

УДК 575.16

ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*Pisum sativum*) В КАЧЕСТВЕ МОДЕЛЬНОГО ОБЪЕКТА В ГЕНЕТИКЕ РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ

© 2008 г. А. А. Синюшин, С. А. Гостимский

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Рассмотрены основные результаты, полученные современной генетикой развития растений с использованием гороха посевного (*Pisum sativum*) в качестве модельного объекта, проанализированы возможные подходы к изучению этого вида. Обсуждается возможность аппроксимирования данных, полученных на традиционных модельных объектах, на представителей других таксонов.

ВВЕДЕНИЕ

Горох посевной (*Pisum sativum* L.: Fabaceae) – растение, с которым исторически связано возникновение генетики в качестве самостоятельной научной дисциплины. Именно в результате экспериментов с горохом Грегор Мендель сформулировал закономерности наследования, которые легли в основание новой науки [47].

Естественным следствием развития генетики и накопления в ее рамках значительного количества информации стало разделение единой науки на несколько направлений, среди которых в настоящее время генетика развития представляется одним из самых актуальных. Выявление закономерностей генетического контроля протекания основных процессов развития для сколь угодно большого числа организмов становится возможным при изучении модельных объектов. Такими объектами стали виды, представители которых обладают рядом особенностей, тем или иным образом предпочтительных при экспериментальной работе: наличием большого числа признаков с контрастным проявлением, плодовитостью, простотой культивирования и т.д. В последнее десятилетие к этому списку добавилось наличие данных о полной последовательности генома. Полученные в отношении модельных объектов результаты могут быть с той или иной степенью достоверности экстраполированы на родственные этим объектам формы или таксоны достаточно высокого ранга (например, высшие растения в целом).

Основными модельными объектами генетики развития растений стали резуховидка Таля из семейства Крестоцветных (*Arabidopsis thaliana* (L.) Neuph.: Brassicaceae) и львиный зев из семейства Норичниковых (*Antirrhinum majus* L.: Scrophulariaceae). К настоящему моменту известны полные последовательности геномов этих растений, созданы обширные Интернет-базы данных по из-

вестным генам и признакам, сформированы крупные международные коллекции семян мутантов и лабораторных линий. Сходные собрания существуют и для гороха; в первую очередь следует назвать наиболее обширную коллекцию семян сортов, подвидов и линий гороха в Центре Джона Иннеса в Великобритании (John Innes Collection). На фоне интенсивного изучения генетики развития других объектов аналогичные исследования в отношении гороха посевного носят в целом более разрозненный характер; ценность этого объекта как модельного в биологии развития растений в течение длительного времени представлялась меньшей, нежели *Arabidopsis* и *Antirrhinum*. В значительной мере это связано, вероятно, с отсутствием данных о полной нуклеотидной последовательности генома и значительными трудностями при работе методами геномной инженерии (в первую очередь при трансформации).

Систематическая работа по установлению нуклеотидной последовательности генома гороха не проведена. К настоящему моменту получены данные о практически полных последовательностях геномов двух видов Бобовых – люцерны усеченной (*Medicago truncatula* Gaertn.) и лядвенца японского (*Lotus japonicus* L.). Более того, показано соответствие (макросинтения) между хромосомами гороха и люцерны посевной (*Medicago sativa* L.) [17, 34]. Известные нуклеотидные последовательности доступны в сети Internet в виде электронных баз данных (таких, например, как <http://www.medicago.org/>). Таким образом, имеется реальная возможность поиска предполагаемых гомологов генов резуховидки в геноме гороха, открывающая перспективы для молекулярно-биологических исследований в генетике развития последнего. Достаточно многообещающим представляется метод поиска генов-кандидатов у гороха с использованием сходства фенотипов мутантов. Сравнение проявления мутаций у гороха с хорошо изученными объектами позволяет опре-

делить “ген-кандидат” и провести детальный молекулярно-генетический анализ даже при отсутствии у гороха насыщенной генетической и физической карт, как, например, в работах [27, 63]. Существование макросинтезии позволяет проводить выделение и анализ генов даже при отсутствии геномных библиотек на основе ВАС-клонов. Альтернативный подход связан с поиском структурных гомологов изученных генов в геноме другого объекта по сходству нуклеотидных последовательностей (например, методом прямой амплификации с вырожденными праймерами) и соотнесение полученных локусов с известными мутациями. Этот подход относится к методам “обратной генетики” и был успешно применен [22, 27].

Как и в отношении прочих модельных объектов, выводы, сделанные на основании полученных на горохе результатов могут быть обобщены, по крайней мере, для родственных представителей семейства Бобовых. Изменчивость у *Pisum sativum* воспроизводит отдельные проявления, характерные в норме для различных *Fabaceae*, что укладывается в рамки закона гомологических рядов в наследственной изменчивости [2]. Так, например, непарноперистосложный (“акациевидный”) лист, развивающийся у мутантов гороха *tl*, характерен для большого числа родов Бобовых (например, *Astragalus*, *Robinia*, *Colutea* и др.). Именно на основании подобного сходства Лампрехт выдвинул гипотезу о существовании “межвидовых генов” ([36] цит. по [37, 39]), мутации в которых имеют плейотропное проявление и приводят к появлению сходства с родственными видами по многим признакам. Например, им был описан ген *LATHYRUS-LIKE (LATH)*, мутации в котором вызывают появление “чиноподобных” форм гороха (от *Lathyrus* – чина).

