gty ¹	A	-
VIR6070	Израиль	Gty ¹	A	нет
VIR6071	Израиль	Gty ¹	A	-
WL2140	Израиль	Gty ¹	A	-

Продолжение Таблицы 4

<i>Pisum satium subsp. elatius</i>				
IG64350	Алжир	Gty	A	нет
IG108291	Тунис	gty	B	нет
И254	?Эфиопия	Gty	C	нет
И3557, PE1	Португалия	Gty	C	нет
Pis2844	Испания, Саламанка.	Gty	C	нет
И3558; SE1	Испания, Каталония	Gty	C	нет
И2724	о. Менорка	Gty	C	нет

Продолжение Таблицы 4

Л3553; =FE1	Франция, департамент Вар	Gty	C	75: T→G
Pis2850	Италия, Лигурия	Gty	C	нет
Л12055	Апеннинский п-ов.	Gty	C	нет
PI344537	о. Сицилия	Gty	D	нет
Pis2845	о. Сицилия	Gty	C	нет
Л11091	Греция, п-ов г. Афон	Gty	C	нет
Л11092	Греция, п-ов г. Афон	Gty	C	нет
Л11093	Греция, п-ов г. Афон	Gty	C	75: T→G
Л11094	Греция, п-ов г. Афон	Gty	C	нет
Л11095	Греция, п-ов г. Афон	Gty	C	нет
Л11096	Греция, п-ов г. Афон	Gty	C	75: T→G
PI344008	Греция, п-ов г. Афон	Gty	C	75: T→G
Pis2853	Венгрия, медье Баранья	Gty	C	нет
WG10925	Болгария	Gty	B	делеция 142-149
CE1	Крым	Gty	B	нет
CE2	Крым	Gty	B	нет
WG26109	Грузия	Gty	A	инсерция ATGAAAA 165-171
VIR2998 ⁵	Грузия	Gty	B	делеция 142-149
VIR4014	Азербайджан, Ленкорань	Gty	B	нет
Л11794	Голанские высоты	Gty	B	нет
VIR320	? Палестина (происхождение неясно)	gty	A	нет
VIR320*	примесь к предыдущему образцу	gty	R ² (<i>rbcL</i> -, <i>cox1</i> +, <i>SCA</i> ^s)	-
VIR2521	Израиль	Gty	A ²	нет
711	Израиль	Gty	A	нет
712	Израиль	Gty	A	нет
713	Израиль	Gty	A	нет
714	Израиль	Gty	A	нет
721	Израиль	Gty	A	нет
722	Израиль	Gty	A	нет
Л3233	Сирия	Gty	B	нет
Л3234	Сирия	Gty	B	нет
Л1261	Турция, пров. Мерсин	gty	A	75: T→G
P002	Турция, пров. Мардин	Gty	B	нет
P012	Турция, пров. Адиямен	gty	B	нет
P013	Турция, пров. Токат	Gty	A	инсерция ATGAAAA 165-171

Продолжение Таблицы 4

P015	Турция, пров. Диярбакыр	gty	B	нет
P017	Турция, пров. Мерсин	Gty	B	нет

¹ *P. fulvum* имеет гладкую, но очень толстую, орехополобную семенную оболочку. Однако его гибриды первого поколения с представителями *P. sativum* с гладкой семенной оболочкой (*gty*) имеют бугристую семенную оболочку, что говорит о том, что *P. fulvum* имеет доминантный аллель *Gty*, который не проявляется именно в виде бугорчатости оболочки в сочетании с некими иными генами, влияющими на оболочку.

² В этих образцах были найдены оба варианта SCA, однако здесь указан фенотип единственного растения, взятого в анализ случайным образом

Таблица 5. Образцы гороха, полученные в качестве дикорастущих, но не являющиеся таковыми и трактуемые нами как *P. sativum* subsp. *sativum* или продукты гиридизации *P. sativum* subsp. *sativum* x *P. sativum* subsp. *elatius*. Обозначения как в Таблице 4. Подробности происхождения образцов приведены в Табл. 2.

Образец	Страна или регион происхождения	Фено-тип Gty / gty	Комбинация	Отличия от консенсуса <i>psbA-trnH</i>
IG52459	Марокко	gty	B	делеция 142-149
JL2115	Испания, Саламанка	gty	B	-
VIR3115	о. Сицилия	gty	B	-
723	о. Сардиния	gty	A	нет
VIR1851	Грузия	Gty	B	делеция 142-149
VIR2524	Израиль	Gty	A ¹	нет
WL2123	Израиль	Gty	R (<i>rbcL</i> -, <i>cox1</i> +, <i>SCA</i> ^s)	нет
P008	Турция, пров. Сиирт	Gty	R (<i>rbcL</i> -, <i>cox1</i> +, <i>SCA</i> ^s)	нет
P016	Турция, пров. Денизли	gty	B	делеция 142-149
VIR7327	Турция	gty	D	делеция 142-149
VIR7328	Турция	gty	D	делеция 142-149
VIR7329	Турция	gty	B	делеция 142-149
WL805	Турция, «Анатолия»	gty	R (<i>rbcL</i> +, <i>cox1</i> -, <i>SCA</i> ^s)	делеция 142-149
PI343993	Турция, пров. Анталья	gty	R (<i>rbcL</i> +, <i>cox1</i> -, <i>SCA</i> ^s)	делеция 142-149
JL2105	Иран	gty	B	-

¹ В этом образце были найдены оба варианта SCA, однако здесь указан фенотип единственного растения, взятого в анализ случайным образом

Таблица 6. Использованные в работе образцы культурных форм гороха (за вычетом перечисленных в таблице 2). Обозначения как в Таблице 4. Подробности происхождения образцов приведены в Табл. 3.

Образец	Страна или регион происхождения	Фено-тип Gty / gty	Комбинация	Отличия от консенсуса <i>psbA-trnH</i>
<i>Pisum abyssinicum</i>				
VIR2759	Эфиопия	gty	A	64: C→T
Л1876	Эфиопия	gty	A	64: C→T
VIR3567	Йемен	gty	A	-
WL808	неизвестно	gty	A	-
WL1445	неизвестно	gty	A	-
WL1446	неизвестно	gty	A	64: C→T
Wt6	неизвестно	gty	A	-
<i>Pisum sativum</i> subsp. <i>sativum</i>				
VIR3249	Грузия	gty	B	делеция 142-149
VIR4871	Грузия	gty	B	делеция 142-149
VIR3424	<i>Египет</i>	gty	D	-
VIR3429	<i>Египет</i>	gty	D	-
VIR3439	<i>Египет</i>	gty	D	делеция 142-149
VIR3171	<i>Неизвестно</i>	gty	D ¹	-
VIR1884	Афганистан	gty	B	-
VIR1915	Афганистан	gty	B	-
VIR1975	Афганистан	gty	R <i>rbcL-cox1+</i> , <i>SCA</i> ^s	делеция 142-149
VIR3513	Афганистан	gty	B	-
VIR6560	Таджикистан, Памир	gty	B	делеция 142-149
VIR178	Таджикистан, Памир	gty	B	-
VIR261	Таджикистан, Памир	gty	B	-
VIR1448	Таджикистан, Дарваз	gty	B	-
VIR3940	Таджикистан, Памир	gty	B	-
VIR3954	Таджикистан, Памир	gty	B	-
VIR4974	Таджикистан, Памир	gty	B	-
VIR5195	Таджикистан	gty	B	-
VIR7335	Таджикистан, Памир	gty	D	делеция 142-149
VIR4911	Тибет	gty	B	делеция 142-149
VIR990	Китай, Внутренняя Монголия	gty	B	-

Продолжение Таблицы 6

VIR1464	Китай, Манчжурия	gty	B	-
VIR5166	Китай, Шенси	gty	B	-
VIR1007	Монголия	gty	B	-
VIR6191	Белоруссия	gty	B	делеция 142-149
VIR1120	Белоруссия	gty	B	-
VIR5078,	Голландия	gty	B	делеция 142-149
VIR5432	Франция	gty	B	-
VIR1937	Австрия	gty	B	-
VIR3188	Испания	gty	B	-
VIR6144	Греция	gty	B	-
VIR2593	о. Кипр	gty	B	-
VIR2501	Турция, пров. Денизли	gty	B	-
VIR3262	Турция	gty	B	-
P014; 190785-02	Турция, пров. Токат	gty	B	-
VIR7163	Ливан	gty	B	-
VIR7006	Сирия,	gty	B	-
VIR2516	Палестина	gty	B	-
VIR2172	Палестина	gty	B	-
VIR6103	Марокко	gty	B	-
JI281	Судан	gty	B	делеция 142-149
VIR1853	Эфиопия	gty	B	-
VIR5414	Эфиопия	gty	B	-
WL1238	тестерная линия	gty	B	делеция 142-149

¹ В этом образце были найдены оба варианта SCA, однако здесь указан фенотип единственного растения, взятого в анализ случайным образом

Состав комбинаций трех маркеров у 15 образцов Таблицы 5, исключенных из состава дикорастущих, разнообразен (см. рис. 4): 2 образца (13%) комбинации А, 7 образцов (17%) комбинации В, 2 образца (13%) комбинации D и 4 образца (27%) комбинации R. Образцы с комбинацией В, скорее всего, являются неправильно классифицированными представителями культурного подвида. Шесть образцов (40%!) с комбинациями D и R, по-видимому, являются продуктами недавней интрогнессии дикого и культурного посевного гороха. Наиболее интересны из них образец VIR2524 из Северной Галилеи и образец 723 из Сардинии, исследованный еще Бен-Зеев и Зохари (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973), которые имеют анцестральную комбинацию А. Оба они имеют аллели гена *His5* субтипа 5 гистона H1, кластеризующиеся с носителями комбинации В, включая культурный горох, а не с

дикорастущими носителями комбинации А (см. главу 4). Это очень высокорослые растения. Образец VIR2524 имеет крупные яркие цветки на длинных цветоносах, чем действительно напоминает высокорослые дикорастущие образцы из Израиля, *elatius* в узком смысле. Образец 723 обильно ветвится, имеет крупные листья и прилистники, развивает огромную биомассу и дает большой урожай мелких семян с гладкой оболочкой в нераскрывающихся бобах, то выглядит как есть типичный кормовой культурный горох («пелюшка»).

Тот факт, что два небольших вида рода *Pisum*, *P. fulvum* и *P. abyssinicum*, имеют комбинацию А, культурный подвид *P. sativum* subsp. *sativum* в подавляющем большинстве (86%) имеет комбинацию В, а образцы предкового для него дикорастущего подвида *P. sativum* subsp. *elatius* примерно поровну (около трети) разделились на носителей комбинаций А, В и промежуточной комбинации С однозначно свидетельствует, что комбинация В возникла из комбинации А, путем фиксации трех мутаций, внутри подвида *P. sativum* subsp. *elatius*, и именно носитель комбинации В был доместигирован на Ближнем Востоке (Kosterin, Bogdanova, 2008; Kosterin et al., 2010).

Специально оговоримся, что мы не считаем, что аллельное состояние трех выбранных маркеров имеет какое-либо функциональное значение и, конечно же, не пытаемся реконструировать филогению по трем точковым мутациям (одна из которых, в гене белка SCA, остается неизвестной на уровне первичной структуры). Мы обнаружили три маркера, мутации в которых последовательно зафиксировались в одной из не самых маленьких эволюционных линий гороха в близкое время и в удачный момент дивергенции и тем самым позволили проследить эволюционную судьбу именно этой линии. Они случайно оказались всего лишь удобными ориентирами в эволюции вида *Pisum sativum* в дикорастущем состоянии.

3.2. Географическое распространение комбинаций диагностических маркеров

В 2010 г. мы сделали первую попытку нанести места происхождения носителей разных комбинаций трех маркеров на географическую карту (Kosterin et al., 2010). Сейчас мы имеем возможность сделать это снова и получить более ясную картину, поскольку с

одной стороны мы получили новый материал, с другой – исключили ряд форм, первоначально некритически считавшихся дикорастущими. В частности, мы лишились двух из пяти дикорастущих образцов из Закавказья. На Рис. 5 представлена такая карта по имеющейся на данный момент информации.

Географическое происхождение двух образцов вызывает сомнения в правильности этикетирования. Оно требует проверки, которая могла бы носить двойной характер – поиск дикого гороха в указанных регионах либо поиск в коллекциях идентичных образцов, имеющих иную географическую привязку. Это нижеследующие образцы:

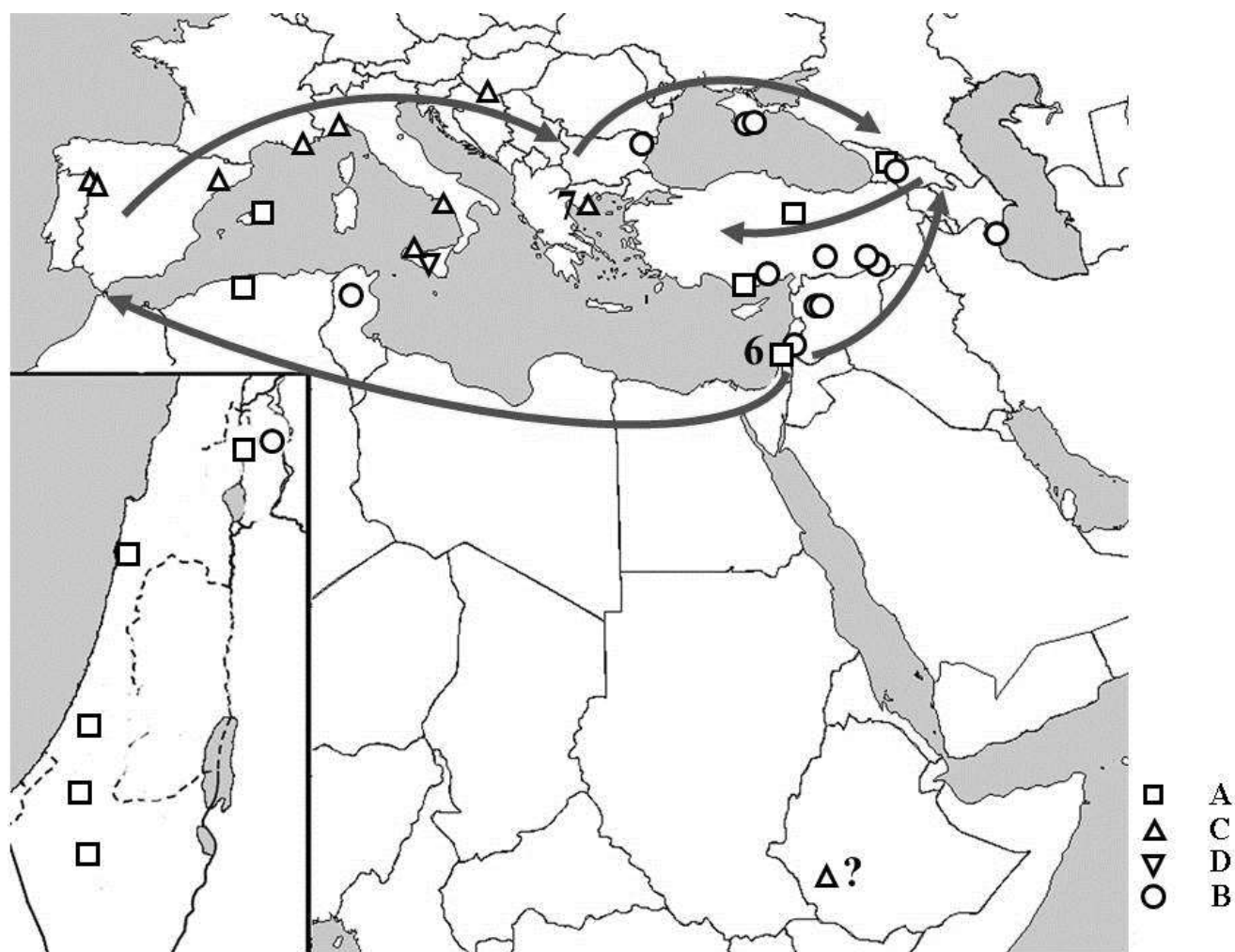


Рис. 5. Географическое происхождение образцов дикорастущих форм *P. sativum* (*P. sativum* subsp. *elatius*), несущих различные комбинации (А, С, D, В) трех изучаемых маркеров, обозначенных разными фигурами. Цифра 7 и 6 обозначает количество образцов, происходящих из Греции и Южного Израиля, соответственно, территория последнего показана в выносе. Стрелки показывают направления предполагаемых миграций.

1) Образец JI254 этикетирован как происходящий из Джиммы, ЮЗ Эфиопия. С биogeографической точки зрения естественное присутствие дикорастущих представителей рода *Pisum* на данной территории представляется крайне маловероятным, если не невозможным – это совсем другая флористическая область. Образец имеет комбинацию С, как южноевропейский дикий горох, и является высоким растением с огромными яркими цветами на длинных цветоносах, подобными таковым лишь у образцов 721 и 722 (комбинация А) из Израиля.

2) Образец IG 108291 (Тунис, [?вилайет] Сильяна (Silyanah), 36° с.ш., 9,383° в.д., 525 (?) м над у. м., хр. Дорзаль, или Тунисский хр) принадлежит к линии В, но значителен происходящим из Туниса, что не согласуется с ареалом остальных дикорастущих представителей линии В из северо-востока ареала вида. Это небольшое растение, листочки зубчатые, зубцы редкие. Семена с фенотипом М, Ust, Fs, gty, т. е. с оболочкой, несущей антоциановую крапчатость за счет трех типов пятен, но не бугорчатую. В скрещивания не вовлекался. Сомнения усугубляются его происхождением из коллекции ICARDA, где путаница этикеток, к сожалению, не является редкостью. По фенотипу это растение выглядит как один из дикорастущих горохов из Турции. Второй образец из северной Африки, а именно из Алжира, IG 64350, имеет комбинацию А и происходит из той же коллекции. Наличие подобного гороха в Алжире вполне вероятно, хотя по своему фенотипу этот образец выглядит как один из представителей «южного *humile*» из Израиля.

Если исключить из рассмотрения эти два образца, то на Рис. 5 прослеживаются следующие закономерности. Наиболее широкий ареал, простирающийся от Алжира до Грузии, имеет плезиоморфная (предковая) комбинация А, при этом она занимает южную часть естественного ареала рода в целом. Носители этой комбинации известны из Алжира, с Менорки (единственные образцы оттуда), из Израиля, где подавляющим образом преобладают (7 из 8 картируемых образцов), из Турции (2 образца) и Грузии (1 образец).

Носители комбинации С имеют четко очерченный ареал, охватывающий Южную Европу, включая остров Сицилию, полуострова Пиренейский, Апеннинский и Афон и континентальные районы - Южную Францию и Южную Венгрию. Единственный дикорастущий носитель комбинации D также происходит из Сицилии (всего в нашем распоряжении имеется два образца с этого острова).

Носители комбинации В находимы на востоке ареала вида: на юге Восточной Европы (Болгария, Крым), в Закавказье (Грузия), на юге Турции, в Сирии и на спорной территории Голанских высот.

Отсутствие в коллекциях образцов из Ирана, Туркменистана и недостаток их с Кавказа и из Закавказья является досадным пробелом в наличном материале диких форм.

3.3. Реконструкция истории расселения дикого гороха в Средиземноморье

В 2008 г. мы (Kosterin, Bogdanova, 2008) предположили, что фиксация всех трех мутаций, превративших комбинацию А в комбинацию В, произошла в некоей изолированной малой популяции, в дальнейшем расселившейся и дивергировавшей, так что ее потомки составили значительную часть дикорастущих форм посевного гороха и весь культурный подвид. Обнаружение комбинации С, эксклюзивно занимающей Южную Европу, привело к пересмотру этого предположения и представлению о том, что трансформация комбинации А в комбинацию В происходила на западе ареала вида. Более точному пониманию географической локализации этого процесса мешает отсутствие выборки дикорастущих носителей второй промежуточной комбинации D. Тем не менее, имеющиеся данные позволяют реконструировать филогеографический сценарий, отраженный двумя страницами ранее на Рис. 5.

В настоящее время наибольшее разнообразие дикорастущих форм *P. sativum* обнаруживается в Передней Азии, здесь же расположен весь ареал второго дикорастущего вида гороха, *P. fulvum*. Это хотя и не однозначные, но все же аргументы в пользу того, что местом возникновения и первичного расселения рода *Pisum* являлась Передняя Азия или даже конкретно Левант (в узком смысле, включая Израиль, Палестину, Сирию, Ливан, Иорданию, Ирак). Из соображений осторожности можно расширить этот гипотетический ареал до современного ареала плезиоморфной комбинации А, включив в него Северную Африку. Однако более вероятно, что род возник все же в юго-восточном Средиземноморье, откуда носители предковой комбинации расселились в Северную Африку и, возможно, Малую Азию вплоть до Закавказья, где носители комбинации А присутствуют и сейчас. Заметим, что та же комбинация найдена и на Балеарских островах и Сардинии, причем во

втором случае (образец 723) – не у аутентичного дикорастущего гороха, а скорее всего у продукта гибридизации дикорастущего и культурного гороха, имеющего аллели трех маркеров (Kosterin, Bogdanova, 2008) как у дикорастущего гороха, но аллель гена *His5* (Zaytseva et al., 2012) и нераскрывающиеся бобы (*dro*) как у культурного гороха. При этом нет никакого сомнения, что дикий горох, участвовавший в гибридизации, имел комбинацию А. Таким образом, носители комбинации А колонизировали и часть средиземноморских островов (однако в Сицилии мы находим иной дикий горох, а материалов с Крита и Кипра не имеем).

Колонизация диким горохом Южной Европы сопровождалась фиксацией мутации в гене *sox1*, превратившей комбинацию А в комбинацию С, которая занимает этот регион в наши дни. Кроме того, представитель комбинации С найден на Сицилии (Pis2845).

Колонизация средиземноморских островов и Южной Европы могла быть связана с одним из похолоданий плейстоцена, сопровождавшихся падением уровня мирового океана и возникновением многих сухопутных мостов.

Следующая переходная комбинация D найдена у единственного образца (PI344537) также из Сицилии (который, к тому же, на данный момент является единственным образцом, не поддающимся гибридизации с культурным подвидом). Остальные носители данной комбинации явно являются продуктами гибридизации. Таким образом, мы не можем говорить о каком-либо современном ареале носителей комбинации D. Однако эта комбинация с необходимостью была переходным звеном к комбинации В, носители которой широко распространены и в наше время. Возможно, переходные популяции – носители комбинации D - не оставили потомков в современном мире, либо же таковым является сицилийский образец. Мы также не можем сказать, где именно обитали эти популяции, являвшиеся предковыми для комбинации В.

В то же время комбинация В имеет четко очерченный ареал, занимающий северо-восточную и восточную часть ареала вида (и рода). Ее носители известны из Болгарии, Крыма, Грузии, Сирии, Турции, на севере Израиля. Здесь они сосуществуют бок о бок с носителями предковой комбинации А.

Таким образом, мы можем реконструировать возникновение вида *P. sativum* (и рода *Pisum*) в Восточном Средиземноморье, его миграцию на запад, а потом и на северо-запад, и

обратную миграцию в восточном направлении в Восточное Средиземноморье через тавро-кавказский регион, в результате чего мигранты встретились с автохтонными формами, оставшимися на месте своего возникновения в Передней Азии. В ходе этой миграции были зафиксированы мутации в трех изученных нами маркерах, превратившие комбинацию А в комбинацию В, на которые нам повезло обратить свое внимание.

Как известно, domestикация гороха, вместе с другими культурами-основателями, происходила в западной части Плодородного Полумесяца, включающей Левант в узком смысле и Юго-Восточную Турцию. Несмотря на то, что этот же регион был возможной родиной гороха в целом и дикорастущих форм *P. sativum* с предковой комбинацией А, не они, а именно носители комбинации В были доместицированы и дали начало всему культурному подвиду *P. sativum* subsp. *sativum*.

3.4. Попытка сужения области вероятного происхождения культурного гороха путем анализа межгенного спейсера *psbA-trnH*.

При оценке пригодности первичной структуры гена *His5* субтипа 5 гистона Н1 в качестве филогенетических маркеров мы попытались сравнить реконструкции, полученные с его помощью и с помощью какого-либо популярного маркера. Для этого мы (Zaytseva et al., 2012) обратились к пластидному межгенному спейсеру *psbA-trnH*, рекомендованному для баркодинга растений (Kress et al., 2005; Kress, Erickson, 2007; Sass et al., 2007). Реконструкции, полученные на одной и той же ограниченной выборке образцов различались радикальным образом – на реконструкциях по *His5* выделялись ветви с хорошей поддержкой, имеющие биологическое содержание, соответствующее результатам, полученным на полной выборке, тогда как *psbA-trnH* практически не позволил реконструировать филогению (Рис. 6). Впрочем, этот результат был во многом обусловлен тем фактом, что спейсер у гороха оказался весьма короток – у большинства образцов всего 201 н. п., против 450 в среднем (общий диапазон – от 119-1094) у цветковых растений (Kress et al., 2005). Однако в первичной расшифрованной его структуре на малой выборке мы заметили некоторые особенности, которые побудили нас просеквенировать его на более

широкой выборке из 74 образцов, в частности включавшей все наши дикорастущие образцы и большое количество культурных.

Всего было выявлено 5 аллелей данного спейсера (Рис. 7). По сравнению с вероятно предковым для рода *Pisum* аллелем, доминирующим среди дикорастущих форм, четыре остальных аллеля отличались двумя нуклеотидными замещениями, делецией и дупликацией (Таблицы 4-6).

Замена С→Т в позиции 64 была обнаружена у всех трех анализированных образцов *P. abyssinicum* и только у них, то есть оказалась специфичной и диагностичной для данного вида.

Замена Т→G в позиции 75 была найдена у весьма неожиданного набора образцов. Во-первых, мы нашли ее в трех из семи образцов с п-ова Афон в Греции, а также у образца FE1 (=J13553) из Приморских Альп во Франции. Эти образцы – типичные *P. sativum* subsp. *elatius* из европейского Средиземноморья и имеют типичную для региона комбинацию маркеров С. Два других носителя данной замены – весьма не похожи на упомянутые выше образцы. Один из них, образец J1261 из Турции, Гилиндире – весьма необычный дикий горох (*P. sativum* subsp. *elatius*, комбинация А) с очень низкорослым габитусом, маленькими листочками и длинными бобами с очень мелкими семенами. Наоборот, VIR1975 (*P. sativum* subsp. *sativum*) – примитивная культивируемая форма из Герата, Афганистан. Она не содержит делецию в 8 нуклеотидов, находимую у всех остальных представителей *P. sativum* subsp. *sativum* (см. ниже), более того, она отличается от них аллелем *cox1+*, то есть имеет редкую комбинацию R (Табл. 4-6). Этот образец поступил из ВИР как высокогетерогенный, так что мы предполагаем, что проанализированный материал происходит от его спонтанного скрещивания с каким-то диким горохом при репродукции.

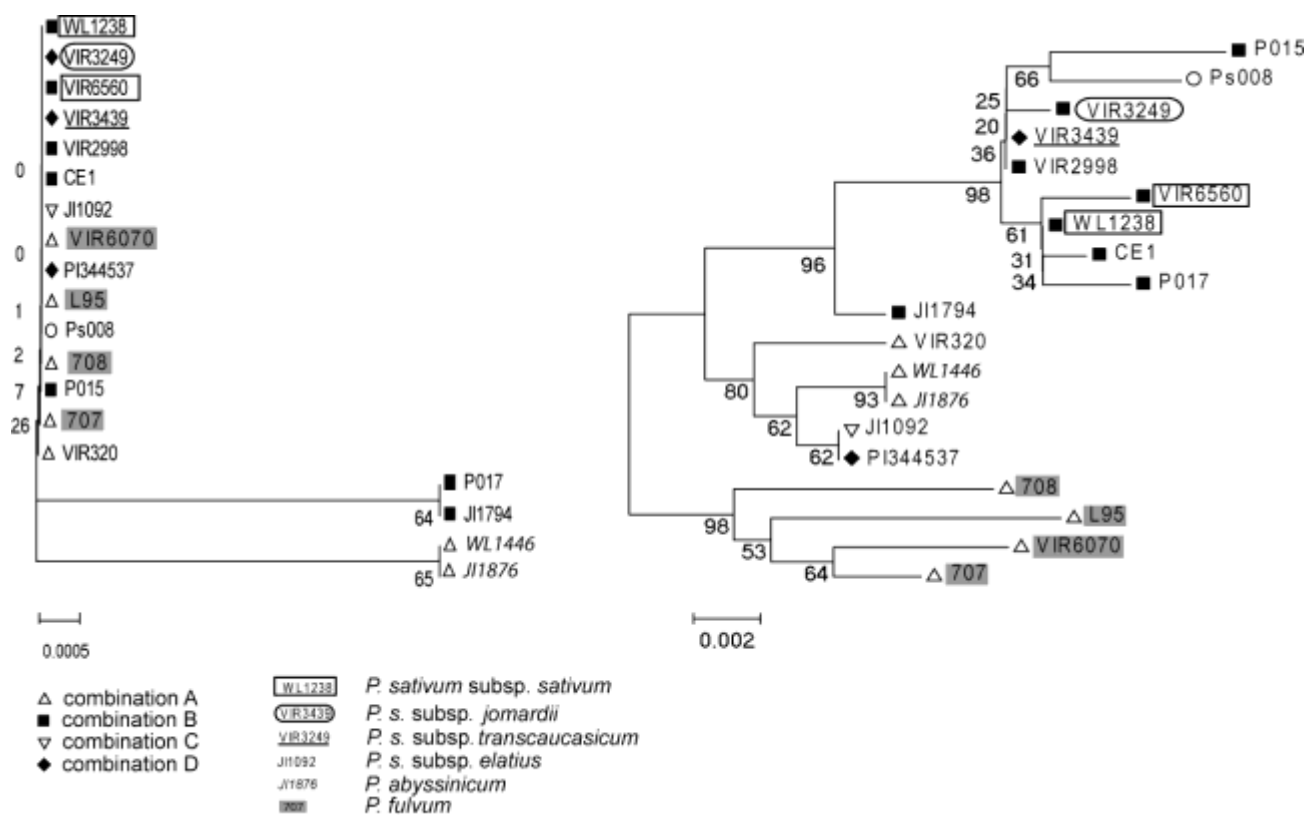


Рис. 6. Филогенетические деревья, реконструированные методом ближайших соседей для 19 образцов гороха на основании структуры спейсера *psbA-trnH* (слева) и *His5* (справа).

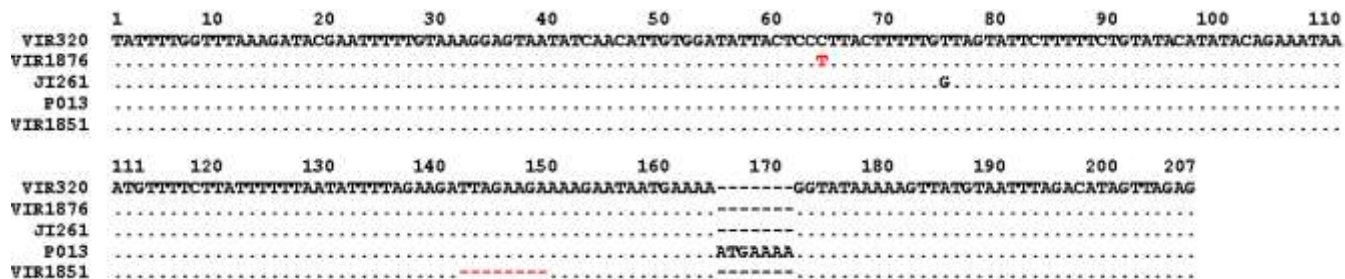


Рис. 7. Выравнивание пяти вариантов нуклеотидных последовательностей пластидного спейсера *psbA-trnH*, найденных в роде *Pisum*: образцы VIR320 (наиболее распространенный вариант); VIR1876 (вариант с нуклеотидной заменой, характерный для *P. abyssinicum*), JI261 (нуклеотидная замена), P013 (дупликация повтора в 7 нуклеотидов), VIR1851 (делеция повтора 8 нуклеотидов, характерен для культурного гороха).

Инсерция в 7 н.п. в позициях 165-171 есть совершенная тандемная дупликация участка ATGAAAA. Она найдена у двух дикорастущих образцов WG26109 (Грузия, Партсклиси) и P013 (Турция, провинция Токат): оба с комбинацией А, оба происходят из Причерноморья (соответственно из Центральной Грузии и побережья Анатолии).

Наиболее интересно распределение по образцам делеции в 8 нуклеотидов в позициях 142-149. Она представляет собой делецию одной копии совершенной тандемной дупликации TTAGAAGA, присутствующей в нормальном аллеле. Можно было бы предположить, что такая делеция в идеальном повторе могла бы происходить неоднократно благодаря проскальзыванию при репликации, т.е. могла бы представлять собой гомоплазию, а не синапоморфию. Однако наблюдаемая картина более соответствует ее однократному возникновению.

Эта делеция найдена у 14 из 15 проанализированных представителей культурного подвида (*P. sativum* subsp. *sativum*); единственный образец без делеции – вышеупомянутый VIR1975, скорее всего результат гибридизации с диким горохом (см. Табл. 4). Мы можем таким образом предположить, что эта делеция имела уже у предка культурного подвида. В связи с этим возникает вопрос – какие дикие образцы имеют ту же делецию. Мы нашли ее у семи образцов, исходно классифицированных как дикие (см. Табл. 5). Пять из них (WG10925, VIR1851, VIR2998, P016, VIR7329) имели комбинацию В, как и 14 образцов *P. sativum* subsp. *sativum* с той же делецией; два исключения были следующим: WL805 из Анатолии (редкая комбинация *rbcL*, *coxI*⁺, *Sca*^s) и PI343993 с южного побережья Анатолии (комбинация С). Однако из этих семи образцов только два – WG10925 из Болгарии и VIR2998 из Грузии – оказались действительно дикорастущим горохом со спонтанно раскрывающимися бобами (Табл. 1, 4), а у остальных пяти бобы не раскрываются (Табл. 2, 5), поэтому их нельзя отнести к дикорастущим. (Небезынтересно, что из Грузии же мы также имеем как «исключенный из дикорастущих» образец VIR1851 с комбинацией В и делецией в спейсере *psbA-trnH*, так и дикорастущий образец WG26109, несущий не ожидавшуюся в данном регионе комбинацию А). Географическое положение дикорастущих образцов, несущих и не несущих обсуждаемую делецию, отображено на Рис. 8, где заполненность значков обозначает присутствие делеции, а их форма – комбинацию трех маркеров, как на Рис. 5.

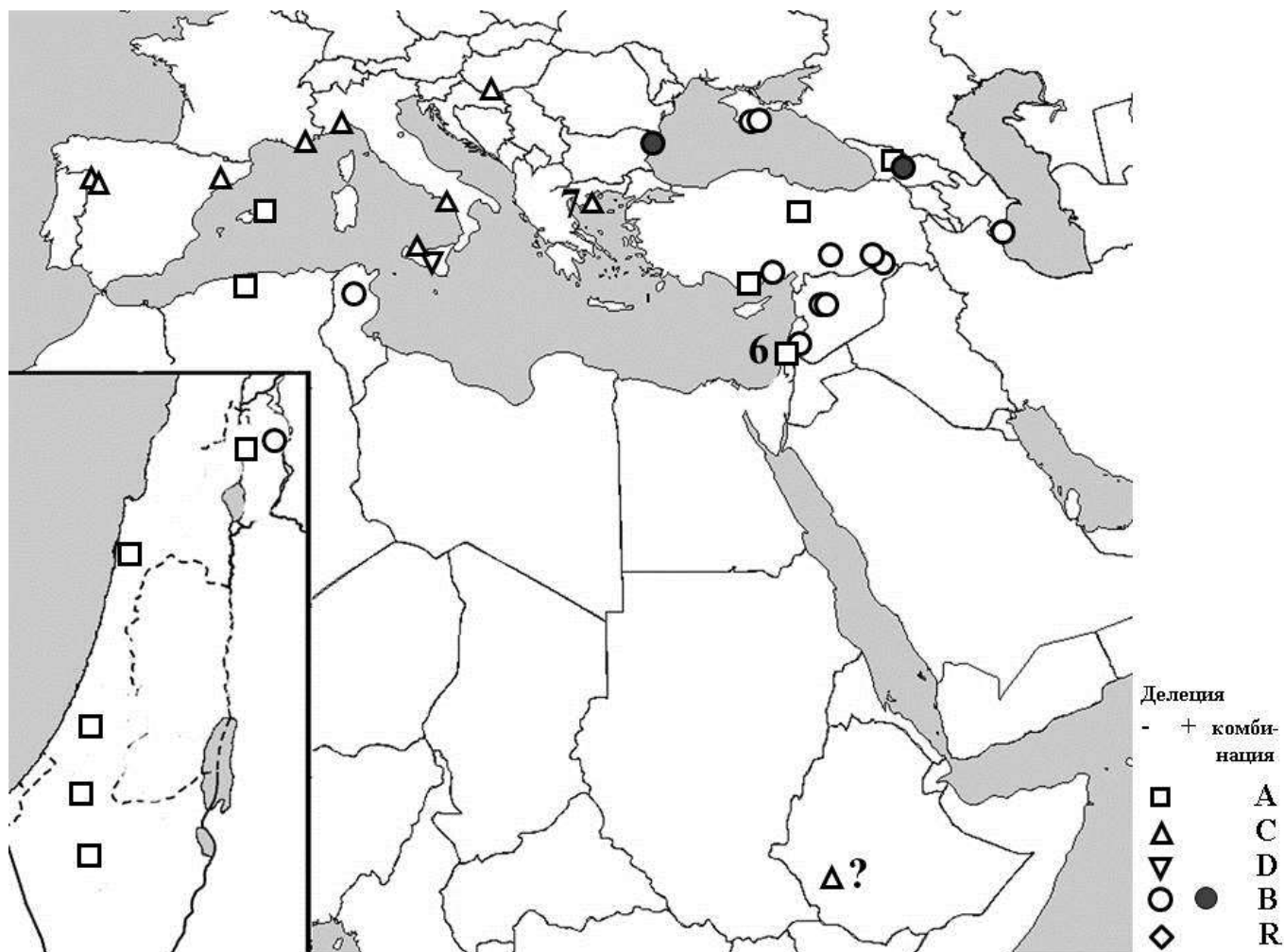


Рис. 8. Географическое происхождение образцов дикорастущих форм *P. sativum* (*P. sativum* subsp. *elatius*), не имеющих (пустые значки) и имеющих (заполненные значки) делецию 8 нуклеотидов в спейсере *psbA-trnH*, характерную для культурного гороха (*P. sativum* subsp. *sativum*). Цифра 6 обозначает количество образцов, происходящих из Южного Израиля, территория которого показана в выносе. Значки разной формы обозначают комбинации А, С, D, В, R трех маркеров, как на рис. 5.

Лев-Ядун и др. (Lev-Yadun et al., 2000) предположили, что «первоначальное ядро» доместикации культур-основателей Ближнего Востока располагалось в юго-восточной Турции («Турецком Курдистане»), в современных илах Мардин и Диярбакыр. У нас есть по одному представителю дикорастущих форм гороха из этих илов, соответственно образцы P015 и P002, собранные специальной экспедицией Ф. Мюльбауэра в 1989 (Muehlbauer et al., 1990). Интересно, что они несут комбинацию В, но не делецию в спейсере *psbA-trnH*. Таков же и образец P012 из соседнего ила Адияман. Эти результаты не согласуются с гипотезой

«первоначального ядра», хотя ввиду ограниченности материала не могут ее исключить. Их можно объяснить трояко: 1) горох был доместицирован в другом регионе, 2) наша коллекция не репрезентативна для территории предполагаемого «первоначального ядра», где все еще могут присутствовать не выявленные пока потомки непосредственных предшественников культурного гороха, и 3) флора и растительность этого региона изменилась, так что присутствующие там сейчас дикие формы гороха не родственны таковым, росшим там десять тысяч лет назад. (Заметим, что последнее предположение противоречит самим основам гипотезы «первоначального ядра», опирающейся на рецентную флору, см. Fuller et al. 2012).

Мы надеялись с помощью делеции в спейсере *psbA-trnH* локализовать группу образцов, наиболее родственных одомашненному предку дикого гороха, и тем самым попытаться локализовать географическую область его первоначальной доместикации геногеографическими методами. Два дикорастущих образца с делецией происходят, однако, из Болгарии и Грузии, которые не фигурируют ни в одной археологической реконструкции места доместикации гороха. Впрочем, Закавказье находится не так далеко от Юго-Восточной Турции, где она предположительно имела место. Такое географическое происхождение дикорастущих образцов, несущих молекулярный маркер, предполагавшийся имеющимся у непосредственного предка дикого гороха, может иметь два объяснения: 1) они также происходят от гибридов дикого и культурного гороха, но унаследовали раскрывающиеся бобы (фенотип *Dpo*) и потому успешно натурализовались, и 2) они действительно являются ближайшими эволюционными родственниками культурного гороха, но за десять тысяч лет, прошедших с момента доместикации последнего, их естественный ареал сместился от Плодородного полумесяца к северу.

Для выяснения факта существования и современного распространения эволюционных линий гороха, наиболее близких к непосредственному дикорастущему предку культурного гороха, подвергнутому доместикации, необходим интенсивный и тщательный поиск, сбор и изучение дикорастущих форм гороха на Балканах, на Кавказе, в Закавказье и северной Турции.

3.5. Внешние признаки дикорастущих представителей *Pisum sativum* в свете их геногеографического анализа.

Логично было ожидать, что обособление линии В могло сопровождаться определенной эволюцией и внешнего фенотипа, которая вылилась бы в приобретение ею определенных диагностических признаков, отличающих ее от носителей комбинаций А и С, от которых она происходит. Однако наш первоначальный анализ (Kosterin, Bogdanova, 2008) не позволил выявить таких признаков – носители линий А и В в отношении внешних признаков представлялись в одинаковой степени разнообразными, без каких-либо общих диагностических признаков. Молекулярные свидетельства глубокой дивергенции дикорастущих *P. sativum*, не сопровождавшейся морфологической дивергенцией, выглядели достаточно странно.

Ситуация изменилась после критического пересмотра нашего материала и исключения образцов, имеющих нераскрывающиеся бобы (фенотип дрo). Оказалось, что большинство по настоящему дикорастущих (фенотип Дрo) представителей линии В имеют одну особенность – неяркие, почти не раскрывающиеся цветки. Они желтоватые, с очень слабой розовой антоциановой окраской лишь в дистальной части довольно узких крыльев, парус остается свернутым и покрывает остальной венчик, в плане цветки выглядят узкоромбовидными, с наибольшей шириной у основания паруса (Рис. 9к-л). Цветоносы при таких цветках всегда короткие. Этот тип цветков на удивление сходен и постоянен у растений самого разного общего габитуса – находим его и у очень низкорослого образца Л11794 («северный *humile*») с вулканических пеплов г. Хермон (Рис. 9к), и у очень высокорослых образцов Л3233 и Л3234 (*P. sativum* subsp. *elatius* var. *brevipedunculatum*) из Сирии, и у растений средней величины из Турции (Рис. 9к), Болгарии (Рис. 9м) и Крыма (Рис. 9к). У цветков образцов Р015 (Рис. 9н) и Р017 (Рис. 9з) из Турции парус раскрывается, тем не менее, цветки остаются мелкими и бледноокрашенными, с коротким и узким парусом.