Настоящий краткий обзор призван осветить основные достижения и перспективы использования гороха посевного в качестве модельного объекта в генетике развития.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ОРГАНОГЕНЕЗА У ГОРОХА

Генетический контроль развития цветка. Наряду с львиным зевом горох представляется чрезвычайно интересным объектом для изучения генетического контроля развития зигоморфного цветка. У растений дикого типа формируется цветок с двойным околоцветником, двумя кругами тычинок, срастающихся в трубку (противоположная флагу тычинка свободна), и одного плодолистика, дающего начало плоду – бобу. Наиболее типично для семейства Бобовых развитие пяти лепестков с характерными расположением и морфологией. Строение и развитие цветка гороха

были подробно описаны как в отечественных, так и в зарубежных работах [1, 21, 67].

На основе обобщения материала, полученного при исследовании *Arabidopsis* и *Antirrhinum*, сформулирована так называемая АВС-модель развития цветка. Согласно основным положениям этой модели, определение типа органа происходит в результате экспрессии генов трех классов, условно называемых А, В и С [18, 26, 69]. Экспрессия генов класса А определяет формирование чашелистиков (I круг), С – плодолистиков (IV круг); одновременная экспрессия А и В приводит к развитию лепестков (II круг), а В и С – элементов андрогцея (III круг). Существуют различные модификации и дополнения к этой модели. Эктопическая экспрессия генов описанных классов приводит к формированию органов цветка с нехарактерным положением или промежуточного строения; ряд авторов определяют аномалии подобного рода как гомеозисные замены, в то время как другие исследователи склонны трактовать возникающие у мутантов структурные преобразования, используя иные термины [7].

У гороха посевного получены мутанты, фенотип которых сходен с фенотипом мутантов *Arabidopsis* по генам классов А, В и С [20, 21]. Так, ген *CALYX CARPELLARIS (CC)* относится к классу А. У мутантов *cc* лепестки не развиваются, а чашелистики превращены в плодолистки, сохраняющие характерное для элементов I круга число и положение. Эктопическая рыльцевая поверхность обнаруживается и на листочках и усиках сложного листа, подтверждая гипотезу о сходстве (или частичной общности) путей развития листа и цветка у гороха [21].

Ген *STAMINA PISTILLOIDA (STP)* у гороха является гомологом генов *UNUSUAL FLORAL ORGANS (UFO)* *Arabidopsis* и *FIMBRIATA (FIM)* *Antirrhinum* [64]. Все три гена участвуют в регуляции экспрессии генов класса В (и отчасти С у львиного зева и резуховидки). У гороха ген *STP* участвует также в контроле морфогенеза соцветия, определении пути развития флоральной меристемы (у мутантов *stp-2* в цветке закладываются вторичные флоральные меристемы) и листа. Последнее обстоятельство следует считать достаточно характерным именно для гороха. Мутанты *stp-2* обладают более выраженным фенотипом: лепестки превращены в чашелистики, а тычинки – в плодолистки. У гомозигот по аллелю *stp-1* происходит превращение двух тычинок наружного круга, граничащих со свободной (вексиллярной) тычинкой внутреннего круга, в плодолистки. Наряду с гомеозисной заменой, характерной для мутанта по гену класса В, наблюдается, таким образом, свойственная зигоморфному цветку асимметрия в экспрессии гена.

Ген *PETALOSUS* (*PE*) принадлежит к классу *C* и регулирует развитие III и IV кругов. У мутантов *pe* развивается “махровый” цветок с многочисленными лепестками, частично петализованными тычинками и нарушениями в развитии плодolistика [21].

Генетический контроль формирования зигоморфного цветка, представляющий особый интерес, изучен пока недостаточно. Описан ген *KEELED WINGS* (*K*), мутация в котором вызывает превращение (по-видимому, можно говорить именно о гомеозисной замене) крыльев в сходные с элементами лодочки лепестки. Кроме того, при формировании зигоморфного цветка важное значение имеет экспрессия гена *LOBBED STANDARD* (*LST*), участвующего в формировании флага: у мутантов *lst* наблюдается широкий спектр нарушений образования этого лепестка вплоть до полного неразвития [9, 71]. У двойных мутантов *k lst* все лепестки приобретают черты сходства с элементами лодочки [9].

Ключевыми генами, определяющими билатеральную симметрию цветка у львиного зева, считаются *CYCLOIDEA* (*CYC*) и *DICHOTOMA* (*DICH*) [19]. У мутантов *sus* все цветки актиноморфны, т.е. нарушается проявление одного из наиболее характерных для семейства *Scrophulariaceae* признаков. У гороха (и в целом у Бобовых) мутанты со сходным фенотипом неизвестны, хотя даже в пределах подсемейства *Papilionoideae* описаны некоторые роды с актиноморфным околоцветником (например, *Cadia* Forssk.). Последовательности, сходные с геном *CYC*, у Бобовых известны и представлены в геноме различных представителей в числе нескольких копий [23]. Не исключено, что функция этих последовательностей в морфогенезе цветка с раздельнолепестным венчиком иная, нежели в случае спайнолепестного цветка *Antirrhinum*, хотя соотнести их с уже известными генами пока не удалось. Любопытно, что гомолог *CYC* и *DICH* у крестоцветного с зигоморфным венчиком, *Iberis amara* L., (*laTCP1*) также вовлечен в процесс формирования симметрии цветка, но в составе иных путей генетического контроля, нежели у *Antirrhinum* [16].

Необходимо отметить, что переход от актиноморфного к зигоморфному строению цветка осуществлялся в различных группах Покрытосеменных независимо и многократно (см. [19]). Поэтому пути генетического контроля формирования симметрии цветка у *Antirrhinum* и *Pisum* (представителей классов *Asteridae* и *Rosidae* соответственно), вероятнее всего, сходны лишь отчасти. Дальнейшие молекулярно-генетические исследования призваны определить степень этого сходства.

Необычной чертой генетического контроля развития цветка у гороха следует считать одновременную вовлеченность многих генов в регуля-

цию морфогенеза цветка и листа. Сходство генетического контроля развития листа и цветка может служить аргументом в пользу необходимости изучения частных особенностей биологии развития у различных видов в силу невозможности экстраполяции данных, полученных в отношении *Arabidopsis* и *Antirrhinum*. По всей видимости, в отношении *Pisum* имеет место система регуляции морфогенеза, существенно отличающаяся от таковой у более хорошо изученных объектов. Интерес к гороху как модельному объекту генетики развития во многом выходит, таким образом, за рамки частной генетики и имеет непосредственное значение для понимания принципов биологии развития растений в целом.

Генетический контроль развития листа. В настоящее время горох является основным модельным объектом для изучения биологии развития сложного листа [31]. В норме развивается парноперистосложный лист с крупными стеблеобъемлющими прилистниками, 2–3 парами листочков и 2–3 парами усиков. Рахис также оканчивается усиком. У различных подвидов гороха посевного число листочков сложного листа может варьировать, структура листа также изменяется в ходе онтогенеза (можно выделить низовые, срединные и верховые листья).

К настоящему моменту в каталоге John Innes Collection (Великобритания, <http://data.jic.bbsrc.ac.uk/cgi-bin/pgene/default.asp>) описано более 50 генов, участвующих в развитии листа. Практически ежегодно в литературе появляются описания новых – или взаимодействий уже известных – генов, оказывающих влияние на анатомическое или морфологическое строение листа в целом или отдельных структур в его составе – прилистников, рахиса и листочков.

Одним из основных генов, участвующих в формировании листа, цветка и архитектуры соцветия в целом, является ген *UNIFOLIATA* (*UNI*). У гомозиготных по “жесткому” мутантному аллелю растений *uni* развивается простой лист, отмечаются нарушения в строении цветка, мутант стерилен [29]. У гомозигот по аллелям с более “мягким” действием проявление всех аномалий ослаблено. Например, у гомозигот по аллелю *uni*^{lac} рахис оканчивается не усиком, а листочком, а отклонения в структуре цветка не наблюдаются.

Обобщение результатов изучения генетического контроля формирования сложного листа у гороха нашло отражение в виде различных моделей. Наиболее простая из них была основана на формировании архитектуры листа как баланса противоположных тенденций – формирования пар усиков на дистальной части оси (рахиса) листа и пар листочков – на проксимальной; при этом исходно закладываются примордии, способные дать начало как листочку, так и усика [32, 43]. Со-

гласно предложенной авторами работы схеме, у мутантов *af* сохраняется только зона формирования усиков (фенотип “*afila*”), а у мутантов *tl* – зона формирования листочков (фенотип “*acasia*”). Каждый примордий у мутантов *af* утрачивает (или сокращает) индивидуальную зону подавления, в пределах которой закладка последующего примордия невозможна, что приводит к повышению порядка ветвления оси листа у этих мутантов. У двойных мутантов *af tl* развивается лист с ветвлением оси высокого порядка, и каждая ось заканчивается листочком (фенотип “*pleiofila*” или “*parsley-leaf*”). Таким образом, основа структуры сложного листа объяснялась результатом совместного действия всего двух генов.

Предложена несколько более сложная схема взаимодействия генов, ответственных за развитие листа [74]. В математизированной форме автор исходил из предположений о том, что три основных типа структур в составе сложного листа (рахис, листочек и усик) развиваются из различных примордиев и направление дифференцировки примордия каждого типа зависит от его размера. Из самого крупного зачатка развивается рахис, из меньших по размеру – листочки, из самых маленьких – усики. Роль генов *AF* и *TL* сводится к определению пороговых значений для размеров (“размер” в данном случае – условная величина) зачатков различных типов структур. Любопытно, что в работе при характеристике мутантных фенотипов использован термин “гомеозис” и обсуждается возможность объяснения с помощью этой модели возникновения иных типов листа, характерных для Бобовых – например, тройчатого (*Trifolium*) или пальмовидного (*Lupinus*). Прогностическая ценность этой модели была подтверждена в более поздних работах (например, [24]), однако к настоящему моменту накоплен материал, свидетельствующий в пользу большей сложности регуляции морфогенеза листа у Бобовых.