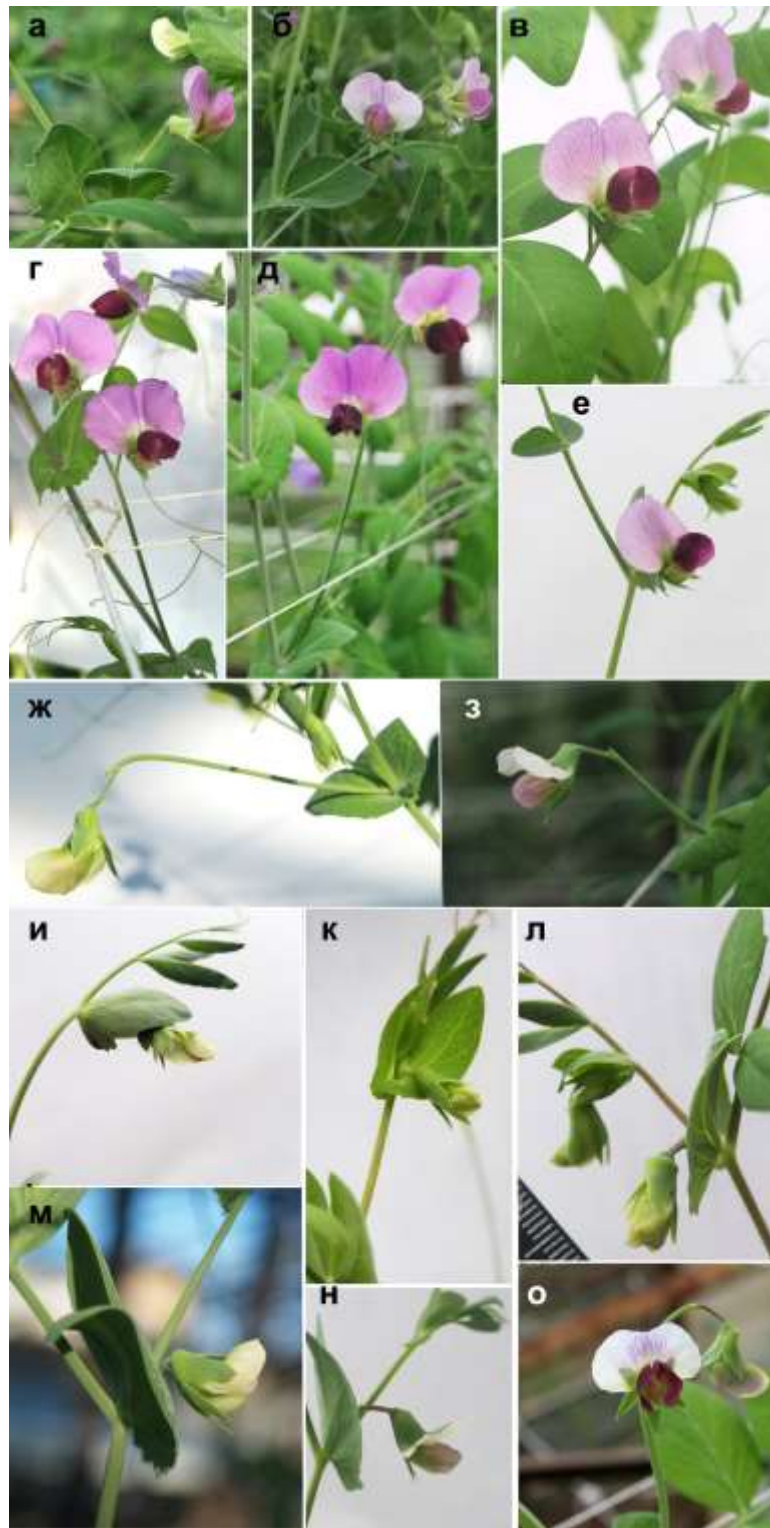


Рис. 9. Цветки некоторых образцов *Pisum sativum* subsp. *elatius* s.l., с указанием комбинации трех молекулярных маркеров: а – 711, Израиль (А); б – 714, Израиль (А); в – VIR2521, Израиль (А); г – Л254, ?Эфиопия (С); д – 722, Израиль (А); е – Л3557, Португалия (С); ж – WG26109, Грузия (А); з – P017, Турция (В); и – P012, Турция (В); к – СЕ1, Крым (В); л – Л1794, Израиль (В); м – WG10925, Болгария (В); н – P015, Турция (В); о – VIR2998, Грузия (В).

Среди дикорастущих образцов линии В лишь образцы СЕ2, VIR2998 (Грузия) (Рис. 9о) и VIR4014 (Армения) из Тавро-Кавказского региона имеют «нормальный гороховый» цветок – среднего размера, ширококораскрытый, с парусом бледным у VIR2998 и VIR4014, но окрашенным в розовый цвет у СЕ2, слабо (у VIR2998) либо интенсивно (у двух других) окрашенными крыльями. У этих образцов первые цветоносы длинные, у СЕ2 на них два цветка, на высоких ярусах по одному, у двух других образцов цветки всегда по одному на цветонос. Обратим внимание на большую разницу в длине цветоносов и окраске цветков у двух образцов с южного берега Крыма, СЕ1 (Симеиз) и СЕ2 (Кара-Даг).

Напротив, все носители комбинаций А и С имеют ширококораскрытые цветки с интенсивной антоциановой пигментацией хотя бы на крыльях (Рис. 9а-е) – это «нормальный цветок гороха», хорошо известный нам по культурному подвиду *P. sativum* subsp. *sativum*. У группы низкорослых образцов из Израиля («южный *humile*») 711-714 (Рис. 9а-б) цветки мелкие, с коротким парусом, но ширококораскрытые, их особенностью является присутствие той или иной степени интенсивности пигментации на парусе, иногда столь же интенсивной, как и на крыльях. Цветки крайне высокорослых образцов 721 и 722 (Рис. 9д), VIR2524, WL2123 из Израиля, традиционно трактуемых как “*P. elatius*” – очень крупные, с непропорционально крупным парусом, который у образца 722 имеет достаточно интенсивную пурпурную пигментацию (Рис. 9д); пигментация крыльев у этих образцов всегда очень интенсивная. Некоторым исключением выглядит необычный образец из Грузии WG26109 – он имеет крупные цветки, с таким же крупным парусом и на столь же длинных цветоносах, которые, однако, слабо пигментированы и в условиях теплицы раскрываются далеко не всегда (Рис. 9ж).

Носители комбинации С имеют достаточно крупные до очень крупных (Л1254; Рис. 9г) ширококораскрытые цветки пропорций и пигментации (беловатый парус, интенсивно окрашенные крылья), характерных для культурного гороха. Цветоносы при таких цветках бывают разной длины – от очень коротких, почти редуцированных, например, у образцов Л11091 и Л13557 (Рис. 9е), до очень длинных у образцов 721-722 (Рис. 9д), Л1254 (Рис. 9г).

Географическое происхождение образцов дикорастущего гороха с яркими, широко раскрытыми и бледными цветками, как правило с не вполне раскрытым парусом (наряду с комбинациями молекулярных маркеров) показаны на Рис. 10.

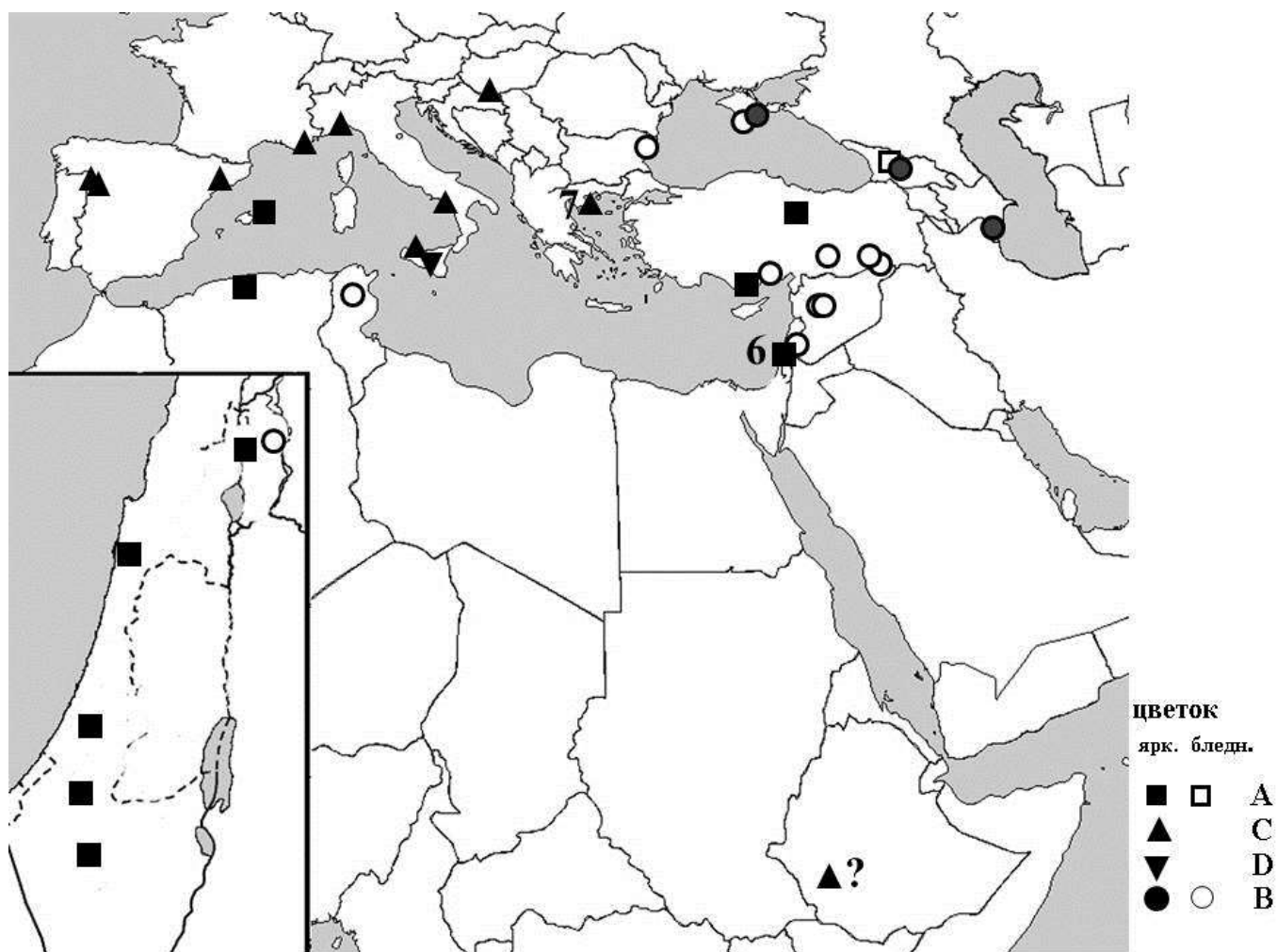


Рис. 10. Географическое происхождение образцов дикорастущих форм *P. sativum* (*P. sativum* subsp. *elatius*), имеющих яркие, хорошо раскрытые (заполненные значки) и бледные цветки (заполненные значки). Цифры 7 и 6 обозначает количество образцов, происходящих из Греции и Южного Израиля; территория последнего показана в выносе. Значки разной формы обозначают комбинации А, С, D, В, трех маркеров, как на рис. 5.

Многие из образцов, поступивших в качестве дикорастущих, но имевших нераскрывающиеся бобы (Табл. 2) имеют широко раскрытые цветки типа носителей комбинаций А и С и культурного подвида, но цветки образцов VIR7327 и P008 из Турции столь же слабо пигментированы и имеют почти не раскрывающийся парус, как и большинство представителей линии В.

Примечательно, что культурный подвид (*P. sativum* subsp. *sativum*) принадлежит к линии В и кластеризуется с ее же представителями на филогенетических реконструкциях, построенных на основании генов гистона H1, но имеет цветок того же типа, что и носители

комбинаций А и С. Из дикорастущих носителей комбинации В подобный цветок имеют только образцы СЕ2, VIR2998 и VIR4014 из Крыма и Закавказья. Отметим, что Закавказье расположено достаточно близко к предполагаемой «Core Area» - центру доместикиации культур-основателей ближневосточного земледелия, реконструируемому в юго-восточной Турции (Lev-Yadun et al., 2000; Gopher et al., 2001; Abbo et al., 2010a; 2011a, 2012, 2013).

Можно предложить следующую интерпретацию этих фактов. Скорее всего, первоначально линия В имела нормально развитый цветок, и именно такой горох был доместичирован. Некоторая же редукция цветка произошла лишь у одной сублинии в пределах линии В, потомков которой мы в основном и находим в современной природе, наряду с носителями комбинаций А и С (а также у некоторых предположительных гибридов культурного и дикого гороха). Дикорастущие представители линии В с нормальным цветком сохранились в Крыму, Закавказье и, возможно, Восточной Турции, где горох был предположительно доместичирован. Крайне необходимо организовать поиск подобных растений в этих регионах в природе, чтобы пополнить коллекцию вероятных наиболее близких сородичей непосредственных предков культурного гороха.

Глава 4. ОПЫТ РЕКОНСТРУКЦИИ ФИЛОГЕНИИ РОДА *PISUM* НА МЕЖВИДОВОМ И ВНУТРИВИДОВОМ УРОВНЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕНОВ ГИСТОНА H1

4.1. Актуальность филогенетического исследования рода *Pisum* с использованием генов гистона H1.

Реконструированный выше (раздел 3.3) сценарий эволюции и миграции дикорастущих форм посевного гороха основан всего на трех мутациях, что можно считать недостаточно надежным основанием для выводов. Возникла необходимость подкрепить его существенно более информативным анализом. Для этой цели оптимальным является молекулярно-филогенетический анализ как основанный на гораздо большем статистическом ансамбле нуклеотидных позиций. Нам не подходили опубликованные на тот момент филогенетические реконструкции, поскольку задействованный в них материал, как правило, не имел географической привязки, не был надежно классифицирован на дикие и культурные формы и заведомо не был прогенотипирован в отношении трех наших маркеров. Поэтому мы предприняли самостоятельный филогенетический анализ на нашем материале, к тому же с использованием новых маркеров – генов гистона H1, перспективных для филогеографических исследований.

Гистон H1 – облигатный белковый компонент хроматина эукариот. Это положительно заряженный белок, связывающийся с так называемой линкерной ДНК (участки ДНК, не входящие в нуклеосомы). Считается, что он участвует если не в создании, то в стабилизации структуры хроматина высокого порядка (Allan et al., 1986; Bharath et al., 2003). Связь гистона H1 с ДНК весьма лабильна и обратима, поэтому этот белок находится в хроматине в состоянии динамического равновесия (Bustin et al., 2005; Misteli et al., 2000; Th'ng et al., 2005; Zlatanova et al., 2000), а его относительная концентрация меняется от ткани к ткани (Fan et al., 2003, 2005; Pearson et al., 1984) и коррелирует с длиной нуклеосомного повтора (Routh et al., 2008; Woodcock et al., 2006). Таким образом, гистон H1 представляет собой весьма изменчивый компонент

«молекулярной среды» для экспрессии любого гена генома. В отличие от коровых гистонов, гистон H1 – весьма эволюционно изменчивый белок (Doenecke et al., 1997; Happel and Doenecke, 2009), вплоть до того, что во многих неродственных группах организмов по нему наблюдался аллельный полиморфизм (Kosterin et al., 1994). У большинства организмов есть несколько неаллельных субтипов гистона H1, которые могут иметь определенную функциональную специфичность (Cole, 1987; Happel and Doenecke, 2009; Izzo et al., 2008; Ponte et al., 1998; Sancho et al., 2008) и различаться сродством к хроматину, скоростью обмена в хроматине (De et al., 2002; Th'ng et al., 2005) и влиянием на фазирование нуклеосом (Oberg et al., 2012; Sancho et al., 2008). Некоторые субтипы гистона H1 могут влиять на степень компактизации хроматина (Alami et al., 2003; Clausell et al., 2009; Khadake and Rao, 1995; Liao and Cole, 1981; Talasz et al., 1998), различаться по своей концентрации в транскрипционно-активном или неактивном хроматине (Parseghian et al., 2000, 2001; Th'ng et al., 2005) и, главное, участвовать в регуляции экспрессии определенных наборов генов (Jedrusik and Schulze, 2001; Sancho et al., 2008; Takami et al., 2000). Спектр субтипов гистона H1 (их набор и относительная концентрация) может меняться в ходе онтогенеза и в процессе клеточной дифференциации (Cole, 1987; Doenecke et al., 1997; Ponte et al., 1998), а также может быть важным фактором дифференциальной активности генов (Brown et al., 1996, 1997; Sera and Wolffe, 1998; Th'ng et al., 2005). Как следствие, изменчивость структуры молекулы гистона H1 может быть вовлечена в «доводку» паттерна экспрессии многих генов (Alami et al., 2003) и тем самым участвовать в адаптивной эволюции (Berdnikov et al., 1993a,b).

Так, у насекомых наблюдалась корреляция между изменчивостью электрофоретической подвижности гистона H1 (отражающей длину молекулы) и числом рецентных видов в отряде, но не с эволюционным возрастом отряда; этот результат был интерпретирован как свидетельство регулярного участия генов гистона H1 в адаптивных процессах, сопровождающих видообразование (Berdnikov et al., 1993b). Исследование географического распространения аллельных вариантов неаллельных субтипов гистона H1 среди примитивных, местных форм культурного гороха выявило отрицательную корреляцию частоты одного из аллельных вариантов субтипа H1-5 в региональных выборках с суммой температур вегетационного периода (Бердников и др., 1989; Berdnikov

et al., 1993a). Сравнение почти-изогенных линий гороха, различающихся аллельными вариантами отдельных субтипов гистона H1, выявило влияние их замещений на некоторые количественные признаки растения (Berdnikov et al., 1999a, 2003; Bogdanova et al., 1994, 2007).

Вследствие высоких темпов эволюционной изменчивости гены гистона H1 могли бы оказаться полезными для филогенетических реконструкций на достаточно малых отрезках времени, вплоть до внутривидового уровня. Более того, частые делеции и дупликации в протяженном гидрофильном С-терминальном домене молекулы гистона H1, ответственном за связывание с линкером ДНК, могли бы служить уникальными маркерами определенных эволюционных линий (Trusov et al., 2004).

Гистоны (кроме гистона H4) условно разделяют на репликационно-зависимые, репликационно-независимые, или замещающие, и тканеспецифичные, причем гены репликационно-зависимых гистонов, как правило, организованы в кластеры тандемных повторов и не имеют интронов, а гены репликационно-зависимых гистонов находятся вне повторенных кластеров и содержат интроны (Rooney et al., 2002). Однако у растений кластеры генов репликационно-зависимых гистонов малы или вообще отсутствуют, и в них не входят гены гистона H1 (Eirín-López et al., 2004).

Ранее мы установили, что гистон H1 гороха представлен как минимум семью неаллельными субтипами 1-7, кодируемыми уникальными паралогичными генами, пять из которых (субтипы 2-6) тесно сцеплены в кластер *His(2-6)* длиной около 1,5 сМ. Наиболее электрофоретически подвижный субтип 7 присутствует лишь в хроматине молодых тканей (Kosterin et al., 1994). Как минимум у некоторых дикорастущих форм гороха, а возможно и у всех представителей рода, имеется 8 субтипов, причем электрофоретическая подвижность в условиях кислого денатурирующего электрофореза (см. раздел 2.6.3) одного из них как правило совпадает с подвижностью субтипа 2, что не позволяет визуализировать его на электрофореграмме. Отметим, что кластер *His(2-6)* не является кластером тандемных повторов, как в случае репликационно-зависимых гистоновых генов, а является небольшой (на рекомбинационной карте) областью, где находятся не менее пяти паралогичных уникальных генов. Расшифрованные на данный момент гены субтипов 1, 3, 5, 6 и 7 содержат интрон (Berdnikov et al., 2003a; Bogdanova et al., 2005; 2007 и неопубл.).

Таким образом, гены гистона H1 по своим свойствам соответствуют репликационно-независимым гистонам, а субтип 7 имеет свойства замещающего гистона.

Как мы увидим ниже, ген *His5* минорного субтипа H1-5 позволил с успехом реконструировать филогению рода *Pisum* как на межвидовом, так и на внутривидовом уровне, чего нельзя сказать о гене *His7* субтипа H1-7, экспрессирующемся лишь в активно делящихся клетках и по-видимому обладающего уникальной функциональной спецификой. Однако использование генов гистона H1 в качестве филогенетических маркеров у растений представляется не вполне удобным ввиду отсутствия универсальных праймеров. Наши праймеры были специфичны к некодирующим фланкирующим последовательностям именно гена *His5* рода *Pisum*, а также ближайшего к нему рода *Vavilovia*. Даже другие бобовые могут не иметь ортологичного гена, хотя у них всегда имеется изменчивое число ортологов субтипов 1, 6, 7 и группы субтипов 2-5 гороха (Kosterin et al., 1994). К настоящему моменту в нашем коллективе просеквенированы гены субтипа 1 (Berdnikov et al., 2003), 3 (Zaytseva et al., 2012), 5 (Bogdanova et al., 2005; Zaytseva et al., 2012; 2015), 6 (Kosterin et al., 2012) и 7 (Bogdanova et al., 2007; Zaytseva et al., 2015). Праймеры к некодирующему окружению всех этих генов оказались специфичными для конкретных генов, только в случае праймеров, разработанных к окружению гена субтипа 4 мы наблюдали отдельные случаи кросс-амплификации с таковыми к гену субтипа 3. В то же время, используя праймеры, специфичные к окружению гена субтипа 6, нам удалось амплифицировать его ортолог у некоторых растений из другого рода, *Vicia unijuga* A. Br. и *Lathyrus gmelinii* Fritsch., хотя для некоторых других видов из тех же родов этого не удалось сделать (Kosterin et al., 2012).

Проблема отсутствия универсальных праймеров не позволяет широко использовать целые гены гистона H1 в качестве филогенетических маркеров. Использование в качестве таковых их фрагментов также под вопросом, поскольку как минимум С-конец является самой вариабельной частью гистона H1. Однако перспективными могут оказаться подходы, основанные на использовании эволюционной консервативности глобулярного домена этой молекулы.

4.2. Изменчивость первичной структуры генов субтипов 5 и 7 гистона H1 гороха

Для секвенирования мы прежде всего выбрали минорный субтип 5, кодируемый геном *His5*, входящим в кластер *His(2-6)*, поскольку первичная структура его кодирующей части, интрона и ближайшего окружения была установлена ранее (Bogdanova et al., 2005). Кроме того, для одного из аллелей гена *His5* были получены свидетельства его возможного участия в адаптации к холодному климату у примитивных культурных форм (Berdnikov et al., 1993a), что вызывает дополнительный интерес к этому гену. Ген *His5* был просеквенирован у 65 дикорастущих и культурных образцов гороха (Zaytseva et al., 2012).

В гене *His5* присутствует интрон, который из дальнейшего анализа исключается. Всего было выявлено 36 аллелей гена *His5*. Выявлено 14 групп, включающих более одного образца и имеющих идентичные аллели *His5*. В частности, идентичный аллель несли все четыре образца *P. abyssinicum*, что соответствует оценкам Ellis et al. (1998) об очень недавней дивергентной (не более 4 тыс. лет) радиации этого таксона. Во всех 36 выявленных аллелях в сумме найдена 91 нуклеотидная замена в 87 полиморфных сайтов: среднее нуклеотидное разнообразие Pi составило 0,0147, гаплотипическое разнообразие Hd – 0,956 (со стандартным отклонением 0.016). Частота синонимичных замен на синонимичный сайт была оценена (с помощью модели Джукса-Кантора) как 0,027, а несинонимичных замен на несинонимичных сайт – как 0.010. (Те же параметры для несколько сокращенного набора образцов, у которых был также просеквенирован ген *His7*, приведены в Таблице 7) Применение Z-теста на влияние отбора, с 500 бутстрап-репликами, выявило не-нейтральный режим исключительно для пар аллелей *P. fulvum*/другие представители рода. Возможно, это указывает на какое-то участие гена *His7* в становлении очевидных фенотипических различий при дивергенции *P. fulvum* и *P. sativum*.

1		132
1	MADEEP IIAVDEIVFHPFVSEKVEEPKAFTEKTYGKQESHPKCAKQFQNFVPSHTDEEMDKALVSLKEDMGSSQVALAFD DEEKQKGLPANNKCLLQSLAKCKVAGGKLVKVGSSVCLSAAPKQPTVVKPPT	
2A.....
3K.....
4V.....A.....
5V.....A.....
6Q.....A.....
7Q.....A.....
8Q.....A.....
9H.....
15A.....
16A.....
12A.....
13A.....A.....
10D.....A.....
11A.....
14A.....
21A.....
22A.....
20L.....A.....
17Q.....A.....
19Q.....A.....
18Q.....A.....
23S.L.....S.....A.....
29S.L.....S.....A.....
24S.L.....S.....A.....
26S.L.....S.....K.....
28S.L.....S.....A.....
27S.L.....S.....A.S.....
30S.L.....S.....G.....A.....
25S.L.....S.....G.....
133		263
1	KPAAKCAAVKCKTRAFKAKRIVYKPKSESVTTEPKAAANPKKAAANPKKAAAKPKKAAKKAANVPEKPKKSAKVAKIS TKTTEGKQVAVAKPAPKCAKRAKQKPKVKSANPKSVKSEADKQKGVKGGKRE	
2V.....A.T.....A.....
3F.....V.....V.....A.....
4V.....V.....A.....
5V.....
6V.....
7S.....K.....
8A.....
9A.....V.A.....
15A.....V.A.....
16V.....A.....V.A.....
12A.....V.A.....T.....
13A.....V.A.....T.....
10A.....A.....V.A.....T.....
11A.....V.A.....T.....
14A.....V.A.....T.....
21R.....A.....T.....
22A.....T.....
20A.....V.A.....
17A.....V.A.....
19A.....V.A.....
18A.....V.A.....
23A.....V.A.....
29A.....V.A.....
24A.....V.A.....
26A.....V.A.....
28A.....V.A.....
27G.....A.....V.A.....
30L.....T.....A.....V.A.....
25A.....T.....R.....

Рис. 11. Выравнивание обнаруженных у представителей рода *Pisum* аллельных вариантов аминокислотной последовательностей субтипа H1-5 гистона H1, реконструированных на основании кодирующей последовательности гена *His5*: Варианты 1-16 найдены у следующих образцов: *Pisum fulvum*: 1) - L95; 2) - 703; 3), 701 - 4) - 706; 5) - 708; 6) - 707; 7) - VIR6070; 8) - VIR2523, VIR3397, VIR6071, WL2140, 702; *Pisum abyssinicum*: 9) - JI1876, VIR2759, VIR3567, WL1446; *Pisum sativum*: 10) - P013; 11) - WL2123, 722; 12) - JI1091, JI1092, JI1096, JI2055, PI344008, PI3444537; 13) - JI1093; 14) - JI1094, JI1095, JI3553; 15) - VIR320, 714; 16) - 713; 17) - JI254; 18) - JI2724; 19) - 721; 20) - L100, 711; 21) - Ps002; 22) - JI1794, P012; 23) - P014, P016, VIR320*, VIR2514; VIR2524, VIR4014, 24) - PI3439993, VIR7327; 25) - VIR6560; 26) - CE1, CE2, JI2105, WL1238; 27) - P017; 28) - P015; 29) - Ps008; 30) - VIR1851, VIR2521, VIR2998, VIR3249, VIR3424, VIR3439, VIR4362, WL805, 723.

Большинство (58 из 65) реконструированных последовательностей белкового продукта имели длину в 256 аминокислотных остатков. Выявлено 45 изменчивых аминокислотных сайтов, 10 из них – в N-терминальном гидрофильном домене молекулы (его длина составляет 50 аминокислотных остатков), 5 – в центральном глобулярном домене (длиной 68 остатков) и больше всего – 29 - в протяженном С-терминальном гидрофильном домене, составляющем 129-142 аминокислотных остатков. Всего выявлено 25 вариантов аминокислотной последовательности белкового продукта (Рис. 11).

Таблица 7. Параметры нуклеотидного разнообразия для генов *His5* and *His7* (после ± указано среднеквадратическое отклонение)

Параметр	<i>His5</i>	<i>His7</i>
Число расшифрованных последовательностей	56	56
Число нуклеотидов в выравнивании без учета делеций и дупликаций («complete deletion»)	753	528
Число полиморфных сайтов	80	40
Число нуклеотидных замен	84	43
Число аллелей	33	32
Среднее число замен во всех возможных парах последовательностей	11.356	6.516
Нуклеотидное разнообразие (среднее число нуклеотидных различий между всеми парами последовательностей в пересчете на один сайт)	0.01508 (±0.00088)	0.01234 (±0.00085)
Отношение числа синонимичных замен к синонимичным сайтам, $K(s)$	0.02985 (±0.017495)	0.035721 (±0.020748)
Отношение числа несинонимичных замен к несинонимичным сайтам, $K(a)$	0.010666 (±0.005861)	0.005 (±0.003513)
$\omega=K(a)/K(s)$, арифметическое среднее	0.355	0.145

В С-терминальном домене ожидаемо найдено также несколько делеций и дупликаций, которые характерны именно для этого домена. Их удобнее рассмотреть применительно к аминокислотной последовательности. Инсерция 7 аминокислотных остатков в позиции 178 (относительно наиболее частого аллеля длиной в 256 остатков), представляющая собой третью копию тандемного повтора КРКАААА, была найдена у двух образцов, принадлежащих *P. fulvum*, 703 и L95 (Эти образцы считаются синонимами; получив их

независимо, мы нашли различия между имеющимися у них аллелями *His5* в одну нуклеотидную замену, что вполне может быть и внутривидовым полиморфизмом). Делеция 6 аминокислотных остатков, КРКАВА, начинающаяся с той же позиции 178, найдена у образцов VIR3397, VIR6071, WL2140 и 702 - также у всех образцов *P. fulvum*. Таким образом, этот район С-терминального домена оказался изменчив именно в пределах вида, притом что у этого вида найден и «стандартный» вариант последовательности, встречающийся во всем роде. Делеция 5 аминокислотных остатков, начинающаяся с позиции 235, была обнаружена у местного образца культурного гороха VIR6560 (*P. sativum* subsp. *sativum*) из Таджикистана.

Таким образом, среди 12 образцов *P. fulvum* мы нашли дубликацию (2 образца) и делецию (4 образца), против одной делеции у 53 образцов *P. sativum*. Такие различия можно объяснить, исходя из того, что ареал *P. fulvum*, по всей видимости, находится в области происхождения этого таксона и имел возможность аккумулировать мутационную изменчивость, включая внутригенные перестройки, тогда как *P. sativum* еще в диком своем состоянии претерпел не менее двух волн экспансии, в западном и обратном, северо-восточном направлении (см. раздел 3.3), в ходе которых мог потерять часть изменчивости за счет многократных эффектов «бутылочного горлышка».

Ранее мы провели широкомасштабный анализ изменчивости электрофоретической подвижности субтипов гистона H1 гороха (Berdnikov *et al.*, 1993a; Kosterin *et al.*, 1994) в условиях кислого (уксусная кислота/мочевина) денатурирующего электрофореза в полиакриламидном геле по модифицированному методу Панима и Чокли (Panyim, Chalkley, 1969). В этой системе подвижность белка сильно зависит от его положительного заряда и связана мягкой обратной зависимостью с его молекулярной массой (Bogdanova *et al.*, 2005). У культурного подвида для каждого субтипа гороха было выявлено 2-3 четких электроморф, а у субтипа 6 их было выявлено четыре (Berdnikov *et al.*, 1993a), тогда как у дикорастущих форм выявлялись те же отчетливые электроморфы по субтипам 1, 6 и 7, а по остальным – неопределенное число слабо отличимых друг от друга электроморф (Kosterin *et al.*, 1994). Секвенирование гена *His5* показало и подтвердило, что одинаковая электрофоретическая подвижность иногда достигается разными аминокислотными заменами и/или делециями-дубликациями. Так, одинаковый прирост подвижности оказался

достигнутым разными делециями в С-терминальном домене, КРКАВА у четырех образцов *P. fulvum* и SVКАК у образца VIR6560 из Таджикистана, а также заменой остатка глицина на остаток лизина в глобулярном домене у дикорастущего образца P017 (*P. sativum* subsp. *elatus*) из Турции. Одинаковое уменьшение подвижности достигнуто инсерцией КРКАААА у образцов 703и L95*P. fulvum* и заменой лизина на аспарагин у 10 образцов *P. sativum*.

Весьма интересна группа из шести образцов, имеющая аллель, несущий замену остатка лизина на остаток аспарагина, что приводит к замедлению ее электрофоретической подвижности. Это следующие образцы *P. sativum*: «разжалованные из дикорастущих» VIR2524, P016, VIR4014, 320*, культурные P014 (Турция), VIR2514 (Сирия). Кроме того, тому же аллелю идентичны не полностью расшифрованные последовательности *His5* культурных образцов VIR3971 (Кировская обл.), VIR3913 (Таджикистан) и VIR6135 (Греция). Ранее мы обнаружили, что в региональных выборках образцов местных примитивных форм культурного гороха Старого Света частота аллельного варианта субтипа 5 с такой электрофоретической подвижностью демонстрирует отрицательную корреляцию с суммой температур вегетационного периода, так что наибольшая его частота обнаруживается в Северной России, Таджикистане и Афганистане (Бердников и др., 1989; Berdnikov et al., 1993a). Мы сделали предположение, что этот аллель имеет селективное преимущество в условиях более сурового климата. Тот факт, что 10 образцов с такой электрофоретической подвижностью субтипа 5, происходящие из отдаленных регионов, от Греции и Сирии до Северной России и Таджикистана, имеют идентичный аллель, говорит о его недавнем расселении. Скорее всего, этот аллель возник в Передней Азии и, будучи занесенным в культуру регионов с более суровым климатом, получил там ощутимое преимущество и распространился. Остается только догадываться, каким образом одна замена, снижающая на единицу положительный заряд в минорном субтипе N1, могла бы иметь столь сильный адаптивный эффект. Однако не следует забывать, что хроматин является той средой, в которой происходит экспрессия всех генов генома, а состав белков хроматина имеет первостепенное значение для его экспрессионного статуса.

Второй просеквенированный нами ген гистона N1 гороха весьма отличался по своим свойствам от первого – это *His7*, кодирующий самый электрофоретически мобильный

субтип 7 – единственный субтип, отличающийся определенной тканеспецифичностью, так как он присутствует в хроматине только молодых, активно растущих органов растения и довольно быстро исчезает из тканей, в которых клетки прекратили деление (Kosterin et al., 1994). По всей видимости, его присутствие необходимо в транскрипционно-активном хроматине. Ген *His7* не входит в кластер тесно сцепленных генов гистона H1, *His(2-6)*, хотя и расположен в той же хромосоме, на расстоянии около 30 сМ (Kosterin et al., 1994).

Ген *His7* был просеквенирован у 56 образцов гороха (Zaytseva et al., 2015). Всего выявлено 32 аллеля и 43 нуклеотидных замены в 40 полиморфных сайтах; найдено 10 групп, включающих более одного образца с идентичными аллелями. Параметры нуклеотидного разнообразия представлены в таблице 7 в сравнении с таковыми для *His5*.

Выявленные 32 аллеля кодируют 16 вариантов аминокислотных последовательностей H1-7 (Рис. 12); у 54 из 56 образцов они имеют длину 186 остатков: 19 в составе N-терминального домена (однако первый метионин у процессированного белка отрезается), 68 в составе глобулярного домена, 99 в составе C-терминального домена. Всего имеется 14 переменных позиций – 2 в консервативном глобулярном домене и 12 переменных позиций в C-терминальном домене. Замена остатка гистидина на остаток тирозина в глобулярном домене уменьшает на единицу положительный заряд молекулы в кислых условиях и тем самым снижает ее электрофоретическую подвижность; эта замена выявлялась нами и ранее (Bogdanova et al., 2007).

Как и в случае *His5*, делеции найдены только в участке гена, кодирующем C-терминальный домен молекулы. Делеция трех аминокислотных остатков KTS в позициях консенсуса 98-100 обнаружена у образца П1092 (*P. sativum* subsp. *elatius*) из Греции, другая делеция в 8 нуклеотидных остатков KAAAKPKA в позициях 129-136 найдена у тестерной линии WL1238 (*P. sativum* subsp. *sativum*). Ранее она же была найдена нами и у другой тестерной линии, WL1688 (Bogdanova et al., 2007); скорее всего она распространена только в пределах культурного подвида.

	1					60	
Consensus	MSTVAQTKPK	KTAAAKKPLS	HPTFAEMITE	AITSLKERTG	SSQYAITKFI	EEKHKDLPPT	
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9X.	
10	
11	
12	
13Y..	
14E..	
15	
16Y..	
	61					120	
Consensus	YRKLVLHLK	KSVASGKLVK	VKSSFKLAPA	AAKTAPAKTS	AATKAPKAVT	KPSAKAVTKP	
1S.....	
2G.	
3	
4	
5A	
6A	
7A	..T.....	
8A.....A	
9	
10	
11A	
12A	
13	
14A	..I.....	
15---	
16	
	121					186	
Consensus	KAKAAGKPKA	KAAAKPKAVA	KPKAKSVKAT	PVKKAVAKKV	VKKAKSVKSP	AKKVKSVKTP	VKKAKK
1	...V...
2	...V...
3	...V...
4	...V...V..
5	...V...S.
6	...V...
7	.T...V...
8T
9
10
11V.....
12
13
14
15
16	-----

Рис. 12. Выравнивание обнаруженных у представителей рода *Pisum* аллельных вариантов аминокислотной последовательностей субтипа H1-7 гистона H1, реконструированных на основании кодирующей последовательности гена *His7*: Варианты 1-16 найдены у следующих образцов: 1) - VIR320; 2) – 701, 707, WL2140; 3) - 702, 706, 711, 714; 4) - 713; 5) - JI1094, JI1095, JI1096, JI3553; 6) - 703, 708, JI2724, L95, PI344008, PI344537, VIR6070; 7) - VIR2523; 8) - P017; 9) - VIR4014; 10) - 721, 722, CE1, CE2, JI254, JI2055, VIR2998, Ps008, P012, P015, PI343993, VIR7327, WL2123; 11) - VIR320*, VIR3424, VIR3439; VIR3249; 12) - 723, P014, Ps002, JI1794, JI1876, JI2105, VIR2524, VIR2759, VIR3567, VIR6071, WL1446; 13) - VIR4362; 14) - VIR1851; 15) - JI1092; 16) - WL1238. Глобулярный домен молекулы показан в серой заливке.

4.3. Филогенетический сигнал генов «заменяемого» и «незаменяемого» субтипов Н1-5 и Н1-7 гистона Н1 гороха

Для филогенетического анализа гена *His5* у 65 образцов (опубл. в Zaytseva et al., 2012) в качестве аутгруппы использовались два паралогичных гена гистона Н1 гороха, субтипа Н1-3 и неидентифицированного субтипа. Они оказались весьма сильно дивергировавшими от *His5* и давали на дендрограммах очень длинную ветвь (которая на Рис. 13) не показана. Филогенетические реконструкции, построенные методом ближайших соседей на основе только синонимичных замен, только несинонимичных замен и аминокислотных замен (не показано) оказались менее информативными, чем основанные на всех нуклеотидных заменах в кодирующей части (интрон не включался); лишь ветвь *P. fulvum* неожиданно показала большую бутстрап-поддержку (78 против 53) на дендрограмме, полученной на синонимичных заменах. Возможно, это связано с наличием не-нейтральных замен в сравнении пар {*P. fulvum* / остальные таксоны}, выявленных Z-тестом (Табл. 7), которые могли ослабить филогенетический сигнал именно для ветви *P. fulvum*.

На дендрограмме, полученной методом ближайших соседей (Рис. 13), первая дихотомия отделила ветвь *P. fulvum* от других образцов, хотя бутстрап-поддержка обеих ветвей первого порядка была не очень высока (соответственно 53 и 57). Вторая ветвь первого порядка, включавшая *P. sativum* и *P. abyssinicum*, не имеет ярко выраженной внутренней структуры. В ней находятся многие ветви, представленные носителями комбинаций А и С, в том числе длинные ветви с высокой (более 90) бутстрап-поддержкой и небольшим числом представителей, в основном линии А из Израиля. При этом большинство носителей комбинации С из Греции, Франции и Италии формируют ветвь совместно с предатвителями *P. abyssinicum*. В целом картина подтверждает наше предположение, что комбинация А является предковой для рода, а комбинация С – производной от нее.

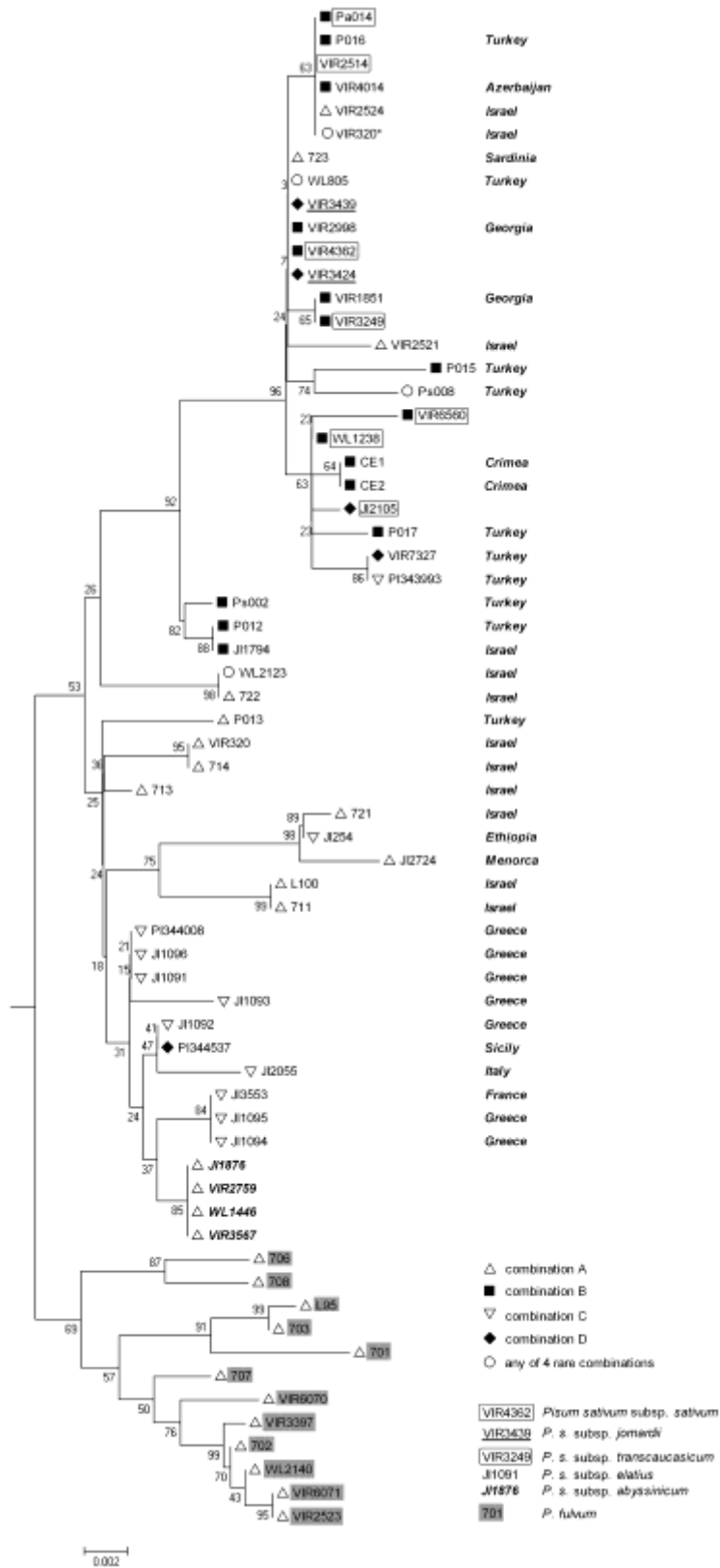


Рис. 13. Реконструкция филогенетического дерева представителей рода *Pisum*, полученная на основании первичной структуры гена *His5* субтипа Н1-5 гистона Н1, методом ближайших соседей.

В то же время внутри ветви первого порядка *P. sativum*+*P. abyssinicum* выделяется мощная ветвь с высокой бутстрап-поддержкой (80), включающая в себя все образцы с комбинацией В, как дикие, так и культурные. В эту ветвь попали несколько носителей комбинации D, редких комбинаций R (образцы VIR320*, WL805 и Ps008) и всего три носителя комбинации А: VIR2521, VIR2524 и 723. Все эти образцы были первоначально получены нами в качестве дикорастущих, однако для всех них за исключением VIR2521 это не подтвердилось в ходе нашей проверки – по всей видимости, они суть продукты недавней (?) гибридизации дикорастущих и культурных форм. Образец VIR2521 гетерогенен и представлен растениями с очень зубчатыми листочками и раскрывающимися бобами и растениям с ровными листочками и нераскрывающимися бобами; скорее всего, в пределах этого образца также произошла интрогрессия между диким и культурным генотипом.

Топология деревьев, построенных методом максимальной парсимонии и максимального правдоподобия, в целом повторяла топологию дерева, построенного методом ближайших соседей, и даже значения бутстрап-поддержки оказались близкими. Отметим, что дерево, построенное методом максимального правдоподобия, характеризуется наиболее высокой (83) бутстрап-поддержкой ветви *P. fulvum*

На Рис. 14. приведены филогенетические реконструкции, полученные методом максимальной парсимонии на основании первичной структуры генов *His5* и *His7*, расшифрованной для одного и того же набора из 56 образцов. Мы видим, что дерево, построенное на основании *His5*, дает хорошее филогенетическое разрешение, с несколькими ветвями, отличающимися очень хорошей бутстрап-поддержкой (91% для ветви *P. fulvum*, 89% для ветви носителей комбинации В), а картина дивергенции соответствует полученной иным методом для большего набора образцов и описанной выше.

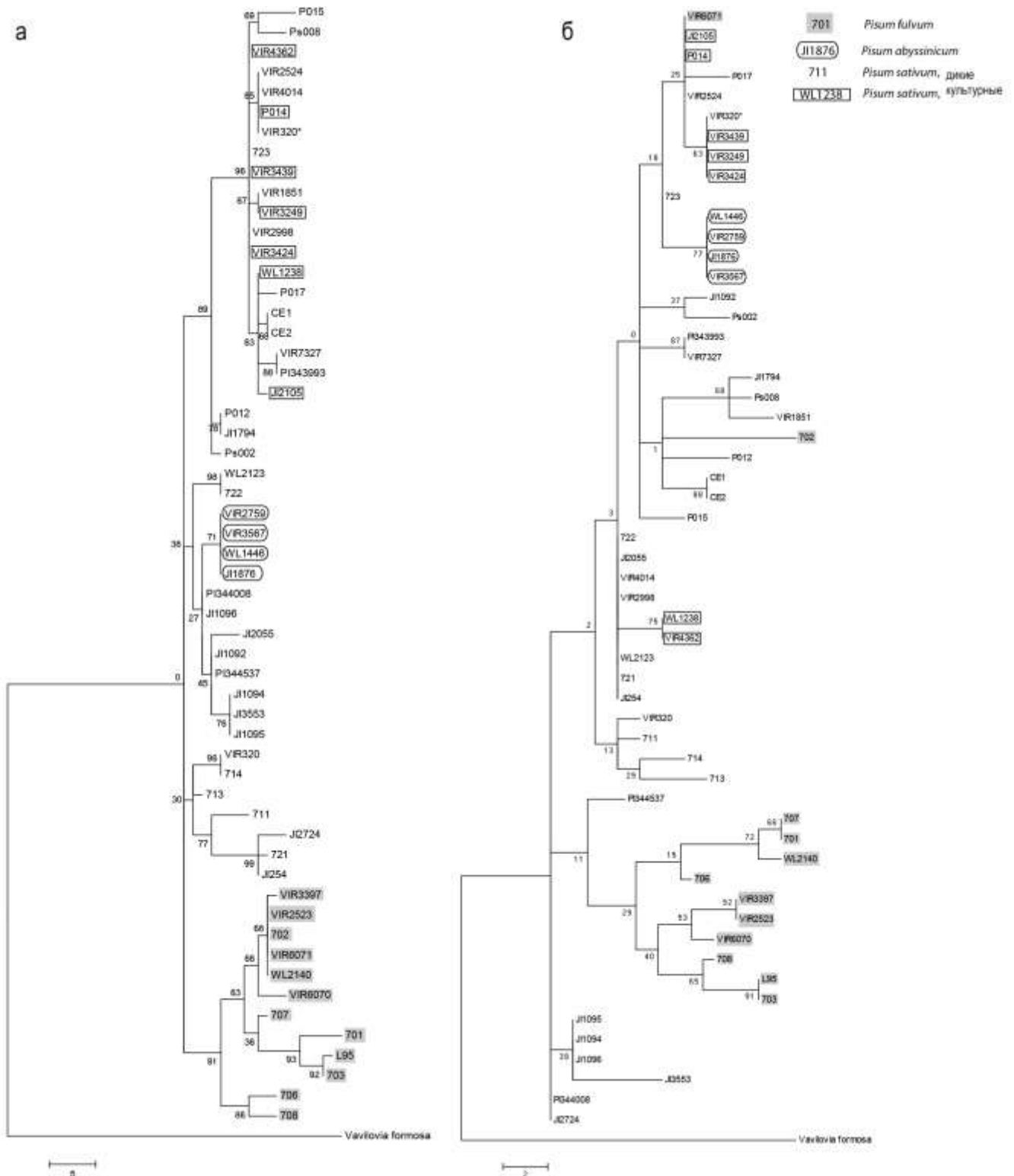


Рис. 14. Реконструкции филогенетического дерева представителей рода *Pisum*, полученные на одном и том же наборе из 56 образцов на основании первичной структуры генов *His5* (а) и *His7* (б) субтипов Н1-5 и Н1-7 гистона Н1, соответственно, методом максимальной парсимонии.

Наоборот, дерево, реконструированное на основе гена *His7*, показывает плохую бутстрап-поддержку большинства кластеров, которые следует признать статистически недостоверными. Достаточную поддержку имеют лишь несколько очень мелких кластеров: 1) два образца (CE1 и CE2) из Крыма (88%); 2) два образца (PI343993 и VIR7327) с редкими комбинациями (87%); 3) все четыре образца *P. abyssinicum* (77%), 4) два образца (WL1238 и VIR4362) культурного подвида (75%); 5) четыре образца, один из которых есть контаминант к дикорастущему образцу (VIR320*), а три (VIR3249, VIR3424, VIR3439) представляют сомнительный таксон «*jomardii*» (63%). Даже ветвь вида *Pisum fulvum* на этом дереве имеет бутстрап-поддержку всего 29%, причем два образца, VIR6071 и 702, находятся за пределами этой ветви.

Дерево, построенное байесовским методом на основании гена *His7* (не показано), несколько более информативно и включает 8 надежно выявленных ветвей с апостериорной вероятностью 1, пять из которых совпадают с выявленными методом максимальной парсимонии, к которым добавляются: 6) ветвь *P. fulvum* за исключением VIR6071 и 702, внутри нее все вторичные дихотомии также имеют апостериорную вероятность 1; 7) ветвь, содержащая три из шести дикорастущих форм с п-ова г. Афон (JI1094, JI1095, JI1096) и загадочный таджикский образец JI3553 с редкой комбинацией аллелей трех маркеров; 8) ветвь, содержащая диокрастущий образец JI1794, Ps008 и «разжалованный из дикарей» VIR1851.

Чтобы объяснить столь большую разницу в филогенетической разрешающей способности двух паралогичных генов гистона H1 гороха, обратимся к параметрам их нуклеотидного разнообразия (Табл. 7). Прежде всего обращает на себя внимание параметр ω , вычисляемый как отношение частоты несинонимичных замен среди несинонимичных сайтов к частоте синонимичных замен среди синонимичных сайтов и отражающий давление очищающего отбора на последовательность. Значение этого параметра для *His5* оказалось в 2,5 раза выше, чем для *His7*. что означает более жесткие ограничения на белковый продукт гена *His7* по сравнению с *His5*. Это же обстоятельство отражается и в количестве различных аминокислотных последовательностей белковых продуктов, выявленных на одном и том же наборе образцов: 15 для субтипа H1-7 против 25 для субтипа H1-5. Заметим, что ни одна из 12 замен аминокислотных остатков у H1-7 не меняет

положительный заряд молекулы, тогда как у H1-5 найдено 7 таких замен. При этом любопытно, что нуклеотидное разнообразие, а именно среднее число замен во всех парах последовательностей, по гену *His7* лишь немногим уступало таковому по гену *His5*. В совокупности эти результаты предполагают, что функционально уникальный субтип H1-7, присутствующий только в хроматине активно растущих тканей и быстро исчезающий их хроматина клеток, прекративших деление, по-видимому, находится под гораздо более жесткими эволюционным ограничениями, чем минорный субтип H1-5, входящий в группу субтипов со сходными свойствами (Kosterin et al., 1994). Поэтому эволюционная изменчивость гена *His7* в основном ограничена синонимичными заменами. Наблюдаемый запрет на изменение положительного заряда С-терминального домена, вероятно, означает, что этот заряд очень важен для стабильности взаимодействия субтипа H1-7 с линкерной ДНК.

Таким образом, пригодность генов гистона H1 для филогенетических реконструкций у растений зависит от того, какой именно из них выбран. В нашем случае филогению не удалось разрешить с помощью гена *His7*, белковый продукт которого имеет уникальную функциональную особенность и составляет значительную часть общего гистона H1 в хроматине молодых тканей, тогда как ген минорного субтипа H1-5 из группы предположительно взаимозаменяемых субтипов со сходными свойствами прекрасно разрешил филогению рода и вида. Невысокая адаптивная ценность присутствия этого субтипа косвенно подтверждается нашим более ранним широкомасштабным электрофоретическим исследованием 883 образцов примитивных культурных форм гороха, в котором мы обнаружили образец (VIR4362, Вологодская обл.), в электрофоретическом спектре которого H1-5 отсутствовал (Berdnikov et al., 1993a), тогда как H1-7 неизменно присутствует у всех образцов (Kosterin et al., 1994; Bogdanova et al., 2007). Эта невысокая адаптивная ценность присутствия H1-5 приближает изменчивость его гена к нейтральному режиму, оптимальному для реконструкции филогении.

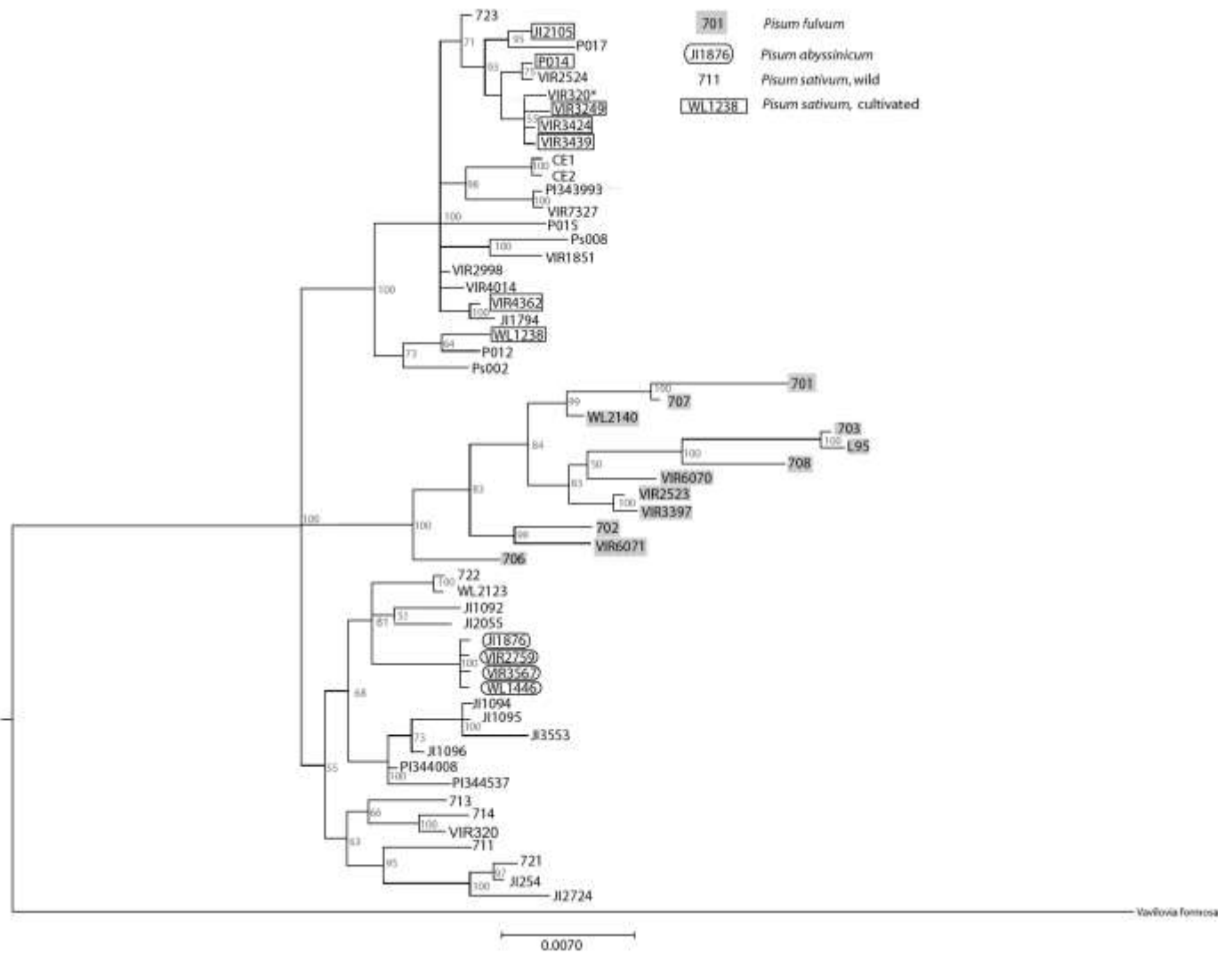


Рис. 15. Филогенетическое дерево представителей рода *Pisum*, реконструированное байесовским методом на основании конкатенированных последовательностей генов *His5* и *His7*.

Филогенетическое дерево, реконструированное байесовским методом для конкатенированных последовательностей генов *His5* и *His7* показано на Рис. 15. Топология этого дерева в целом напоминает таковую, реконструированную только на основе *His5*, но в еще большей степени подчеркивает реальность важной дихотомии внутри вида. На этом дереве род *Pisum* имеет три равномогущих ветви: 1) *P. fulvum*; 2) представители *P. sativum* subsp. *elatius*, имеющие комбинацию А или С, а также *P. abyssinicum* (комбинация А) и 3) представители *P. sativum*, имеющие комбинацию В, как дикорастущие *P. sativum* subsp.

elatus s.l., так и культурные *P. sativum* subsp. *sativum*. Дерево, построенное на основе конкатенированных *His5* и *His7* методом максимального правдоподобия, имеет сходную топологию. Таким образом, если на реконструкциях, основанных на одном только гене *His5*, последовательность которого обладает неплохим филогенетическим разрешением, носители комбинаций А и С образовывали группу, базальную для *P. sativum*, то добавление к анализируемой последовательности гена *His7*, который сам по себе не несет хорошего филогенетического сигнала, превратило эту группу в полноценную ветвь – далее «линия АС», равномошную ветви *P. fulvum* и ветви носителей комбинации В – далее «линия В».

4.4. Филогеографические следствия филогенетического анализа, проведенного на основании генов гистона H1

Все филогенетические реконструкции, как опубликованные ранее (Hoeу *et al*, 1996, Vershinin *et al*, 2003, Jing *et al*, 2007), так и наши (Zaytseva *et al.*, 2012; 2015), сходятся в том, что первая дивергенция рода *Pisum* отделяет хорошо очерченный вид *P. fulvum* и гетерогенный вид *P. sativum*, внутри которого имеются многие ветви разнообразных дикорастущих форм, маленькая, хорошо обособленная ветвь *P. abyssinicum*, и, как правило, мощная ветвь, включающая культурные формы *P. sativum* (среди которых могут выделяться ветви региональных, прежде всего центральноазиатских, форм). Во всех более ранних реконструкциях наиболее загадочной оставалась структура дикорастущих форм *P. sativum*, которая не могла быть адекватно разрешена ввиду путаницы в самом исходном материале (см. раздел 1.2.6.1). Во-первых, дикорастущие формы *P. sativum*, как правило, скрывались за названиями видового ранга *P. elatus*, “*P. humile*”, *P. syriacum*, применяемыми авторами сборов в разном смысле в разное время. Во-вторых, в качестве дикорастущих часто были обозначены культурные или гибридные формы.

Наш анализ имеет два преимущества, которые состоят в том, что дикорастущие формы 1) тщательно отделены от культурных и предположительно гибридных и 2) рассматриваются совместно в составе условного подвида *P. sativum* subsp. *elatus* sensu Maxted *et* Ambrose, 2001 lato, без каких-либо априорных таксономических презумпций, основанных на морфологии или иных критериях. Как следствие, на наших реконструкциях

нам удалось убедиться в реальности двух общностей дикорастущего гороха, установленных нами при помощи достаточно случайно, но удачно выбранных трех молекулярных маркеров, а именно линий АС и В, то есть подтвердить реконструкцию важного эволюционного события, произошедшего в истории вида *P. sativum*: отделение мощной ветви В, некоторые (или один) представители которой были впоследствии доместцированы (Kosterin, Bogdanova, 2008; Kosterin et al., 2010). На реконструкциях, полученных на основании гена *His5*, представители комбинаций маркеров А и С образуют многие ветви первоначальной дивергенции вида *P. sativum* (одна из которых, впрочем, является ветвью *P. abyssinicum*), а линия В представляет собой одну из таких ветвей, самую мощную и включающую как дикорастущие, так и культурные формы. На реконструкциях филогении на основании конкатенированных последовательностей *His5* и *His7* носители комбинаций А и С образуют свою ветвь, равноправную с ветвями В и *P. fulvum*. Таким образом, наши филогеографические построения, сделанные на основе по сути трех случайных мутаций в трех маркерах, получили подтверждение на основе представительного статистического ансамбля мутаций в двух генах гистона H1.

В то же время ни геногеографические, ни филогенетические реконструкции не подтвердили наше первоначальное предположение, что современные носители комбинации D представляют потомков переходного звена между носителями комбинаций А и С. Несмотря на то, что такое промежуточное звено действительно должно было существовать в эволюции гороха, комбинация D у современных ее носителей, за исключением, возможно, образца PI344537 с Сицилии, является такой же «рекомбинантной», как и редкие комбинации, суммарно обозначаемые нами как R, и встречаются в основном у предположительных продуктов гибридизации диких и культурных форм (Табл. 5). К таким же предположительно гибридам относятся и те очень немногие образцы, которые имеют комбинацию А, но обнаруживаются на реконструкциях в составе ветви В.

4.5. Возможная таксономическая интерпретация результатов проведенного филогеографического и филогенетического анализа

Важным результатом проведенного нами филогеографического анализа трех диморфных маркеров из трех разных клеточных геномов и филогенетической реконструкции на основании генов гистона H1 было выявление мощной эволюционной линии В, выделившейся из предковой для нее линии АС, причем эволюция линии В была связана с миграцией ее представителей в Европе в восточном направлении. В обширном регионе вторичного контакта линий А и В в Турции и Закавказье, мы находим образцы с «рекомбинантными» комбинациями маркеров D и R, но ни ни один из них не является дикорастущим, имеющим раскрывающиеся бобы (фенотип Dp). Таким образом, носители комбинаций А и В в природе скорее всего не скрещивались.

Встает вопрос о таксономическом оформлении выявленных нами среди дикорастущих представителей посевного гороха линий АС и В. При этом из практических соображений целесообразно оставить за культурным горохом статус подвида, *P. sativum* subsp. *sativum*, в объеме, принимаемом в системе Макстеда и Амброуза. Это делает парафилитичным предковый дикорастущий таксон, подвергшийся доместикиции. Тем самым мы сознательно отказываемся от последовательного применения принципов филогенетической таксономии, которые сами по себе приводят к ряду методологических проблем и пока не стали безоговорочно общепринятыми, и признаем возможность существования парафилетических внутривидовых таксонов гороха.

Линия АС несет плезиоморфные аллели двух из трех молекулярных маркеров, *rbcL* и *SCA* и не имеет своих синапоморфий, в то время как линия В имеет синапоморфные аллели всех трех маркеров. С этой точки зрения таксономическое оформление линий АС и В сделает первую парафилетичной. На филогенетических реконструкциях, полученных на основании первичной структуры локуса *His5*, картина такая же: линия В представляет собой самую мощную из эволюционных ветвей *Pisum sativum* приблизительно одинакового ранга, причем остальные ветви относятся к группе ветвей с комбинациями А и С, так что таксон для этой группы следовало бы признать парафилетичным. В то же время на филогенетической реконструкции, полученной байесовским методом для

конкатенированных *His5* и *His7*, линии АС и В предстают как равноправные ветви. Эта реконструкция дает нам возможность говорить уже не о предковой группе, а линии АС, т.е. мы получаем дополнительный аргумент в пользу необходимости какого-либо таксономического оформления линий АС и В.

Было бы целесообразно придать линии АС и дикорастущим представителям линии В статус подвидов. Для них нам требуется два названия подвидового ранга. Как следует из раздела 1.2.2, имеется три названия подвидового ранга, относящихся к дикорастущим представителям *P. sativum*: *Pisum sativum* L. subsp. *biflorum* (Rafin.) Soldano, *Pisum sativum* subsp. *elatius* (Bieb.) Schmalh. и *Pisum sativum* L. subsp. *syriacum* Berger. *Pisum biflorum* Rafin. был описан (в ранге вида) как дикорастущий горох из Сицилии, скорее всего имевший комбинацию С (возможно D), но никак не В. Таким образом, именно название *Pisum sativum* L. subsp. *biflorum* (Rafin.) Soldano следует применять для линии АС (включающей также «*Pisum elatius*» и «южный *humile*» по Ben-Ze'ev, Zohary, 1973).

Pisum elatius был описан из Грузии: “habitat in Iberia” (Bieberstein, 1808). Несомненно, в книге “*Flora taurocaucasica*” под Иберией понималась древнее название Грузии, а не Испании. Византийцы применяли одно и то же название Ἰβηρία как для Грузии, так и для Пиренейского полуострова; см., например, Константин Багрянородный (1991: с. 87): «Ивирии две, одна у Геркулесовых столбов, по имени реки Ивир, ... внутренняя часть от Пиренейских гор до мест у Гадир называется одинаково и Ивирией, и Испанией ... Вторая же Ивирия - близ персов. Народ назван ивирами ...». Краткое описание Биберштейна указывает на высокорослые растения гороха с двуцветными цветками. К сожалению, автор оговаривает: «*Legumes mihi ignorat*» («бобов я не знаю»), таким образом, мы не знаем, раскрывались они или нет. Под описание подходят грузинские образцы VIR1851 и VIR2998, принадлежащие к линии В, с бугорчатыми семенами (фенотип Gty), первый из которых имеет нераскрывающиеся бобы и не признан нами в качестве дикорастущего. Таким образом, название *Pisum elatius* можно считать либо предложенным для дикорастущих представителей линии В, либо синонимом *P. sativum* subsp. *sativum*, либо предложенным для популяций гибридного характера, однако гипотетические “полудикие» популяции локальны и по всей видимости недолговечны. Имеющийся у нас образец WG26109 из Грузии мало подходит под описание – он невысок и его цветки не всегда

раскрываются. Таким образом, мы с некоторой натяжкой можем соотнести название *elatus* с горохом, подобным образцу VIR2998. К сожалению, точное место происхождения этого образца неизвестно, а пометка «получен из Рижского ботсада» и тот факт, что при получении он имел примесь культурного гороха, заставляет относиться к нему с осторожностью. Представляется необходимым организовать сбор дикорастущих форм гороха в Грузии, в том числе того дикорастущего гороха, обитающего «по кустарникам нагорно-лесной части Белоключинского и Бакурианского районов», «в Боржомско-Бакурианском районе Грузии, в субальпийском разнотравии и по опушкам лесов из *Acer trautvettreri*», о котором писал П.М. Жуковский (1950, с. 258-260) (см. раздел 1.2.4.1).

Название *Pisum sativum* L. subsp. *syriacum* Berger было предложено в качестве замещающего для названия *P. humile* Boiss. et Noë, являвшегося младшим омонимом. Его типом остается тип *P. humile* Boiss. et Noë, происходящий из локалитета Баккер-Мааден, (который мы не смогли точно идентифицировать), в Турецкой Армении (Boissier, 1856), то есть Восточной Анатолии в современном понимании. Все три имеющиеся у нас дикорастущих образца из Восточной Турции (P002, P012 и P015) принадлежат к линии В. С высокой степенью вероятности *P. humile* Boiss. et Noë был описан по растениям линии В (т.е. относящихся к «северному *humile*» в смысле Бен-Зеев и Зохари). В этом случае подвидовое название *P. sativum* subsp. *syriacum* также относится к линии В и является младшим синонимом *Pisum sativum* subsp. *elatus*.

Выделить ДНК достаточного для молекулярного анализа качества из типового гербария XIX века представляется нереальным, в то же время выделить альбумин SCA и определить его аллельный вариант из столь старых семян вполне возможно. Тип Биберштейна семян не содержал, о наличии семян в типе Буасье и Ноя, хранящемся в Женеве, нам доподлинно не известно.

В предварительном порядке мы можем предложить следующую таксономическую систему подвидов посевного гороха:

1). *Pisum sativum* L. subsp. *biflorum* (Rafin.) Soldano – дикорастущий горох с раскрывающимися бобами, широко раскрытыми цветками с хорошо выраженной антоциановой пигментацией, комбинации маркеров А или С, распространен в Средиземноморье, на восток минимум до Грузии.

2). *Pisum sativum* L. subsp. *elatus* (Bieb.) Schmahl. – дикорастущий горох с комбинацией маркеров В. Распространен в Причерноморье (Болгария, Крым, возможно Кавказ), Турции, Сирии, на Голанских Высотах. (Возможно, имеет смысл рассмотреть и третий дикорастущий подвид с бледными, слабо пигментированными цветками с нераскрывающимся парусом и комбинацией маркеров В, который получил бы название *Pisum sativum* L. subsp. *syriacum* Berger и имел бы ареал как указано выше; в этом случае *Pisum sativum* subsp. *elatus* следовало бы считать распространенным только в Закавказье.)

3). *Pisum sativum* L. subsp. *sativum* – культурный горох с нераскрывающимися бобами, широко раскрытыми цветками с хорошо выраженной или полностью отсутствующей антоциановой пигментацией, комбинации маркеров В, распространен повсеместно.

Оба дикорастущих образца линии В из Закавказья имеют «нормальный», широко раскрытый цветок. (Таков же, по нашим представлениям, был и непосредственный дикорастущий предок культурного гороха.) Хотя мы имеем только три образца из этого региона, нельзя исключить, что такое сочетание молекулярных и внешнего признаков дикорастущих форм посевного гороха является в Закавказье преобладающим. Такие растения попадают в подвид *Pisum sativum* subsp. *elatus*, который тем самым лишается внешних диагностических признаков.

Мы предлагаем эту систему скорее для обсуждения и не пользуемся ей в тексте настоящей работы, поскольку это привело бы к недоразумениям при обсуждении литературных данных. Специально отметим, что названия и комбинации (в составе рода *Pisum*) всех трех подвидов действительно обнародованы ранее и их формальное установление не требует специальной публикации (однако в случае перенесения в род *Lathyrus* новая комбинация потребует для названия *elatus*). Предложенная система подвидов вида *P. sativum* имеет два недостатка. Во-первых, она не соответствует принципам филогенетической классификации (кладизма), так как подвиды *P. sativum* subsp. *biflorum* и *P. sativum* subsp. *elatus* в нашей трактовке парафилетичны. Во-вторых, эти подвиды не имеют внешних диагностических признаков. Однако для их различения молекулярными методами достаточно проверить наличие сайта рестрикции AspLEI в гене *rbcL*, что в наше время не представляет проблемы.

Глава 5. РЕПРОДУКТИВНАЯ СОВМЕСТИМОСТЬ БАЗОВОГО НАБОРА ОБРАЗЦОВ, ОТРАЖАЮЩЕГО ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ГОРОХА ВОСТОЧНОГО СРЕДИЗЕМНОМОРЬЯ

5.1. Базовый набор образцов, отражающий разнообразие гороха Восточного Средиземноморья

В англоязычной литературе для минимального набора образцов, включающего максимальное генетическое разнообразие принят термин «core collection». В русскоязычной литературе в качестве его аналога применяется либо термин «типовая коллекция» (что может вызвать путаницу с типовой серией в таксономии), либо не вполне удачный термин «стержневая коллекция». Мы предпочитаем назвать наш набор «базовым», в частности потому, что при его формировании мы не руководствовались алгоритмами, как правило применяемыми для core collections. Формирование базового набора образцов, отражающего разнообразие гороха Восточного Средиземноморья, проводилось, исходя из простого принципа «без чего нельзя обойтись».

Одно место было с необходимостью зарезервировано за культурным подвидом *P. sativum* subsp. *sativum* - именно совместимость с ним имеет первостепенное практическое значение, так как использование имеющегося генетического разнообразия в селекции предполагает интрогрессию в культурный подвид. Для удобства возможного последующего генетического анализа, в качестве представителя культурного подвида мы выбрали популярную тестерную линию WL1238, созданную Гербертом Лампрехтом и известную под неформальным названием «одинадцать рецессивов» (хотя для практического использования удобны лишь шесть из них). Формально она не имеет отношения к Восточному Средиземноморью, но тестерные линии по сути существуют вне географии и как генетический инструмент применимы в любой географической точке. К тому же, при всем своем широком распространении и фенотипическом многообразии,

культурный горох генетически достаточно гомогенен, так что любой относящийся к нему образец хорошо представляет весь подвид.

По одному образцу было автоматически зарезервировано для отдельных видов гороха, имеющих локальное распространение – *Pisum fulvum* и *P. abyssinicum*. Мы исходили из нулевой гипотезы (которую предстояло еще проверить в ходе работы с самим базовым набором), что оба вида генетически равноудалены от всех представителей *P. sativum*, поэтому выбор конкретного образца мог быть достаточно произвольным. В результате мы выбрали образец *P. fulvum* из коллекции Центра Джона Иннеса с хорошей географической привязкой. В связи с сильнейшей генетической гомогенностью *P. abyssinicum*, представляющий этот вид образец был выбран произвольно.

Три места было отведено трем группам диких форм *P. sativum*, выделенным в классической работе Н. Бен-Зеев и Д. Зохари, неформально (без указания таксономического ранга) обозначавшихся ими как “*elatius*” (речь идет о “*elatius*” в узком смысле, в отличие от широкого смысла согласно Макстеду и Амброузу (Maxted, Amrose, 2001) принятому в настоящей работе), «южный *humile*» и «северный *humile*». Эпитеты «северный» и «южный» применялись ими всего лишь по отношению к территории Израиля – если «южный *humile*» рос в пределах исторической Иудеи, то к «северному *humile*» они отнесли два образца с Голанских высот и из Центральной Турции. Однако «северный» и «южный *humile*» были отнесены ими к разным кариологическим классам, причем первый относился к тому же классу, что и культурный горох, а второй – к тому же классу, что и “*elatius*”. Оказалось, что первый из этих классов представлен образцами условно выделенной нами линии В, а второй – к линии А. Таким образом, «северный» и «южный *humile*» отличаются друг от друга гораздо сильнее, чем последний от “*elatius*”. Таким образом, мы сочли возможным включить в базовый набор по одному представителю всех трех групп, выбрав их именно из образцов, изученных Бен-Зеев и Зохари. При этом в качестве представителей «южного *humile*» и “*elatius*» мы выбрали образцы из Израиля, обладавшие яркими морфологическими особенностями соответствующих экотипов: низкие растения аридных травяных сообществ, в том числе и агроценозов – «*humile*» и высокие растения маквиса – «*elatius*». Из двух образцов, отнесенных цитируемыми авторами к «северному *humile*» мы выбрали образец с Голанских высот. Во-первых, он является

наиболее южным представителем линии В, то есть представляющий крайнюю точку волны обратной миграции этой линии и юго-восток Средиземноморья (Kosterin et al., 2010). Во-вторых – он популярен в генетических исследованиях, в частности, он был вовлечен в широкомасштабные эксперименты по генетическому картированию молекулярных маркеров и от скрещивания его с культурным горохом происходит популяция рекомбинантных инбредных линий (Gilpin et al., 1997).

Оставалось выбрать представителя «северного *elatius*» – условного термина введенного нами (Kosterin et al., 2010) по аналогии с «северным *humile*», а именно представляющих высокий, связанный с древесной растительностью экотип в составе линии В, экологически и морфологически аналогичный «южному», израильскому *elatius*. В качестве такового мы выбрали образец СЕ1, собранный нами в шебляках Крыма, который тем самым представил Северное Причерноморье, то есть северо-восточный угол естественного ареала *P. sativum*. Заметим, что несмотря на связь с древесно-кустарниковой растительностью и высокий рост; по внешним признакам он имеет очень мало общего с «южным *elatius*», что будет видно из данного ниже описания.

«В виде исключения» в базовый набор был добавлен образец VIR320, продемонстрировавший в скрещиваниях с культурным горохом весьма интересный случай ядерно-цитоплазматического конфликта с ярким фенотипическим эффектом (Bogdanova, Berdnikov, 2001; Богданова, Костерин, 2006; Bogdanova, 2007; Bogdanova et al., 2009; 2012), причем свойства ядра и цитоплазмы противоречат эволюционному паттерну, реконструируемому по данным, полученным на ряде других образцов (Bogdanova et al., 2014). Этот образец имеет уникальный пластидный геном (В.С. Богданова, личное сообщение), его географическое происхождение неизвестно (см. раздел 2.2)

Таким образом был сформирован базовый набор гороха Восточного Средиземноморья, составивший 8 образцов. Далее в иллюстрациях для удобства обозначения образцов, принадлежащих к линии В, даны синим шрифтом или значками, а принадлежащих к линии А – красным. На Рис. 16 указано положение данных образцов на дендрограмме, визуализирующей только топологию (bootstrap consensus tree) филогенетической реконструкции на основании первичной структуры гена *His5* методом максимальной парсимонии, а на Рис. 17 приводятся фотографии цветков этих образцов.

Хотелось бы специально отметить, чего этот набор не включает. Во-первых, он не включает – за полным отсутствием в нашем распоряжении – представителей восточной трети естественного ареала *P. sativum*, а именно территорий Ирана и Туркменистана. Во-вторых, он не включает представителей таксона *P. sativum* subsp. *sativum* var. *brevipedunculata*, недавно появившихся в нашем распоряжении. По нашему мнению, выделение этого таксона на основании такого морфологического признака, как очень короткий цветонос, может быть и оправдано, но в Восточном Средиземноморье имеется достаточно форм, в не меньшей степени достойных выделения в отдельные вариации. К сожалению, нам не удалось включить в базовый набор действительно весьма необычный образец *P. sativum* subsp. *sativum* s.l., Л261 из Турции (Гилиндире), также задействованный в экспериментах по картированию. Он не был включен по техническим причинам, так как оказался неприспособленным для выращивания в условиях нашей теплицы, где он не образует жизнеспособных семян.

Ниже приводим краткое описание линий базового набора гороха Восточного Средиземноморья. Для каждого из них приведены введенные выше обозначения комбинаций трех маркеров, а также символические обозначения фенотипов, приписываемых известным локусам.

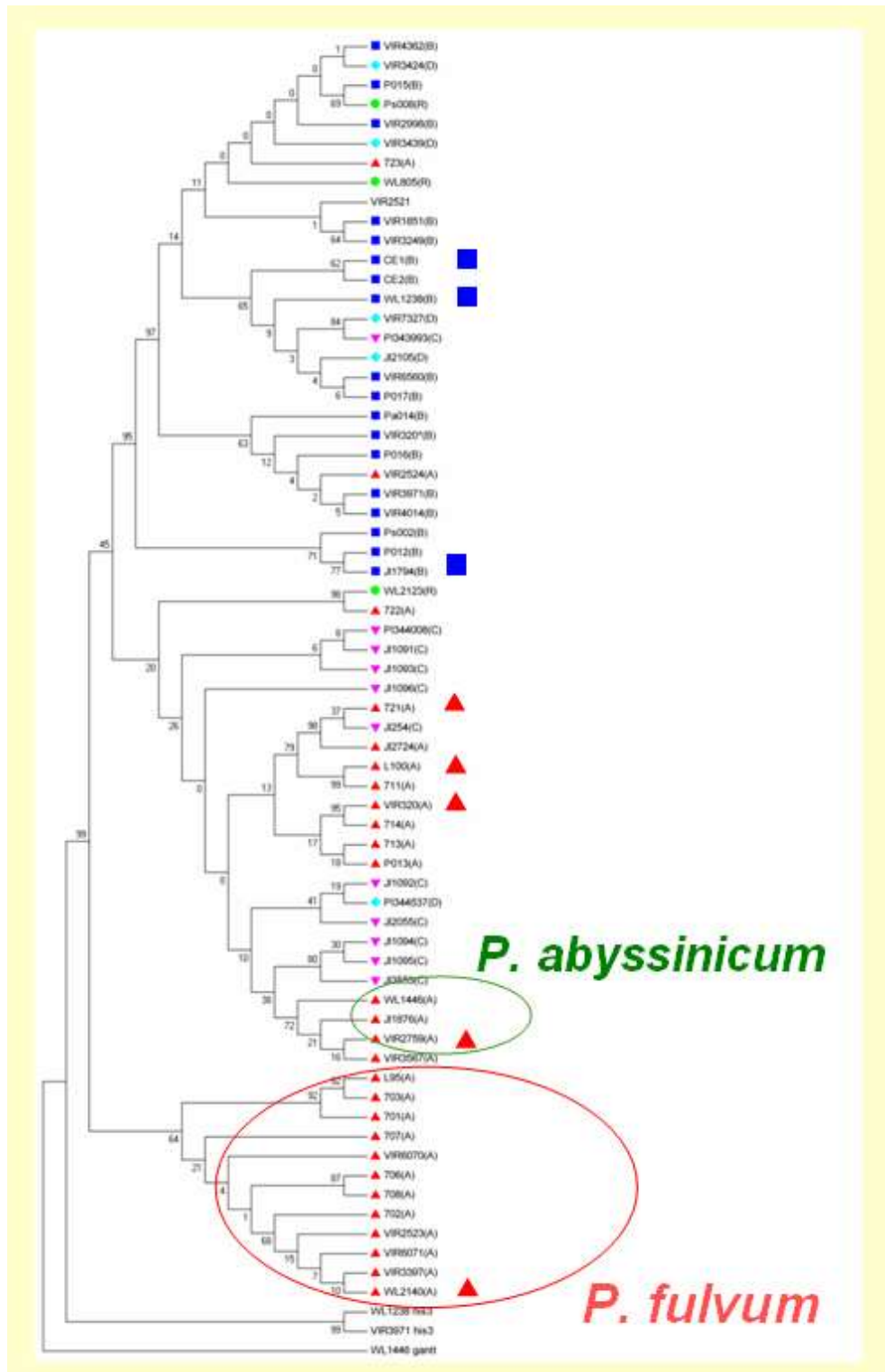


Рис. 16. Положение восьми образцов базового набора гороха Восточного Средиземноморья на дендрограмме, визуализирующей топологию (bootstrap consensus tree) филогенетической реконструкции на основании первичной структуры гена *His5* методом максимальной парсимонии

WL2140 (=WL2029; =J1224, =PI560061; =Wt303), Израиль, Иерусалим, Долина Креста. Типичный представитель вида *Pisum fulvum*: низкие (окончательная длина стебля $70,2 \pm 2,5$ см, число измеренных растений $n=30$), интенсивно ветвящиеся растения насыщенного нейтрально зеленого цвета. В условиях теплицы зацветает на 21-28 день после посева (здесь и далее более ранние даты относятся к весенней, более поздние – к осенней вегетации в теплице). Цветки типичны для *P. fulvum*: мелкие, широко раскрытые, с довольно коротким парусом, равномерно рыжевато-охристые (светло-ржавого цвета) с более темными фиолетовыми жилками (этот цвет жилок более выражен в центре паруса, формируя нечто вроде более темного пятна), короткими, вздутыми бобами с мясистыми, глянцевыми створками (n) с темно-фиолетовыми антоциановыми штрихами (Astr); несколько бобов, произведенных самыми нижними ветвями, погружены в почву (амфикарпия). Листья с одной парой зубчатых листочков, пазушная антоциановая пигментация представлена несколькими радиальными фиолетовыми штрихами, соответствующими внешнему кольцу, производимому аллелем D^w , но без следов внутреннего кольца. Семена типичны для *P. fulvum*: очень мелкие, идеально круглые, семенная оболочка толстая, ореховидная, без видимой бугорчатости, темно-коричневая с еще более темной областью микропиле (Rf). Комбинация А.

VIR2759 (=J11556; =J11869; =WL1491; =WL2042), Эфиопия. *Pisum abyssinicum*; классифицирован Р.Х. Макашевой (1979) как *P. sativum* subsp. *abyssinicum* var. *vavilovianum* Govorov. Довольно высокие ($139,6 \pm 3,0$ см; $n=16$) и исключительно быстро растущие и рано зацветающие (на 17-25й день) растения, прекращающие цветение по производству 5-6 цветков/бобов на главном стебле, после чего начинается быстрый рост боковых ветвей, которые превосходят по высоте главный стебель и обильно цветут. На нижних узлах листья и прилистники сильно зубчатые, однако эта зубчатость исчезает примерно на уровне первого цветка. Молодые растения покрыты сильным восковым налетом, так что выглядят светлыми и серебристыми, боковые ветви обычного зеленого цвета. Семена среднего размера, удлинённые и слегка неправильной формы, небугорчатые (gty), темно-фиолетовые, почти черные (U), иногда с неясными зеленовато-серыми просветлениями, блестящие. Комбинация А.

L100 (= 712 в (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973); = J13273; = PI560069), Израиль, 10 км Ю Беер Шевы, русло вади с лессовыми отложениям, сорничает в посевах ячменя: *Pisum sativum* subsp. *elatius*; первоначально классифицирован Н. Бен-Зеев и Д. Зохари (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973) как «южный *humile*». Довольно низкие ($92,2 \pm 2,3$ см; $n=25$), умеренно ветвистые растения. Листва молодой растений с сильным восковым налетом и поэтому выглядит несколько серебристой, у взрослых растений темно-зеленая. Листочки однопарные, прилистники равномерно зубчатые, листочки зубчатые ниже узла зацветания, но эта зубчатость сходит на нет на фертильных узлах. Немногие боковые ветви напоминают главный стебель. Проростки и молодые растения с интенсивной антоциановой окраской стебля и цветоносов, а также со своего рода пурпурной окантовкой листочков и прилистников; основания прилистников с внешним антоциановым кольцом, как у носителей аллеля D^w , но без внутреннего кольца, вызываемого тем же аллелем. Зацветает на 21-33й день. Цветоносы умеренно длинные, но становятся короче на высоких узлах, они несут один (редко два) цветок на цветоножке, направленной несколько вбок от оси цветоноса, прицветник рудиментарный, в виде небольшого острия. Цветки небольшие, широко раскрытые (по форм похожи на *fulvum*), с довольно коротким парусом, окрашенным более интенсивно, чем у большинства других форм гороха (светлее у основания), приближаясь по цвету к в средней степени интенсивности окрашенным крыльям, так что весь цветок выглядит довольно насыщенно фиолетово-розовым, заметно более холодного тона, чем обычно у гороха. Бобы густо покрыты пурпурными точками; такой характер антоциановой окраски бобов не описан, но не исключено, что вызывается каким-либо аллелем *Astr.* Комбинация А.