В настоящее время в результате изучения фенотипа мутантов, уровней и областей экспрессии соответствующих генов создана значительно более сложная модель [25]. Ключевым геном, регулирующим морфогенез сложного листа, является *UNI*, экспрессия которого приурочена к областям закладки и дифференциации листа в целом, листочков и усиков (в оригинале для обозначения таких областей использован термин “бластозона”). В ходе специализации этих органов уровень экспрессии *UNI* снижается вплоть до полного исчезновения в дифференцированных структурах. Таким образом, у мутантов *uni* сложный лист в принципе не формируется (см. выше). Негативную регуляцию гена *UNI* осуществляют гены *AF* (в примордиях листочков в проксимальной части листа и усиков – в дистальной) и *TL* (в зачатках усиков). Наконец, ген *COCH* (*COCHLEATA*) подавляет экспрессию гена *UNI* в прилистниках: у

мутантов *coch* наблюдается эктопическая экспрессия *UNI* в примордиях прилистников, и последние приобретают сходство со сложными листьями. Характерно, что у двойных мутантов *coch uni* “сложные прилистники” не формируются [25]. Еще одним предполагаемым негативным регулятором *UNI* является ген *STIPULES REDUCED* (*ST*) (там же), основная функция которого связана с активностью маргинальных меристем прилистников. Схематически взаимодействие ключевых генов при развитии листа представлено на рис. 1.

Структура листа у растений в норме является результатом согласованных морфогенетических процессов в трех направлениях: дистально-проксимальном, дорзовентральном и медиально-латеральном. Большинство известных мутаций в генах, ответственных за формирование листа у гороха, нарушают морфогенез дистально-проксимального направления. Генетический контроль определения дорзовентральной полярной структуры, разграничения абаксиальной и адаксиальной сторон формирующегося листового примордия впервые был изучен у *Antirrhinum majus*. У этого модельного объекта описан ген *PHANTASTICA* (*PHAN*), продуктом которого является фактор транскрипции MYB [68]. Гомологи этого гена охарактеризованы у многих растений, в том числе и у гороха, для которого описан гомологичный *PHAN* ген *CRISPA* (*CRI*). У мутантов *cri* отмечаются нарушения структуры листа, проявляющиеся в первую очередь в формировании на верхней поверхности листа секторов, идентичных нижней поверхности [63]. Как и у многих других мутантов по генам, участвующим в формировании листа, у растений *cri* наблюдаются некоторые отклонения в развитии цветка, фертильность зачастую понижена.

Генетический контроль формирования архитектуры соцветия. Для гороха характерна открытая двойная фрондозная кисть. Ось первого порядка имеет индетерминантный тип роста; в пазухах листьев развиваются кисти – обычно двуцветковые, ось которых рано завершает пролиферацию и оканчивается рудиментарным отростком (“*stub*”). Цветки занимают на оси пазушного соцветия латеральное положение.

Одним из основных генов, участвующих в формировании нормальной структуры соцветия и определении времени зацветания у *Arabidopsis*, является ген *TERMINAL FLOWER1* (*TFL1*). У *Antirrhinum* ему гомологичен ген *CENTRORADIALIS* (*CEN*), мутации в котором также вызывают развитие терминального цветка [15]. У гороха описаны три гомолога *CEN/TFL1*; функция одного из них неизвестна, а два других регулируют развитие соцветия [22]. Один из них, *LATE FLOWERING* (*LF*), определяет время перехода к цветению. У мутантов *lf* положение первого репродуктивного

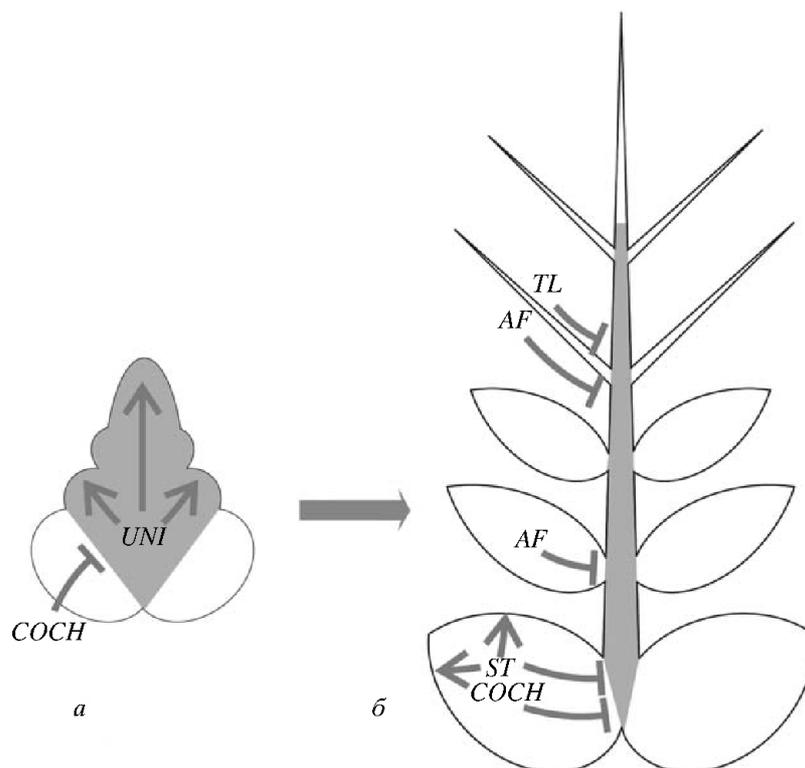


Рис. 1. Схема генетического контроля развития листа у гороха на стадиях закладки (а) и дифференциации (б) примордиев (пояснения в тексте). Серым цветом обозначена область экспрессии гена *UNI*.