VIR320, происхождение неизвестно (контаминат к образцу из Палестины, полученного академиком Н.И. Вавиловым в 1922 г. от Е.У. Саттона, Франция): *Pisum sativum* subsp. *elatius*; Макашевой (1979) классифицирован как *P. sativum* subsp. *syriacum* Berger var *syriacum* subvar. *unianulum* Makasheva. Исходно это был высоко гетерогенный образец, что скорее всего являлось результатом спонтанного скрещивания дикого и культурного гороха в ходе воспроизводства образца с последующей сегрегацией; в данном случае, как и в других наших публикациях, речь идет о выделенной из него линии со всеми признаками дикого гороха, скорее всего исходной. Средней высоты ($124,5 \pm 3,3$; $n=45$)

растения с длинными ветвями, в целом выглядят как средний представитель *Pisum sativum*. Листва насыщенно-зеленого цвета, основания прилистников с очень слабым внешним антоциановым кольцом (как у L100, но менее выраженным), без иной антоциановой окраски, а также без воздушных камер (fl); листочки и прилистники укороченно-овальные, слабая зубчатость присутствует только у основания прилистников; листочки однопарные, лишь на высоких узлах могут быть двупарные или, в виде исключения, с тремя листочками. После прекращения роста главного стебля, боковые ветви вырастают довольно длинными. Зацветает на 20-29й день. Цветоносы умеренно длинные, укорачивающиеся к высоким узлам, цветки «обычного горохового типа», среднего размера, широко раскрытые, крылья темно фиолетовые, парус довольно короткий, со слабой антоциановой окраской. Семена среднего размера, округлые, слегка уплощенные со стороны корешочка, небугорчатые (gty), зеленовато-серые с более светлым вилкообразным пятном вдоль корешочка (fur), коричневым мраморным рисунком (M), без фиолетовых штрихов (fs); зрелые семядоли зеленые (i), что необычно для дикого гороха. Комбинация А.

721 (=L104; =JI3262; =PI560059), Израиль, г. Кармель, 5 км СВ Зихон Яаков, в маквисе: *Pisum sativum* subsp. *elatus*; исходно классифицированный Н. Бен-Зеев и Д. Зохари (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973) как *Pisum elatus*. Изящные высокие (183,1±3.7 см; n=19) растения, растущие сначала медленно и дающие мелкие листовые органы, в дальнейшем же дающие длинные междоузлия, крупные листья и множество длинных боковых ветвей, напоминающих главный стебель, в то время как прикорневые ветви отсутствуют или их немного. Очень длинные междоузлия придают растению малооблиственный облик. Молодые стебли и цветоносы имеют интенсивную антоциановую окраску, имеются сильное одинарное антоциановое кольцо у основания прилистников и антоциановые пятна на рахисе у основания листочков (D^{co}). Листва очень темно зеленого цвета, листочки удлинено-ромбовидной формы, прицветники удлинённые, зубчатость присутствует лишь у основания прилистников; листочки однопарные, листочки и прилистники слегка изогнуты. Зацветает на 29-39й день. Цветоносы очень длинные, дугообразно-изогнуты, несут один цветок; прицветники рудиментарны, в виде короткого острия; цветки среди наиболее крупных у гороха, с большим широко-открытым парусом около 1,8-2,0 см шириной, его светлая окраска контрастирует с темно-фиолетовыми крыльями, оттенка

обычного у гороха. Семена мелкие, неправильной формы, бугорчатые (Gty), с большим (Him) черным (Pl) рубчиком, песочного цвета с коричневатым мраморным рисунком (M), без фиолетовых штрихов (fs). Комбинация А.

Л11794 (=716 по Бен-Зеев и Зохари (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973)), Голанские высоты, около 3 км СЗ Эль-Кунейтры, Тель Абу Нида, на вулканическом пепле: *Pisum sativum* subsp. *elatius*; исходно классифицирован Бен-Зеев и Зохари (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973) как «северный *Pisum humile*» Низкие (59,3±1,2 см; n=59), раноцветущие и очень рано созревающие растения светло-зеленого цвета. Листочки удлинено-овальные. Цветки появляются на 25-31-й день, мелкие, грязно-беловатого цвета, практически без антоциановой окраски и не до конца раскрытые; крылья узкие, парус свернут таким образом, что цветок имеет наибольшую ширину у основания и сужается к верхушке паруса, но последняя не свернута, так что цветок выглядит туповатым. Бобы длинные, с небольшими неопластическими пустулами в условиях теплицы (Np). Дав несколько бобов на главном стебле, растения продуцируют многочисленные короткие боковые ветви со множеством укороченных междоузлий, заканчивающиеся одним или несколькими цветками с редуцированным венчиком, а также прикорневые ветви средней длины с нормальными цветками. К этому времени листва на основном стебле увядает, тогда как на боковых ветвях становится насыщенно зеленой. Тем не менее, растения в целом прекращают цвести довольно рано. Семена довольно мелкие, округлые, с бугорчатой (Gty) темно-коричневой оболочкой с темно-фиолетовыми пестринами (Fs). Комбинация В.

СЕ1 (=J12629), Крым, Симеиз, 44°24' с.ш., 33°59' в.д., можжевело-кустарниковые заросли на южном склоне: *Pisum sativum* subsp. *elatius*. Умеренно высокие (142,0±2,3 см; n=36) растения с листочками и прилистниками относительно крупными уже с нижних узлов, интенсивно ветвящиеся. Листва светлого оттенка, без следов антоциана в пазухах (d), воздушные камеры хорошо выражены (Fl); листочки и прилистники крупные, продолговатые, со слабой зубчатостью лишь у основания прилистников, листья становятся двупарными приблизительно на уровне цветения. Зацветает на 20-30й день. Первый цветонос умеренно короткий, выше цветоносы становятся очень короткими, несут по одному цветку. Цветки довольно мелкие, с узкими крыльями, парус не раскрывается и обернут вокруг остального венчика, так что цветок выглядит узким и заостренным,

антоциановая пигментация присутствует лишь на крыльях, мутно зеленовато-лилового цвета. Бобы длинные, в условиях теплицы с неопластическими пустулами (Np), внутри с хорошо развитым губчатым слоем. Семена средней величины, идеально круглые, с бугорчатой (Gty), очень темной, практически черной оболочкой, с едва видимыми фиолетовыми крапинками (Fs). Комбинация В.

WL1238 (=J173), тестерная линия: *Pisum sativum* subsp. *sativum*. Гомозиготна по следующим рецессивным аллелям: *le* – карликовость ($63,0 \pm 1,4$ см $n=26$), *tl^w* – листочки вместо усиков; *gp*: молодые стебли и бобы желтые, *b* – пигментация цветка розового оттенка; *k* – редуцированные крылья; *d* – антоциановое кольцо в основании прилистников отсутствует, *i* – зрелые семядоли зеленые. Стандартный кариотип (The Pisum Genebank, 1984). Комбинация В.

Данный базовый набор был сформирован в 2006 г. и ограничен Восточным Средиземноморьем, поскольку образцы из Центрального и Западного Средиземноморья попали в наше распоряжение лишь в 2009-2013 гг. Его можно расширить до базового набора рода Горох в целом, включив в него образцы, представляющие Балканский и Пиренейский полуострова, Северную Африку и некоторые дополнительные образцы из Восточного Средиземноморья. Для этого можно предложить следующие образцы (к сожалению, пока не вовлеченные в нашу диаллельную программу):

PE1 (=J13557). Португалия, провинция Альту Дору, округ Браганса, муниципалитет Вимиозу, долина р. Ангуэйра в 1,4 км к СВ от с. Ува, $41^{\circ}30'$ с.ш., $06^{\circ}29'$ в.д. Типичный дикий горох, представляющий крайний запад ареала вида и рода. Растения умеренно высокие. Семена с фенотипом M, Ust, Fs, Rf, Him, Pl, Gty. В скрещивания не вовлекался. Комбинация С.

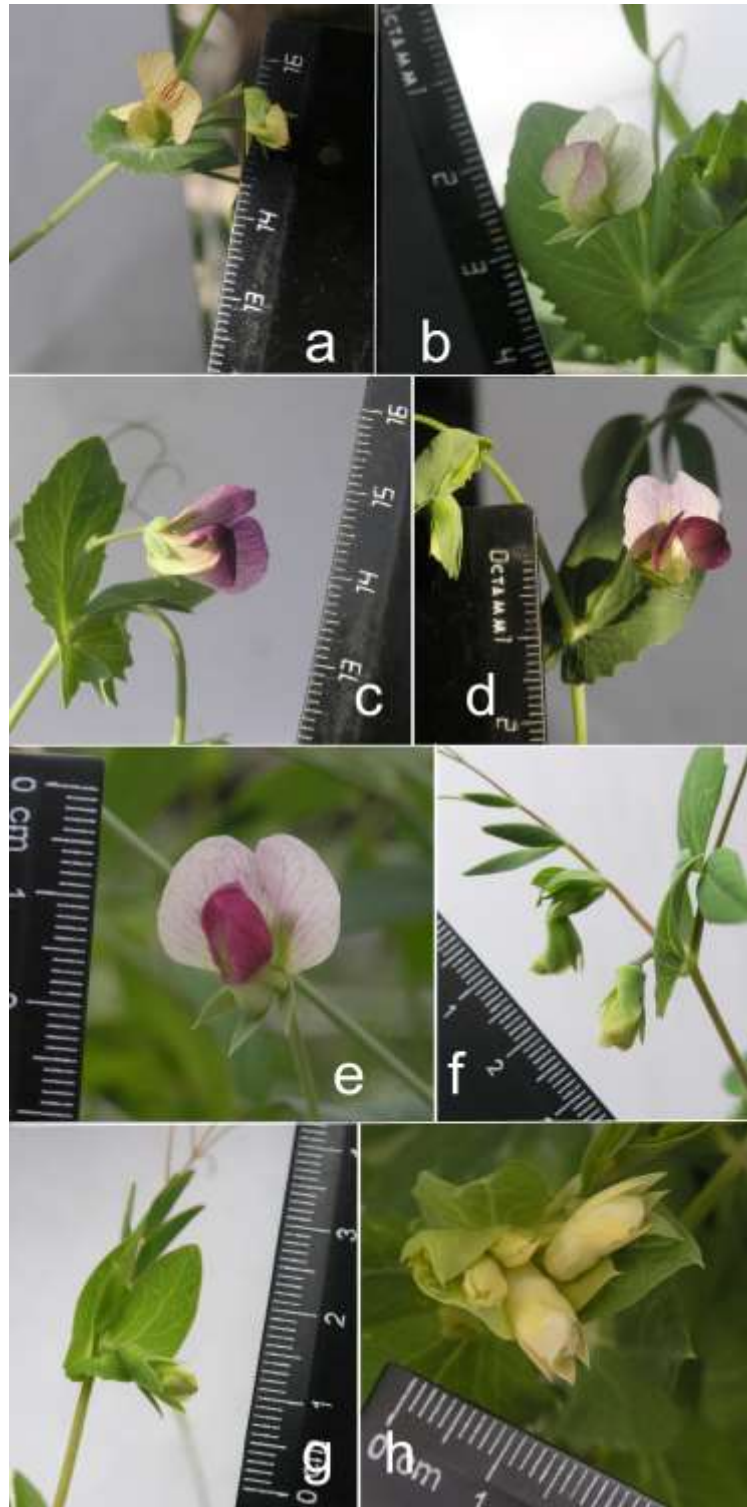


Рис. 17. Цветки базового набора образцов Восточного Средиземноморья: *Pisum fulvum*: а) WL2140, Долина Креста; *Pisum abyssinicum*: б) VIR2759, Эфиопия; *Pisum sativum* subsp. *elatius* s.l.: в) L100, Беер-Шева; д) VIR320, происхождение неизвестно; е) 721, гора Кармель; ф) SE1, Симеиз; г) LI1794 Голанские Высоты у Эль-Кунейтры; *P. sativum* subsp. *sativum*: ж) WL1238, тестерная линия. (Фото автора.)

Л11096. Греция, Халкидики, полуостров Афон, Кариес, 450 м над у.м., 40 ° 15' с. ш., 24 ° 20' в. д., 450 м над у. м. Высокие растения с довольно светлой зеленью, главный стебель интенсивно ветвится, боковые ветви короткие с частыми узлами, базальных ветвей нет. Антоциановая окраска на вегетативных органах отсутствует (d), воздушные камеры отсутствуют (fl). Листочки очень широкие, округленно-широкоромбовидные, их становится 2 пары с 14 узла. Зацветают на 20-21 узле. Цветоносы довольно короткие, цветков 1-2, цветки крупные, крылья ярко-пурпурные, парус розоватый. Бобы длинные, заостренные. Семена с фенотипом M, Ust, Fs, Rf, Him, Pl, Gty. Комбинация C. Вовлекался в исследования ядерно-цитоплазматической несовместимости, проведенные в нашей лаборатории (Bogdanova et al., 2014), где продемонстрировал низкую репродуктивную совместимость с культурным горохом. При использовании данного образца в качестве материнского родителя гибридные семена не образуются вовсе. При использовании его в качестве отцовского родителя удалось получить гибридов первого поколения, которые характеризовались резко сниженной фертильностью (примерно половина пыльцы нежизнеспособна).

PI344537. Италия, Сицилия. Высокие растения (главный стебель имеет 23-30 узлов, высотой 1,6-2 м (178±7 см; n=5), в основании прилистников ярко выраженное двойное антоциановое кольцо (D^w), листочки широкоромбовидные, вторая их пара чаще появляется за два узла до цветения. Зацветает (в осеннюю вегетацию в теплице) на 41-42 день на 16-21 узле, созревают с 62 дня. Первые цветоносы 3-4 см в длину, в 3-4 раза длиннее цветоножек, цветки по одному, крупные, чашелистики длинные. Бобы умеренно изогнутые, по семенам выпуклые. Неопластические разрастания (Nr) в виде отдельных резких пустул. Семена с фенотипом M, Ust, Fs, Pl, Gty. Комбинация D (единственный дикий представитель этой комбинации). В ходе предварительных опытов этот образец неожиданно продемонстрировал самый сильный, фактически непреодолимый постзиготический барьер с культурным горохом. Было проведено около 30 его скрещиваний с WL1238 в обоих направлениях. В направлении PI344557 × WL1238 семян вообще не было получено. В направлении WL1238 × PI344557 было получено одно семя, однако оно не взошло (В.С. Богданова, личное сообщение).

WG 26109. Грузия, 20 км от Манглиси, 7 км С Партсклиси, склон у дороги с травянистой растительностью. Не очень высокие (главный стебель о 24-34 узлах, высотой 1,3-1,9 м (149 ± 4 см; $n=16$), обильно ветвящиеся, ярко-зеленые растения. В основании прилистников присутствует внешнее антоциановое кольцо (D^w) и антоциановые пятна в основаниях листочков. Листочки узкие, слегка выпуклые, две пары широкоромбовидные, 2 пары с 10-11 узла. В осеннюю вегетацию зацветает на 36-37 день на 16-19 узле, созревают с 64 дня. Цветоносы очень длинные, цветки довольно крупные, но почти не раскрываются и почти не окрашены (слабоокрашенные слабораскрывающиеся цветки представителей линии В обычно мелкие и на коротких цветоносах). Бобы стройные, слегка изогнутые, по семенам выпуклые, висят под острым углом. Неопластические разрастания (Nr) в виде отдельных пустул. По созреванию первого боба растения быстро отмирают и засыхают. Семена с фенотипом М, U^{st} (слабое выражение), fs, Pl, Gty. Комбинация А. В скрещивания не вовлекался.

Л3233. Сирия. *P. sativum* subsp. *elatius* var. *brevipedunculata*. Очень высокие растения с очень длинными междоузлиями и бледным цветом зелени. Листочки на нижних узлах почти круглые, выше овальные, 2 пары как правило с узла, следующего за цветением, воздушные камеры на прилистниках мелкие и редкие, на листочках отсутствуют. Цветоносы короткие, 0,5-2 см, короче или едва длиннее цветоножки. Цветки мелкие, почти не раскрываются, в плане ромбовидные, почти лишены антоциановой окраски. Бобы широкие, суживающиеся к обоим концам, неопластические разрастания (Nr) на них сплошные. Семена с фенотипом М, U^{st} , Fs, Rf, Him, Pl, Gty. Комбинация В. В скрещивания не вовлекался.

IG 64350. Алжир, [?вилайет] Блида, $36,3^\circ$ с.ш., $2,5^\circ$ в.д. (при образце были заведомо неверные координаты $36,55^\circ$ с.ш., $3,15^\circ$ в.д.), 50 (?) м над у. м. – предгорья Атласа. Очень небольшое растение. Молодые прилистники с внешним антоциановым кольцом (как у фенотипа D^w , но без внутреннего). Листочки небольшие, округло-ромбовидные, редко, сильно и неровно зубчатые, строго 1 пара. Воздушные камеры отсутствуют (fl). Зацветает на 36-37 день с 15-16 узла. Цветонос и цветоножка короткие (первый немного длиннее второй), имеется рудиментарный прицветник в виде чешуйки, цветки по одному, мелкие, широко раскрытые, крылья интенсивно, а парус умеренно грязно-пурпурные. Бобы с

многочисленными пурпурными точками как у образца L100 (?Astr) и сильной неоплазией в условиях теплицы (Nr). Бобов немного, по их засыхании стремительно засыхают и растения, примерно на 54-57 день. Семена с фенотипом M, u, Fs, pl, Gty. Комбинация A. Скрещен в обоих направлениях с WL1238, реципрокные гибриды имели сходную фертильность пыльцы в пределах 15-30%.

Образцы J1096 и PE1 имеют комбинацию C, характерную для Западного и Центрального Средиземноморья. Не исключено, что дикий горох Южной Европы окажется весьма гомогенен, в отличие от необычайного его разнообразия Передней Азии, и два указанных образца окажутся весьма близкими и полностью совместимыми, что нежелательно для образцов из базового набора. Однако если это и так, то подобный результат еще только предстоит получить. Образец PI344537 является единственным дикорастущим носителем с комбинацией D (остальные носители этой комбинации, по-видимому, суть результаты гибридизации); к тому же по предварительным данным он отличается наибольшей во всем роде несовместимостью с культурным горохом на уровне завязываемости семян в обоих направлениях. Загадочный образец WG 26109 из Грузии является самым восточным носителем комбинации A (к тому же со слабо пигментированными и слабо раскрывающимися, однако крупными и на длинных цветоносах цветками). Он имеет три пары листочков в листе, как и эндемичный местный культурный подвид (?) *P. sativum* subsp. *transcausicum* (несущий, однако, комбинацию B; см. раздел 1.2.2.9); возможно близкий генотип участвовал в возникновении последнего. Образец J3234 представляет собой форму, описанную как *P. sativum* subsp. *elatius* var. *brevipedunculata*, и является наиболее высокорослым дикорастущим представителем линии B. Из двух магрибских образцов в набор включен образец IG 64350 из Алжира, имеющий более вероятную для этого региона комбинацию A и тем самым с меньшей вероятностью неправильно аннотированный в коллекции ICARDA.

5.2. Схема эксперимента по диаллельному скрещиванию

Как говорилось в разделе 1.2.7, внутри рода *Pisum* и даже вида *P. sativum* за пределами культурного подвида *P. sativum* subsp. *sativum* существуют репродуктивные барьеры, которые могут иметь различную природу и в разной степени проявляться в реципрокных скрещиваниях. Наличие репродуктивных барьеров важно для выделения видов на основе биологической концепции вида Эрнста Майра. В то же время, будучи преимущественным, но не облигантным самоопылителем, горох находится на грани применимости этой концепции. Обнаружив среди дикорастущих представителей посевного гороха важную дихотомию на линии АС и В, мы задались естественным вопросом о том, отражается ли она на картине взаимной репродуктивной совместимости их представителей и может ли быть основой для тех или иных таксономических решений.

Для этой цели восемь образцов базового набора, отражающего разнообразие гороха Восточного Средиземноморья (см. раздел 5.1) были вовлечены в эксперимент по диаллельному скрещиванию, то есть были скрещены в обоих реципрокных направлениях по принципу все со всеми, а также сами с собой; всего $28 \times 2 + 8 = 64$ направления скрещиваний. Скрещивания и анализ гибридов F_1 проводили в выровненных условиях теплицы. Предполагалось, что завязываемость гибридных семян и фертильность гибридов первого поколения определяется такими фундаментальными, как эмбриогенез и мейоз, которые отличаются устойчивостью и мало зависят от условия среды. По нашим данным, мужская стерильность нескольких протестированных генотипов не различалась в условиях теплицы и поля. Поэтому опыты в разных условиях выращивания растений не проводились, притом что и тепличный опыт потребовал проведения около 3,5 тысячи скрещиваний, анализа сотен растений и пыльцы многих сотен цветков. Оценивалась эффективность скрещивания (количество гибридных семян на один опыленный цветок), количественные признаки, мужская и женская фертильность гибридов первого поколения. Методы оценки этих параметров описаны в разделе 2.5.

Само представление результатов столь обширного эксперимента представляет определенные сложности и будет сделано ниже по частям. Полные данные приводятся только для скрещиваний с представителем культурного гороха (WL1238) (раздел 5.3),

ввиду возможной практической важности подобных скрещиваний. В остальных случаях рассмотрение ограничено самым важным параметром, отражающим репродуктивные барьеры как кариологической природы, так и связанные с несовместимостью ядра и пластид – средней фертильности пыльцы F гибридов F_1 . При этом рассмотрим этот параметр в несколько упрощенной, зато наглядной графической форме. Для этого фертильность пыльцы будет классифицирована на четыре градации:

- 1) $F < 1/3$ ($F \sim 1/4$);
- 2) $1/3 < F < 2/3$ ($F \sim 1/2$)
- 3) $2/3 < F < 9/10$ ($F \sim 3/4$)
- 4) $9/10 < F$ ($F \sim 1$, полная фертильность)

В некоторых скрещиваниях фертильность пыльцы определенно варьировала у индивидуальных растений одного и того же класса гибридов, однако в целях настоящего упрощенного рассмотрения такая изменчивость игнорировалась и бралось усредненное значение.

Ниже, на рисунках 21-22 и 24-28, отображающих отношения репродуктивной совместимости образцов в отношении мужской фертильности, обозначения всех образцов соединены двумя противоположнонаправленными стрелками, соответствующих направлению скрещивания, так что направление стрелки указывает направление переноса пыльцы. Толщина стрелок на рисунках пропорциональна вышеуказанным градациям фертильности пыльцы, причем четвертая градация – полная фертильность – дополнительно выделена синим цветом. Кроме того, если гибриды F_1 представлены аномальными растениями, демонстрирующими мозаичный хлороз и мозаичную редукцию пластинчатых органов, стрелки наименьшей толщины даны пунктиром (как правило такие растения имеют всего несколько процентов фертильной пыльцы, если вообще образуют цветки). Если какой-то класс гибридов не был получен, стрелка отсутствует и на ее месте помещен крестик. На рисунках 25 и 27-28, стрелки, соответствующие градациям 1-2 не показаны вовсе, с целью отразить только те довольно фертильные классы гибридов F_1 , которые заведомо не являются гетерозиготами по реципрокным транслокациям, фертильность пыльцы у которых не превышает 50% (Lamm, 1951).

На данном этапе нашего эксперимента мы исследовали только гибриды первого поколения, поэтому могли наблюдать только гаметофитные и доминантные спорофитные эффекты конфликта ядра и цитоплазмы, выражающиеся в неодинаковой фертильности реципрокных гибридов или их различий по иным признакам. Можно ожидать и рецессивных эффектов, проявляющихся, когда аллели каких-то ядерных генов оказываются в гомозиготе на фоне чужеродной цитоплазмы. Их следует искать в последующих поколениях скрещиваний.

5.3. Скрещивания с культурным посевным горохом (*Pisum sativum* subsp. *sativum*)

5.3.1. Эффективность скрещиваний

В Таблице 8 приведены число скрещенных бутончиков (N_c), образовавшихся бобов (N_p), abortивных семян (N_a), жизнеспособных гибридов F_1 (N_h) и значения эффективности скрещиваний (e) для каждого направления скрещиваний. В скрещивании WL2140 × WL1238 образовывалось некоторое количество нежизнеспособных семян, которые были мельче нормальных, крупнее обычных очень мелких abortивных семян и при этом были пустыми (без зародышей или с abortивным зародышем); такие семена относили к классу abortивных.

Эффективность реципрокных скрещиваний не показала статистически значимых различий только для скрещиваний с участием VIR320, что довольно курьезно, так как именно в этом скрещивании фенотип самих реципрокных гибридов резко различался (см. раздел 5.3.3). В остальных случаях различия по эффективности реципрокных скрещиваний были высокосignификантны. В скрещиваниях с участием JI1794 и CE1 эффективность была приблизительно вдвое ниже, когда линия WL1238 выступала материнским родителем. В других случаях эффективность скрещиваний при использовании WL1238 в качестве материнского родителя оказалась выше, чем реципрокных. В скрещивании WL1238 × 721 эффективность была приблизительно втрое выше, чем в реципрокном, однако в обоих реципрокных скрещиваниях значения эффективности были примерно такими же, как при скрещивании соответствующего образца на себя. В скрещиваниях WL1238 в качестве

материнского родителя с *P. fulvum* (WL2140) и *P. abyssinicum* (VIR2759) эффективность оказалась приблизительно на порядок выше, чем в реципрокных комбинациях.

Таблица 8. Эффективность скрещиваний с WL1238. N_c – число проведенных скрещиваний, N_p – число сформировавшихся бобов, N_h – число полученных жизнеспособных гибридов, N_a – число абортивных семян, $e = N_h / N_c$ – эффективность скрещиваний.

Скрещивание	параметр	WL2140	VIR2759	721	L100	VIR320	CE1	JI1794	WL1238	
WL1238 × # ^a	N_c	33	34	29	30	31	31	54	см. ниже	
	N_p	21	18	25	28	21	17	29		
	$N_h (N_a)$	25 (8)	14 (1)	26 (27)	0 (46)	44	12	29 (15)		
	e	0.76	0.40	1.31	0.00	1.42	0.39	0.59		
# ^a × 1238	N_c	80	30	29	29	29	27	18		
	N_p	43	5	7	18	13	23	12		
	$N_h (N_a)$	6 (88)	1 (4)	11 (5)	52	35 (4)	25 (9)	21 (17)		
	e	0.08*** ^b	0.03***	0.38** *	1.79** *	1.21	0.93* *	1.17**		
# × # ^a (скрещивание на себя)	N_c	30	26	27	26	29	31	35		29
	N_p	24	18	7	15	19	16	16		18
	$N_h (N_a)$	47 (4)	24	14	22	61 (1)	17	35	39 (1)	
	e	1.57	1.08	0.52	0.85	2.10	0.55	1.00	1.35	

^a # указывает на образец в оголовках столбцов.

^b ** и *** указывают на различия значений e , полученных в реципрокных скрещиваниях, достигающие уровней значимости соответственно 1% и 0.1% согласно Т-тесту Уэлша при допущении $\sigma_E = e$.

Поскольку скрещивание несколько повреждает цветок механически, в той же Таблице 8 в качестве контроля приведены данные по завязываемости в скрещиваниях образцов самих на себя. Можно заметить, что эффективность скрещиваний на себя не слишком высока: около 0.5 для образцов 721 и CE1, около 1 для VIR2759 и JI1794, около 1,5 для WL2140 и WL1238 и наибольшее значение, около 2, показал образец VIR 320. Это гораздо меньше, чем нормальное число семян в бобе (как правило не менее 5). Судя по всему, процедура скрещивания в значительной степени повреждает бутон, о чем говорит доля скрещенных бутонов, которые не произвели бобов, которую можно вычислить по данным Таблицы 8 как $(N_c - N_p) / N_c$. Для скрещиваний JI1794 × JI1794 и 721 × 721 этот показатель превысил 1/2. Значения e для скрещиваний на себя может служить контролем для оценки эффективности скрещиваний между образцами. В большинстве случаев эффективность скрещиваний между образцами оказалась сравнимой или ниже, чем при их

скрещиваниях на себя. Исключения составляли скрещивания L100 × WL1238 и CE1 × WL1238, где значение e были приблизительно вдвое больше чем, соответственно, для L100 × L100 и CE1 × CE1, то есть в этих двух случаях опыление чужой пылью оказалось более эффективной, чем опыление своей, что сложно интерпретировать.

Считалось, что *Pisum fulvum* не способен давать семена при опылении культурным горохом *P. sativum* subsp. *sativum* (Ben-Ze'ev, Zohary 1973). Мы же такие семена получили, хотя и с очень низким выходом ($e = 0,08$). Ранее, опыляя тот же образец WL2140 пылью культурной линии Спринт-1, мы получили одно гибридное растение на примерно сотню скрещиваний (Bogdanova, Kosterin 2007), т.е. также с очень низкой эффективностью. Поскольку получающиеся гибриды дают семена, лишь унаследовав отцовские пластиды от *P. sativum* subsp. *sativum*, можно предположить, что и формирование семян также блокируется конфликтом ядра и пластид. В пользу этого предположения говорит и образование в данном направлении скрещиваний многочисленных (в среднем около одного на скрещенный цветок) абортивных семян с недоразвитым зародышем. В то же время скрещивание VIR320 × WL1238 показало ту же самую эффективность, что и реципрокное, хотя полученные из таких семян проростки и растения имели серьезные аномалии (см. раздел 5.3.3) вследствие конфликта ядра и пластид (Bogdanova, Kosterin 2006; Bogdanova 2007; Bogdanova et al. 2009; 2012). Таким образом, либо конфликт у гибридов *P. fulvum* × *P. sativum* subsp. *sativum* оказывает дополнительное сильное влияние на развивающийся эмбрион, либо сильно сниженная эффективность такого скрещивания имеет иную природу.

P. abyssinicum, представленный образцом VIR2759, показал ту же асимметрию эффективности реципрокных скрещиваний. Как материнское растение этот образец дал всего одно гибридное семя на 30 скрещиваний, т.е. значение e составило 0,03, против 0,40 в реципрокном направлении. Если судить по эффективности скрещиваний, барьер несовместимости между *P. sativum* и *P. abyssinicum* даже более силен, чем между *P. sativum* и *P. fulvum*, говоря в пользу видового статуса *P. fulvum* и *P. abyssinicum* в рамках биологической концепции вида.

Один случай заслуживает особого внимания: в скрещивании WL1238 × L100 образовались семена нормального размера, которые в сухом состоянии выглядели нормальными или их оболочка имела глубокие морщины, но внутри они оказались почти

пустыми, поскольку их зародыши остались недоразвитыми, тогда как семенная оболочка по неясной причине развивалась нормально (Рис. 18). В этом направлении вообще не было получено жизнеспособных семян, поэтому пара образцов L100 и WL1238 была исключена из дальнейшего анализа.

Тот же феномен – недоразвитие зародыша при нормально развитой семенной оболочке (однако в данном случае зародыш занимал около половины объема семени), наблюдался в скрещивании WL1238 × WL2140, хотя в этом скрещивании жизнеспособные семена также образовывались. Небезынтересно, что линия L100 (под обозначением 712) была вовлечена в эксперимент по скрещиванию, проведенный Бен-Зеев и Зоари (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973) но именно ее гибриды с *P. sativum* subsp. *sativum* в качестве материнского растения не были изучены – возможно, как раз вследствие описываемого феномена.



Рис. 18. Недоразвитые семена, образовавшиеся при скрещивании WL1238 × L100 и состоящие из нормально развитой оболочки и abortивного зародыша. (Фото автора.)

5.3.2. Масса семян гибридов первого поколения

Средняя масса семян каждого класса гибридов F_1 , а также семян, полученных от скрещивания образцов с самими собой, даны в Таблице 9. В некоторых случаях число семян больше, чем в Таблице 8, поскольку некоторые с виду полноценные семена по каким-то причинам, по-видимому не связанным с генотипом, не дали проростков; они не

были учтены ни среди образовавшихся гибридов, ни среди abortивных семян ввиду их «нормальной» массы. Все различия между средней массой гибридных семян в реципрокных направлениях скрещиваний были высокодостоверны ($P < 0.001$). Любопытно, что средние массы семян F_1 в реципрокных скрещиваниях $WL1238 \times J11794$ и $J11794 \times WL1238$, отличаясь в 2,5 раза, были почти идентичны таковым материнских образцов. Во всех других случаях, кроме скрещиваний с участием $J11794$, разница между средней массой семян гибридов и родительских линий была статистически существенной. В паре $WL1238$ и 721 значения средней массы семян гибридов F_1 обоих реципрокных направлений находились между средними значениями массы семян родителей. Средняя масса семян гибридов $WL1238 \times CE1$ и $WL1238 \times VIR320$ превзошла среднюю массу $WL1238 \times WL1238$, т.е. в отношении массы семян наблюдался гетерозис. Средняя масса семян $VIR320 \times WL1238$ оказалась ниже таковой обоих родителей, что неудивительно, так как в этом направлении скрещивания наблюдается хорошо выраженный и изученный ядерно-цитоплазматический конфликт (Богданова, Костерин, 2006; Bogdanova 2007; Bogdanova et al., 2009; 2011; 2014).

Масса семени с очевидностью зависит от двух факторов – ресурсов, предоставляемых материнским организмом и собственного генотипа зародыша. Это приводит к четырем возможным априорным ожиданиям относительно массы семени: (1) она может быть равной таковой семени материнского растения, поскольку получает стандартное для данного материнского генотипа количество ресурсов; (2) она может быть промежуточной между родительскими, аддитивно наследуясь как количественный признак; (3) она может превышать родительские вследствие гетерозиса и (4) она может быть меньше, чем у обоих родителей вследствие конфликта родительских генетических программ, объединенных в зиготе. Как это ни странно, в описываемых скрещиваниях с линией $WL1238$ мы столкнулись со всеми четырьмя вариантами: реципрокные скрещивания с $J11794$ дали семена со средними массами почти идентичными материнским образцам; реципрокные скрещивания с 721 и скрещивание $CE1 \times WL1238$ дали семена со средней массой, промежуточной родительским, хотя определенный материнский эффект был очевиден; скрещивания $WL1238 \times CE1$ и $WL1238 \times VIR320$ дали семена со средней массой, превышающей родительские, и, наконец, скрещивание $VIR320 \times WL1238$, связанное с

ядерно-цитоплазматическим конфликтом, дало семена со средней массой меньше, чем у обоих родительских образцов.

Таблица 9. Средняя масса (мг) семян F_1 , полученных в реципрокных скрещиваниях, вовлекающих WL1238 и у родительских линий, скрещенных на себя. Значения Т-теста Уэлша рассчитаны для сравнения семян гибридов F_1 в реципрокных скрещиваниях и гибридов F_1 в сравнении с материнской линией, скрещенной на себя. σ – стандартное отклонение, n – число растений.

	параметр	721	VIR320	Л11794	CE1	WL1238
WL1238 × # ^a	среднее ± ст. ош.	210,2 ± 8,8	279,9 ± 5,2	251,7 ± 9,1	306,0 ± 9,3	255,0 ± 14,8
	σ	54,1	34,6	53,9	31,3	62,7
	n	38	44	35	12	18
# ^a × WL1238	среднее ± ст. ош.	94,5 ± 3,1	155,9 ± 3,5	107,4 ± 5,5	170,9 ± 4,4	- “ -
	σ	12,0	21,5	29,2	23,1	- “ -
	n	15	37	28	27	- “ -
# × # ^a	среднее ± ст. ош.	88,6 ± 2,9	173,7 ± 2,4	104,2 ± 2,7	154,5 ± 2,7	- “ -
	σ	9,0	18,5	11,0	11,2	- “ -
	n	10	61	17	17	- “ -
	$T_{WL1238 \times \# / \# \times WL1238}$	8,16 *** ^b	18,93 ***	12,74 ***	15,09 ***	-
	$T_{WL1238 \times \# / WL1238 \times WL1238}$	-2,75 **	2,00 *	-0,20	2,60 *	-
	$T_{\# \times WL1238 / \# \times \#}$	1,32	-4,34 ***	0,43	2,72 **	-

^a # означает образец, указанный в оголовке столбца.

^b *, ** и *** обозначают различия, соответствующие, соответственно, уровню значимости 5%, 1% и 0,1%.

5.3.3. Габитус и количественные признаки реципрокных гибридов

Большинство гибридов с WL1238 выросли в мощные растения «нормальной внешности», имея, однако, «плоские усики», характерные для гетерозигот Tl / tl^w , что подтверждало гибридную природу растений. Однако в двух скрещиваниях гибриды одного

из направлений имели необычный фенотип. Наиболее необычны были гибриды VIR320 × WL1238, многократно обсуждавшиеся ранее (Bogdanova, Verdnikov 2001; Богданова, Костерин, 2006; Bogdanova 2007): очень слабые бледные растения с несколько редуцированными листочками и прилистниками и мозаичным хлорозом, часто с белыми, желтыми и зелеными секторами. С возрастом их побеги приобретают более однообразные, но все же недоразвитые, узкие и желтоватые прилистники и листочки и производят большое количество пустых бобов. Некоторые базальные ветви, однако, развиваются нормально и дают семена, что, как показано в нашем коллективе, связана с присутствием отцовских хлоропластов от культурного гороха (Богданова, Костерин, 2006).

Гибриды WL2140 (*P. fulvum*) × WL1238 демонстрировали менее выраженную фенотипическую аномалию того же типа: хлороз и слабый габитус (Рис. 19). Одно растение (No. 1) было нормального зеленого цвета и довольно крупным. У двух растений (No. 2-3) левые листочки и прилистники на узлах 4-6 (т.е. на 1-4 развитых листьях) имели фенотип *xantha* (золотистый цвет), тогда как парные им органы были нормально зеленые; одно из них (No. 2) выросло в крупное зеленое растение, другое (No. 3) было небольшим, имело слабый сетчатый хлороз и не дало цветов. Два растения (No. 4-5) были малы и имели равномерный хлороз на первых нескольких узлах (с хлорофилльной окраской плавно усиливавшейся к срединной жилке) и умеренный сетчатый хлороз на последующих узлах. Растение No. 6 было бледным, имело сильный мозаичный (вплоть до белых секторов) хлороз на первых нескольких узлах и умеренный сетчатый хлороз на последующих. Только два растения дали семена: No. 1 – 19 семян; No. 2 – 25 семян.



Рис. 19. Гибриды F₁ WL2140 (*P. fulvum*) × WL1238 (*P. sativum* subsp. *sativum*). Указаны номера растений, упомянутые в тексте; растение No. 2 показано дважды, на стадиях 8 узлов и первого цветка. Не в масштабе. (Фото автора.)

Реципрокные гибриды WL1238 × WL2140 были мощными растениями, но давали пустые бобы или бобы с очень незначительным количеством семян; одно из них имело сильный мозаичный хлороз на узлах 3-4, т.е. первых двух узлах с листьями. Когда главный стебель гибридов F₁ обоих направлений между WL1238 и WL2140 завершал рост, начиналось активное пазушное ветвление, в результате которого формировалось (особенно у основания) огромное количество коротких ветвей нескольких порядков с укороченными междоузлиями (Табл. 9), придавая растениям очень специфический «кудрявый» облик. Число всех ветвей всех порядков, имевших хотя бы один узел, к моменту сбора растений было оценено для гибридов WL1238 × WL2140 как варьирующее в пределах от 121 до 750; а общее число узлов в них варьировало от 854 до 3315. Нет сомнения, что это интенсивное ветвление имеет причиной избыток свободных ресурсов растения, не растраченных на образование семян ввиду низкой семенной фертильности. Однако тенденция к фракталоподобному образованию множества коротких ветвей неограниченного порядка, по-видимому, определяется какими-то генами *P. fulvum* (возможно теми же, которые

определяют амфикарпию, также предполагающую множество коротких ветвей у основания растения) поскольку другие, не связанные с *P. fulvum* малофертильные гибриды дают меньшее количество более длинных ветвей, в основном от основания растения.

Ранее Бен-Зеев и Зохари (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973) сообщали, что в скрещиваниях *P. fulvum* × *P. sativum* образуются сморщенные семена, тогда как семена *P. sativum* × *P. fulvum* были нормальными, но проростки F₁ были замедлены в росте и показывали существенный мозаичный хлороз. Некоторые проростки на этой стадии погибали, другие могли преодолеть этот барьер в развитии, если выращивались в теплице и развивались до приблизительно нормального размера. Очевидно, что барьер между *P. sativum* subsp. *sativum* и вовлеченным в наш опыт образцом WL2140 *Pisum fulvum* оказался менее выражен, чем с образцами 703 и 709, исследовавшимися Бен-Зеев и Зохари: наши гибриды *P. sativum* × *P. fulvum* были вегетативно хорошо развитыми на всех стадиях и лишь у одного растения были признаки хлороза на ранних узлах, тогда как скрещивание *P. fulvum* × *P. sativum* давало гибриды, хотя и с мозаичным хлорозом и замедленным развитием.

Некоторые основные значения количественных признаков реципрокных гибридов F₁ даны в Таблице 10. Объемы выборок невелики, поэтому ошибки средних значительны; в такой ситуации достоверно регистрируются только очень сильные эффекты.

Число боковых ветвей (всех порядков, т.е. это не столько число ветвей, сколько число ветвлений) и общее число узлов в них в большинстве случаев у реципрокных гибридов не отличалось. Гибриды F₁ WL1238 × WL2140 показали примерно вдвое большее по сравнению с реципрокными им гибридами (с 5% уровнем значимости) число узлов в сходном числе боковых ветвей. Гибриды F₁ 721 × WL1238 имели втрое больше ветвей (тот же уровень значимости), чем реципрокные гибриды.

Узел зацветания показал различия между реципрокными гибридами с участием образцов 721 и П1794. Заметим, что первый образец был самым высокорослым и зацветающим на самом высоком узле среди всех, а второй – самым низкорослым и зацветающим на самом низком узле. Эффекты соответствовали уровню зацветания материнского образца: узел первого цветка был выше в скрещиваниях 721 × WL1238 и WL1238 × П1794, чем в скрещиваниях реципрокных им.

Таблица 10. Количественные признаки исследованных гибридов F₁ в сравнении реципрокных классов. N – размер выборки для данного признака в данном классе гибридов F₁; сред. – среднее, ср. откл. – среднеквадратическое отклонение; *, ** и *** соответствуют, соответственно, уровням значимости 5%, 1% и 0.1%.

VIR2759 × WL1238		WL1238 × VIR2759			T	WL2140 × WL1238			WL1238 × WL2140			Скрещивание
N	сред.	N	ст. откл.	сред.	N	ст. откл.	сред.	N	ст. откл.	сред.	параметр	
1	192,00	12	15,85	166,00	6	37,12	130,00	20	32,01	206,10	длина глав ного стебля от узла 1	
1	33	12	3,34	28,92	6	4,22	34,17	20	6,79	42,30	число узлов глав- ного	
1	17	12	1,00	17,08	6	2,88	21,67	20	0,88	22,35	узел 1го цвтга	
1	239	12	22,52	43,75	6	115,49	215,83	20	178,73	301,55	число боковых ветвей	
1	1160	12	124,53	251,75	6	491,85	906,83	20	761,13	1873,25	число узлов в боко вых ветвях	
1	108	12	23,38	35,50	6	37,74	49,83	20	103,80	226,15	число бобов	
1	2	12	8,05	15,67	6	11,20	7,83	20	24,06	66,50	число семян	
1	0,20	12	2,49	4,19	6	1,86	1,19	20	4,04	10,48	общая масса семян (г)	
1	0,019	12	0,243	0,512	5	0,144	0,105	20	0,123	0,327	среднее число семян в бобе ^а	
1	0,102	12	0,041	0,253	2	0,009	0,164	20	0,017	0,158	средняя масса семени (г) ^а	
1	58,62	12	8,66	18,95	6	8,73	15,93	20	18,14	55,90	сухая надзем- ная био- масса без семян (г)	
1	58,82	12	9,89	23,14	6	9,44	17,12	20	21,65	66,38	сухая надзем- ная био масса с семе- нами (г)	

Продолжение Таблицы 10.