узла изменяется, и меристема пазушного соцветия закладывается раньше, чем у растений дикого типа. Более детальная информация о генах, контролирующих переход к цветению у гороха, приведена в обзоре [70].

Второй гомолог гена *TFL1*, *DETERMINATE (DET)*, участвует в определении судьбы апикальной меристемы: у мутантов *det* происходит превращение (Зингер с соавт. [57] определяют его как гомеозисную замену) ПАМ в меристему пазушного соцветия, и ось завершается двухцветковой кистью [45, 59]. Немаловажно, что соцветие мутанта *det* остается открытым и терминальный цветок (в отличие от мутантов *tfl1* *Arabidopsis*) не формируется [57]. Участие гомологов гена *TFL1* *Arabidopsis* в генетическом контроле формирования соцветия гороха служит наглядным примером разделения функций одного гена между несколькими гомологами (или, напротив, объединения нескольких активностей в продукте одного гена, если эволюция *Rosidae* шла путем редукции числа *TFL1*-подобных генов).

Способность ПАМ к формированию пазушных меристем свойственна растениям гороха в норме, но активность этих меристем генетически детерминирована. При снятии апикального доминирования (например, при декаптации) пазушные почки при определенных условиях способны

дать начало осям второго порядка. Описаны несколько генов, формирующих семейство *RAMOSUS (RMS)*, которые регулируют возможность ветвления главной оси (образования осей второго порядка) [10]. У мутантов *rms* наблюдается активное ветвление, сходное с отмечающимся в норме у некоторых родственных Бобовых. Так, например, у *Lathyrus pratensis* L. оси второго порядка развиваются даже в пазухах листьев репродуктивных узлов, что приводит к формированию многоосного побега с высоким порядком ветвления. Активность пазушных меристем сопряжена с определенным гормональным фоном и зависит от светового режима. Достаточно подробно современные данные о механизме регуляции их активности приведены в обзоре [12].

Гены семейства *VEGETATIVE (VEG1* и *VEG2)* ответственны за переход к цветению: мутанты по этим генам неспособны к формированию пазушных цветonoсов. Показано их взаимодействие с геном *LF*, возможно, связанное с подавлением этим геном активности *VEG1* и *VEG2* на новообразованных осях второго порядка [12, 48]. У двойных мутантов *det veg* на главной оси развивается терминальный цветок или терминальный и латеральный цветки, обычно срастающиеся [58]. Описан ген *DETERMINATE HABIT (DEH)*, мутации в котором приводят к развитию “детерминантно-

го” типа роста (термин представляется некорректным, поскольку формирования терминального цветка не происходит, и соцветие остается индетерминантным), закрепленного в ряде сортов [8]. Растения с генотипом *deh* рано прекращают рост за счет отмирания апекса. Кроме того, у мутантов происходит постепенное подавление развития листьев: в репродуктивной зоне побега листья становятся однолисточковыми или чешуевидными. Хотя механизм действия этого гена неясен, очевидно, что он важен в формировании фрондозного открытого соцветия у гороха.

Ген *PROLIFERATING INFLORESCENCE MERISTEM (PIM)*, синоним *PEAM4* кодирует MADS-бокс-содержащий белок и является ортологом генов *APETALA1 Arabidopsis* и *SQUAMOSA Antirrhinum* [65]. Эти гены играют значительную роль в развитии соцветия, контролируя переход к формированию цветка и отчасти морфогенез самого цветка. Наличие консервативного MADS-бокса в генах растений и других организмов позволяет предположить, что эти гены кодируют содержащие MADS-домен белки – факторы транскрипции [3]. У мутантов по гену *PIM* вместо флоральной меристемы в пазушном соцветии закладывается меристема пазушного соцветия второго порядка (или третьего по отношению к главной оси), а цветки развиваются с нарушениями; экспрессия этого гена отмечается во флоральной меристеме и в околоцветнике на более поздних стадиях развития. У двух независимо полученных мутантов, *pim-1* и *pim-2*, мутации в структуре гена приводили к ошибкам при сплайсинге, нарушая функционирование белкового продукта [65]. Сходные наследственные аномалии развития соцветия отмечены у *Melilotus albus* Desr. [28] и *Medicago falcata* L. (Синюшин, неопубликованные данные). Идентичность функций *API*-подобных генов у резуховидки и гороха была подтверждена экспериментально: мутанты *ap1-1 Arabidopsis*, трансформированные последовательностью *PEAM4* гороха, восстанавливали нормальный фенотип [11]. Следовательно, генетический контроль формирования соцветия и цветка у видов с различной архитектурой соцветия обладает определенным сходством.

Мутации в гене *BROCCOLI (BROC)* усиливают действие рецессивного аллеля *pim*, и нарушения в структуре пазушного цветоноса оказываются у форм *pim broc* более значительными, чем у *pim* [58].

Число цветков в пазушных кистях в норме у гороха составляет два, однако формы с большим или меньшим числом цветков привлекали внимание исследователей, в том числе с позиций перспективы создания высокопродуктивных сортов гороха с увеличенным числом цветков. Лампрехт [37] описал два гена, *FN* и *FNA*, которые взаимо-

действуют по типу кумулятивной полимерии и определяют число цветков в пазушном соцветии следующим образом: у растений с генотипом *FN FNA* образуется один цветок, у форм *FN fn* и *fn FNA* – два, у двойных гомозигот по рецессивным аллелям (*fn fn*) – три. С другой стороны, в более поздних исследованиях было подчеркнуто, что этот признак подвержен значительному модифицирующему влиянию окружающей среды и находится, в частности, в зависимости от температуры, светового режима и газового состава атмосферы [30].

Примечательно, что идея Лампрехта о полимерном взаимодействии многих генов гороха дала ему основание для гипотезы о том, что вид *Pisum sativum* является полиплоидным по отношению к какой-то предковой форме и число хромосом у гороха представляет собой результат редукции и перестроек [37]. Впоследствии представление о полигенном контроле развития многих признаков гороха было пересмотрено рядом исследователей. Так, например, выдвинута гипотеза о регуляции числа цветков пазушной кисти всего одним геном, *NEPTUNE (NEP)*; у гомозигот по рецессивному аллелю развивается до пяти цветков на одном цветоносе [58]. Авторы упомянутой работы подчеркивают значительную зависимость проявления признака от внешних условий. У большинства родственных *Fabaceae (Vicia, Lathyrus)* развиваются пазушные кисти с большим числом цветков, хотя для некоторых видов (например, *Vicia sativa* L.) характерно обеднение кисти до одного–двух цветков, как и у гороха.

В норме пазушные соцветия у *Pisum* абрактеезные, но в ряде случаев возможно образование брактеев, иногда парных. Постулировано существование двух полимерных генов *BR* и *BRA (BRACTEATUS)*, контролирующих развитие брактеезного соцветия [40, 41]. По-видимому, признак подвержен сильному модифицирующему влиянию среды и генетического окружения. Анализ материалов Гербария Московского Университета им. Д.П. Сырейщикова (MW!) показал, что для представителей трибы *Vicieae (Adans.) DC.* в целом характерна полная или практически полная редукция брактеев, которые у видов в составе родов *Vicia* и *Lathyrus* могут иметь вид волосковидных структур. Хотя возможны иные случаи (так, у *L. aleuticus (Greene)* Poved первый цветок в пазушной кисти развивается в пазухе достаточно крупной фотосинтезирующей брактее, шиловидные брактеев предваряют цветки пазушного соцветия *L. chloranthus Boiss. & Balansa*), появление прицветников у мутантов гороха можно рассматривать как проявление анцестральных черт, не характерных для трибы.

Большое значение для формирования габитуса растения в целом имеет образование междууз-

лей нормальной длины. У гороха описано достаточно много генов, которые связаны с рецепцией, транспортом или синтезом гормонов гиббереллинового ряда, участвуя тем самым в процессах удлинения междоузлий. При возникновении мутаций в этих генах возможны как карликовость, связанная с укорочением междоузлий (фенотип “dwarf”), так и избыточное растяжение (фенотип “slender”). Например, гены *LE*, *NA*, *LH* и *LS* контролируют последовательные этапы синтеза эндогенного гиббереллина; мутации в генах *LA*, *CRY* и *LK* вызывают сниженную, а *LV* – повышенную чувствительность к гиббереллину [50, 51]. Генетический контроль и биохимические аспекты метаболизма гиббереллинов у гороха являются одной из наиболее полно изученных областей биологии развития этого вида.

Построена модель генетического контроля формирования соцветия у *Pisum* [58]. По мнению авторов этой работы, одним из ключевых генов, определяющих структуру соцветия, является *UNI*. Соцветия мутантов *uni* сходны с таковыми у мутантов *det* – главная ось завершается цветоносом, идентичным пазушному, т.е. *UNI* позитивно регулирует ген *DET*, и функции этих генов частично взаимозаменяемы. Таким образом, взаимодействие *UNI* с другими генами воспроизводит взаимодействия его гомолога у *A. majus* – гена *FLORICAULA* (*FLO*) – с другими генами, регулирующими развитие соцветия у львиного зева. Так, показано, что *FLO* позитивно регулирует экспрессию гена *CEN* у *Antirrhinum* [15, 48]. Взаимодействие гомологичных генов у различных видов имеет, таким образом, определенные черты сходства, но во многом различно, в частности, в силу принципиально иной архитектуры соцветия у гороха.

Генетический контроль развития корня. Особенности генетического контроля ризогенеза изучены у гороха явно недостаточно. Известны лишь несколько генов, мутации в которых нарушают структуру корня. Одним из первых был описан ген, который ответственен за формирование нормального геотропизма – *AGEOTROPUM* (*AGE*). У мутантов *age* рост корня под землей происходит с отрицательным геотропизмом, а над землей при условии освещения – параллельно грунту [13].

Кроме того, было установлено существование генов *BRANCHED ROOTS* (*BRT*) и *LONG ROOTS* (*LRT*), рецессивные аллели которых в гомозиготе вызывают формирование избыточно ветвящегося (*brt*) и аномально длинного (*lrt*) корня соответственно [55]. Показано резкое снижение способности к образованию симбиотических клубеньков на корнях мутантов *lrt*.