Т	VIR320 × WL1238			WL1238 × VIR320			Т	721 × WL1238			WL1238 × 721		
	N	ст. откл.	сред.	N	ст. откл.	сред.		N	ст. откл.	сред.	N	ст. откл.	сред.
11,40**	9	27,44	84,71	10	5,160	185,20	-0,45	8	26,13	217,00	14	65,51	206,00
3,08*	9	4,84	18,22	10	1,28	23,10	-0,07	8	3,69	33,25	14	9,96	33,00
-0,22	5	4,72	16,80	2	0,00	16,00	-3,41**	8	0,92	18,38	16	1,46	16,44
0,80	9	26,37	12,22	10	11,68	19,60	2,81*	8	21,61	43,50	16	36,82	83,38
1,30	9	123,30	48,89	10	54,02	104,50	2,86**	8	169,42	248,00	16	231,92	513,00
11,17***	9	0,88	0,56	10	3,86	15,30	-0,10	8	22,77	54,00	16	27,94	55,19
14,75***	9	3,33	1,89	10	15,49	77,20	-5,80***	8	37,74	90,63	16	19,17	24,00
9,95***	4	0,329	0,392	10	3,083	16,143	-6,27***	8	7,061	16,621	15	2,699	3,895
3,32*	3	2,08	2,67	10	0,796	5,167	-2,34*	8	0,486	1,732	16	1,103	0,767
-1,06	4	0,055	0,230	10	0,018	0,210	1,28	8	0,030	0,184	15	0,022	0,198
5,88***	9	3,61	0,72	10	3,36	11,48	1,21	7	10,83	24,95	16	11,70	31,23
10,93***	9	3,62	2,24	10	6,05	27,62	-0,87	7	17,99	40,79	16	13,50	34,88

Продолжение таблицы 10

Т	JI1794 × WL1238			WL1238 × JI1794			Т	CE1 × WL1238			WL1238 × CE1		
	N	ср. откл.	сред.	N	ср. откл.	сред.		N	ср. откл.	сред.	N	ср. откл.	сред.
2,88**	9	30,698	141,889	21	14,05	165,14	-0,41	12	23,11	212,42	7	15,08	208,43
4,13***	9	1,716	23,778	21	2,58	27,67	-0,94	12	3,09	31,58	7	1,13	30,43
3,36**	9	1,732	18,000	21	1,99	20,57	-0,19	19	2,93	22,58	8	0,92	22,38
0,84	9	8,283	23,889	21	21,59	30,19	0,663	20	15,70	45,30	8	16,98	49,75
1,83	9	29,221	103,111	21	108,22	170,71	0,35	20	99,21	247,15	8	90,79	261,50
4,17***	9	3,270	11,222	21	12,89	29,57	0,36	19	14,99	27,53	8	13,63	29,75
4,51***	9	12,32	39,44	21	40,86	102,57	0,41	19	45,53	98,37	8	42,07	106,00
3,82**	8	2,78	8,11	21	7,74	18,91	1,64	18	7,87	19,03	8	11,69	25,41
0,07	9	0,596	3,545	21	0,639	3,563	1,37	19	1,282	3,804	8	12,846	7,770
-1,43	8	0,051	0,204	21	0,029	0,182	1,58	19	0,041	0,201	8	0,075	0,236
3,91***	8	3,36	8,10	21	5,99	16,92	1,34	20	6,02	21,74	8	4,68	24,93
3,67**	7	6,06	16,53	21	13,33	35,83	1,85	18	12,43	40,26	8	13,72	50,34

Т- Значение Т-критерия Уэлша

^a Для этого признака сначала рассчитывались средние для индивидуальных растений, для которых уже рассчитывались средние и среднеквадратические отклонения.

Большая часть статистически значимых различий зафиксирована среди признаков, касающихся общей мощности растения: длина главного стебля и число узлов в нем, общее число бобов и семян, сухая надземная биомасса с семенами и без семян. Некоторые из этих признаков показали значимые различия во всех парах реципрокных скрещиваний за исключением скрещиваний с СЕ1. В скрещиваниях с WL2140, VIR320 и JI1794 эти признаки показали большие значения, когда упомянутые образцы выступали в качестве отцовских растений. В случае образца 721 значимый эффект наблюдался только по общему количеству семян и имел противоположное направление. Отметим двукратную разницу сухой надземной биомассы с семенами и без в реципрокных скрещиваниях, вовлекавших образцы WL2140 и JI1794, и более чем пятикратный (биомасса без семян) и 12-кратный (биомасса с семенами) в паре реципрокных скрещиваний с VIR320. Разницы в средней массе семян, произведенных реципрокными гибридами F_1 , нигде не наблюдалось.

Окраска цветков гибридов между WL2140 и WL1238 была аддитивной по отношению к родительским линиям, то есть одновременно антоциановой и флавоноидной, оказавшись характерной лососево-розовой и равномерной по всему венчику (Рис. 20). Привлекают внимание еще два случая фенотипа цветков гибридов. Цветки гибридов между 721 и WL1228 были крупнее даже нежели цветки 721, с непропорционально большим парусом, но окраска крыльев была менее насыщенной и более теплого оттенка.

Цветки гибридов между JI1794 и WL1238 имели общий облик как у первого образца, но были несколько крупнее и бледнее, с очень слабой антоциановой окраской только по краю крыльев и в центре паруса; парус вскоре сворачивался вокруг лодочки с крыльями. Крылья у таких цветков были довольно узкими. Возможно, JI1794 имеет «слабый» аллель дикого типа гена *k*, представленного у WL1238 рецессивным аллелем, в гомозиготе резко сужающим крылья и ослабляющим антоциановую пигментацию. У гибридов между указанными образцами он таким образом получает возможность проявлять неполное доминирование



Рис. 20. Цветки гибридов F₁ WL1238 (*P. sativum* subsp. *sativum*) × WL2140 (*P. fulvum*).
(Фото автора.)

Гибриды между VIR2759 и WL1238 были типичными гороховыми цветками, но не такими бледными, как у первого образца. Семена, образуемые гибридами с VIR2759, были черными (фенотип U), как и у самого этого образца, поскольку он обладает доминантным аллелем гена *U*.

Более неожиданно то, что семена гибридов с WL2140 также оказались черными (U) и с бугорчатой оболочкой (фенотип Gty), притом оба родительских образца не имеют ни того, ни другого фенотипа. WL2140 имеет гладкую, толстую, орехоподобную семенную оболочку темно-коричневого цвета с более темным микропиле. WL1238 имеет гладкую оболочку (gty) с фиолетовыми штрихами, обусловленными аллелем *Ust*. Мы можем

предположить, что WL2140 также несет аллели *U* и *Gty*, проявление которых маскируется какими-то дополнительными и притом рецессивными факторами, делающими оболочку коричневой и гладкой, но толстой. Этот маленький факт говорит, что дикие сородичи гороха могут иметь скрытый генетический потенциал, реализуемый (unlocked) в отдаленных скрещиваниях (Tanksley, McCoach, 1997).

5.3.4. Наследование пластид

Мозаичная гетероплазмия у гибридов первого поколения VIR320 × WL1238 и обусловленность нормального фенотипа некоторых секторов и ветвей в остальном аномальных растений присутствием отцовских пластид рассмотрена в иных работах нашего коллектива, выполненных под руководством В.С. Богдановой (Богданова, Костерин, 2006; Bogdanova, 2007).

Гибриды с WL1238 × WL2140, как и ожидалось в связи с данными Богдановой и Костерина (Bogdanova, Kosterin, 2007) судя по отсутствию сайта рестрикции для *AspLEI* в амплифицированном фрагменте гена *rbcL*, имели материнские пластиды. Мы специально протестировали лист с мозаичным хлорозом, появившийся у одного из растений, и не зарегистрировали гетероплазмии. У реципрочных гибридов WL2140 × WL1238 наблюдалась более сложная картина. Из шести полученных гибридов F₁ четыре (растения No. 2, 3, 4 и 6) имели мозаичный хлороз. Они были протестированы на стадии около десяти узлов, причем ДНК для растений No. 2 и 3 экстрагировалась отдельно из целых желтого и зеленого прилистников с одного узла, а для растения No. 4 – отдельного из желтого и зеленоватого прилистника с разных узлов; с равномерно бледно-зеленого растения No. 6 был взят один прилистник. Во всех семи прилистниках был детектирован только один из двух возможных аллелей *rbcL*, без следов гетероплазмии. Однако это были разные аллели: два зеленых прилистника с растений No. 2 и 3 имели отцовский аллель *rbcL*, тогда как остальные прилистники, с бледной или отсутствующей хлорофилльной пигментацией, имели материнский аллель. Мощное зеленое растение No. 1 не было протестировано на пластидную ДНК, но его потомство F₂, также как потомство растения No. 2, имело только отцовский тип пластид (П. Смыкал, личное сообщение).

Ранее мы обнаружили, что четыре растения F₂ от единственного гибридного растения F₁ от скрещивания WL2140 × Спринт-1 имело только отцовский вариант *rbcL*, также без следов гетероплазмии (Bogdanova, Kosterin 2007). Таким образом, присутствие исключительно пластид от *P. sativum* subsp. *sativum* выглядит обязательным условием нормального развития вегетативных тканей и семян у гибридов *P. fulvum* × *P. sativum* subsp. *sativum*.

Несомненно, в случае гибридов *P. fulvum* × *P. sativum* subsp. *sativum* мы сталкиваемся с конфликтом ядра и пластид того же типа, что и в скрещиваниях VIR320 × WL1238 – мозаичный хлороз, двуродительское наследование пластид и связь нормального фенотипа с присутствием отцовских пластид. Однако характер феноменологии несколько отличается – мозаичность пигментации на более высоко расположенных узлах выражена меньше, в то время как мозаичность пластид выражена скорее сильнее, так как ни в одном образце не выявлено гетероплазмии, а только один из двух возможных типов пластидной ДНК. Возможно, фиксация одного из пластидных типов в данном случае происходит на ранних стадиях развития гибридного растения, что заслуживает отдельного исследования.

Гибриды между VIR2759 (*P. abyssinicum*) и WL1238 не были протестированы на наследование пластидной ДНК. Однако ранее мы сделали аналогичное скрещивание между VIR2759 и иной тестерной линией *P. sativum* subsp. *sativum*, WL1072 (Bogdanova et al., 2014 и неопубл.) и также получили несколько гибридов F₁ WL1072 × VIR2759, но только один реципрокный гибрид VIR2759 × WL1072. В обоих случаях обнаруживалось только каноническое материнское наследование пластидной ДНК. Гибриды L100 × WL1238 также не исследовались, но их потомство F₂ было протестировано и показало присутствие только материнской пластидной ДНК от L100.

Таким образом, в 11 исследованных скрещиваниях с WL1238, в качестве представителя культурного подвида *P. sativum* subsp. *sativum*, с отдаленными формами гороха было выявлено два случая неканонического двуродительского наследования пластид, когда в качестве материнских растений использовались образцы WL2140 (*P. fulvum*) и VIR320 (дикорастущий *P. elatius*). В обоих случаях для нормального развития вегетативных органов и семенной продуктивности требовались отцовские пластиды.

5.3.5. Фертильность пыльцы гибридов

Средние (F и M) и среднеквадратические отклонения (σ_f и σ_m) доли фертильной пыльцы среди всей пыльцы (f) и отношения микрозерен к числу зерен нормального размера (m) даны в Таблице 11. Для двух типов гибридов, $WL2140 \times WL1238$ и $VIR320 \times WL1238$, критерий Фишера (F_i) показал существенный вклад индивидуальной изменчивости в общую изменчивость величины f для данной комбинации скрещиваний. Это не удивительно, так как в общих выборках цветков для данных комбинаций значения σ_f были очень близки к F , притом что для других случаев они гораздо меньше (в 4,4-73,5 раза). Именно эти комбинации продемонстрировали мозаичность общего габитуса и хлорофилльной пигментации и присутствия отцовской пластидной ДНК (см. раздел 5.3.4). Для этих скрещиваний средние и стандартные отклонения приведены в Таблице 11 также для индивидуальных растений. В классе $WL2140 \times WL1238$ два растения нормального габитуса, No. 1 и 2, показали существенный процент фертильной пыльцы (около 30%), тогда как слабые хлоротичные растения No. 3-5 имели лишь несколько процентов фертильной пыльцы. Гибриды F_1 No. 1-4 скрещивания $VIR320 \times WL1238$, аномальные за счет сильного хлороза и редуцированных пластинчатых органов, имели от 17 до 59% фертильной пыльцы, тогда как нормально развитый зеленый побег растения No. 5 имел почти полностью фертильную пыльцу.

Единственное гибридное растение F_1 от скрещивания $VIR2759 \times WL1238$ дало крупные базальные ветви после того как созрели бобы главного стебля (явно унаследовав это свойство от первого родителя), и цветки на них имели в полтора раза больше фертильной пыльцы (Табл. 11), чем на главном стебле, хотя выборки были слишком малы чтобы эффект был статистически значимым.

Поскольку сильная и изменчивая степень фертильности пыльцы именно у гибридов $VIR320 \times WL1238$ и $WL2140 \times WL1238$ коррелирует со степенью мозаичного хлороза/альбинизма и, в первом случае, с редуциацией пластинчатых органов, нет никакого сомнения, что она также связана с конфликтом ядра и цитоплазмы, детально исследованного для скрещиваний $VIR320$ и $WL1238$ (Bodganova, Berdnikov, 2001; Богданова, Костерин, 2006; Bogdanova, 2007; Bogdanova et al., 2009; 2011).

Таблица 11. Средние значения (F) и стандартные отклонения (σ_f) для доли фертильной пыльцы (в %) среди всех пыльцевых зерен нормального размера, средние значения (M) и стандартные отклонения (σ_m) отношения числа микрозерен к числу зерен нормального размера, число цветков, проанализированных в отношении каждого из этих параметров (соответственно n_f и n_m), у N гибридных растений F_1 данного класса гибридов, а также у индивидуальных растений (которым приписаны свои порядковые номера) в случаях, когда критерий Фишера выявлял существенную межиндивидуальную составляющую в дисперсии величины f .

Скрещивание	F (%)	σ_f (%)	n_f	M (%)	σ_m (%)	n_m	N
объединенные выборки гибридных классов							
WL1238 × WL2140	34,6	7,8	59	9,4	5,2	59	22
WL2140 × WL1238 *** ^a Fi=27.1 P=0.0005 ^b	14,9	14,8	14	6,1	6,1	13	5
WL1238 × VIR2759	46,7	8,8	32	6,1	3,5	18	10
VIR2759 × WL1238 *** ^b	29,4	7,3	8	7,9	2,0	8	1
WL1238 × 721	25,1	6,7	45	4,0	3,4	43	16
721 × WL1238 ***	60,8	6,4	32	3,4	3,2	31	12
WL1238 × VIR320	95,6	1,3	5	0	0	5	5
VIR320 × WL1238 *** ^b Fi=44.9 P=0.0014 ²	32,3	28,1	9	0,6	1,0	6	4
WL1238 × JI1794	89,8	5,1	16	1,9	2,2	15	7
JI1794 × WL1238	91,4	4,9	3	2,5	0,8	3	2
WL1238 × CE1	96,9	2,5	17	0	0	17	8
CE1 × WL1238	93,2	17,0	32	0	0	32	11
индивидуальные растения							
WL2140 × WL1238 No.1	28,6	8,5	3	7,5	6,0	3	1
- “- No. 2	32,3	5,2	3	13,4	7,3	3	1
- “- No. 3	1,3	0,7	3	2,5	0,8	3	1
- “- No. 4	1,6	2,3	3	3,5	0,8	2	1
- “- No. 5	8,4	2,8	2	1,3	1,9	2	1
VIR2759 × WL1238, главный стебель единственного растения	22,1	1,8	3	9,7	0,5	3	1 часть
- “- боковые ветви его же	33,7	5,4	5	6,8	1,8	5	1 часть
VIR320 × WL1238 No. 1	16,6	-	1	-	-	0	1
- “- No. 2	18,6	5,87	5	0,04	0,07	3	1
- “- No. 3	25,0	-	1	1,3	-	1	1
- “- No. 4	58,7	-	1	2,3	-	1	1
- “- No. 5	97,6	-	1	0	-	1	1

^{a***} разница между объединенными образцами реципрокных гибридных классов достигает уровня значимости 0,1% согласно t-критерию Уэлша.

^bЗначения F-критерия Фишера (Fi) и соответствующие им вероятности P нулевой гипотезы об отсутствии межиндивидуальной изменчивости в общей дисперсии f ; приведены для случаев, когда эта гипотеза отвергается.

Стерильность пыльцы, различающаяся в других реципрокных скрещиваниях в нашем опыте, но не связанная с нарушением габитуса растений, также с очевидностью вызвана конфликтом ядра и пластид (Bogdanova et al., 2014), но в более мягком его варианте. Так, гибриды VIR2759 × WL1238 имели фертильность пыльцы примерно 2/3 от таковой в реципрокных скрещиваниях, тогда как гибриды 721 × WL1238 – вдвое большую фертильность, чем у реципрокных гибридов. Последний случай – единственный среди исследованных пар скрещиваний, где фертильность была ниже, если WL1238 использовался как материнское растение. Тот же самый образец 721 был реципрокно скрещен Бен-Зеев и Зохари (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973) с сортом культурного гороха Дунн. При использовании его как материнского растения, они наблюдали фертильность пыльцы 66.8%, что близко к полученным нами 60.8%. Однако в реципрокном скрещивании они получили сходное значение фертильности 65.8%, тогда как в нашем опыте оно оказалось более чем вдвое ниже – 25.1%. По-видимому, эту разницу следует отнести на счет разных генотипов использованных образцов *P. sativum* subsp. *sativum*, а именно сорта Дунн (образец 731) и WL1238. Мы вынуждены предположить, что WL1238 имеет аллель (аллели) какого-то дополнительного ядерного гена (генов), конфликтующих с цитоплазмой образца 721.

Гибриды F₁ от скрещивания L100 × WL1238 в данном опыте не исследовались, так как реципрокных гибридов не было получено. Бен-Зеев и Зохари (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973) исследовали гибриды F₁ 712 (=L100) × 731 (Дунн) и оценили фертильность пыльцы в 36.3%. Реципрокные гибриды ими не исследовались, скорее всего, ввиду невозможности их получения, как и у нас.

В нашем опыте не было различий фертильности пыльцы у реципрокных гибридов F₁ с образцами П1794 и СЕ1, которая во всех случаях была близкой к 100%. (Заметим, что Бен-Зеев и Зохари сообщили о фертильности пыльцы гибридов 731 (Дунн) × 716 (=П1794) в 92.0%, что близко к значению 89.8%, полученному в нашем аналогичном скрещивании WL1238 × П1794.) Также полностью фертильными были гибриды WL1238 × VIR320. Этот результат, в частности, означает, что СЕ1, П1794 и VIR320 не имеют реципрокных транслокаций по сравнению с WL1238, имеющей стандартный кариотип гороха, поскольку

у гороха гетерозиготы по реципрокным транслокациям имеют фертильность пыльцы около 50% (Lamm 1951), и она оказывается еще ниже при добавлении каких-то иных факторов.

Отношение микро-зерен к нормальным пыльцевым зернам m продемонстрировало отрицательную корреляцию с f ($r = -0.46$, $P < 0.001$ для объединенной выборки цветков по всем скрещиваниям и -0.71 , $P < 0.05$ для средних из Табл. 11); в трех из четырех случаев когда значение F превышало 90% микро-зерна не детектировались. Параметр m оказался гораздо более изменчивым, чем f , со значениями стандартного отклонения σ_m сопоставимыми со средними M (Табл. 11). Статистически значимых различий значений в реципрокных скрещиваниях не наблюдалось.

Микро-зерна формируются из мелких клеток, являющихся дополнительными к тетрадам продуктами мейоза. У гороха они формируются вокруг микроядер, в которые превращаются хромосомы или биваленты, отставшие в анафазе I, что наблюдалось имеющим место у гетерозигот по транслокациям (Lamm, 1951), у тетрасомиков (Kosterin et al. 2009) и у гибридов F_1 VIR320 \times Спринт-1, страдающих от конфликта ядра и пластид (Богданова, Галиева, 2009, см. Рис. 1). Последний случай говорит о том, что отставание хромосом в анафазе I может быть одним из проявлений конфликта между ядром и пластидами. Это объясняет отрицательную корреляцию между фертильностью пыльцы и числом микро-зерен.

5.3.6. Женская фертильность гибридов

Общее число семян, производимых гибридами, следовало тому же паттерну различий в реципрокных скрещиваниях, что и другие признаки, отражающие габитус растений: отсутствие различий в скрещиваниях с CE1, превышение в скрещиваниях с WL2140, VIR320 и Л1794 в качестве отцовских растений и с 721 в качестве материнского растения (Табл. 10), но с более выраженной разницей: для всех четырех пар реципрокных скрещиваний упомянутых образцов с WL1238 отношение большего значения к меньшему было, соответственно, 7,8, 8,7, 2,6 и 3,8. Наибольшие различия наблюдались в парах скрещиваний WL2140 \times WL1238 и VIR320 \times WL1238, где гибриды F_1 имели аномальный внешний фенотип; так, в случае VIR320 \times WL1238 87,7-кратная разница возникла из-за

того, что только 4 из 9 растений дали семена, общим числом 17. Единственное растение VIR2759 × WL1238 дало всего 2 семени в 108 бобах.

Жизнеспособность женских гаметофитов в какой-то мере отражается таким параметром, как среднее число семян на боб. Эта величина различалась в следующих парах реципрокных скрещиваний:

- с WL2140: втрое больше, когда этот образец был отцовским родителем;
- с VIR320: впятеро больше, когда этот образец был отцовским родителем (обратим внимание на 20-кратную разницу в среднем числе бобов в этих реципрокных скрещиваниях);
- с 721: вдвое больше, когда этот образец был материнским родителем.

Единственное гибридное растение VIR2759 × WL1238 дало в среднем 0.02 семени на боб против 0.51 в реципрокном скрещивании.

Направление эффектов в парах реципрокных скрещиваний было тем же самым, что и для фертильности пыльцы: скрещивания, где WL1238 выступала в качестве отцовского родителя, давали меньшие показатели во всех случаях за исключением скрещиваний с 721. Можно заключить, что жизнеспособность мужских и женских гаметофитов в скрещиваниях WL1238 с WL2140, VIR2759, 721 и VIR320 скоррелированно нарушены конфликтом ядра и цитоплазмы, что было исследовано генетически в скрещиваниях L100, 721 и 320 с культурным горохом (Ядрихинский, Богданова, 2011; Богданова и др., 2012; 2014).

5.3.7. Заключение по скрещиваниям с культурным подвидом

***P. sativum* subsp. *sativum* (WL1238)**

Проведенные реципрокные скрещивания образцов базового набора Восточного Средиземноморья с культурным подвидом гороха *P. sativum* subsp. *sativum*, как и ожидалось, выявило наиболее серьезные репродуктивные барьеры с представителями других видов рода, *P. fulvum* и *P. abyssinicum*. Эти барьеры особенно сильны при использовании двух последних видов в качестве материнского родителя, когда образуются считанные семена на сотни скрещиваний. В случае *P. fulvum* шесть гибридов, полученных в

этом направлении скрещиваний, были слабы и страдали от конфликта ядра и пластид, компенсируемого присутствием отцовских пластид. Фертильность пыльцы этих растений варьировала от 2 до 32%, и только четыре растения дали несколько семян. В случае *P. abyssinicum*, единственное полученное гибридное растение выросло до 192 см в высоту, фертильность пыльцы его цветков варьировала от 22 до 33%, но оно произвело только два семени. Реципрокные гибриды произвели больше, но все равно немного семян, которые выросли в довольно мощные растения с невысокой мужской и женской фертильностью (заметим опять-таки, что гибриды WL1238 × WL2140 дали в пять раз больше семян на растение, чем гибриды WL1238 × VIR2759). Таким образом, в отношении как эффективности скрещивания, так и выхода семян в обоих реципрокных направлениях, репродуктивный барьер культурного подвида с *P. abyssinicum* оказался гораздо более серьезным, чем с *P. fulvum*. Эти результаты особенно важны, поскольку говорят в пользу необходимости наделения *P. abyssinicum* видовым рангом, в особенности ввиду того, что его неоднократно понижали до подвидового из-за большого морфологического сходства с *P. sativum* и позиции среди эволюционных ветвей последнего на филогенетических реконструкциях. Как следует из раздела 1.2.2.7, его следует признать скорее гибридогенным видом.

Остальные скрещивания проводились с растениями, принадлежащими виду *Pisum sativum* в широком смысле. Среди них мы столкнулись с двумя случаями сильных однонаправленных барьеров: WL1238 × L100, где не развивались гибридные эмбрионы, и VIR320 × WL1238, с сильными аномалиями у гибридов F₁. Природа первого явления неизвестна; генетический анализ второго случая, проведенный под руководством В.С. Богдановой, показал, что VIR320 имеет уникальный аллель еще не идентифицированного ядерного гена *Scs2* из группы сцепления V, участвующего в ядерно-цитоплазматическом конфликте (Bogdanova et al. 2009).

Более слабое развитие боковых ветвей и более низкая мужская и женская фертильность гибридов F₁ WL1238 × 721 по сравнению с реципрокными связана с характерным для 721 аллелем гена *Scs1*, несовместимым с цитоплазмой WL1238; этот ген также участвует в снижении фертильности пыльцы и у гибридов VIR320 и L100 с культурным горохом (Ядрихинский, Богданова, 2011; Bogdanova et al. 2014).

Сходный, но еще менее сильный эффект наблюдался у гибридов F_1 J11794 \times WL1238, которые уступали реципрокным в отношении общего габитуса и по семенной продуктивности. Однако эти эффекты не связаны с жизнеспособностью мужских либо женских гаметофитов, и пыльца гибридов была полностью фертильна.

Образец CE1 из Крыма, несущий комплекс признаков несомненно дикого гороха, такие как раскрываемость бобов, бугорчатая и пестрая семенная оболочка, хорошо выраженный период покоя семян, оказался единственным, чьи реципрокные гибриды с WL1238 не демонстрировали никаких различий и были полностью фертильны.

Образцы J11794, CE1 и WL1238 относятся к линии В (раздел 3.2), поэтому их полная совместимость на уровне фертильности пыльцы выглядит естественной. Можно было бы предположить, что все члены этой линии вполне репродуктивно совместимы, хотя небольшие отличия реципрокных гибридов в отношении габитуса растений могут иметь место, как в случае WL1238 и J11794. Однако данные раздела 5.5 (см. ниже) показывают сложный характер отношений мужской фертильности и внутри линии В.

5.4. Скрещивания с *Pisum fulvum*

На Рис. 21. схематически представлена фертильность пыльцы реципрокных гибридов образца WL2140 (*P. fulvum*) с семью другими образцами базового набора, классифицированная в условные градации и отраженная толщиной стрелок, как описано в разделе 5.2.

Во-первых, отметим, что нам не удалось получить всего один класс гибридов, WL2140 \times VIR320. (Это именно те образцы, которые демонстрируют яркие фенотипические проявления конфликта ядра и пластид при скрещивании с культурным подвидом. По-видимому, их несовместимость с культурным горохом основана на разных аллелях генов, вовлеченных в конфликт, так что между собой они оказываются полностью несовместимыми в обоих направлениях.) Этот результат развенчивает миф о неспособности *P. fulvum* к отдаленным скрещиваниям в качестве материнского родителя.

Во-вторых, во всех этих скрещиваниях наблюдаются только градации фертильности 1) и 2), соответствующие фертильности пыльцы приблизительно на уровне 25 и 50%. Этот

результат не противоречит предположению, что образец WL2140 отличается от всех других вовлеченных в опыт образцов как минимум одной реципрокной транслокацией.

В -третьих, из семи пар реципрокных гибридов в четырех не наблюдалось существенных различий по фертильности пыльцы. Исключение составляют лишь скрещивания с WL1238 и L100, где фертильность почти вдвое ниже, чем когда WL2140 выступает материнским растением, и скрещивания с VIR320, где WL2140 в качестве материнского растения вообще не дал гибридных семян.

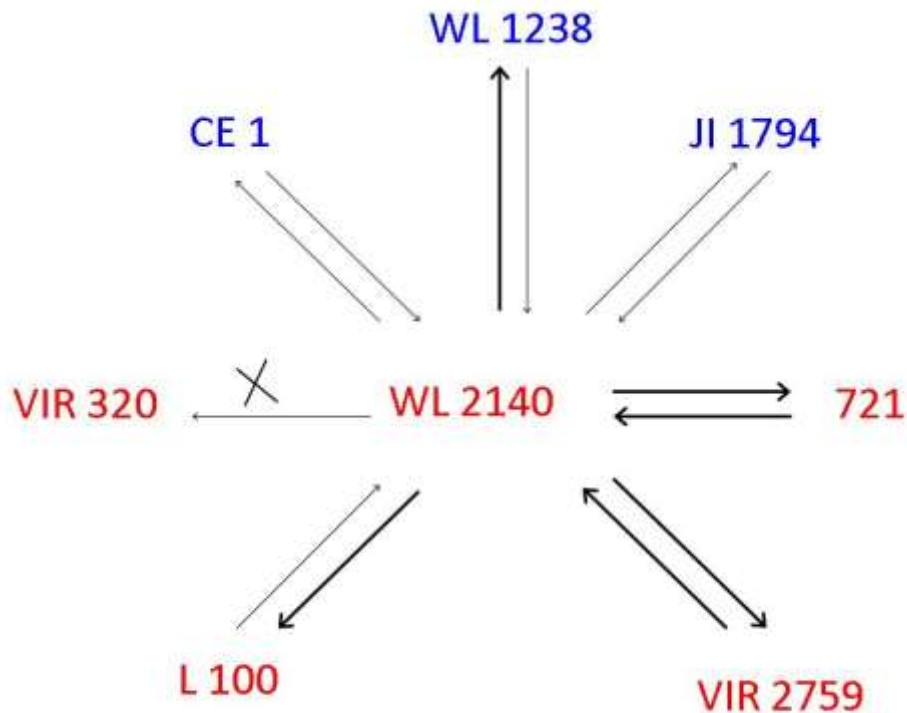


Рис. 21. Фертильность пыльцы реципрокных гибридов F_1 образца WL2140 (*P. fulvum*) с семью другими образцами базового набора гороха Восточного Средиземноморья (см. раздел 5.1). Толщина стрелок обозначает приблизительный уровень фертильности пыльцы – на уровне около 1/4 (тонкие стрелки) и 1/2 (более толстые стрелки); направление стрелок указывает на направление переноса пыльцы (см. раздел 5.2). Перекрестье (×) означает, что гибриды данного направления отсутствуют. Обозначения образцов, имеющих комбинацию А, выделены красным цветом, таковые с комбинацией В – синим.

В-четвертых, согласно упрощенной схеме (Рис. 21), *P. fulvum* формально оказывается неожиданно ближе высокорослому, с крупными цветами («*P. elatius*» в смысле Бен-Зеев и Зохари) образцу 721 из того же региона (Израиль) и низкорослому ультраскороспелому культурному виду *P. abyssinicum* из Йемена и Эфиопии (VIR2759). Возможно, это косвенно подтверждает гибридогенную природу *P. abyssinicum*, предположительно возникшего от скрещивания *P. fulvum* и *P. sativum* subsp. *elatius* (Jing et al., 2010; см. раздел 1.2.2.7).

В-пятых, реципрокные гибриды образцов VIR2759 (*P. abyssinicum*) и 721 («*P. elatius*» в смысле Бен-Зеев и Зохари) с WL2140 имеют мужскую фертильность на одинаковом уровне около 50%, такую же фертильность имеют гибриды L100 × WL2140 и почти такую же (34,5%, см раздел 5.3) – гибриды WL1238 × WL2140. Это означает, что кариотипы этих четырех образцов если и отличаются от кариотипа WL2140, то не более чем одной реципрокной транслокацией. В то же время Бен-Зеев и Зохари (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973) предполагали, что *P. fulvum* отличается от *P. sativum* subsp. *sativum* двумя транслокациями, 1-7 и 3-5, а образцы 721 и 712 (= L100) от него же – одной транслокацией 4-6, затрагивающей иные хромосомы. В таком случае образцы 721 и 712 должны были бы отличаться от *P. fulvum* сразу тремя реципрокными транслокациями, что привело бы к фертильности пыльцы на уровне не более 15%. Либо допущения указанных авторов о транслокациях неверны, либо используемый нами образец *P. fulvum* кариологически ближе к культурному гороху, чем использованный ими образец 706.

5.5. Скрещивания с *Pisum abyssinicum*

Эксперимент, вовлекавший в отдаленные реципрокные скрещивания *P. abyssinicum*, с семью другими формами гороха основного набора, был аналогичен вышеописанному (раздел 5.4), вовлекавшему *P. fulvum*. На Рис. 22. схематически представлена фертильность пыльцы реципрокных гибридов образца VIR2759 (*P. abyssinicum*) с семью другими образцами базового набора, классифицированная в условные градации и отраженная толщиной стрелок, как описано в разделе 5.2. В отличие от предыдущего рисунка, здесь появляются градации фертильности 3 (около 3/4 фертильной пыльцы) и 4 (полная фертильность). В отличие от ситуации с *P. fulvum*, здесь те или иные отличия (в

фертильности пыльцы или присутствию гибридов) наблюдались в пяти из семи пар реципрокных скрещиваний – кроме скрещиваний с CE1 (фертильность в обоих направлениях около 1/4) и WL2140 (фертильность на уровне 1/2), а гибридов не удалось получить уже в двух случаях, где *P. abyssinicum* выступал в роли материнского родителя: VIR2759 × L100 и VIR2759 × 721.

Образец VIR2759 в качестве материнского родителя дает гибриды более фертильные, чем реципрокные, в двух случаях (с WL1238 и JI1794), а в двух случаях гибриды получились только в этом направлении (с L100 и 721).

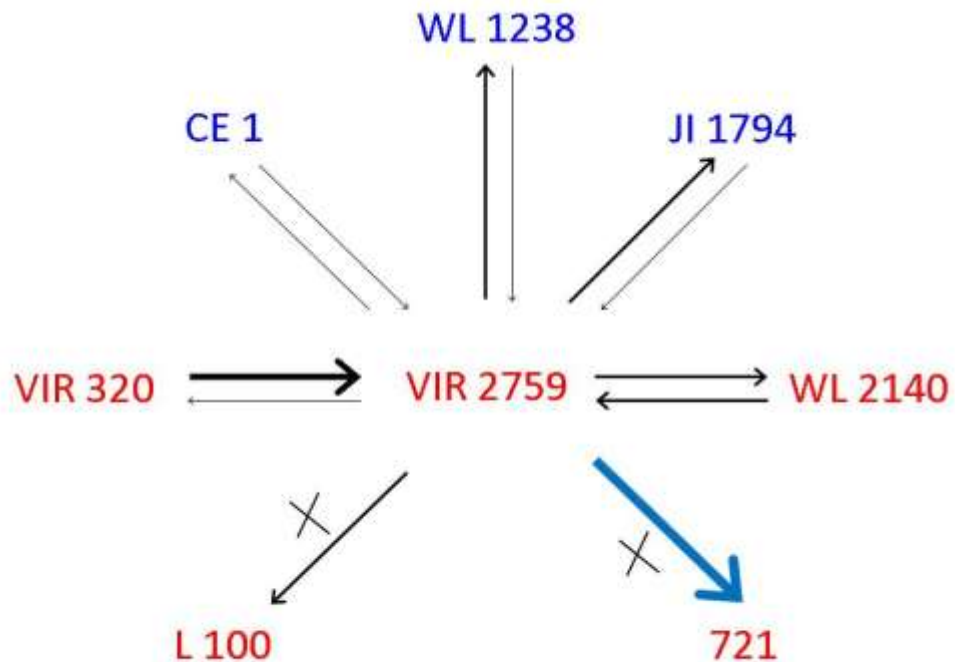


Рис. 22. Фертильность пыльцы реципрокных гибридов F₁ образца VIR2759 (*P. abyssinicum*) с семью другими образцами базового набора гороха Восточного Средиземноморья.

Толщина стрелок обозначает приблизительный уровень фертильности пыльцы по четырем градациям – около 1/4 – около 1/2 – около 3/4 – полная фертильность (стрелки, соответствующие полной фертильности также выделены синим) (см. раздел 5.2).

Перекрестье (×) означает, что гибриды данного направления отсутствуют.

Особый интерес представляют случаи высокой (3/4 и более) мужской фертильности, указывающие на образцы, наиболее совместимые с *P. abyssinicum*. Это гибриды VIR2759 × VIR320 и 721 × VIR2759. В последнем случае наблюдается полная фертильность пыльцы. Этот результат очень важен. Во-первых, он, возможно, указывает на представителя *P. sativum* subsp. *elatius*, наиболее родственного *P. abyssinicum* и тем самым, вероятного родственника того генотипа, который участвовал в формировании *P. abyssinicum* за счет гибридизации с *P. fulvum*, в случае если *P. abyssinicum* действительно имеет гибридогенную природу.

Во-вторых, это означает, что VIR2759 и 721 имеют одинаковый кариотип (т.е. не различаются ни одной реципрокной транслокацией). Формально фертильность пыльцы на уровне 3/4 у гибридов VIR2759 × 320 указывает на то, что и эти образцы не различаются реципрокными транслокациями, в каком-либо случае фертильность пыльцы не превысила бы 1/2.

5.6. Скрещивания между дикорастущими представителями посевного гороха (*Pisum sativum* subsp. *elatius* sensu Maxted et Ambrose lato)

В нашем анализе присутствует пять образцов *Pisum sativum* subsp. *elatius*, что затрудняет и анализ, и представление. Прежде всего отметим, что два класса гибридов с VIR320 в качестве материнского растения, а именно с SE1 и 721, демонстрируют те же аномалии, что и при опылении этой линии культурным подвидом – мозаичный хлороз и резкую редукцию прилистников и листочков, в результате чего растение дает многочисленные длинные, плетевидные зеленоватые побеги с минимальной фотосинтезирующей поверхностью (Рис. 23). Несомненно, это проявление того же конфликта ядра и цитоплазмы, которое проявляется при опылении данного образца пыльцой культурного гороха. Таким образом, этот эффект никак не связан с таксономической принадлежностью отцовского образца, а только с его конкретным генотипом. При опылении VIR320 пыльцой J11794 («северный *humile*») и L100 («южный *humile*») образующиеся гибриды имеют нормальный габитус.

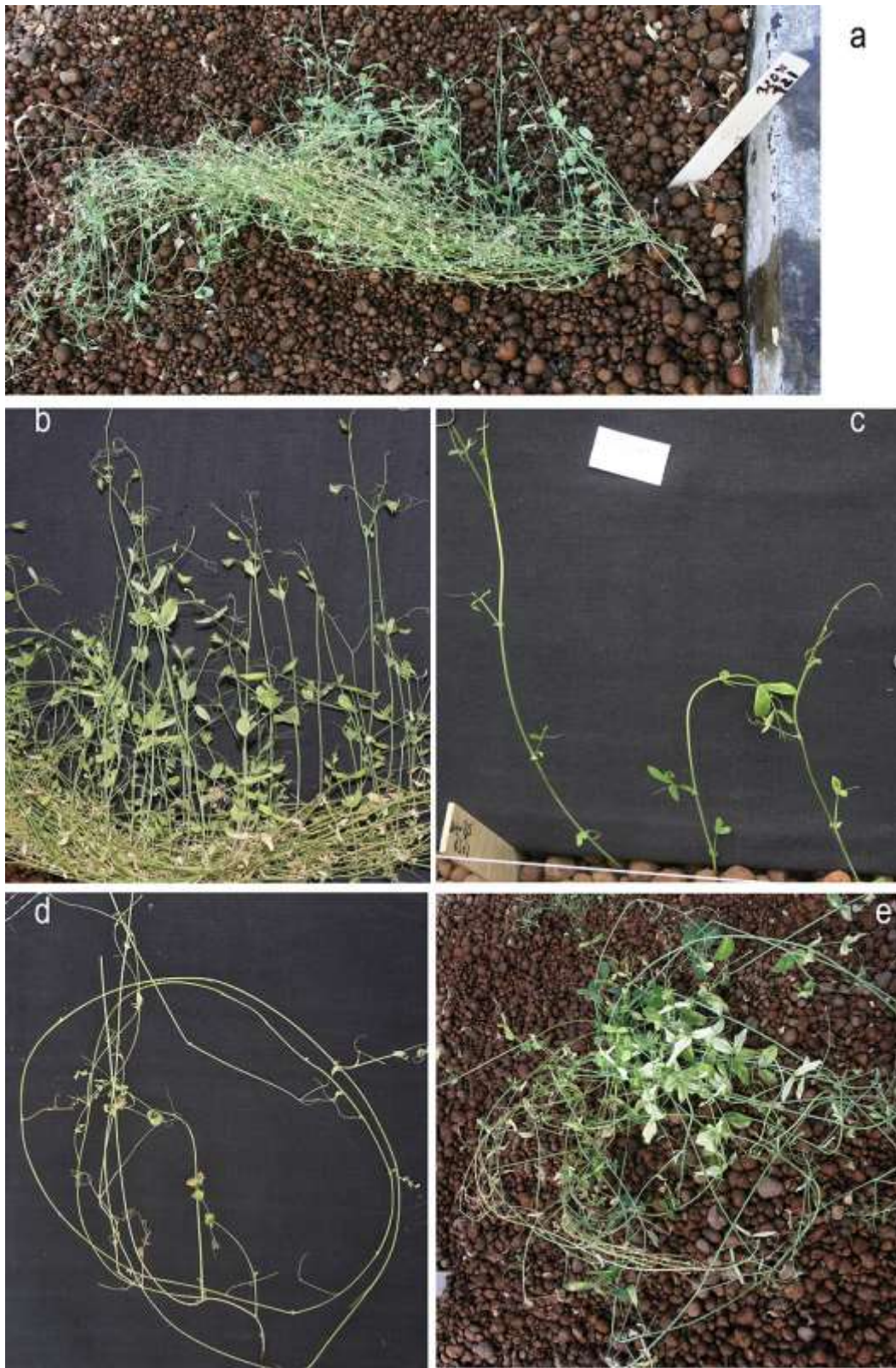


Рис. 23. Аномальный облик гибридов F_1 от скрещиваний VIR320 \times 721 (a-b) и VIR320 \times CE1 (все образцы – представители *Pisum sativum* subsp. *elatius* s.l.) (d-e) (Фото автора.)

Нам не удалось получить гибридов в двух направлениях скрещиваний: $721 \times CE1$ и $CE1 \times L100$; какой-либо закономерности проследить в этом не удастся.

На Рис. 24 схематически представлена фертильность пыльцы реципрокных гибридов между пятью образцами дикорастущих форм посевного гороха, входящими в базовый набор Восточного Средиземноморья, классифицированная в условные градации и отраженная толщиной стрелок, как описано в разделе 5.2. Несмотря на то, что все пять образцов формально относятся к одному подвиду, из 20 направлений скрещиваний только в двух наблюдалась полная фертильность гибридов F_1 – $CE1 \times VIR320$ и $721 \times L100$, и только в двух парах реципрокных гибридов показатели фертильности пыльцы были сходными – между $J11794 \times L100$ и между $VIR320 \times L100$. Таким образом, внутри *Pisum sativum* subsp. *elatius* мы наблюдаем множественные репродуктивные барьеры, картина которых сложна и не укладывается в простую иерархическую или дихотомическую схему.

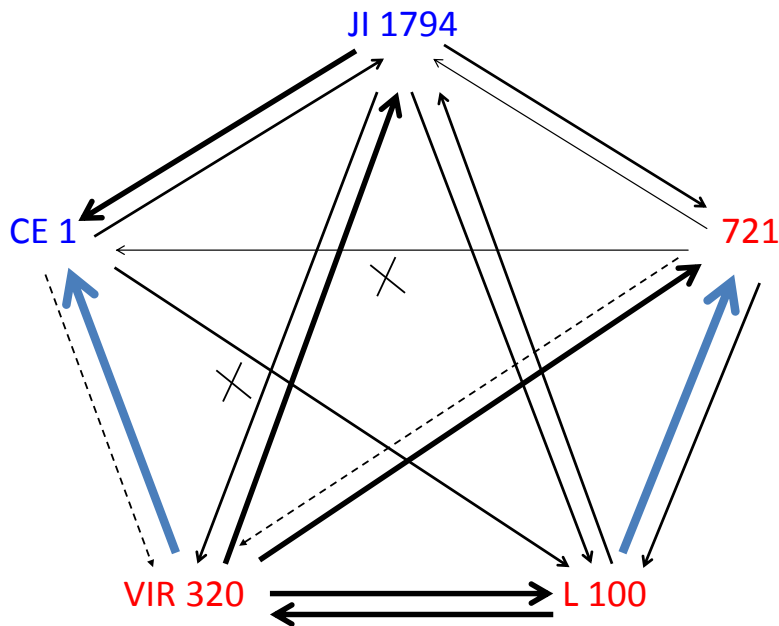


Рис. 24. Фертильность пыльцы реципрокных гибридов F_1 пяти образцов *Pisum sativum* subsp. *elatius* s.l. между собой. Толщина стрелок обозначает приблизительный уровень фертильности пыльцы по четырем градациям – около 1/4 – около 1/2 – около 3/4 – полная фертильность (стрелки, соответствующие полной фертильности также выделены синим); пунктиром обозначены направления, в которых образуются гибриды аномального габитуса (см. раздел 5.2). Перекрестье (×) означает, что гибриды данного направления отсутствуют.