Ген *CURLY ROOTS* (*CRT*) также связан с морфогенезом корня, изменяя чувствительность к эк-

зогенному ауксину [66]. У мутантов *crt* на плотной среде культивирования формируется компактная корневая система небольших размеров, корни извиты и укорочены, в то время как на средах невысокой плотности отличий по сравнению с диким типом практически нет. Предполагается, что ген *CRT* участвует в метаболизме или рецепции ауксина в растении, однако конкретные детали механизмов действия неизвестны.

Отчасти в регуляции развития корня участвуют гены, связанные с метаболизмом гиббереллинов (см. выше) [73]. Например, у мутанта *lm* формируется фенотип “micro”, при котором все органы растения оказываются меньше, чем у дикого типа, за счет меньших размеров клеток (но не их числа). Корни при этом оказываются укороченными [44, 49]. Вообще у растений, карликовость (“dwarfism”) которых связана с метаболизмом гиббереллинов, развивается довольно характерный габитус: междоузлия и корни укорочены, листья обычно темнее нормы. Последнее связано с участием гиббереллинов в синтезе хлорофилла.

Наиболее интенсивные исследования ведутся в отношении генетического контроля процесса взаимодействия растений гороха с симбиотическими азотфиксирующими бактериями, т.е. нодуляции. Изучение такого симбиоза возможно только на примере Бобовых, и горох остается основным модельным объектом в этом направлении. Хотя нодуляция напрямую не связана с морфогенезом корня, она представляет огромный интерес как с точки зрения фундаментальной проблемы растительно-бактериальных взаимодействий, так и с практических позиций. Описано множество генов, так или иначе нарушающих нормальное протекание этого взаимодействия – как снижающих способность растений к симбиогенезу, так и приводящих к гипернодуляции.

Процесс нодуляции не является предметом рассмотрения в рамках настоящего обзора; достаточно подробные сведения о генетическом контроле симбиогенеза у гороха представлены в литературе [6, 14].

Регуляция активности побеговой апикальной меристемы (ПАМ). Процесс формирования и поддержания ПАМ составляет один из основных и, вероятно, наиболее консервативных компонентов процесса развития растения в целом. Основные гены, участвующие в контроле динамики ПАМ, особенности их экспрессии и характер взаимодействия их продуктов были достаточно полно охарактеризованы у *Arabidopsis thaliana*. В целом генетический контроль активности апикальной меристемы побега достаточно сложен, и для гороха описаны и изучены лишь некоторые гены, участвующие в этом процессе.

Одним из ключевых генов, участвующих в регуляции этого процесса у *Arabidopsis*, является

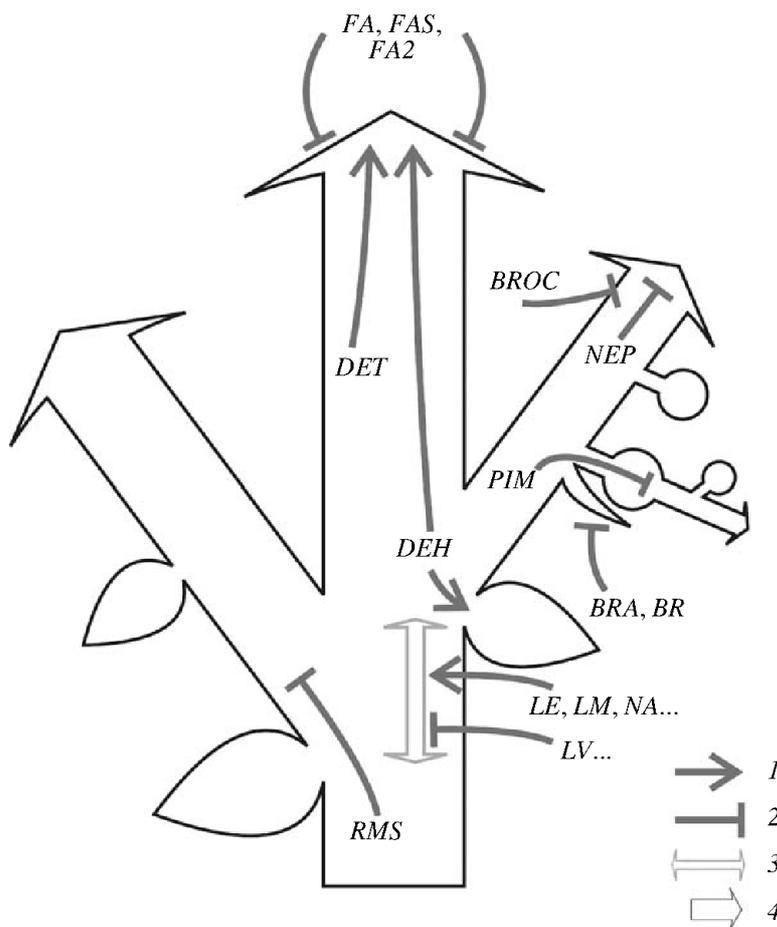


Рис. 2. Схема генетического контроля формирования архитектуры соцветия у гороха (пояснения в тексте). 1 – позитивная регуляция, 2 – негативная регуляция, 3 – растяжение, 4 – открытый побег.