Представляет интерес рассмотреть отдельно только те направления скрещиваний, которые дают фертильность пыльцы существенно выше 50%, поскольку они заведомо указывают на пары образцов, не различающихся реципрокными транслокациями. Они показаны на Рис. 25.

Во-первых, мы видим всего одну пару реципрокных гибридов, где подобная фертильность наблюдается в обоих направлениях – это гибриды между VIR320 и L100. В остальных случаях высокофертильные гибриды дает только одно реципрокное направление, второе же, по всей видимости, в какой-то мере страдает от конфликта ядра и цитоплазмы (на что указывает сам факт различия между реципрокными гибридами).

Во-вторых, весь граф отношений мужской фертильности оказался связным, без промежутков. Более того, все образцы оказались связанными высокофертильными гибридами не менее чем с двумя другими образцами. Больше всего таких связей – пять – показал образец VIR320, и это несмотря на то, что именно этот образец известен яркими проявлениями конфликта ядра и пластид в отдаленных скрещиваниях. Можно сделать довольно неожиданный вывод, что данный образец является хорошим «мостом» для отдаленной гибридизации в селекционных программах, позволяющий объединять в гибридах генетическую информацию от малосовместимых образцов.

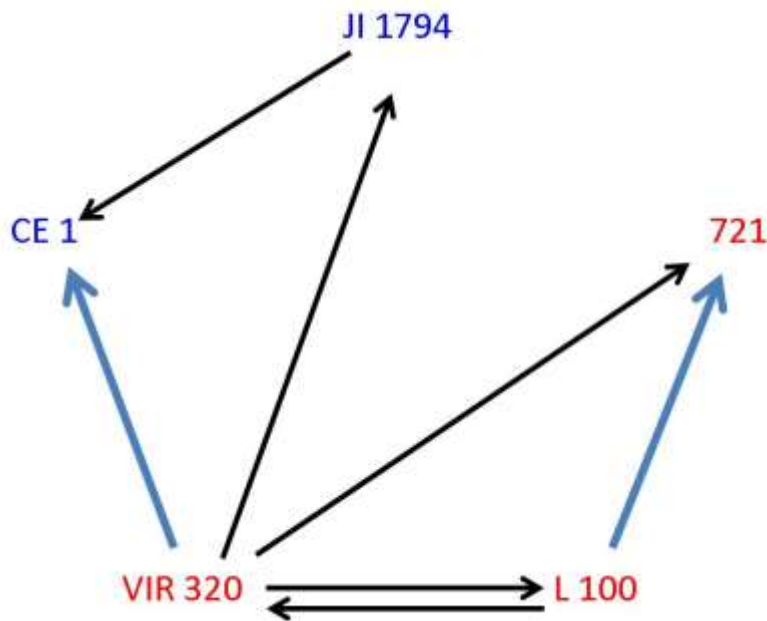


Рис. 25. Гибриды F_1 между образцами *Pisum sativum* subsp. *elatius* s.l., показавшие высокую фертильность пыльцы - около 3/4 и полную. Обозначения как на Рис. 24 (см. раздел 5.2).

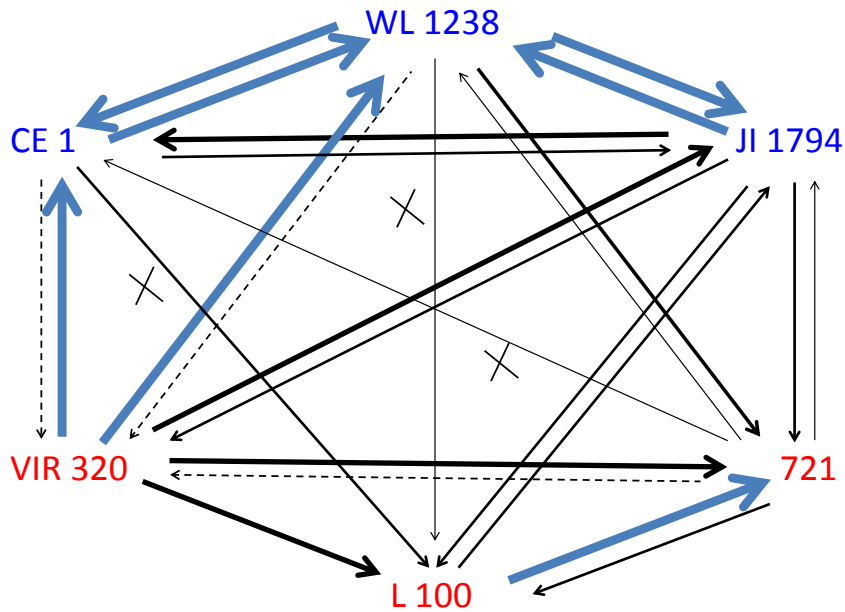


Рис. 26. Фертильность пыльцы реципрокных гибридов F₁ шести образцов *Pisum sativum* subsp. *elatius* s.l. между собой. Обозначения – как на Рис. 24.

Добавим в схему шестого вовлеченного в эксперимент представителя *Pisum sativum*, а именно его культурного подвида – тестерную линию WL1238 (Рис. 26). Это делает схему еще более сложной для восприятия, однако образец WL1238 добавляет много высокофертильных связей между образцами, представляющими линию В.

Оставим в схеме только высокофертильные гибриды (Рис. 27). Рекордсменами по числу высокофертильных связей с другими образцами являются VIR320 – шесть связей с шестью образцами, и WL1238 – пять связей с тремя образцами (все полностью фертильные). Наибольшее число полностью фертильных связей наблюдается у четырех образцов: WL1238 – пять, CE1 – три, VIR320 и JL1794 – две. Группа представителей эволюционной линии В оказалась высокосвязной полностью фертильными комбинациями гибридов, но только через WL1238, тогда как между CE1 и JL1794 есть только одна связь, на уровне фертильности пыльцы около 3/4.

Наиболее важно, что полученные данные говорят о том, что среди шести исследованных образцов нет реципрокных транслокаций! Между тем Бен-Зеев и Зохари (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973) полагали, что между образцами 712 (=L100) и 721 с одной стороны и 716 (=JL1794) и *P. sativum* subsp. *sativum* с другой стороны имеется транслокация.

В профазе мейоза I материнских клеток пыльцы они наблюдали тетравалент с частотой 0,6-0,7, что является несколько противоречивым результатом, причем соответствующие фотографии в работе не представлены. Все три упомянутых дикорастущих образца были вовлечены и в наш опыт, лишь представитель культурного подвида использовался иной. Действительно, в нашем опыте фертильность пыльцы гибридов между представителями вышеупомянутых двух пар образцов нигде не превышала 1/2 (такова она у гибридов L100 × JI1794, JI1794 × L100, 721 × WL1238 и 721 × JI1794) (Рис. 26), что согласуется с этим предположением. Однако как L100, так и 721 оказались связаны высокой, на уровне 3/4, фертильностью пыльцы их гибридов с VIR320, а та, в свою очередь, выступая как материнский родитель – полной фертильностью гибрида с линией WL1238 и фертильностью на уровне 3/4 – с JI1794. Таким образом, образец VIR320 связывает граф отношений высокой фертильности (Рис. 27) в одно целое. Интерпретировать эти результаты через реципрокные транслокации невозможно. Все связи высокой фертильности VIR320 с другими образцами, за исключением связей с L100, асимметричны и имеют однонаправленный характер. По всей видимости, неполная фертильность пыльцы в этих случаях определяется ядерно-цитоплазматическим конфликтом, а следовательно и низкая фертильность гибридов между группами образцов L100-721 и JI1794-WL1238 по всей видимости имеет ту же природу, а не обусловлена кариологическими причинами.

Рискнем добавить в граф, показывающий отношения высокой фертильности пыльцы, еще и образец VIR2759 (Рис. 28), ввиду того, что на многих филогенетических реконструкциях *P. abyssinicum* занимает позицию внутри *P. sativum*. Мы видим уже известное нам из Рис. 22 обстоятельство, что VIR2759 проявляет односторонние высокофертильные связи с VIR320 и 721 (полная фертильность), добавляя тем самым еще одну, непрямую связь 721 с VIR320 на графе.

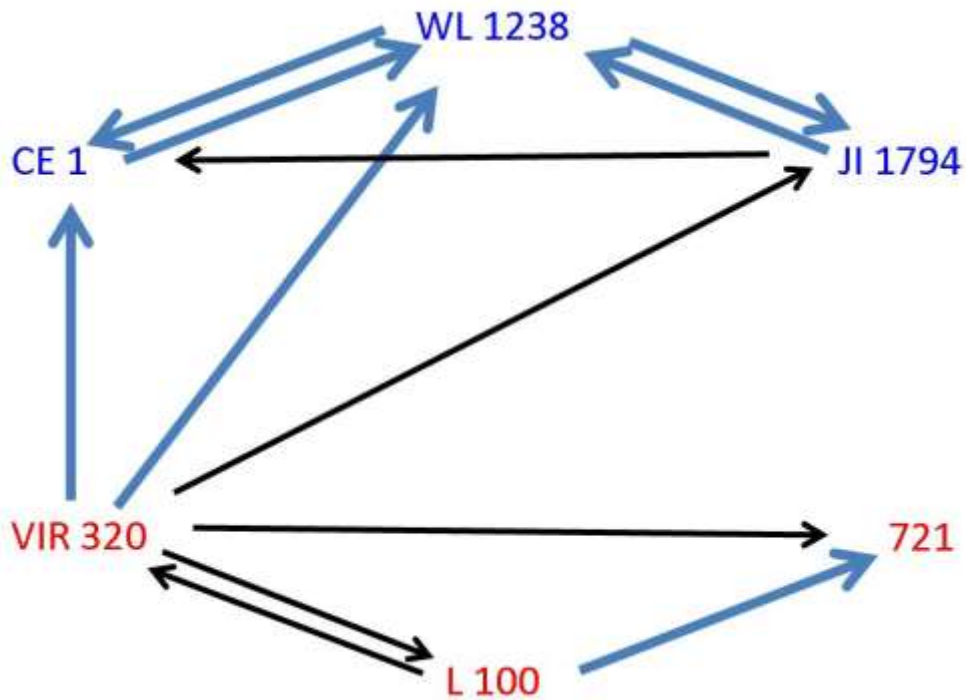


Рис. 27. Гибриды F_1 между образцами *Pisum sativum*, дикими и культурным, показавшие высокую фертильность пыльцы - около $3/4$ и полную. Обозначения как на Рис. 24.

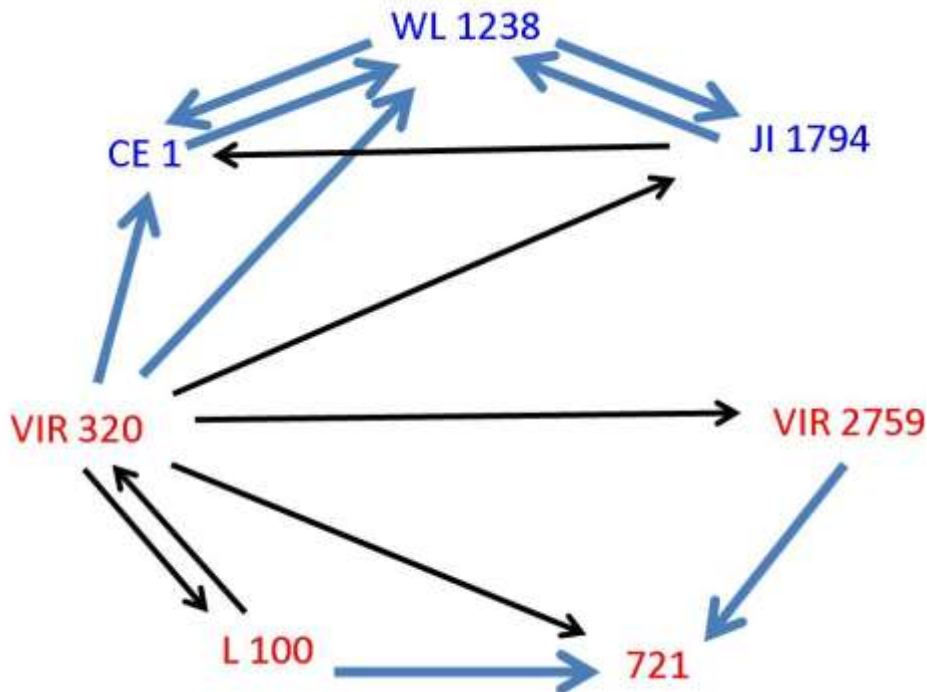


Рис. 28. Гибриды F_1 между образцами *Pisum sativum* и *P. abyssinicum*, дикими и культурным, показавшие высокую фертильность пыльцы - около $3/4$ и полную. Обозначения как на Рис. 24.

5.7. Отношения репродуктивной совместимости образцов базового набора в свете таксономии гороха.

Наши данные по репродуктивной совместимости образцов базового набора Восточного Средиземноморья показывают, как осторожно следует пользоваться какой-либо внутривидовой таксономией *Pisum sativum*. Скрещивая культурные и дикие формы, можно столкнуться как с серьезными однонаправленными репродуктивными барьерами, так и с более мягкими формами барьеров, связанными с падением фертильности пыльцы, которые могут иметь симметричный либо асимметричный характер у гибридов первого поколения. Для любого направления скрещиваний, вовлекающих дикорастущих представителей посевного гороха, характер совместимости невозможно предсказать заранее, исходя из внешних признаков растения. Однако такое предсказание может оказаться возможным на основе первичной структуры пластидного гена *AccD* и ядерного гена *bssr*, оказавшихся основными участниками конфликта ядра и цитоплазмы в скрещиваниях, вовлекающих образец VIR320 (Bogdanova et al., 2015), а возможно и другие дикорастущие образцы гороха (Bogdanova et al., 2014).

Ориентация на таксономическую принадлежность контрпродуктивна, поскольку сами внутривидовые таксоны гороха во многом иллюзорны (см. раздел 1.2.3). Так, образец 721 с г. Кармель (Израиль) и дикорастущий горох Крыма традиционно относились к таксону под названием *elatius* в узком смысле. Однако образец CE1 полностью репродуктивно совместим с культурным горохом, тогда как гибриды первого поколения образца с 721 с ним имеют фертильность пыльцы 25 или 60% и среднее число семян в бобе 0,8 или 1,7, в зависимости от направления скрещиваний. Еще более по-разному ведут себя в скрещиваниях «северный *humile*» (J11794) и «южный *humile*» (L100). В своей почти классической работе Бен-Зеев и Зохари (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973) показали несостоятельность существовавшей на тот момент таксономии дикорастущих *P. sativum*, основанную на высоте растения (*elatius/humile*), показав искусственность таксона «*Pisum humile*». Но и их экспериментальный анализ, во многом подобный нашему, оказался не столь информативен, так как и они не избежали некоторой «таксономической ловушки», все же объединив ряд образцов в таксоны и рассматривая образцы как их полноценных

представителей. Как следствие, в ряде случаев рецiproкные направления скрещиваний между «таксонами» были представлены в их работе разными образцами и многие в полном смысле рецiproкные скрещивания не были сделаны. В этом смысле наши результаты не вполне сопоставимы с их результатами, причем наша методология более последовательна.

Наше разделение образцов на представителей линий АС и В несколько более адекватно, так как образцы чаще оказываются совместимыми в пределах линий, особенно в линии В, чем между линиями. Однако Рис. 24-28 убеждают нас, что и внутри линий встречаются самые разные варианты несовместимостей (в линии АС – вплоть до полной), а относящийся к линии АС образец VIR320 ведет себя в разных скрещиваниях весьма необычно, не вписываясь ни в какую априорную гипотезу и являясь «связующим звеном» между некоторыми представителями линий АС и В.

Как обсуждалось в разделе 1.2.7, та же самая «таксономическая ловушка» - априорное убеждение, что любой образец гороха вполне представляет тот таксон, к которому он отнесен - обесценила многие весьма трудоемкие попытки филогенетических реконструкций в роде *Pisum*.

Из наших данных однозначно следует простая рекомендация – в гибридизационных опытах и филогенетических реконструкциях не пользоваться никакой внутривидовой таксономией вида *Pisum sativum* и с осторожностью пользоваться видовой таксономией рода. Вместо этого следует рассматривать только конкретные образцы, которые априорно не представляют никого кроме самих себя.

5.8. Скрещивания сами-с-собой

Опыт скрещивания различных образцов гороха по диаллельной схеме подсказывал, что в случае некоторых диких образцов опыление, отложенное на следующий день после кастрации, дает лучшие результаты. В ходе скрещиваний этот метод применялся нами скорее эпизодически, чем систематически, в равной степени при опылении любой пыльцой, в том числе и того же самого образца, что обеспечивало сопоставимость результатов скрещивания. Тем не менее, этот интуитивный вывод стимулировал специально

сравнительное исследование модификации стандартной процедуры скрещивания. Чтобы исключить эффекты несовместимости, в ходе этого исследования для опыления использовалась пыльца того же образца.

Искусственное опыление было одной из первых экспериментальных технологий в генетике. Мендель (Mendel, 1866) потратил годы на методическую подготовку своих экспериментов, включая выбор гороха в качестве экспериментального объекта и отработку процедуры скрещивания, и прекратил свои исследования закономерностей наследования, когда не сумел выработать эффективный метод искусственного опыления для ястребинки (*Hieracium*), которая, как выяснилось впоследствии, являлась апомиктом (Nogler, 2006). Процедура скрещивания со времен Менделя не изменилась. Лодочка разрезается или удаляется прежде чем венчик бутона приобретает антоциановую окраску и раскрывается, пыльники удаляются путем обрывания тычиночных нитей пинцетом и нужная пыльца наносится на рыльце; без необходимости в какой-либо защите от дальнейшего опыления. Процедура основывается на двух допущениях: (а) пестик приобретает компетенцию к опылению до раскрытия венчика и (б) после раскрытия венчика дальнейшее опыление маловероятно. Эти допущения подразумевают, что горох является облигатным самоопылителем. Действительно, у гороха пыльники раскрываются на стадии, когда бутон начинает приобретать антоциановое окрашивание, но еще не раскрылся. Однако цветки гороха привлекают пчелиных и перекрестное опыление все же возможно, до 30% у некоторых местных форм южного происхождения (Loenning, 1984). Опыты по нанесению пыльцы на рыльца раскрытых цветков показало, что на этой стадии пестик все же сохраняет компетенцию к опылению, то есть в это время некоторые семяпочки остаются не оплодотворенными собственной пыльцой (Bogdanova, Berdnikov, 2000).

Мы сравнили результат искусственного опыления восьми форм гороха из базового набора их собственной пыльцой тремя разными методами. После стандартной кастрации (посредством саггитального разрезания лодочки и удаления пыльников пинцетом за несколько часов до появления антоциановой пигментации), пестики опылялись пыльцой, взятой у того же самого образца, одним из трех способов:

способ 1: сразу после кастрации (немедленное опыление, стандартный);

способ 2: когда венчик уже раскрыт и окрашен (отложенное опыление). Это происходило на следующий день после кастрации у всех образцов, кроме 721. У этого образца с очень крупными цветками развитие их занимает больше времени, поэтому их приходилось опылять по способу 2 на второй день после кастрации.

способ 3: дважды, как при способах 1 и 2 (двукратное опыление).

Все три метода применялись случайным образом к цветкам с одних и тех же растений. Около 30 скрещиваний было проведено, весной 2010 и 2012 гг. и осенью 2010 г. Семена собирались индивидуально с каждого боба весной 2010 и 2012 гг., но в единые выборки для каждого образца и способа скрещивания осенью 2010 г.

Для каждого образца и способа подсчитывалось число проведенных скрещиваний (C), бобов (P) и семян (N), а также вычислялось среднее число бобов на скрещивание, ($p = P/C$), семян на боб ($s = N/P$) и семян на скрещивание ($e = N/C$); последний параметр и отражал эффективность скрещивания.

Значения параметров при трех способах опыления сравнивались у одних и тех же образцов в один и тот же сезон. Параметр p есть выборочная оценка вероятности формирования боба после скрещивания; различия его значений оценивались как различия экспериментальных частот после ϕ -преобразования Фишера (Fischer, 1953) посредством t -критерия Велша, представляющего собой обобщение t -критерия Стьюдента для случая произвольных дисперсий (Welsh, 1947). Параметр s есть вероятность оплодотворения, умноженная на число семязачек в пестике и представляет собой количественный признак, зависящий от непрерывных факторов, но округленный до целых величин. Параметр e есть произведение p и s , являясь таким образом суперпозицией случайных событий разного типа. Распределение экспериментальных численностей по e идентично таковому по s за исключением того, что к нулевому классу добавлено число скрещенных цветков, которые не образовали бобов. В тех случаях, когда бобы собирались индивидуально, мы подсчитывали число семян в индивидуальных бобах (S), вычисляли дисперсию этого параметра σ_S^2 , а также дисперсию σ_e^2 , полагая $S=0$ для каждого скрещивания, не завершившегося образованием боба, и использовали эти дисперсии для оценки существенности различий средних s и e с помощью критерия Уэлша.

В весеннюю генерацию 2013 г. на выборках индивидуальных бобов было подсчитано число семян, образовавшихся за счет естественного самоопыления, его среднее i и среднеквадратическое отклонение также приведено в Таблице 12 в качестве характеристики образца.

Таблица 12. Среднее (i) и максимальное (m) число семян в бобах исследованных линий гороха при самоопылении в выборках объема n

образец	i (\pm ст. ошибка), n	m
<i>Pisum fulvum</i> Sibth et Smith		
WL2140	2,85 \pm 0,06; $n = 315$	5
<i>Pisum abyssinicum</i> A. Br.		
VIR2759	4,08 \pm 0,17; $n = 64$	7
<i>Pisum sativum</i> ssp. <i>elatius</i> (Bieb.) Schmalh. s. l.		
L100	3,62 \pm 0,21; $n = 37$	6
VIR320	4,87 \pm 0,11; $n = 239$	9
721	4,06 \pm 0,36; $n = 32$	7
Л11794	3,70 \pm 0,29; $n = 36$	6
CE1	2,75 \pm 0,14; $n = 110$	6

Полученные в ходе скрещиваний сами-с-собой численные данные и значения параметров представлены в Таблице 13. Для скрещиваний осени 2010 г. у нас отсутствуют данные по индивидуальным бобам. Заметим, однако, что в тех случаях, когда такие данные имеются, у всех образцов кроме 721 и CE1, среднеквадратические отклонения σ_s и σ_E незначительно варьировали от способа к способу. Поэтому для статистических сравнений данных осени 2010 г., мы использовали наивысшее (с целью избежать переоценки различий) значение дисперсии каждого параметра из полученных весной 2012 г. Например, для данных осени 2010 г. по образцу VIR2759 мы принимали 1.76 в качестве значения σ_E для всех трех способов. Для образца Л11794 у нас не было данных по весне 2012 г., и мы в качестве значения как σ_s , так и σ_E t, мы принимали 2.00 (чуть выше, чем значения, наблюдавшиеся для VIR2759, показавшего значения s и e , очень близкие к Л11794).

У большинства образцов значение p слабо варьировало в зависимости от способа опыления. У VIR320 для способа 2 оно было почти вдвое больше, чем для способов 1 и 3

при высокой статистической достоверности различий (соответственно $t = 4,16$ и $3,86$; $P < 0.001$). Образец 721 оказался исключительным, продемонстрировав вчетверо меньшее значение p (0.11) для способа 1 (при котором в 38 проведенных скрещиваниях сформировалось только четыре боба) по сравнению со способами 2 (0,40) и 3 (0,44), опять-таки при высокой достоверности различий ($t = 2,94$ при сравнении способов 1 и 2 и 3.01 при сравнении способов 1 и 3, $P < 0.01$). Два других случая статистически значимых различий ($P < 0.01$) были умеренны по величине (около полутора раз) и наблюдались весной 2012 г., но не в аналогичном эксперименте осенью 2010 года: более высокое значение для способа 1 по сравнению со способом 3 у WL2140 и более высокое значение для способа 2 по сравнению со способами 1 и 3 у VIR2759.

Значение параметра s также в большинстве случаев варьировало от способа к способу незначительно. Это означает, что (а) если боб сформировался, количество семян мало зависит от времени опыления и (б) второе опыление не повреждает пестика, но и не добавляет семян. Наиболее сильные эффекты на 1% уровне значимости, увеличение приблизительно в 3,5 и 4,5 раза соответственно для способов 2 и 3 по сравнению со способом 1, наблюдалось у образца 721. У VIR320 наблюдались эффекты тех же направления и амплитуды, но с меньшей статистической существенностью (уровень значимости 5% для сравнения способов 1 и 3). Небольшие эффекты с 5% уровнем значимости у WL2140 и L100 не воспроизвелись в разные годы: у WL2140 некоторое превосходство способа 2 над способом 1 не было статистически значимым весной 2012 г., тогда как у L100 способ 1 давал существенно меньшие значения по сравнению со способом 3 осенью 2010 г. и со способом 2 весной 2012 г.

Таблица 13. Число скрещиваний (C) образцов гороха самих на себя, проведенных тремя способами: немедленное опыление (способ 1), отложенное опыление (способ 2) и двукратное опыление (способ 3, детали в тексте), число образовавшихся бобов (P) и семян (N), среднее число бобов на скрещивание (p), среднее число семян на боб (s), среднее (e , эффективность) и среднеквадратическое отклонение (σ_E) числа семян на скрещивание.

образец вегетация	способ	C	P	S	p	s	e	σ_E
WL2140 осень 2010 г.	1	42	32	81	0,76	2,53 * ₂	1,93 * ₂	
	2	30	27	87	0,90	3,22	2,90	
	3	39	32	91	0,82	2,84	2,33	
WL2140 весна 2012 г.	1	38	33	90	0,87 ** ₃	2,73±0,20	2,37±0,23	1,40
	2	36	28	86	0,78	3,07±0,22	2,39±0,28	1,66
	3	38	22	71	0,58	3,23±0,25	1,87±0,30	1,85
VIR2759 осень 2010 г.	1	41	21	75	0,51	3,57	1,83	
	2	35	16	43	0,46	2,69	1,23 * ₃	
	3	27	19	57	0,70	3,00	2,11	
VIR2759 весна 2012 г.	1	37	19	32	0,51	1,68±0,46	0,86±0,27	1,65
	2	36	29	58	0,81 ** _{1,3}	2,00±0,33	1,61±0,29	1,76
	3	30	17	19	0,56	1,12±0,36	0,63±0,23	1,25
L100 (=712) осень 2010 г.	1	54	33	79	0,61	2,39 * ₃	1,46 *** ₃	
	2	34	25	79	0,74	3,16	2,32	
	3	48	40	141	0,83	3,52	2,94	
L100 (=712) весна 2012 г.	1	37	25	86	0,68	3,44±0,29 * ₂	2,32±0,33 *** ₂	2,03
	2	30	28	122	0,93	4,36±0,34	4,07±0,37** ₃	2,05
	3	38	27	103	0,71	3,81±0,26	2,71±0,34	2,09
П1794 осень 2010 г.	1	30	15	18	0,50	1,20	0,60	
	2	33	23	25	0,70	2,24	0,76	
	3	29	17	38	0,59	1,09	1,31	
721 (=Л3262) весна 2010	1	38	4	4	0,11 *** _{2,3}	1,00±0,41 ** _{2,3}	0,11±0,06 ** _{2,3}	0,39
	2	34	13	45	0,40	3,46±0,70	1,32±0,39	2,29
	3	25	11	49	0,44	4,46±0,87	1,96±0,58	2,92
СЕ1 (=Л2629) весна 2010	1	34	25	31	0,74	1,24±0,41	0,91±0,31	1,82
	2	30	23	31	0,77	1,35±0,26	1,03±0,23	1,25
	3	26	20	22	0,77	1,10±0,26	0,85±0,22	1,12
VIR320 весна 2010	1	34	16	41	0,47	2,56±0,44 * ₃	1,21±0,30 *** ₃	1,75
	2	37	18	70	0,90 *** _{1,3}	3,89±0,62	1,89±0,44** ₃	2,66
	3	30	27	113	0,49	4,19±0,40	3,77±0,43	2,34
WL1238 весна 2010	1	26	18	48	0,69	2,67±0,29	1,85±0,32	1,62
	2	28	18	44	0,64	2,44±0,45	1,57±0,37	1,93
	3	31	25	68	0,81	2,72±0,30	2,19±0,31	1,72
WL1238 весна 2012	1	36	23	59	0,64	2,57±0,24	1,64±0,26	1,55
	2	34	27	83	0,79	3,07±0,37	2,44±0,36	2,11
	3	28	20	57	0,74	2,85±0,35	2,04±0,35	1,86

После ± приведена стандартная ошибка.

Звездочки *, ** и *** соответствуют $P<0,01$, $P<0,01$ и $P<0,001$ для различий между способами опыления, цифры нижнего индекса указывают на то, для сравнение с каким(и) из способов они приведены (например ***_{2,3} при значении для способа 1 указывает на значимость его отличия от значений для способов 2 и 3).

Небезынтересно сравнить среднее число семян в бобе после скрещивания (Табл. 13) со средним числом семян в бобе при самоопылении, i (Табл. 12). Заметим, что последнее оказалось меньше интуитивно ожидаемого и меньше, чем максимальное возможное число семян в бобе (Табл. 12). Причина этого состоит в том, что рассматривая как результаты самоопыления, так и искусственного опыления, мы учитывали также и бобы на боковых ветвях, которые, как правило, имеют меньше семян, чем бобы, образовавшиеся на главном стебле, которые привлекают к себе основное внимание и на основании которых складываются интуитивные ожидания. У большинства образцов значение s как минимум для некоторых способов было сравнимо со значением i . У WL2140, VIR320, L100 (весенний опыт) и 721 некоторые из значений s даже превосходили значения i . Только у Л1794 наибольшее значение s , в случае способа 2, составляло лишь 60% от значения i ; и у СЕ1 наибольшее значение s , в случае того же способа, составляло 71% от значения i . К сожалению, значения s и i , будучи полученными в разные годы, не вполне сопоставимы; в то же время эти данные свидетельствуют о том, что как минимум один из способов всегда обеспечивает достаточное опыление.

Значение e , т.е. среднее число полученных семян на одно скрещивание, показало статистически значимые различия между способами опыления у пяти образцов (WL2140, VIR2759, Л13723, 721, VIR320) и не показало их у образцов Л1794, СЕ1 и WL1238. Однако в случаях, когда один и тот же образец участвовал в опытах как осенью 2010 г., так и весной 2012 г., результаты воспроизвелись только у WL1238. У WL2140 и VIR2759 статистически значимые эффекты, наблюдались осенью 2010 г. и не наблюдались весной 2012. У L100 некоторые различия были высокодостоверны, но не воспроизводились в отношении направления: значение e для способа 1 было приблизительно вдвое выше, чем для способа 3 осенью 2010 г., тогда как весной 2012 г. эти способы дали сходные результаты, а значение e для способа 2 оказалось в полтора раза больше. У 320 значение e увеличилось от способа 1 к способу 2 и далее к способу 3, так что при способах 1 и 3 оно различалось почти втрое, при высокой значимости разницы между способом 3 и двумя другими.

Наиболее сильный эффект наблюдался у образца 721, где значение e показало более чем десятикратное увеличение от способа 1 к способу 2 (с 0,11 до 1,32, $t = 3,04$, 35

степеней свободы (d.f.), $P < 0.01$) и далее увеличилось еще примерно в полтора раза (хотя и статистически незначимо: $t = 0,91$, 44 d.f., $P < 0.3$) к способу 3.

Среднее число бобов на скрещивание, p , нельзя интерпретировать однозначно. Боб может не сформироваться по двум причинам: (а) если не оплодотворена ни одна семяпочка, хотя в таких случаях могут появляться небольшие пустые бобы (особенно часто у VIR2759, CE1 и П1794; учитываются как бобы с 0 семян) и (б) если пестик повреждается механически. Однако наиболее травмоопасной процедурой является кастрация, которая проводилась идентично для всех трех способов. Опыление – процедура более тонкая, но три способа различались именно ею. Мы могли бы ожидать, что повреждение пестика во время опыления более вероятно при способах 1 и 3, когда пинцет прикасается к более уязвимому молодому пестику, чем при использовании метода 2. У VIR320 мы действительно сталкиваемся с ситуацией, когда значение p оказывается много больше для способа 2, чем для двух других способов; небольшие различия того же рода наблюдались у VIR2759 весной 2012 г., но не у других образцов. Четырехкратное уменьшение значения p по сравнению со способами 2 и 3 не может быть отнесено на счет механического повреждения и вероятно имеет место вследствие неоплодотворения семяпочек.

Эффективность скрещиваний, e – наиболее важный для нас параметр. Будучи произведением p и s , он мог бы аккумулировать незначительную изменчивость последних. Однако наши данные показывают, что статистически значимые различия значений e конкордантны значениям s , часто с несколько большей значимостью различий, но не p (в весеннем опыте 2012 г. WL2140 и VIR2759 продемонстрировали значимые различия способов опыления для значений p ; но не e). Можно заключить, что эффективность скрещиваний ограничивается неопылением семяпочек, а не повреждением пестика.

Относительно значений e мы имели следующие теоретические ожидания:

- если они больше для способов 1 и 3, чем для способа 2, компетенция пестика к опылению максимальна в еще закрытом бутоне и данный генотип является самоопылителем;

- если они одинаковы для всех трех способов, семяпочки становятся рецептивными в еще закрытом бутоне, но если они при этом не оплодотворяются, то сохраняют

рецептивность и в уже раскрытом цветке, причем данный генотип все еще является самоопылителем;

- если они уменьшаются от способа 1 к способу 3, временное окно рецептивности каждой семяпочки довольно коротко, но временное окно, в течение которого разные семяпочки становятся рецептивными, начинается на стадии закрытого бутона и продолжается после раскрытия венчика, а генотип сочетает самоопыление с перекрестным опылением:

- если они больше для способов 2 и 3 по сравнению со способом 1, компетентность пестика максимальна у раскрытого цветка, генотип же является преимущественно перекрестником.

Плохая воспроизводимость результатов для трех (WL2140, VIR2759 и L100) из четырех образцов, для которых проводились повторные опыты, свидетельствует о том, что эффективность скрещиваний зависит от неких факторов, которые мы не учитывали. В осеннюю тепличную генерацию растения получают меньше естественного освещения из-за короткого светового дня и низкого положения солнца, в весеннюю генерацию температура в теплице гораздо выше (возможно, в нашем случае это самый важный фактор). В результате, мы можем обсуждать только хорошо воспроизводимые сильные эффекты, связанные со значением e .

В наши опыты были вовлечены только две культурные, причем независимо domestцированные, формы гороха: культивируемый всесветно *P. sativum* subsp. *sativum* (представлен WL1238) и эндемичный для Йемена и Эфиопии *P. abyssinicum* (представлен VIR2759). Для них различий между способами опыления в значении e не наблюдалось, за исключением небольшого падения в случае способа 2 у VIR2759 в эксперименте осени 2010 г. Это означает, что оба образца являются самоопылителями – ожидаемое следствие неосознанного отбора в культуре, при дефиците опылителей. Таким образом, для культурного гороха лучше всего подходит стандартная процедура скрещивания.

Остальные 6 образцов представляли дикорастущие формы: WL2140 относится к хорошо очерченному виду *Pisum fulvum*, остальные 5 - дикорастущие представители *P. sativum*, в настоящее время условно объединяемые в рыхлый подвид *P. sativum* subsp. *elatius* в широком смысле. Для всех этих образцов и во всех опытах способ 2 давал

большие значения e чем способ 1, хотя у CE1 (в единственном опыте весной 2010 г.), у WL2140 весной 2012 г. и у L100 осенью 2010 г. эти различия не были статистически значимыми. В остальных случаях они свидетельствовали о том, что пестик сохраняет компетенцию к опылению после раскрытия венчика, что означает способность к спонтанному перекрестному опылению, которое в естественных условиях может быть адаптивным. Это касается образцов 721, VIR320 и, возможно, WL2140 и L100, у которых эффект был слабее и не воспроизвелся в одном из двух опытов. У 721 и VIR320, значение e увеличивалось от способа 1 к способам 2 и 3, хотя различия были значимыми не во всех случаях.

Образец 721, представляющий высокорослую форму, вьющуюся по кустарникам и деревьям маквиса (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973), исключителен в том отношении, что его пестик оказался компетентным к опылению в основном после раскрытия венчика. Это хорошо сочетается с особенностями его цветков: они очень крупные, с непропорционально большим парусом, расположены на длинных цветоносах. Нет сомнений, что этот дикий горох адаптирован именно к перекрестному опылению.

Хотя исследованные представители дикого гороха показали несколько различные результаты, отложенное опыление (способ 2) может быть рекомендовано для скрещивания любого дикого гороха, поскольку по сравнению со стандартной процедурой (способ 1) оно дает те же или лучшие результаты. Двукратное опыление (способ 3) более трудоемко, будучи комбинацией обоих вышеупомянутых способов, и, как оказалось, в большинстве случаев приблизительно столь же эффективно, как способ 2. Стандартную процедуру (способ 1) можно рекомендовать для культурных форм.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ литературных данных вскрыл значительные пробелы в наших знаниях о естественном ареале рода Горох (*Pisum* L.) вообще и вида горох посевной (*Pisum sativum* L.) в частности: восточная и южная граница распространения рода в Азии остаются неясными. Еще большие пробелы обнаружались в наличном генетическом материале дикорастущих форм гороха, среди которого вообще не представлена восточная четверть ареала рода. В мировых коллекциях полностью отсутствуют образцы дикорастущего гороха из Туркменистана, с Кавказа, Аравийского полуострова, Молдовы и, возможно, Ирана. Очень мало образцов дикорастущего гороха из Закавказья и Северной Африки, причем их географическое происхождение и чистота вызывают определенные сомнения.

Таким образом, данная работа позволила сформулировать актуальное направление дальнейших полевых исследований: сбор дикорастущих образцов посевного гороха (формально относимых к подвиду *P. sativum* subsp. *elatius*) в указанных регионах, который следует организовать в ближайшее время ввиду быстрой деградации растительных сообществ средиземноморского типа вследствие возрастающей антропогенной нагрузки и быстрых климатических изменений последних десятилетий. Эта работа может получить в будущем важное значение, позволив использовать в селекции гороха генетическое разнообразие, в настоящее время еще неизвестное науке. Для ее проведения целесообразно наладить контакты с местными ботаниками из указанных регионов, обратить их внимание на актуальность задачи сбора дикорастущих форм гороха и тем побудить их к подобной деятельности, заключить договоры об обмене материалом с местными научными учреждениями и таким образом сделать новый собранный материал достоянием генетики и селекции.

В то же время детальный анализ ряда образцов из нескольких мировых генетических коллекций, отнесенных к дикорастущим формам посевного гороха, показал, что они не являются таковыми, так как их бобы неспособны к спонтанному раскрытию и баллистическому рассеиванию семян, а скорее всего, представляют собой продукты

гибридизации дикорастущих и культурных форм, *in situ* или *ex situ*, что подтверждается высокой частотой среди этих образцов редких, «рекомбинантных» комбинаций анализируемых нами трех молекулярных маркеров из трех клеточных геномов: пластидного *rbcL*, митохондриального *cox1* и ядерного *SCA*.

В целом приходится заключить, что эффективность исследований филогении рода Горох (*Pisum*), проводившихся другими авторами ранее, оказалась невысокой в силу ряда субъективных факторов. Одним из главных препятствий было некритическое отношение авторов, имевших в основном молекулярно-биологическое образование, к таксономической атрибуции образцов их первоначальными донорами, притом что таксономическая система рода существенно менялась в течение почти сотни лет аккумуляции генетического материала. Первоначальные доноры материала могли иметь различные критерии отнесения того или иного растения гороха к дикорастущим: от наличия спонтанной раскрываемости бобов и баллистическому рассеиванию семян до факта нахождения вне огорода или поля и даже до простого присутствия «примитивных» признаков, отличающих растения от культурных сортов, таких как малый габитус, мелкосемянность. Также в опубликованных филогенетических реконструкциях рода Горох, как правило, вообще не принимается во внимание информация о географическом происхождении дикорастущих образцов. Все это обесценивало результаты подобных реконструкций: оставалось неизвестным, что скрывается за номерами образцов на концах ветвей получаемого филогенетического дерева и какую биологически значимую информацию можно из такого дерева извлечь. Внимание к действительному дикорастущему либо культурному статусу исследуемых образцов и к их географическому происхождению и в то же время игнорирование их первоначальной таксономической атрибуции, дававшейся разными авторами в разное время, позволило нам получить более ясные филогенетические и геногеографические результаты и реконструировать важные события в эволюционной истории рода.

Так, нами выявлена глубокая дивергенция дикорастущих представителей вида *P. sativum*: в то время как значительная их часть имеет комбинацию А плезиоморфных аллелей вышеупомянутых трех молекулярных маркеров ($rbcL^+$, $cox1^+$, SCA^f) либо производную комбинацию С ($rbcL^+$, $cox1^-$, SCA^f), отличающуюся от комбинации А одной

мутацией, выделяется мощная эволюционная ветвь, имеющая апоморфную комбинацию В (*rbcL*, *coxI*, *SCA^s*). Мы условно назвали первых эволюционной линией АС, а вторых – эволюционной линией В (Рис. 29). Реальность этой дихотомии подтверждается филогенетической реконструкцией на основе первичной структуры генов гистона Н1. На реконструкции, основанной на последовательности гена минорного субтипа Н1-5 из группы субтипов со сходными свойствами, линия АС представлена многими базальными ветвями, а эволюционная линия В является наиболее мощной из базальных ветвей. Реконструкции на основе конкатенированных генов субтипов Н1-5 и Н1-7 надежно разрешает ветви линий АС и В, равномошные ветви вида *P. fulvum*. При этом большинство дикорастущих представителей линии В характеризуются слабоокрашенным цветком с почти не раскрывающимся парусом.

На основании филогенетического анализа нами предлагается компромиссная система подвидов *P. sativum*: *Pisum sativum* L. subsp. *biflorum* (Rafin.) Soldano, *Pisum sativum* L. subsp. *elatius* (Bieb.) Schmalh. и *Pisum sativum* L. subsp. *sativum* (Рис. 29). Между этими подвидами наблюдаются существенные, хотя и преодолимые, репродуктивные барьеры. В такой трактовке подвиды *P. sativum* subsp. *biflorum* и *P. sativum* subsp. *elatius*, во-первых, оказываются парафилетичными и во-вторых, различаются только молекулярными диагностическими признаками, что делает ее не соответствующей принципам филогенетической систематики (которые далеки от всеобщего и безоговорочного принятия, в особенности на внутривидовом уровне) и не очень удобной практически. Впрочем, молекулярная идентификация этих подвидов состоит в проверке наличия сайта рестрикции AspLEI в пластидном гене *rbcL* и в наше время не составляет труда.

Анализ географического происхождения дикорастущих представителей линий АС и В позволил реконструировать историю эволюции и расселения вида *P. sativum* в диком состоянии. Вид, несомненно, возник в Восточном Средиземноморье, где он и поныне представлен носителями предковой комбинации А вышеупомянутых молекулярных маркеров. Этот же регион является и местом возникновения самого рода *Pisum*, поскольку именно там расположен ареал еще одного автохтонного (не гибридогенного) вида гороха, *P. fulvum* (имеющего, кстати, ту же комбинацию А). Оттуда вид *P. sativum* расселился на запад, предположительно по Северной Африке, откуда проник в Южную Европу,

зафиксировав мутацию в гене *cox1* и тем самым приобрел промежуточную комбинацию С. В ходе обратной, восточной волны миграции в районе Черного моря зафиксировались мутации в двух других молекулярных маркерах, *rbcL* и *SCA*, что привело к возникновению комбинации В. В результате представители линии В заселили Тавро-Кавказский регион, Малую Азию и даже Голанские Высоты, где встретились с автохтонными, остававшимися на месте носителями исходной комбинации А.

Культурный подвид гороха *P. sativum* subsp. *sativum* относится к эволюционной линии В и, несомненно, возник вследствие доместикации дикорастущих представителей именно этой линии (Рис. 29). Подавляющее большинство известных нам подлинно дикорастущих

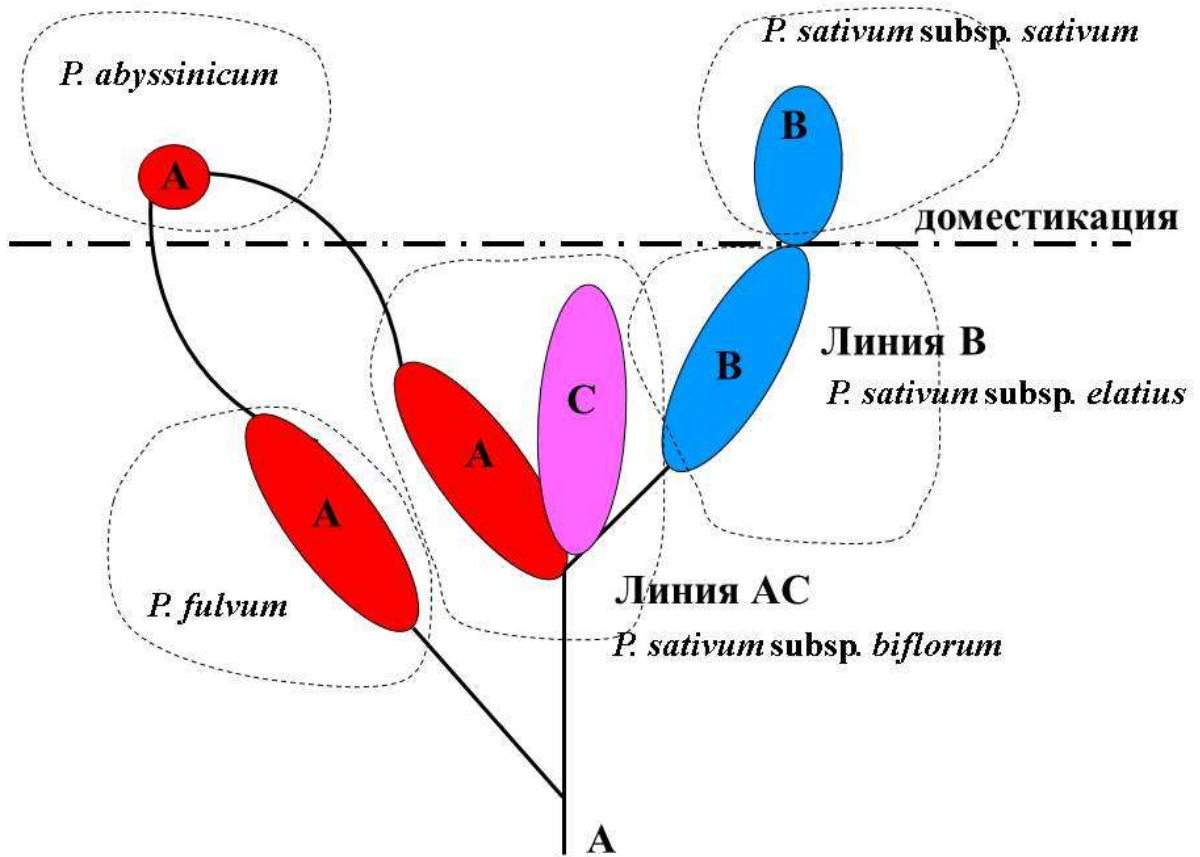


Рис. 29. Вытекающая из настоящей работы схема эволюционных отношений эволюционных линий АС и В внутри вида *P. sativum* и таксонов видового и подвидового ранга (по системе Maxted Ambrose, 2001) в роде *Pisum*. Буквами обозначены сочетания аллелей молекулярных маркеров из разных клеточных геномов, сплошными линиями – эволюционные отношения, пунктиром – границы выделяемых таксонов, штрих-пунктиром – момент доместикации (ниже линии – дикорастущее состояние, выше линии – культурное состояние).

представителей линии В имеют бледный цветок со слабо раскрывающимся парусом, тогда как культурный горох имеет яркоокрашенный (если синтез антоциана не блокирован эпистатичным аморфной мутацией в эпистатичном локусе *a*) широкооткрытый цветок, подобно дикорастущим представителям линии АС. По-видимому, предками культурного гороха выступили немногочисленные ныне представители линии В с подобным цветком, находимые в Крыму (наряду с формами с бледным цветком) и Закавказье, тогда как формы с бледным полузакрытым цветком возникли и распространились позже.

Помочь в поиске непосредственного предка культурного гороха может выявленный нами удобный, специфичный для него молекулярный маркер: делеция длиной 8 нуклеотидных пар в позициях 142-149 пластидного спейсера *psbA-trnH*. Любопытно, что на данный момент она найдена лишь у образцов WG10925 из Болгарии и VIR2998 из Грузии, то есть из регионов, находящихся за пределами предполагаемого района доместикации культур-основателей Старого Света, который одни исследователи располагают в Плодородном Полумесяце в целом – т. е. Леванте в широком смысле и Западном Иране (Tanno, Wilcox, 2006; Weiss et al., 2006; Fuller, 2007; Allaby et al., 2008; Brown et al., 2009; Glémin, Battailon, 2009; Fuller et al., 2011, 2012; Asouti, Fuller, 2012), а другие – только в курдских илах Мардин и Диярбакыр Юго-Восточной Турции (Lev-Yadun et al., 2000; Gopher et al., 2001; Abbo et al., 2010a; 2011a, 2012, 2013).

В ходе нашего филогенетического и геногеографического анализа нам удалось, в качестве параллельного результата, протестировать новые маркеры для филогенетических реконструкций, а именно гены гистона H1. Оказалось, что два исследованных гена различаются по своей пригодности в этом качестве: ген субтипа H1-7, специфичного для молодых тканей и органов, имел слабый филогенетический сигнал, тогда как ген минорного субтипа H1-5 успешно разрешил филогению рода даже на внутривидовом уровне. При этом обе последовательности в конкатенированном виде послужили очень хорошим маркером, позволившим реконструировать ветвь АС в качестве равномошной ветви В и даже ветви второго вида, *P. fulvum*.

Сформированный нами базовый набор из восьми образцов, представляющих генетическое разнообразие гороха Восточного Средиземноморья и опыт по их взаимному

скрещиванию по диаллельной схеме, включавший всестороннее исследование гибридов первого поколения, позволил выявить весьма сложный паттерн репродуктивных барьеров внутри рода и даже вида *P. sativum*.

Во-первых, проблематичный и, возможно, гибридогенный вид *Pisum abyssinicum* (Рис. 29) оказался репродуктивно изолированным от морфологически сходного с ним *P. sativum* subsp. *sativum* в большей степени, чем более морфологически обособленный вид *P. fulvum*, и поэтому, казалось бы, также заслуживет видового ранга с точки зрения биологической концепции вида. Однако он оказался более совместим с некоторыми дикорастущими образцами *P. sativum* subsp. *elatius*, и полностью совместим с одним из них, что свидетельствует скорее против его видового статуса.

Наиболее сложными оказались отношения репродуктивной совместимости между эволюционно отдаленными представителями вида *Pisum sativum*, которые носят сложный и нересипрочный характер вследствие разнообразных проявлений конфликта ядра и цитоплазмы. Они не могут быть адекватно учтены в иерархической таксономической системе, поскольку в пределах таксонов, традиционно выделяемых на основе внешних признаков, оказывается заключенной значительная генетическая изменчивость, в том числе и по генам, влияющим на репродуктивную совместимость. Поэтому никакой образец не может считаться типичным представителем того или иного таксона, как минимум в ранге вида, подвида и разновидности, в генетическом отношении. Применение же ботанической классификации внутри вида *P. sativum* вообще следует признать контрпродуктивным.

Судя по нашим данным о фертильности пыльцы гибридов F₁, кариотип большинства дикорастущих форм посевного гороха (формально *P. sativum* subsp. *elatius* s.l.) не отличаются от кариотипа культурного подвида (формально *P. sativum* subsp. *sativum*) реципрокными транслокациями; сообщения в литературе о присутствии в части из них реципрокной транслокации 4-6 (Ben-Ze'ev, Zohary, 1973) по всей видимости ошибочно.

В целом наши исследования значительно дополнили знания о генетическом разнообразии дикорастущих сородичей культурного гороха и о филогении рода Горох, которые имеют как теоретическое значение, так и могут в дальнейшем могут оказаться полезными для практического использования этого генетического разнообразия в селекции.

ВЫВОДЫ

1. Результативность проводившихся ранее исследований генетического разнообразия и молекулярной филогении рода Горох (*Pisum L.*) ограничивалась такими субъективными факторами, как некритическое отношение к таксономической атрибуции, дикорастущему либо культурному статусу и географическому происхождению исследуемых образцов. Учет географического происхождения и дикорастущего либо культурного статуса образцов с одной стороны и намеренное игнорирование их таксономического определения в коллекциях с другой стороны позволило получить ясную филогенетическую и геногеографическую реконструкцию истории рода.
2. Для генетических исследований, возможного практического использования и уточнения ареала дикорастущих форм гороха (*Pisum L.*) остро необходим отсутствующий в генетических коллекциях материал из восточной части ареала: Ирана, Туркменистана, Кавказа и Аравийского полуострова, желательно пополнение коллекций материалом из Закавказья и Северной Африки.
3. Выявлено 15 образцов посевного гороха (*Pisum sativum L.*), значащихся в коллекциях генетического разнообразия в качестве дикорастущих, но представляющих собой продукты гибридизации дикорастущих и культурных форм, *in situ* или *ex situ*: они имеют нераскрывающиеся бобы и обогащены редкими комбинациями молекулярных маркеров.
4. Среди дикорастущих форм посевного гороха впервые выявлена базовая дивергенция на две эволюционные линии, одна из которых (линия АС) маркирована комбинациями аллелей трех диморфных молекулярных маркеров из трех клеточных геномов А ($rbcL^+$, $coxI^+$, SCA^f) либо С ($rbcL^+$, $coxI^-$, SCA^f), а вторая (линия В) – комбинацией В ($rbcL^-$, $coxI^-$, SCA^s); их реальность подтверждается реконструкцией филогении на основе генов гистона H1.

5. Впервые реконструирована история эволюции и расселения вида горох посевной (*P. sativum*) в дикорастущем состоянии: он возник в Восточном Средиземноморье, имея плезиоморфную комбинацию А трех молекулярных маркеров, расселился на запад предположительно по Северной Африке, проник в Южную Европу, приобретя промежуточную комбинацию С, откуда в ходе обратной, восточной миграции в Причерноморье вновь проник в Восточное Средиземноморье, уже в виде носителей апоморфной комбинации В, где встретился с носителями предковой комбинации А в Закавказье и Малой Азии.
6. Культурный подвид гороха *P. sativum* subsp. *sativum* возник вследствие доместикиции представителей эволюционной линии В.
7. Впервые выявлен молекулярный маркер, специфичный для культурного подвида гороха *P. sativum* subsp. *sativum*: делеция длиной 8 нуклеотидных пар в позициях 142-149 пластидного спейсера *psbA-trnH*; среди дикорастущих представителей она найдена лишь у двух образцов из Болгарии и Грузии.
8. Гены гистона Н1 впервые протестированы в качестве маркеров для филогенетических реконструкций, при этом показано, что паралогичные гены гистона Н1 гороха различаются по применимости в этом качестве: ген уникального субтипа Н1-7, специфичного для молодых тканей и органов, мало пригоден для этой цели, тогда как ген минорного субтипа Н1-5 успешно разрешает филогению рода *Pisum* даже на внутривидовом уровне.
9. Гибридогенный вид *Pisum abyssinicum* репродуктивно изолирован от *P. sativum* subsp. *sativum* в большей степени, чем морфологически обособленный вид *P. fulvum*, однако более совместим с некоторыми дикорастущими образцами *P. sativum* subsp. *elatius*.

10. Кариотип дикорастущих форм посевного гороха (*P. sativum* subsp. *elatius* s.l.), вовлеченных в гибридологический анализ, не отличается от кариотипа культурного подвида (*P. sativum* subsp. *sativum*) реципрокными транслокациями; сообщения в литературе о присутствии в некоторых из них реципрокной транслокации 4-6 не подтверждаются.

11. Отношения репродуктивной совместимости между эволюционно отдаленными представителями вида *Pisum sativum* носят сложный и нереципрокный характер и не могут быть адекватно учтены в иерархической таксономической системе. На основании репродуктивной совместимости, эволюционных отношений, молекулярных признаков и дикорастущего либо культурного статуса предложена компромиссная система вида, включающая три подвида: дикорастущие *P. sativum* L. subsp. *biflorum* (Rafin.) Soldano (линия АС), *P. sativum* L. subsp. *elatius* (Bieb.) Schmalh. (линия В) и культурный *P. sativum* L. subsp. *sativum* (линия В).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. 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. – С. 72-89.
2. Бобров Е.Г. Род 827. Горох – *Pisum L.* // Флора СССР. Т. XIII. – М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1948. – С. 520-526.
3. Богданова В.С., Галиева Э.Р. Нарушения мейоза как проявление ядерно-цитоплазматической несовместимости при скрещивании подвидов посевного гороха // Генетика. – 2009. – Т. 45. – № 5. – С. 711-716.
4. Богданова В.С., Костерин О.Э. Случай аномального наследования хлоропластов в скрещиваниях посевного гороха с участием одной из диких форм // Доклады Академии Наук. – 2006. – Т.406. – №2. – С. 256-259.
5. 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., Джанинази-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 // Сельскохозяйственная биология. – 2011. – № 3. – С. 41-47.
6. Вавилов Н.И. Центры происхождения культурных растений // Тр. по прикл. ботанике и селекции. – 1926. – Т. 16, – № 2. – 248 с.
7. Вавилов Н.И. Мировые центры сортовых богатств (генов) культурных растений // Изв. ГИОА. – 1927. – Т. 5, – № 5. – с. 339-351.
8. Вавилов Н.И. Проблема происхождения культурных растений в современном понимании // Достижения и перспективы в области прикладной ботаники, генетики и селекции. – Л.: Изд-во ВИПБиНК и ГИОА. – 1929. – С. 11-22.

9. Вилкова Н.А., Колесниченко Л.И., Шапиро И.Д. Методические рекомендации по выявлению устойчивости сортов гороха к гороховой зерновке. – Л.: Всесоюзный Институт Растениеводства ВАСХНИЛ. – 1977. – 14 с.
10. Вишнякова М.А., Александрова Т.Г., Булынец С.В., Буравцева Т.В., Бурляева М.О., Егорова Г.П., Семенова Е.В., Сеферова И.В., Яньков И.И. Генетические ресурсы зернобобовых Средиземноморья и коллекции ВИР: разнообразие и использование // Сельскохозяйственная биология. – 2016. – Т. 51. – №. 1. – С. 31-45.
11. Вовк А.Г., Калиниченко М.Г., Кожевникова С.К., Косых В.М., Крюкова И.В., Леонова Т.Г., Посохлярова Н.С., Пояркова Е.Н., Привалова Л.А., Прокудин Ю.Н., Рубцов Н.И., Рындина Г.П., Слюсаренко Л.П., Чернова Н.М., Шалыт М.С. Определитель высших растений Крыма. – Л.: Наука. – 1972. – 504 с.
12. Волошин Р.Р., Рыф Л.Э. *Pisum sativum* L. subsp. *elatius* (M. Bieb.) Aschers. et Graebn. // Красная книга Крыма. – 2015. – С. 252.
13. Галушко Т.С. Флора Северного Кавказа. Определитель. – Ростов: Изд-во Ростовского ун-та. – 1980. – 352 с.
14. Гейдеман Т.С. Определитель высших растений Молдавской ССР. – Кишинев: Штиинца. – 1975. – 575 с.
15. Генетика – селекции растений. Районированные сорта и перспективные формы сельскохозяйственных растений Института цитологии и генетики СО АН СССР за 30 лет. Проспект, ред. Шумный В.К. – Новосибирск. – 1987. – 42 с.
16. Говоров Л.И. Горох Афганистана // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 1928. – Т. 19. – №. 2. – С. 497-522.
17. Говоров Л.И. Горох Абиссинии // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 1930. – Т. 24. – №. 2. – С. 399-431.
18. Говоров Л.И. Горох Анатолии. (Систематически-географический очерк с определением разновидностей по материалам экспедиции П.М. Жуковского) // Жуковский П.М. Земледельческая Турция. – М.–Л.: Сельхозгиз. – 1933. – С. 366-382.
19. Говоров Л.И. Горох // Культурная Флора СССР, Т. IV. Зерновые бобовые. – М.: Государственное издательство совхозной и колхозной литературы. – 1937. – С. 229-336.

20. Гончаров Н.П. Николай Иванович Вавилов. – Новосибирск, изд.-во СО РАН. – 2014. – 292 с.
21. Гончаров Н.П., Глушков С.А., Шумный В.К. Доместикация злаков Старого Света: поиск новых подходов для решения старой проблемы // Журнал общей биологии. – 2007. – Т. 68. – № 2. – С. 126-148.
22. Гроссгейм А.А. Определитель растений Кавказа. – М.: Советская наука. – 1949. – 747 с.
23. Гроссгейм А.А. Флора Кавказа. Том V.: Rosaceae–Leguminosae. – М.-Л.: Изд-во Академии Наук СССР. – 1952. – 741 с.
24. Демина О.Н., Рогаль Л.Л., Сулова Е.Г., Дмитриев П.М., Кожин М.Н., Серегин А.П., Быхалова О.Н. Конспект флоры природного заповедника «Утриш». – Живые и биокосные системы. – 2015 – № 13. – С. 1-86.
25. Дрозд А.М. Отдаленные скрещивания у гороха // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 1965. – Т. 37. – №. 2. – С. 130-146.
26. Жуковский П.М. Земледельческая Турция. – М.-Л.: Сельхозгиз. – 1933. – 771 с.
27. Жуковский П.М. Культурные растения и их сородичи. Систематика, география, экология, происхождение, использование. – М.: Сов. наука. – 1950. – 595 с.
28. Жуковский П.М. Культурные растения и их сородичи. Систематика, география, экология, происхождение, использование. 2-е изд. – М.: Колос. – 1964. – 791 с.
29. Жуковский П.М. Культурные растения и их сородичи, 3-е изд. – Л.: Колос. – 1971. – 752 с.
30. Зернов А.С. Определитель сосудистых растений севера Российского Причерноморья. – М.: Товарищество научных изданий КМК. – 2002. – 283 с.
31. Зернов А.С. Флора Северо-западного Кавказа. – М.: Товарищество научных изданий КМК – 2006. – 664 с.
32. Иванов А.Л. Конспект флоры Ставрополя. – Ставрополь: изд-во Ставропольского гос. ун-та. – 2001. – 200 с.
33. Колаковский А.А. Флора Абхазии (2-е, перераб. и доп. издание). Том III. Magnoliophyta, Magnoliatae: Lentibulariaceae–Scrophulariaceae. – Тбилиси: Мецниереба. – 1985. – 291 с.
34. Константин Багрянородный. Об управлении империей. – М.: Наука. – 1991. – 163 с.

35. Корженевский В.В., Брагина Н.А., Рыфф Н.А., Бондарева Л.В. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды и проблемы их охраны в Севастополе (Крым) // Труды Никитского ботанического сада. – 2004. – Т. 23. – С. 196-210.
36. Косенко И.С. Определитель высших растений северо-западного Кавказа и Предкавказья. – М.: Колос. – 1970. – 612 С.
37. Костерин О.Э. Горох абиссинский (*Pisum schaeferi* Kosterin nom. nov. pro *Pisum abyssinicum* A. Br.) – проблематичный таксон. // Вавиловский журнал генетики и селекции. . – Т. 21. – № 2. – С. 158-169.
38. Ларина Т.Г. Природно-антропогенный комплекс заказника «Байдарский». – 2008. – Симферополь: Орианда.
39. Левицкий Г.А. Морфология хромосом // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – Т. 27. – 1931. – С. 103-173.
40. Литвинская С. А. Атлас растений природной флоры Кавказа. – 2011. М.: Лакол. – 363 с.
41. Литвинская С.А., Муртазалиев Р.А. Флора Северного Кавказа: Атлас-определитель. – 2013. М.: Фитон. 688 с.
42. Лутков А.Н. Межвидовые гибриды *Pisum humile* Boiss. × *Pisum sativum* L. // Труды всесоюзного конгресса по генетике, селекции и семеноводству. – Т. 2. – 1930. – С. 353-365.
43. Майр Э. Зоологический вид и эволюция. – М.: Мир. – 1968. – 592 с.
44. Макашева Р.Х. Культурная флора СССР. Т. IV. Зерновые и бобовые культуры. Часть I. Горох. – Л.: Колос. – 1979. – 324 с.
45. Малеев В.П. Растительность района Новороссийск-Михайловский перевал и ее отношение к Крыму // Записки Никитского сада. – 1931. – Т. 13. – Вып. 2. – С. 71-174.
46. Малеев В.П. Растительность причерноморских стран (Эвксинская провинция Средиземноморья), ее происхождение и связи // Труды Ботанического института АН СССР. Серия 3. – 1940. – Т. 3. – С. 135-251.
47. Международный кодекс ботанической номенклатуры (Венский кодекс), принятый Семнадцатым международным ботаническим конгрессом, Вена, Австрия, июль 2005 г. Перевод с английского. – М.-С-Пб.: Товарищество научных изданий КМК. – 2009 – 282 с.

48. Муртазалиев Р.А. Конспект флоры Дагестана. Т. 2. – Махачкала. – 2009. – 248 с.
49. Никитин В.В., Гельдиханов А.М. Определитель растений Туркменистана. – Л.: Наука. – 1988. – 680 с.
50. Серегин А.Р., Сулова Е.Г. Флора сосудистых растений пос. Малый Утриш // Ландшафтное и биологическое разнообразие Западного Кавказа. Сборник научных трудов. Под ред. К.Б. Гонгальского, О.А. Леонтьевой и Е.Г. Суловой. – М. – 2016. – С. 104-174.
51. Соболев Н.А., Агаркова С.Н. Отдаленная гибридизация в роде *Pisum* L // Генетика и селекция гороха. – Новосибирск: Наука, Сибирское отделение. – 1975. – С. 141-160.
52. Тахтаджян А.Л. Флористические области Земли. – Л.: Наука. – 1978. – 248 с.
53. Тахтаджян А.Л., Федоров А.А. Флора Еревана. Определитель дикорастущих растений Араратской котловины. – Л.: Наука. – 1972. – 394 с.
54. Умаров М.У., Тайсумов М.А. Конспект флоры Чеченской Республики. – Грозный. – 2011. – 152 с.
55. Фучжун Л., Гостимский С.А. Исследования транслокаций у гороха // Генетика. – 1998. – Т. 34. – № 9. – С. 1269-1276.
56. Шильников Д.С. Конспект флоры Карачаево-Черкессии. – Ставрополь: «Агрус». – 2010. – 384
57. Шлыков Г.Р. Интродукция растений. – М.-Л.: Сельхозгиз. – 1936. – 504 с.
58. Шлыков Г.Р. Интродукция растений и генетика // Спорные вопросы генетики и селекции. – М.: ВАСХНИЛ. – 1937. – С. 218-230.
59. Шмальгаузен И. Флора Средней и Южной России, Крыма и Северного Кавказа. Т. 1. – 1895 – 468 с.
60. Федоров А. Дикие высокогорные горохи Кавказа // Труды биологического института Армянского филиала Академии наук СССР. – 1939 – Вып. 1. С. 45-52.
61. Флора УРСР. Т. VI. Ред. Д.К. Зеров. – Київ: Видавництво Академії Наук Української РСР. – 1954. – 607 с.
62. Чефранова З.В. Род 36. Горох – *Pisum* L. // Флора Европейской части СССР. Том VI. Покрытосеменные, двудольные. – Л.: Наука, Ленинградское отделение. – 1987. – С. 172-173.

63. Эсау К. Анатомия семенных растений. Т. 1-2. – М.: Мир. – 1980. – 1100 с.
64. Ядрихинский А.К., Богданова В.С. Ядерно-цитоплазматический конфликт при скрещивании подвидов гороха контролируется аллелями ядерного гена третьей группы сцепления // Доклады Академии Наук. – 2011. – Т. 441. – N. 3. – с. 426-429.
65. Яковлев Г.П. Бобовые земного шара. – Л.: Наука, Ленинградское отделение. – 1991. – 144 с.
66. Abbo S., Zezak I., Schwartz E., Lev-Yadun S., Gopher A. Experimental harvesting of wild peas in Israel: implications to the origins of Near East farming // J. Archaeological. Sci. – 2008. – Vol. 35. – P. 922-929.
67. Abbo S., Lev-Yadun S., Gopher, A. Agricultural origins: centres and noncentres; a Near Eastern reappraisal // Crit. Rev. Plant. Sci. – 2010. – Vol. 29. – P. 317-328.
68. Abbo S., Lev-Yadun S., Gopher A. Origin of Near Eastern plant domestication: homage to Claude Levi-Strauss and 'La Pensee' e Sauvage' // Genet. Res. Crop. Evol. – 2011a. – Vol. 58. – P. 175-179.
69. Abbo S., Rachamim E., Zehavi Y., Zezak I., Lev-Yadun S., Gopher A. Experimental growing of wild pea in Israel and its bearing on Near Eastern plant domestication // Ann, Bot. – 2011b. – Vol. 107. – P. 1399-1404.
70. Abbo S., Lev-Yadun S., Gopher A. Plant domestication and crop evolution in the Near East: on events and process // Crit. Rev. Plant. Sci. – 2012. – Vol. 31. – P. 241-257.
71. Abbo S., Lev-Yadun S., Heun M., Gopher A. On the 'lost crops' of the neolithic Near East // J. Exp. Bot. – 2013. – Vol. 64. – P. 815-822.
72. Alami, R., Fan Y., Pack S., Sonbuchner T.S., Besse A., Lin Q., Greally J.M., Skoultshi A.I., Bouhassira E.E. 2003. Mammalian linker-histone subtypes differentially affect gene expression in vivo // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.. – 2003. – Vol. 100. – P. 5920-5925.
73. Alefeld, F. Landwirthschaftliche Flora. VIII. Berlin. – 1866. – 364 s.
74. Ali S.M., Sharma B., Ambrose M.J. Current status and future strategy in breeding pea to improve resistance to biotic and abiotic stresses // Euphytica. – 1994. – Vol. 73. – P. 115-126.
75. Allaby R.G., Fuller D.Q., Brown T.A. The genetic expectation of the protracted model of the origin of domesticated crops // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2008. – Vol. 105. – P. 13982-13986.

76. Allan J., Mitchell N., Harborne C., Bohm C., Crane-Robinson C. 1986. Roles of H1 domains in determining higher order chromatin structure and H1 location // *J. Mol. Biol.* – Vol. 187. – P. 591-601.
77. Ambrose M.J. Screening for field resistance to powdery mildew (*Erysiphe polygoni* DC) in the JI *Pisum* // *Pisum Genetics.* – 2009. – Vol. 41. – P. 40-43.
78. Ambrose M.J., Ellis T.H.N. Ballistic seed dispersal and associated seed shadow in wild *Pisum* germplasm // *Pisum Genetics.* – 2008. – Vol. 40. – P. 5-10.
79. Arcangeli G. Compendio della flora italiana ossia Manuale per la determinazione delle piante che trovansi selvatiche od inselvatichite nell'Italia e nelle isole adiacenti. Ed. 2. – E. Loescher – Torino – 1894.
80. Aryamanesh N., Byrne O., Hardie D.C., Khan T., Siddique K.H.M., Yan G. Large-scale density-based screening for pea weevil resistance in advanced backcross lines derived from cultivated field pea (*Pisum sativum*) and *Pisum fulvum* // *Crop Pasture Sci.* – 2012. – Vol. 63. – P. 612-618.
81. Aryamanesh N., Zeng Y., Byrne O., Hardie D.C., Al-Subhi A.M., Khan T., Siddique K.H.M., Yan G. Identification of genome regions controlling cotyledon, pod wall/seed coat and pod wall resistance to pea weevil through QTL mapping // *Theor. Appl. Genet.* – 2014. – Vol. 127. – P. 489-497.
82. Ascherson P., Graebner P. Synopsis der mitteleuropaeischen Flora. Bd. 6, Abt. 2, IV. – Leipzig. – 1910. – 1093 S.
83. Asouti E., Fuller D.Q. From foraging to farming in the southern Levant: the development of the Epipaleolithic and Pre-pottery Neolithic plant managing strategies // *Veg. History Archaeobot.* – 2013. – Vol. 21. – P. 149-162.
84. 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. – Vol. 112. – P. 1024-1041.
85. 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 // Theoretical and Applied Genetics. – 2004. – Vol. 108. – P. 1309-1321.
86. Barilli E., Sillero J.C., Moral A., Rubiales D. Characterization of resistance response of pea (*Pisum* spp.) against rust (*Uromyces pisi*) // Plant Breeding. – 2009. – Vol. 128. – P. 665-670.
87. Barilli E., Satovic Z., Rubiales D., Torres A.M. Mapping of quantitative trait loci controlling partial resistance against rust incited by *Uromyces pisi* (Pers.) Wint. in a *Pisum fulvum* L. intraspecific cross // Euphytica. – 2010. – Vol. 175. – P. 151-159.
88. 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. – Vol. 67. – P. 609-619.
89. Beldie A.L. Flora româniei. Determinator ilustrat al plantelor vasculare. I. – Editura academiei republicii socialiste românia. – Bucuresti. – 1977. 412 p.
90. Ben-Ze'ev N., Zohary D.. Species relationship in the genus *Pisum* L // Israel Journal of Botany – 1973. – Vol. 22. – P. 73-91.
91. 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. – Vol. 71. P. 199-209.
92. 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. – Vol. 119. – P. 167-82.
93. Berdnikov V.A., Gorel F.L., Bogdanova V.S., Kosterin O.E. Interaction of a new leaf mutation *ins2* with *af*, *unitac* and *tl^v* // Pisum Genetics. – 2000. – Vol. 32. – P. 9-12.
94. 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. – Vol. 70. – P. 93-109.
95. 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 Genetics. – 1999b. – Vol. 31. – P. 1-4.

96. 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. – Vol. 36. – P. 497-507.
97. Berdnikov V.A., Trusov Y.A., Bogdanova V.S., Kosterin O.E., Rozov S.M., Nedel'kina S.V., Nikulina Y.N. The neoplastic pod gene (*Np*) may be a factor of resistance to the pest *Bruchus pisorum* L // *Pisum Genetics.* – 1992. – Vol. 24. – P. 37-39.
98. Berger A. Vegetables of New York. Vol. 1. Part. 1. Peas of New York. – J.B. Lyon Company. Albany. – 1928 – 131 p.
99. Bharath M.M.S., Chandra N.R., Rao M.R.S. Molecular modeling of chromatosomal particle // *Nucl. Acids Res.* – 2003. – Vol. 31. – P. 4264-4274.
100. Bieberstein M. Flora taurico-caucasica exhibens stirpes phaenogamas, in chersoneso Taurica et regionibus causicis sponte crescentes. Bde. 2 Charkouiae. – Typ. Akad. – 1808. – 477 S.
101. Blatter E. Flora arabica. Part II. Leguminosae–Compositae // *Records of the Botanical Survey of India.* – 1921 – Vol. 8. – No. 2. – P. 123-282.
102. Blixt S. Cytology of *Pisum*. II. The normal karyotype // *Agric. Hort. Genet.* – 1958 – Vol. 16. – P. 221-237.
103. Blixt, S. Mutation genetics in *Pisum* // *Agri Hortique Genetica.* – 1972. – Vol. 30. – P. 1-294.
104. Bogdanova V.S. Inheritance of organelle DNA markers in a pea cross associated with nuclear-cytoplasmic incompatibility // *Theor Appl Genet.* – 2007. – Vol. 114. – P. 333-339.
105. Bogdanova V.S., Berdnikov V.A. A study of potential ability for cross-pollination in pea originating from different parts of the world // *Pisum Genetics.* – 2000. – Vol. 32 – P. 16-17.
106. Bogdanova VS, Berdnikov VA. Observation of the phenomenon resembling hybrid dysgenesis in a wild pea subspecies *Pisum sativum* ssp. *elatius* // *Pisum Genetics.* – 2001. – Vol. 33. – P. 5-8.
107. 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. – Vol. 118. – P. 801-809.

108. 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. – Vol. 124. – P. 1503-1512.
109. Bogdanova V.S., Kosterin O.E. A chloroplast DNA marker frequently found in wild peas // *Pisum Genetics* – 2005 – Vol. 37 – P. 40-42.
110. Bogdanova V.S., Kosterin O.E. A mitochondrial DNA marker frequently found in wild peas // *Pisum Genetics* – 2006 – Vol. 38 – P. 1-2.
111. Bogdanova V.S., Kosterin O.E. Hybridization barrier between *Pisum fulvum* Sibth et Smith and *P. sativum* L. is partly due to nuclear-chloroplast incompatibility // *Pisum Genetics*. – 2007. – Vol. 39. – P. 8-9.
112. 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. – Vol. 130. – P. 61-72.
113. 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. – Vol. 127. – P. 1163-1172.
114. Bogdanova, V.S., Lester D.R., Berdnikov V.A., Andersson I., Structure of allelic variants of subtype 5 of histone H1 in pea *Pisum sativum* L // *Heredity*. – 2005. – Vol. 94. – P. 582-588.
115. 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. – Vol. 64. – P. 35-41.
116. 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. – 10.1371/journal.pone.0119835 (in press)
117. Boissier E. 1856. *Diagnoses plantarum orientalium novarum* // *Lipsie*. – ser. 2. – v. 3. – N. 2 – 125 p.
118. Bordat A., Savoie 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. – Vol. 1. – P. 93-103.
119. Bourgeois M., Jacquin F., Savoie 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. – Vol. 9. – P. 254-271
120. Bourgeois M., Jacquin F., Cassecuelle F., Savoie 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. – Vol. 9. – P. 1581-1594.
121. Braun A. Bemerkungen über die Flora von Abyssinien // Flora oder allgemeine botanische Zeitung. – 1841 – Bd.1 – N.17 – S. 257-288.
122. Brown D.T., Alexander B.T., Sittman D.B. Differential effect of histone H1 variant overexpression on cell cycle progression and gene expression // Nucl. Acids Res. – 1996. – Vol. 24. – P. 486-493.
123. Brown D.T., Gunjan A., Alexander B.T., Sittman, D.B. Differential effect of histone H1 variant overexpression on gene expression is due to the differences in the central globular domain // Nucl. Acids Res. – 1997. – Vol. 25. – P. 5003-5009
124. Brown T.A., Jones M.K., Powell W., Allaby R.G. The complex origins of domesticated crops in the Fertile Crescent // Trends in Ecology and Evolution. – 2009. – Vol. 24. – P. 103-109.
125. Bustin M., Catez F., Lim J.H. The dynamics of histone H1 function in chromatin // Molecular Cell. – 2005. – Vol. 17. – P. 617-620.
126. Byrne O.M., Hardie D.C., Khan T.N., Yan G. Genetic analysis of pod and seed resistance to pea weevil in a *Pisum sativum* × *P. fulvum* interspecific cross // Australian Journal of Agricultural Research. – 2008. – Vol.59. – P.854-862.
127. Campbell, C.G. Grass Pea, *Lathyrus sativus* L. – International Plant Genetic Resource Institute, Rome – 1997 – 91 p.
128. Carrillo E., Rubiales D., Pérez-de-Luque A., Fondevilla S. Characterization of mechanisms of resistance against *Didymella pinodes* in *Pisum* spp // European Journal of Plant Pathology. – 2013. – Vol. 135. – P. 761-769.

129. 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 Reports*. – 2014. – Vol. 33. – P. 1133-1345.
130. Castillejo M.A., Amieur N., Gaudot E.D., Rubiales D., Jorrín J.V. A proteomic approach to studying plant response to crenate broomrape (*Orobanche crenata*) in pea (*Pisum sativum*) // *Phytochemistry*. – 2004. – Vol. 65. P. – 1817-1828.
131. 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. – Vol. 58. – P. 12822-12832.
132. Cheghamirza K., Koveza O., Konovalov F., Gostimsky S. Identification of RAPD markers and their use for molecular mapping in pea (*Pisum sativum* L.) // *Cellular & Molecular Biology Letters*. – 2002. – Vol. 7. – P. 649-655.
133. Cheng P., Holdsworth W., Ma Y., Coyne C.J., Mazourek M., Grusak M.A., Fuchs F., McGee R.J. Association mapping of agronomic and quality traits in USDA pea single plant collection // *Molecular Breeding*. – 2015. – Vol. 35. – Issue 2. – 75.
134. 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. – Vol. 101. – P. 15289-15294.
135. Clausell J., Happel N., Hale T.K., Doenecke D., Beato M. Histone H1 subtypes differentially modulate chromatin condensation without preventing ATP-dependent remodeling by SWI/SNF or NURF // *PLoS One*. – 2009. – Vol. 4. – Issue 10. – e0007243.
136. Clement S.L., Hardie D.C., Elberson L.R. Variation among accessions of *Pisum fulvum* for resistance to pea weevil // *Crop Science*. – 2002. – Vol. 42. – P. 2167-2173.
137. Clement S.L., McPhee K.E., Elberson L.R., Evans M.A. Pea weevil, *Bruchus pisorum* L. (*Coleoptera: Bruchidae*), resistance in *Pisum sativum* × *Pisum fulvum* interspecific crosses // *Plant Breeding*. – 2009. – Vol. 128. – P. 478-485.
138. Cole R.D. Microheterogeneity in H1 histones and its consequences // *International Journal of Peptide and Protein Research*. – 1987. – Vol. 30. – P. 433-449.
139. Conicella C., Errico A. Karyotype variations in *Pisum sativum* ect. *abyssinicum* // *Caryologia*. – 1990. – Vol. 43. – P. 87-97.

140. 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. – Vol. 40. – P. 622-631.
141. Cooper L.D., Doss R.P., Price R., Peterson K., Oliver J.E. Application of Bruchin B to pea pods results in the up-regulation of CYP93C18, a putative isoflavone synthase gene, and an increase in the level of pisatin, an isoflavone phytoalexin // *J. Exp. Bot.* – 2005. – Vol. 56. – P. 1229-1237.
142. Corpet F. Multiple sequence alignment with hierarchical clustering // *Nucleic Acids Res.* – 1988. – Vol. 16. – P. 10881-10890.
143. Coste L.H. Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse et des contrées limitrophes. – Librairie des Sciences et des Arts, Paris. – 1937.
144. Coulot P., Rabaute P. Monographie de Leguminosae de France. Tome 4. Tribus des Fabeae, des Cicereae et des Genisteae. // *Bulletin de la Société Botanique du Centre-Ouest.* – 2016. T. 46. –P. 1-902.
145. 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. – Vol. 50. – P. 871-875.
146. Coyne C.J., McGee R.J., Redden R.J., Ambrose M.J., Furman B.J., Miles C.A. Genetic adjustment to changing climates: pea // Yadav, S. S., Redden, R. J., Hatfield, J. L., Lotze-Campen, H. and Hall, A. E. (eds). *Crop Adaptation to Climate Change.* – Wiley-Blackwell. – Oxford, UK. – 2011. – P. 238-250.
147. Curto M., Camafeita E., Lopez J.A., Maldonado A.M., Rubiales D., Jorrín J.V. A proteomic approach to study pea (*Pisum sativum*) responses to powdery mildew (*Erysiphe pisi*) // *Proteomics.* – 2006. – Vol. 6. – P. S163-S174.
148. Dalmais M., Schmidt J., Le Signor C., Moussy F., Burstin J., Savoie 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. – Vol. 9. – R. 43.
doi:10.1186/gb-2008-9-2-r43

149. Danin A. 1992. Flora and vegetation of Israel and adjacent areas // *Bocconea*. – 1992. – Vol. 3. – P. 18-42.
150. Davis P.H. Materials for a flora of Turkey. XIX. Leguminosae: Viciae // *Notes Roy. Bot. Garden Edingurgh*. – 1969. – Vol. 29. – P. 311-320.
151. Davis P.H. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 3. – Edinbourgh. – 1970. – 302 p.
152. Decarie J., Coyne C., Brumett S., Shultz J. Additional pea EST-SSR markers for comparative mapping in pea (*Pisum sativum* L.) // *Plant Breed*. – 2012. – Vol. 131. – P. 222-226.
153. De S., Brown D.T., Lu Z.H., Leno G.H., Wellman S.E., Sittman D.B. 2002. Histone H1 variants differentially inhibit DNA replication through an affinity for chromatin mediated by their carboxyl-terminal domains // *Gene*. – 2002. – Vol. 292. – P. 173-181.
154. 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. – Vol. 91. – P. 322-325.
155. 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. – Vol. 11. – doi:10.1186/1471-2164-11-468.
156. Doenecke D., Albig W., Bode C., Drabent B., Franke K., Gavenis K., Witt O. Histones: genetic diversity and tissue-specific gene expression // *Histochemistry and Cell Biology*. – 1997. – Vol. 107. – P. 1-10.
157. Dolezel J., Greilhuber J. Nuclear genome size. Are we getting closer? // *Cytometry*. – 2010. – Vol. 77. – P. 635-642.
158. Domoney C., Casey R., Turner L., Ellis N. *Pisum* lipoxygenase genes // *Theor. Appl. Genet*. – 1991, – Vol. 81. – P. 800-805.
159. Doss, R.P. Treatment of pea pods with bruchin B results in up-regulation of a gene similar to MtN19 // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 2005. – Vol. 43. – P. 225-231.
160. Doss R.P., Oliver J.E., Proebsting W.M., Potter S.W., Kuy S., Clement S.L., Williamson T., Carney J.R., DeVilbiss E.D. Bruchins: insect-derived plant regulators that stimulate neoplasm formation // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2000. – Vol. 97. – P. 6218-6223.

161. 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.
162. 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. – Vol. 180. – P. 86-98.
163. Eirín-López J.M., Gonzáles-Tizón A.M., Martínez A., Méndez J. Birth-and-death evolution with strong purifying selection in histone H1 multigene family and the origin of *orphan* H1 genes // *Molecular Biology and Evolution*. – 2004. – Vol. 21. – P. 1992-2003.
164. Ellis T.H.N. Chapter 12. *Pisum*. In: C. Kole (ed.), *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources, Legume Crops and Forages*. – Springer-Verlag. – Berlin, Heidelberg. – 2011. – P. 237-248.
165. Ellis T.H.N., Hellens R.P., Turner L., Lee C., Domoney C., Welham T. On the pea linkage group // *Pisum Genetics*. – 1993. – Vol. 25. – P. 5-12.
166. 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. General Genet*. – 1998. – Vol. 260. – P. 9-19.
167. Ellis T.H.N., Poyser S.J. An integrated and comparative view of pea genetic and cytogenetic maps // *New Phytol*. – 2002. – Vol. 153. – P. 17-25.
168. Errico A., Conicella C, Venora G. Karyotype studies on *Pisum fulvum* and *Pisum sativum* using a chromosome image analysis system // *Genome*. – 1991. – Vol. 34. – P. 105-108.
169. Errico A., Conicella C, De Martino T., Ercolano R., Monti I.M. Chromosome reconstructions in *Pisum sativum* through interspecific hybridization with *P. fulvum* // *Journal of Genetics and Breeding*. – 1996. – Vol. 50. – P. 309-313.
170. Fan Y., Nikitina T., Morin-Kensicki M., Zhao J., Manguson T.R., Woodcock C.L., Skoultchi A.I. H1 linker histones are essential for mouse development and affect nucleosome spacing in vivo // *Molecular and Cellular Biology*. – 2003. – Vol. 23. – P. 4559-4572.
171. Fan Y., Nikitina T., Zhao J., Fleury T.J., Bhattacharyya R., Bouhassira E.E., Stein A., Woodcock C.L., Skoultchi A.I. Histone H1 depletion in mammals alters global chromatin

- structure but causes specific changes in gene regulation // *Cell*. – 2005. – Vol. 123. – P. 1199-1212.
172. Felsenstein J., PHYLIP – Phylogeny Inference Package (Version 3.2) // *Cladistics*. – 1989. – Vol. 5. – P. 164-166.
173. Ferguson B.J., Reid J.B. *Cochleata*: getting to the root of legume nodules // *Plant Cell Physiol*. – 2005. – Vol. 49. – P. 1583-1589.
174. Fischer R. Design of Experiment. – Oliver and Boud. – Edinburgh, London. – 1953.
175. Flora republicii populare romîne. V. T. Săvulescu (ed.). – Bucuresti: Editura academiei republicii populare romîne. – 1953. – 553 p.
176. Folkeson D. The use of BSG-staining in making a more detailed nomenclature possible for interchange systems in *Pisum sativum* L // *Hereditas*. – 1984a. – Vol. 101. – P. 119-122.
177. Folkeson D. Free segregation between a (3S-7S) interchange and genes within linkage group VII in *Pisum sativum* L // *Hereditas*. – 1984b. – Vol. 101. – P. 127-133.
178. Folkeson D. Assignment of linkage segments to chromosomes 3 and 5 in *Pisum sativum* L // *Hereditas*. – 1990a. – Vol. 112. – P. 249-255.
179. Folkeson D. Assignment of linkage segments to chromosomes 4 and 7 in *Pisum sativum* L // *Hereditas*. – 1990b. – Vol. 112. – P. 257-263.
180. Fondevilla S., Ávila C.M., Cubero J.I. and Rubiales D. Response to *Mycosphaerella pinodes* in a germplasm collection of *Pisum* spp // *Plant Breeding*. – 2005. – Vol. 124. – P. 313-315.
181. Fondevilla S., Cubero J.I., Rubiales D. Inheritance of resistance to *Mycosphaerella pinodes* in two wild accessions of *Pisum* // *Tivoli*. B, Baranger A., Muehlbauer F.J., Cooke B.M. (eds). *Ascochyta blights of grain legumes*. – Springer, Netherlands. – 2007a. – P. 53-58.
182. Fondevilla S., Torres A.M., Moreno M. T., Rubiales, D. Identification of a New Gene for Resistance to Powdery Mildew in *Pisum fulvum*, a Wild Relative of Pea // *Breeding Science*. – 2007b. – Vol. 57. – P. 181-184.
183. Fondevilla S, Satovic Z., Rubiales D., Moreno M.T., Torres A.M. Mapping of quantitative trait loci for resistance to *Mycosphaerella pinodes* in *Pisum sativum* subsp *syriacum* // *Mol. Breed*. – 2008. – Vol. 21. – P. 439-454.

184. Fondevilla S., Cubero J.I., Rubiales D. Confirmation that the Er3 gene, conferring resistance to *Erysiphe pisi* in pea, is a different gene from *er1* and *er2* genes // Plant Breeding. – 2010. – Vol. 130. – P. 281-282.
185. Fondevilla S., Almeida N.F., Satovic Z., Rubiales D., Patto M.C.V., Cubero J.I., Torres A.M. Identification of common genomic regions controlling resistance to *Mycosphaerella pinodes*, earliness and architectural traits in different pea genetic backgrounds // Euphytica. – 2011. – Vol. 182. – P. 43-52.
186. Fondevilla S., Martín-Sanz A., Satovic Z., Fernández-Romero M.D., Rubiales D., Caminero C. Identification of quantitative trait loci involved in resistance to *Pseudomonas syringae* pv *syringae* in pea (*Pisum sativum* L.) // Euphytica. – 2012. – Vol. 186. – P. 805-812.
187. Ford-Lloyd B.V., Schmidt M., Armstrong S.J., Barazani O., Engels J., Hadas R., Hammer K., Kell S.P., Kang D., Khoshbakht K., Li Y., Long C., Lu B.-R., Ma K., Nguyen V.T., Qiu L., Ge S., Wei W., Zhang Z., Maxted N. Crop wild relatives—undervalued, underutilized and under threat? // BioScience. – 2011. – Vol. 61. – P. 559-565.
188. 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. Vol. 12. Art. 277.
189. 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. – Vol. 107. – P. 272-276.
190. Fuller D.K. Contrasting pattern of crop domestication and domestication rates: recent archaeological insights from the Old World // Ann. Bot. – 2007. – Vol. 100. – P. 903-924.
191. Fuller D.Q., Willcox G., Allaby R.G. Cultivation and domestication had multiple origins: arguments against the core area hypothesis for the origins of agriculture in the Near East // World Archaeol. – 2011. – Vol. 43. – P. 628-658.
192. Fuller D.Q., Willcox G., Allaby R.G. Early agricultural pathways: moving outside the 'core area' hypothesis in Southwest Asia // J. Exp. Bot. – 2012. – Vol. 63. – P. 617-633.
193. Gebreslassie B., Abraha B. Review: distribution and productivity of dekokko (*Pisum sativum* var. *abyssinicum* A. Braun) in Ethiopia // Global Journal of Science Frontier Research: C, Biological Sciencis. – 2016. – Vol. 16. – Issue 3. – P. 45-57.

194. Geurts R., Heidstra R., Hadri A.E., Downie J.A., Franssen H., van Kammen A.B., Bisseling T. *Sym2* of pea is involved in a nodulation factor-perception mechanism that controls the infection process in the epidermis // *Plant Physiol.* – 1997. – Vol. 115. – P. 351-359.
195. 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. – Vol. 95. – P. 1289-1299.
196. Glémin S. and Battailon T. A comparative view of the evolution of grasses under domestication // *New Phytol.* – 2012. – Vol. 183. – P. 273-290.
197. Gopher A., Abbo S., Lev-Yadun S. The ‘when’, the ‘where’ and the ‘why’ of the Neolithic revolution in the Levant // *Documenta Praehistorica.* – 2001. – Vol. 27. – P. 49-62.
198. Gorel F.L., Berdnikov V.A., Kosterin O.E. Mutation *air dots* (*adt*) with slight *uni^{itac}* –like effect on the leaf // *Pisum Genetics.* – 2002. – Vol. 34. – P. 1-2ю
199. Greilhuber J., Ebert I. Genome size variation in *Pisum sativum* // *Genome.* – 1994. – Vol. 37. – P. 646-655.
200. 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. – Vol. 6. – doi:10.1186/1746-4811-6-28.
201. Håkansson A. Chromosomenringe in *Pisum* und ihre Mutmassliche Genetische Bedeutung // *Hereditas.* – 1929 – Vol. 12. – P. 1-10.
202. 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. – Vol. 40. – P. 744-754.
203. Hammer K. The domestication syndrome // *Kulturpflanze.* – 1984. – Vol. 32. – P. 11-34.
204. Hammarlund A. Über einen Fall von Koppelung und freie Kombination bei Erbsen // *Hereditas.* – 1923. – Vol. 4. – P. 235-238.
205. Han M.V., Zmasek C.M. PhyloXML: XML for evolutionary biology and comparative genomics // *BMC Bioinformatics.* – 2009. – Vol. 10. – P. 356.
206. Hance, S.T., Grey, W., & Weeden, N.F. Identification of tolerance to *Fusarium solani* in *Pisum sativum* ssp. *elatius* // *Pisum Genetics.* – 2004. – Vol. 36. – P. 9-13.
207. Happel N., Doenecke D. Histone H1 and its isoforms: contribution to chromatin structure and function // *Gene.* – 2009. – Vol. 431. – P. 1-12.

208. Harlan J.R. Agricultural origin: centres and noncentres // *Science*. – 1971. – Vol. 174. – P. 468-474
209. Hatfield J.L. Changing climate in North America: implications for crops // Yadav S.S., Redden R.J., Hatfield J.L., Lotze-Campen H., Hall A.E. (eds). *Crop Adaptation to Climate Change*. – Wiley–Blackwell, Oxford, UK. – 2011. – P. 57-65.
210. Hedrick U.P., Hall F.R., Hawthorn L.V., Berger A. *The Vegetables of New York, Peas of New York: Report of the New York State Agricultural Experiment Station for the Year Ending June 30*. – Lyn Co. 4, Albany. – 1928. – 132 p.
211. 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. – Vol. 5. – Art. e1323. doi:10.1371/journal.pone.0013230.
212. Heng L., Vincken J.P., van Koningsveld G., Legger A., Gruppen H., van Boekel T., Roozen J., Voragen, F. Bitterness of saponins and their content in dry peas // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. – 2006. – Vol. 86. – P. 1225-1231.
213. 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. – Vol. 92. – P. 92-100.
214. 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. – Vol. 21. – P. 420-428.
215. Hollaway G.J., Bretag T.W., Price T.V. The epidemiology and management of bacterial blight (*Pseudomonas syringae* pv. *pisi*) of field pea (*Pisum sativum*) in Australia: a review // *Aust. J. Agric. Res.* – 2007. – Vol. 58. – P. 1086-1099.
216. Huelsenbeck J.P., Ronquist, F. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees // *Bioinformatics*. – 2001. – Vol. 17. – P. 754-755.
217. Hunson D.H., Bryant D. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies // *Mol. Biol. Evol.* – 2006. – Vol. 23. – P. 254-267.
218. ICARDA Press Release. World heritage seed collection makes its way from Syria to Svalbard [Электронный ресурс] Режим доступа: <http://www.icarda.org/features/press->

[release-world-heritage-seed-collection-makes-its-way-syria-svalbard#sthash.1seXn47I.dpbs](#);

посещено 10.09.2015.

219. International Aphid Genomics Consortium. Genome sequence of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* // PLoS Biol. – 2010. – Vol. 8. – Art. e1000313.
doi:10.1371/journal.pbio.1000313.
220. International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Melbourne Code).
Oberreifenberg: Koeltz Scientific Books – 2012.
221. Izzo A., Kamieniarz K., Schneider R. The histone H1 family: specific members, specific functions? // Biological Chemistry. – 2008. – Vol. 389. – P. 333-343.
222. Jahandiez, É., Marie, R. Catalogue des plantes du Maroc (spermatophytes et ptéridophytes).
Tome Premier, Ptéridophytes, Gymnospermes et Monocotylédones. – Minerva – Alger – 1931 – P. 1-160.
223. Jahandiez, É., Marie, R. Catalogue des plantes du Maroc (spermatophytes et ptéridophytes).
Tome deuxiè, Dicotélydones Archychlamiées. – Minerva – Alger – 1932 – P. 161-557.
224. Jahandiez, É., Marie, R. Catalogue des plantes du Maroc (spermatophytes et ptéridophytes).
Tome triosième, Dicotélydones Gamopétales et supplément aux volumes I et II. – Minerva – Alger – 1933 – P. 558-913.
225. Jedrusik M.A., Schulze E. A single histone H1 isoform (H1.1) is essential for chromatin silencing and germline development in *Caenorhabditis elegans* // Development. – 2001. – Vol. 128. – P. 1069-1080.
226. 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. – Vol. 177. – P. 2263-2275.
227. Jing R.C., Knox M.R., Lee J.M., Vershinin A.V., Ambrose M., Ellis T.H.N. and Flavell A.J.
Insertional polymorphism and antiquity of PDR1 retrotransposon insertions in *Pisum* species // Genetics. – 2005. – Vol. 171. – P. 741-752.
228. 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 Evolutionary Biology. – 2010. – Vol. 10. – Art. 44.

229. 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. – Vol. 272. – P. 235-246.
230. 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* // Molecular plant-microbe interactions. – 1998. – Vol. 11.– P. 124-130.
231. Kenicer G.J. Systematics and biogeography of *Lathyrus* L. (Leguminosae, papilionoideae. PhD Thesis. – Royal Botanical Garden, Edinburgh. 2007.
232. Khadake J.R., Rao M.R. DNA- and chromatin-condensing properties of rat testes H1a and H1t compared to those of rat liver H1bdec; H1t is a poor condenser of chromatin // Biochemistry. – 1995. – Vol. 34. – P. 15792-15801.
233. Kneen B.E., LaRue T.A.. Peas (*Pisum sativum* L.) with strain specificity to *Rhizobium leguminosarum* // Heredity. – 1984. – Vol. 52. – P. 383-389.
234. Knox M.R., Ellis T.H.N. Stability and inheritance of methylation states at *PstI* sites in *Pisum* // Mol. Genet. Genomics. – 2001. – Vol. 265. – P. 497-507.
235. Knox M.R., Ellis T.H.N. Excess heterozygosity contributes to genetic map expansion in pea recombinant inbred populations // Genetics. – 2002. – Vol. 162. – P. 861-873.
236. Konovalov F.A., Toshchakova E., Gostimsky S. A CAPS marker set for mapping in linkage group III of pea (*Pisum sativum* L.) // Cellular and Molecular Biology Letters – 2005. – Vol. 10. – P. 163-171.
237. Kosterin O.E. Genes *a* and *d* may not be in the same linkage group // Pisum Genetics. – 1993. – Vol. 25. – P. 23-26.
238. Kosterin O.E. Mapping of the third locus for histone H1 genes in peas // Pisum Genetics. – 1992. – Vol. 24. – P. 56-59.
239. Kosterin O.E., Bogdanova V.S. Relationship of wild and cultivated forms of *Pisum* L. as inferred from an analysis of three markers, of the plastid, mitochondrial and nuclear genomes // Genet. Resour. Crop Evol. – 2008. – Vol. 55. – P. 735-755.
240. Kosterin O.E., Bogdanova V.S. 2015. Reciprocal compatibility within the genus *Pisum* L. as studied in F1 hybrids: 1. Crosses involving *P. sativum* L. subsp. *sativum* // Genetic Resources and Crop Evolution. – DOI 10.1007/s10722-014-0189z (E-pub ahead of print)

241. 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 Science. – 1994. – Vol. 101. – P. 189-202.
242. Kosterin O.E., Bogdanova V.S., Kechin A.A., Zaytseva O.O., Yadrikhinskiy A.K. 2012. Polymorphism in a histone H1 subtype with a short N-terminal domain in three legume species (Fabaceae, Fabaeae) // Mol. Biol. Rep. – 2012. – Vol. 39. – P. 10681-10695.
243. Kosterin O. E., Zaytseva O. O., Bogdanova V. S., Ambrose M. New data on three molecular markers from different cellular genomes in Mediterranean accessions reveal new insights into phylogeography of *Pisum sativum* L. subsp. *elatuis* (Beib.) Schmahl // Genet. Resour. Crop Evol. – 2010. – Vol. 57. – P. 733-739.
244. Kosterin O.E., Rozov S.M. Mapping of the new mutation *blb* and the problem of integrity of linkage group 1 // Pisum Genetics. – 1993. – Vol. 25. – P. 27-31.
245. Kožuharov, S. Flora na Narodna Republica B'lgarija. 1-7. B'lgarskata Akademija na Naukite, Sophia, Bulgaria. – 1976. – P. 548-552.
246. Kress W.J., Erickson D.L. A two-locus global DNA barcode for land plants: the coding *rbcL* gene complements the non-coding *trnH-psbA* spacer region // PLoS One. – 2007 – Vol. 2. – e508.
247. Kress W.J., Wurdack K.J., Zimmer E.A., Weigt L.A., Janzen D.H. Use of DNA barcodes to identify flowering plants // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2005. – Vol. 102. – P. 8369–8374.
248. Kupicha F. Viciae // Advances in Legume Systematics. – Kew. – 1981. – Pt. 1. – P. 377-381.
249. Ladizinsky G. Seed dispersal in relation to domestication of Middle East legumes // Economical Botany. – 1979. – Vol. 33. – P. 284-289.
250. Lamarck J.B. de. Flore française, ou description succincte de toutes des plantes qui croissent naturellement en France. Tome second. Paris, 1779. 678 p.
251. Lamm R. Cytogenetical studies on translocations in *Pisum* // Hereditas. – 1951. – Vol. 37. – P. 356-372.
252. Lamm R. Transpositions in *Pisum* // Pisum Newsl. – 1977. – Vol. 9. P. 28-29.
253. Lamm R., Miravalle R.J. A translocation tester set in *Pisum* // Hereditas. – 1959. – Vol. 45. – P. 417-440.

254. Lamprecht H. The variation in linkage and course of crossingover // *Agri Hortique Genetica*. – 1948. – Vol. 6. – P. 10-48.
255. Lamprecht H. Further studies on the interchange between the chromosomes III and V of *Pisum* // *Agri Hortique Genetica*. – 1953. – Vol. 11. – P. 141-148.
256. Lamprecht H. Die Koppelung des Gens *wsp* und die Genenkarte von Chromosom VII von *Pisum* // *Agri Hortique Genetica*. – 1954. – Bd. 12. – S. 115-120.
257. Lamprecht H. Ein Interchange zwischen den Chromosomen I and VII von *Pisum* // *Agri Hortique Genetica*. – 1955. – Bd. 13. – S. 173-182.
258. Lamprecht H. *Pisum sativum* L. oder *Pisum arvense* L. Eine Nomenklatorische studie auf Genetischer basis // *Agri Hortique Genetica*. – 1956a. – Bd. 14. – S. 2-5.
259. Lamprecht H. Zur Artberechtigung *Pisum elatius* Stev. und *Jomardi* Schrank // *Agri Hortique Genetica*. – 1956b. – Bd. 14. – S. 5-18.
260. Lamprecht H. Die Genenkarte von Chromosom VI und das Interchange der Chromosomen IV/VI von *Pisum* // *Agri Hortique Genetica*. – 1957. – Bd. 15. – S. 115-141.
261. Lamprecht H. Die Genenkarte von *Pisum* // *Agri Hortique Genetica*. – 1961. – Bd. 19. – S. 360-401.
262. Lamprecht, H. Zur Kenntnis von *Pisum arvense* L. oect. *abyssinicum* Braun, mit genetischen und zytologischen Ergebnissen // *Agri Hortique Genetica*. – 1963. – Bd. 21. – S. 35-55.
263. Lamprecht, H. Partielle Sterilität und Chromosomenstruktur bei *Pisum* // *Agri Hortique Genetica*. – 1964. – Bd. 22. – S. 56-138.
264. Lamprecht, H. Monographie der Gattung *Pisum*. – Steiermärksche Landesdruckerei. – Graz. – 1928. – 655 S.
265. Larkin M.A., Blackshields G., Brown N.P., Chenna R., McGettigan P.A., McWilliam H., Valentin F., Wallace I.M., Wilm A., Lopez R., Thompson J.D., Gibson T.J., Higgins, D.G. Clustal W and Clustal × version 2.0 // *Bioinformatics*. – 2007. – Vol. 23. – P. 2947-2948.
266. Laucou V., Haurogne K., Ellis N., Rameau C. Genetic mapping in pea. I. RAPD-based linkage map of *Pisum sativum* // *Theor. Appl. Genet.* – 1998. – Vol. 97. – P. 905-915.
267. Lavin M., Doyle J.J., Palmer J.D. 1990. Evolutionary significance of the loss of the chloroplast–DNA inverted repeat in the Leguminosae subfamily Papilionoideae // *Evolution*. – Vol. 44. – P. 390-402

268. Lavin M., Herendeen P.S., Wojciechowski M. 2005. Evolutionary rates analysis of Leguminosae implicates a rapid diversification of lineages during the tertiary // *Systematic Biology*. – Vol. 54. – P. 575-594
269. Lehmann C. Das morphologische system der Saarerbsen // *Der Züchter*. – 1954. – T. 24. № 11/12. – S. 316-337
270. Lehmann C., Blixt S. Artificial infraspecific classification in relation to phenotypic manifestation of certain genes in *Pisum* // *Agri Hortique Genetica*. – Vol. 42. – P. 48-74.
271. Lev-Yadun S., Gopher A., Abbo S. The cradle of agriculture // *Science*. – 2000. – Vol. 288. – P. 1602–1603.
272. Lesson, P.R. Flore rochefortine, ou description des plantes qui croissent spontanément ou qui naturalisées aux environs de la ville de Rochefort. –Rochefort – 1835 – 684 p.
273. Liao L.W., Cole R.D. Condensation of dinucleosomes by individual subfractions of H1 histone // *Journal of Biological Chemistry*. – 1981. – Vol. 256. – P. 10124-10128.
274. Librado P., Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data // *Bioinformatics*. – 2009. – Vol. 25, – P. 1451-1452.
275. Lie T.A. Symbiotic nitrogen fixation under stress conditions // *Plant and Soil*, special volume. – 1971. – P. 117-127.
276. Lie T.A. Symbiotic specialization in pea plants: the requirement of specific *Rhizobium* strains for peas from Afghanistan // *Ann. Appl. Biol.* – 1978. – Vol. 88. – P. 462-465.
277. Lie T.A. Gene centres, a source for genetic variants in symbiotic nitrogen fixation: Host induced ineffectivity in *Pisum sativum* ecotype *fulvum* // *Plant and Soil*. – 1981. – Vol. 61. – P. 125-134.
278. Lie T.A. Host genes in *Pisum sativum* conferring resistance to European *Rhizobium leguminosarum* strains // *Plant and Soil*. – 1984. – Vol. 82. – P. 415-425.
279. Lie T.A., Göktaş D., Engin M., Pijnenborg J., Anlarsal E. Co-evolution of the legume-*Rhizobium* association // *Plant and Soil*. – 1987. – Vol. 100. – P. 171-181.
280. Lloyd, J. Flora de la Loire-Inférieure – Nantes – 1844 – 335 p.
281. Lobell D.B., Field C.B. Global scale climate–crop yield relationships and the impacts of recent warming // *Environmental research letters*. – 2007. – Vol. 2. – Art. 014002.

282. Lock J.M., Maxted N. Tribe *Fabeae* // Legumes of the world. Edited by Lewis G, Schrire B, Mackinder B, Lock M. – The Royal Botanic Gardens, Kew. – 2005. – P. 505-510.
283. Loenning W.-E. Cross fertilization in peas under different ecological conditions // *Pisum Newsletter*. – 1984. – Vol. 16. – P. 38-40.
284. Loidon 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. – Vol. 111. – P. 1022-1031.
285. 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. – Vol. 93. – P. 1103-1111.
286. 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. – Vol. 8. – Art. 427.
287. 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. – Vol. 20. – P. 1700-1710.
288. Marx G.A.. New linkage relations for chromosome III of *Pisum* // *Pisum Newsletter*. – 1971. – Vol. 3. – P. 18-19.
289. Marx G.A. 1984 // *Pisum Newsletter*. – 1984. – Vol. 16. – P. 46-48.
290. Maxted N; Ambrose M. Peas (*Pisum* L.) // Maxted N and Bennett SJ (eds.). *Plant Genetic Resources of Legumes in the Mediterranean. Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture 39.* – Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. – 2001. – P 181-190.
291. Maxted N., Kell S.P. Establishment of a global network for the *in situ* conservation of crop wild relatives: status and needs.– FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture, – Rome. – 2009.
292. Maxted N., Kell S., Ford-Lloyd B., Dulloo E., Toledo Á. Toward the systematic conservation of global crop wild relative diversity // *Crop Sci.* – 2012. – Vol. 52. – P. 774-785.

293. McClintock, B. The origin and behavior of mutable loci in maize // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 1950. – Vol. 36. – Iss. 6. – P. 344-355.
294. McClintock, B. Induction of instability at selected loci in maize // Genetics. – 1953. – Vol. 36. – Iss. 6. – P. 579-599.
295. McPhee K.E., Tullu A., Kraft J.M., Muehlbauer F.J. Resistance to *Fusarium* wilt race 2 in the *Pisum* core collection // Journal of the American Society for Horticultural Science. – 1999. – Vol. 124. – P. 28-31.
296. Mendel G. Versuche über Pflanzenhybriden // Verhandlungen des naturforschenden Vereines in Brünn. – 1866. – Bd. IV für das Jahr 1865 (Abhandlungen). – S. 3-47.
297. Milne I.F., Wright G., Row G., Marshal D.F., Husmeier D., McGuire G. TOPALi software for automatic identification of recombinant sequences within DNA multiple alignments // Bioinformatics – 2004. – Vol. 20. – P. 1806-1807.
298. Misteli T., Gunjan A., Hock R., Bustink M., Brown D.T. Dynamic binding of histone H1 to chromatin in living cells // Nature. – 2000. – Vol. 408. – P. 877-881.
299. Muehlbauer F.J., Kaiser W.J., Kutlu Z., Sperling C.R. Collection of *Pisum* germplasm in Turkey in 1985 and 1989 // *Pisum* Newsletter. – 1990. – Vol. 22. – 97-98.
300. Murfet I.C. The *gi* locus shows linkage with *gp*, *r* and *tl* // *Pisum* Newsletter. – 1990. – Vol. 22. – P. 38-40
301. Murfet I.C., Reid J.B. Developmental mutants // Casey R, Davies DR (eds) Peas: genetics, molecular biology and biotechnology. – CAB International, Wallingford, UK. – 1993. – P. 165-216.
302. Muschler R. A Manual Flora of Egypt. Vol. 1. R. Friedlaender And Sohn; Berlin. – 1912. – 1312 S.
303. Nasiri J., Haghazari A., Saba J. Genetic diversity among varieties and wild species accessions of pea (*Pisum sativum* L.) based on SSR // African Journal of Biotechnology. – Vol. 8. – Iss. 15. – P. 3405-3417.
304. Neumann P., Nouzová M., Macas, J. Molecular and cytogenetic analysis of repetitive DNA in pea (*Pisum sativum* L.) // Genome. – 2001. – Vol. 44. – P. 716-728.

305. Neumann P., Pozárková D., Vrána J., Dolezel J., Macas J. Chromosome sorting and PCR-based physical mapping in pea (*Pisum sativum* L.) // *Chromosome Res.* – 2002. – Vol. 10. – P. 63–71.
306. Nogler G.A. The lesser-known Mendel: his experiments on *Hieracium* // *Genetics.* – 2006. – Vol. 172. – P. 1-6.
307. North H., Casey R., Domoney C. Inheritance and mapping of seed lipoxygenase peptides in *Pisum* // *Theor. Appl. Genet.* – 1989. – Vol. 77. – P. 805-808.
308. Novák, P.; Neumann, P.; Macas, J. Graph-based clustering and characterization of repetitive sequences in next-generation sequencing data // *BMC Bioinformatics.* – 2010. – Vol. 11. – Art. 378. doi:10.1186/1471-2105-11-378.
309. Oberg C., Izzo A., Schneider R., Wrange O., Belikov O. 2012. Linker histone subtypes differ in their effect on nucleosomal spacing in vivo // *Journal of Molecular Biology.* – 2012. – Vol. 419. – Issues 3-4. – P. 183-197.
310. Ochatt S.J., Benabdelmouna A., Marget P., Aubert G., Moussy F., Pontécaille C., Jacas L. Overcoming hybridization barriers between pea and some of its wild relatives // *Euphytica.* – 2004. – Vol. 137 – P. 353-359.
311. Oliver J.E., Doss R.P., Williamson R.T., Carney J.R., DeVilbiss E.D. 2000. Bruchins — mitogenic 3-(hydroxypropanoyl) esters of long chain diols from weevils of the Bruchidae // *Tetrahedron.* – 2000. – Vol. 56. – P. 7633-7641.
312. Oliver J.E., Doss R.P., Marquez B., DeVilbiss E.D. Bruchins, plant mitogens from weevils: structural requirements for activity // *Journal of Chemical Ecology.* – 2002. – Vol. 28. – P. 2503-2513.
313. Panyim S., Chalkley R. High resolution in acrylamide gel electrophoresis of histones // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1969. – Vol. 130. – P. 337-346.
314. Parseghian M.H., Newcomb R.L., Winokur S.T., Hamkalo B.A. The distribution of somatic H1 subtypes is nonrandom on active vs. inactive chromatin: distribution in human fetal fibroblasts // *Chromosome Research.* – 2000. – Vol. 8. – P. 405-424.
315. Parseghian M.H., Newcomb R.L., Hamkalo B.A. Distribution of somatic H1 subtypes is non-random on active vs. inactive chromatin II: distribution in human adult fibroblasts // *Journal of Cellular Biochemistry.* – 2001. – Vol. 83. – P. 643-659.

316. Pearson, E.C., Bates, D.L., Prospero, T.D., Thomas, J.O. Neuronal nuclei and glial nuclei from mammalian cerebral cortex. Nucleosome repeat lengths, DNA contents and H1 contents // *Eur. J. Biochem.* – 1984. – Vol. 144. – P. 353-360.
317. 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. – Vol. 25. – P. 25-54.
318. Polhill R., Raven P., Stirton C. Evolution and systematics of the Leguminosae // *Advances in Legume Systematics.* – 1981. – Kew. – Pt. 2. – P. 241-278.
319. Ponte I., Vidal-Taboada J.M., Sualu P. Evolution of the vertebrate H1 histone class: evidence for the functional differentiation of the subtypes // *Molecular Biology and Evolution.* – 1998. – Vol. 15. – P. 702-708.
320. Porter L.D., Hoheisel G., Coffman V.A. Resistance of peas to *Sclerotinia sclerotiorum* in the *Pisum* core collection // *Plant pathology.* – 2009. – Vol. 58. – P. 52-60.
321. Presl C. *Flora sicula, exhibens plantas vasculosas in Sicilia aut sponte crescentes aut frequentissime cultas, secundum systema naturale digestas: tomus primus* – Pragae – 1826 – 216 p.
322. Provvidenti R., Alconero R. Inheritance of resistance to a lentil strain of pea seed-borne mosaic virus in *Pisum sativum* // *Journal of Heredity.* – 1988. – Vol. 79. – P. 45-47.
323. Provvidenti R., Hampton R.O. Inheritance of resistance to white lupin mosaic virus in common pea // *HortScience.* – 1993. – Vol. 28. – P. 836-837.
324. Quezel P., Santa S. *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.* Tome I. – Editions du Centre Nacional de la Recherche Scientifique. – Paris. – 1962 – 558 p.
325. Rafinesque C.S. *Caratteri di Alcuni Nuovi Generi e Nuove Specie di Animali e Piante della Sicilia.* – Palermo. 1810.
326. Ramirez-Villegas J., Jarvis A., Läderach P. Empirical approaches for assessing impacts of climate change on agriculture: the EcoCrop model and a case study with grain sorghum // *Agricultural and Forest Meteorology.* – 2013. – Vol. 170. – P. 67-78.

327. Rameau D., Dénoue D., Fraval F., Haurogné H., Josserand 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. – Vol. 97. – P. 916-928.
328. Redden R.J., Yadav S.S., Hatfield J.L., Prasanna B.M., Vasal S.K., Lafarge T. The potential of climate change adjustment in crops: a synthesis. *Changing climate in North America: implications for crops* // Yadav, S. S., Redden, R. J., Hatfield, J. L., Lotze-Campen, H. and Hall, A. E. (eds). *Crop Adaptation to Climate Change.* – Wiley-Blackwell, Oxford, UK. – 2011. – P. 492-414.
329. Reichinger K.H. *Pisum* // Chrtková-Žertová A., van der Maesen L.J.G., Reichinger K.H. Papilionaceae I – Viciae. *Flora des Iranischen Hohlandes und der umrachmenden Gebirge. Persien, Afghanistan, Teile von West-Pakistan, Nord-Iraq, Azerbaijan, Turkmenistan* (K.H. Reichinger, ed.). No. 140. 1979. *Academische Druck und Verlagsanstalt, Graz*, S. 83-86.
330. Rooney A.P., Piontkivska H., Nei M. Molecular Evolution of the nontandemly repeated genes of the histone 3 multigene family // *Molecular Biology and Evolution.* – 2002. – Vol. 19. – P. 68-75.
331. Rosen, von D. Artkreuzungen in der Gattung *Pisum*. Insbesondere zwischen *P. sativum* L. und *P. abyssinicum* Braun // *Hereditas.* – 1944. – Vol. 30. – Iss. 3. – P: 261-392.
332. Rozov S.M., Voroshilova V.A., Tsyganov V.E., Priefer U.B., Borisov A.Y., Tikhonovich L.A. 2011. The *Coch* gene controls the subsequent differentiation of pea axial meristems into lateral structures // *Pisum Genetics.* – 2011. – Vol. 43. – P. 6-9.
333. Routh A., Sandin S., Rhodes D. 2008. Nucleosome repeat length and linker histone stoichiometry determine chromatin fiber structure // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2008. – Vol. 105. – P. 8872–8877.
334. Saalbach G., Erik P., Wienkoop S. Characterisation by proteomics of peribacteroid space and peribacteroid membrane preparations from pea (*Pisum sativum*) symbiosomes // *Proteomics.* – 2002. – Vol. 2. – P. 325-337.
335. Saccardo F. Crosses among *Pisum* species // *Pisum Newsletter.* – 1971. – Vol. 3. – P. 38.
336. Sancho M., Diani E., Beato M., Jordan A. Depletion of human histone H1 variants uncovers specific roles in gene expression and cell growth // *PLoS Genetics.* – 2008. – Vol. 4. – No. 10. e1000227 (10.1371).

337. Sansome, E.R. Segmental interchange in *Pisum sativum* // *Cytologia*. – 1932. – Vol. 2. – P. 200-219.
338. Sansome E.R. Segmental interchange in *Pisum sativum*. II // *Cytologia*. – 1933. – Vol. 5. – P. 15-30.
339. Sansome E.R. Segmental interchange lines in *Pisum sativum* // *Nature*. – 1938. – Vol. 142. – P. 674-675.
340. Sass C., Little D.P., Stevenson D.W., Specht C.D. DNA barcoding in the Cycadales: testing the potential of proposed barcoding markers for species identification of cycads // *PLoS One*. – 2007. – Vol. 11. – e1154.
341. Sera T., Wolffe A.P. Role of histone H1 as an architectural determinant of chromatin structure and as a specific repressor of transcription on *Xenopus* oocyte 5s rRNA genes // *Molecular and Cellular Biology*. - 1998. – Vol. 18. – P. 3668-3680.
342. Seregin A.P., Evseyenkov P.E., Svirin S.A., Fateryga A.V. Second contribution to the vascular flora of the Sevastopol area (the Crimea) // *Wulfenia* – 2015. – Vol. 22. – P. 33-82.
343. Schaefer H., Hechenleitner P., Santos-Guerra A., Menezes de Sequeira M., Pennington R.T., Kenicer G, Carine M.A. 2012. Systematics, biogeography, and character evolution of the legume tribe Fabeae with special focus on the middle-Atlantic island lineages // *BMC Evolutionary Biology*. – Vol. 12. – P. 250.
344. 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. – Vol. 135. – P. 2241-2260.
345. Schrank, F. 1818. *Flora Monacensis*. T. 4. – Monachii. – 400 pp.
346. Schultz J.C., Schonrogge K., Lichtenstein C.P. Plant response to bruchins // *Trends in Plant Science*. – 2001. – Vol. 6. – P. 406.
347. Singh R.J. *Plant Cytogenetics*. 2nd ed. – CRC Press, Boca Raton. – 2003. – 463 pp.
348. Smartt J.. *Grain legumes: evolution and genetic resources*. – Cambridge University Press, Cambridge. – 1990.
349. Smirnova O.G., Rozov S.M., Kosterin O.E., Berdnikov V.A. Perchloric acid extractable low- M_r albumins SCA and SAA from cotyledons and seed axes of pea (*Pisum sativum* L.) // *Plant Science*. – 1992. – Vol. 82. – P. 1-13.

350. Smýkal P., Coyne C.J., Ford R., Redden R.J., Flavell A.J., Hýbl M., Warkentin, T., Burstin J., Duc, G., Ambrose M.J. and Ellis N.T.H. Effort towards a wild pea (*Pisum sativum* L.) germplasm core collection: the case for common markers and data compatibility // *Pisum Genetics*. – 2008. – Vol. 40. – P. 11-13.
351. Smýkal P., Kenicer G., Flavell A.J., Corander J., Kosterin O., Redden R.J., Ford R., Coyne C.J., Maxted N., Ambrose M.J. and Ellis N.T.H. Phylogeny, phylogeography and genetic diversity of the *Pisum* genus // *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*. – 2010. – Vol. 2010. – P. 1-15.
352. Smýkal P., Aubert G., Burstin J., Coyne C.J., Ellis N.T., Flavell A.J., Ford R., Hýbl M., Macas I., 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. – Vol. 2. – P. 74-115.
353. Soldano A. 1992. Riproposizione di taxa sottospecifici prioritari dovuti a botanici italiani // *Natura Bresciana (Ann. Mus. Civ. Sci. Nat., Brescia)*. Vol. 27 (1990-1991). P. 51-56.
354. Somers D.A., Samac D.A., Olhoft P.M. Recent advances in legume transformation // *Plant Physiol*. – 2003. – Vol. 131. – P. 892-899.
355. Staden R., Beal K.F., Bonfield J.K. The Staden package, 1998 // *Methods Mol. Biol*. – 2000. – Vol. 132. – P. 115-130.
356. Sutton A.W. Results obtained by crossing a wild pea from Palestine with commercial types // *J. Linn. Soc. Bot*. – 1914. – Vol. 42. – P. 427-433.
357. Svabova L., Smýkal P., Griga M., Ondrej V. *Agrobacterium*-mediated transformation of *Pisum sativum* *in vitro* and *in vivo* // *Biol. Plant*. – 2005. – Vol. 49. – P. 361-370.
358. Takami Y., Nishi R., Nakayama T. Histone H1 variants play individual roles in transcription regulation in the DT40 chicken B cell line // *Biochemistry and Biophysics Research Communications*. – 2000. – Vol. 268. – P. 501-508.
359. Talasz H., Sapojnikova N., Helliger W., Lindner H., Puschendorf B. In vitro binding of H1 histone subtypes to nucleosomal organized mouse mammary tumor virus long terminal repeat promotor // *Journal of Biological Chemistry*. – 1998. – Vol. 273. – P. 32236-32243.
360. Tamura K., Dudley J., Nei M., Kumar S. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0 // *Mol. Biol. Evol*. – 2007. – Vol. 24. – P. 1596-1599.

361. Tamura K., Stecher G., Peterson D., Kumar S., MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 // *Mol Biol Evol.* – 2013. – Vol. 30. – P. 2725-2729.
362. Tanno K., Wilcox G. How fast was wild wheat domesticated? // *Science.* – 2006. – Vol. 311. – P. 1886
363. Tar'an B, Zhang C, Wankert T, Tullu A, Vandenberg A: Genetic diversity among varieties and wild species accessions of pea (*Pisum sativum* L.) based on molecular markers, and morphological and physiological characters // *Genome.* – 2005. – Vol. 48. – P. 257-272.
364. Temnykh S.V., Weeden N.F. A brief synopsis of the current status of pea cytogenetics // *Pisum Genetics.* – 1993. – Vol. 25. – P. 1-4.
365. The Pisum-Genebank. Origin Listing of Weibullsholm collection. Weibullsholm Plant Breeding Institute, Landsrona, Sweden. 1984. 352 p.
366. Th'ng J.P.H., Sung R., Ming Y., Hendzel M.J. H1 family histones in the nucleus: control of binding and localization by the C-terminal domain // *Journal of Biological Chemistry.* – 2005. – Vol. 280. P. 27809-27814.
367. Townsend C. Contribution to the flora of Iraq. V. Notes on Leguminosales. – *Kew Bull. Roy. Bot. Gard.* – 1968. – Vol. 2. – P. 435-458.
368. Trusov Y.A., Bogdanova V.S., Berdnikov V.A. Evolution of regular zone of histone H1 in Fabaceae plants // *J. Mol. Evol.* – 2004. – Vol. 59. – P. 546-555.
369. Valderrama M.R., Roman B., Satovic Z., Rubiales D., Cubero J. I., Torres A.M. 2004. Locating quantitative trait loci associated with *Orobanche crenata* resistance in pea // *Weed Research.* – Vol. 44. – P. 323-328.
370. 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. – Vol. 20. – P. 2067-2075.
371. Vito M.D., Perrino P. Reaction of *Pisum* spp. to the attacks of *Heterodera goettingiana* // *Nematologia Mediterranea.* – 1978. – Vol. 6. – P. 113-118.
372. Waines J.G. 1975. The biosystematics and domestication of peas (*Pisum* L.) // *Bulletin of the Torrey Botanical Club.* – Vol. 102. – P. 385-395.

373. Weeden N.F. 2007. Genetic changes accompanying the domestication of *Pisum sativum*: is there a common genetic basis to the ‘domestication syndrome’ for legumes? // *Annals of Botany*. – Vol. 100. – P. 1017-1025.
374. Weeden N.F., Boone W.E. Mapping the *Rb* locus on linkage group III using long PCR followed by endonuclease digestion // *Pisum Genetics*. – 1999. – Vol. 31. – P. 36.
375. Weeden N.F., Brauner S.O.R.E.N., Przyborowski J. A. Genetic analysis of pod dehiscence in pea (*Pisum sativum* L.) // *Cellular and Molecular Biology Letters*. – 2002. – Vol. 7(2B). – P. 657-664.
376. 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 Genetics*. – 1998. – Vol. 30. – P. 1–3.
377. 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. – Vol. 78. – P. 153-159.
378. Weeden N.F., Porter L. 2007. The genetic basis of *Fusarium* root rot tolerance in the ‘Afghanistan’ pea // *Pisum Genetics*. – 2007. – Vol. 39. – P. 35-36.
379. Weiss E., Kislev M.E., Hartmann A. Autonomous cultivation before domestication // *Science*. – 2006. – Vol. 312. – P. 1608–1610.
380. Welch B.L. The generalisation of “Student’s” problem when several different population variances are involved // *Biometrika*. – 1947. – Vol. 34. – P. 28-35.
381. Wellensiek S.J. Genetic monograph on *Pisum* // *Bibliographia Genetica*. – 1925. – Vol. 2. – P. 343-476.
382. Woodcock C.L., Skoultchi A.I., Fan Y. 2006. Role of linker histone in chromatin structure and function: H1 stoichiometry and nucleosome repeat length // *Chromosome Research*. – Vol. 14. – P. 17-25.
383. Wroth J.M. Possible role of wild genotypes of *Pisum* spp. to enhance ascochyta blight resistance in pea // *Australian Journal of Experimental Agriculture*. – 1998. – Vol. 38. – P. 469-479.

384. Yang. J.P.W., Johnson, W.B., Brewin N.J. A search for peas (*Pisum sativum* L.) showing strain specificity for symbiotic *Rhizobium leguminosarum* // Heredity. – 1982. – Vol. 48. – P. 197-201.
385. Yang. J.P.W., Matthews, P. A distinct class of peas (*Pisum sativum* L.) showing strain specificity for symbiotic *Rhizobium leguminosarum* // Heredity. – 1982. – Vol. 48. – P. 203-210.
386. Zhu C.; Gore M.; Buckler E.S.; Yu J. Status and prospects of association mapping in plants // Plant Genome. – 2008. – Vol. 1. – P. 5-20.
387. 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. – Vol. 504. – P. 192-202.
388. 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. – Vol. 556. – P. 235-244.
389. Zlatanova I., Caiafa P., Van Holde K. Linker histone binding and displacement: versatile mechanism for transcriptional regulation // FASEB Journal. – 2000. – Vol. 14. – P. 1697-1704.
390. Zlatković B., Mikić A., Smýkal P. Distribution and new records of *Pisum sativum* subsp. *elatius* in Serbia // Pisum Genetics. – 2010. – Vol. 42. – P. 15-17.
391. Zohary M. Geobotanical foundations of the Middle East. I-II. – Stuttgart: Gustav Fischer Verlag. – 1973.