WUSCHEL (WUS). Именно с его активностью связывают формирование ПАМ и поддержание ее в недифференцированном состоянии. Ген *WUS* активирует экспрессию генов *CLAVATA*-семейства (*CLV1*, *CLV2* и *CLV3*), которые в свою очередь осуществляют подавление экспрессии *WUS* за пределами так называемого “организующего центра” (“organizing centre”, OC) [53]. Таким образом, осуществляется отрицательная обратная связь, математизированная модель которой была построена в работе [4]. Продукты генов *CLV*-семейства к настоящему времени охарактеризованы; белки *CLV1* и *CLV2* представляют собой трансмембранные белки с рецепторными лейцинобогатыми повторами (экспонированы на внешней поверхности мембраны) и цитоплазматическим киназным доменом у *CLV1* [33]. Белок *CLV3* имеет небольшую молекулярную массу и, по-видимому, является лигандом для рецепторов *CLV1* и *CLV2*, функционирующим в межклеточном пространстве [35, 42]. У мутантов *clv* отмечается эктопическая экспрессия *WUS*, приводящая к неконтролируемому увеличению объема ПАМ и

развитию фасциации побега; кроме того, фасциированными при некоторых условиях оказываются цветки мутантов. *WUS-CLV*-зависимая система контроля активности ПАМ представляется достаточно консервативной для Покрытосеменных; гомологи генов *CLV*-семейства описаны у кукурузы (*Zea mays* L.; Poaceae) [62], сои (*Glycine max* (L.) Merr.; Fabaceae) [72] и ряда других растений. При этом у кукурузы мутации в гене *FASCATED EAR2 (FEA2)*, гомологичном *CLV2*, вызывают фасциацию початка [62].

Фасциация является хорошо диагностируемой в условиях эксперимента аномалией, наследственные формы которой описаны для многих видов растений. Примечательно, что первые данные об особенностях наследования фасциации были получены одновременно с зарождением генетики в работе Менделя [47]. Несмотря на то что в этом труде различия между фасциированными и нормальными формами были охарактеризованы как моногенные, вопрос о числе генов, мутации в которых вызывают развитие фасциации у гороха, и о характере их взаимодействия оставался дис-

кусионным в течение всего XX в. Длительное время возникновение фасциации связывали с нарушением активности двух полимерных генов – *FA* и *FAS* (*FASCIATA*); аномалия в рамках этой гипотезы проявляется у двойных мутантов *fa fas* [38]. По-видимому, это предположение возникло при изучении гибридных популяций F_2 от скрещивания фасцированных и нормальных растений, в которых зачастую наблюдается отклонение от соотношения 3 : 1. Вероятно, на проявление фасциации оказывают влияние гены-модификаторы, не имеющие самостоятельного фенотипического проявления [5, 46]. К настоящему моменту у гороха описаны не менее четырех “генов фасциации” (среди которых, впрочем, возможны аллельные варианты), отчетливо менделирующих [60]. Полученные данные об их локализации на генетических картах гороха и сведения о макросинтези с геномом люцерны позволяют делать предположения о гомологии изученным генам *Arabidopsis*.

Рецептор-подобные киназы (receptor-like kinases, RLK) – такие, например, как *CLV1* и *CLV2* у *Arabidopsis* – относятся к числу одних из самых распространенных компонентов рецепторных систем растений. Именно поэтому не исключена возможность вовлечения одних и тех же киназных белков в различные процессы [61]. Так, один из генов, ответственных за развитие фасциации у гороха, *SYMBIOTIC28* (*SYM28*), связан также с регуляцией взаимодействия растения с симбиотическими азотфиксирующими бактериями. У мутантов *sym28* отмечается гипернодуляция (развитие избыточных симбиотических клубеньков на корнях, см. выше) и фасциация побега [52]; последовательность гена *SYM28* и особенности его экспрессии неизвестны. Сходным фенотипом характеризуется мутант *nod4* [56] (не исключено, что мутации *sym28* и *nod4* аллельны). Показано участие *GmNARK*-гена, сходного с *CLV1* резуховидки, в процессе формирования симбиотических клубеньков у сои [54].

Схема генетического контроля активности ПАМ и развития соцветия у гороха представлена на рис. 2.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обзор работ, посвященных изучению генетики развития гороха посевного (*Pisum sativum* L.), показывает со всей очевидностью, что проблема генетического контроля основных процессов морфогенеза этого объекта существенно выходит за рамки вопросов частной генетики. Горох является старейшим модельным объектом генетики и до настоящего времени остается одним из наиболее удобных объектов в работах по изучению физиологических процессов у растений.

Помимо этого, именно горох посевной представляется чрезвычайно удобным объектом в такой сложной и активно развивающейся области современного естествознания, как генетика развития растений. Уступая *Arabidopsis thaliana* (L.) Neuhf. в простоте технической стороны работы (длительный период вегетации, большие размеры), горох остается фактически единственным объектом для изучения генетического контроля развития сложного листа, сложного соцветия и симбиотической азотфиксации. Кроме того, горох является перспективным объектом для изучения закономерностей морфогенеза зигоморфного цветка.

Полученные на горохе к настоящему моменту результаты показывают сложность и зачастую невозможность прямого аппроксимирования данных, накопленных при изучении таких объектов, как *Arabidopsis thaliana* и *Antirrhinum majus*. К числу характерных именно для гороха (вероятно, и для большинства Бобовых) особенностей следует считать взаимосвязи между путями регуляции развития сложного листа и цветка, нодуляции и активности ПАМ. Многие гены, сходные с охарактеризованными у других растений, выполняют иные функции, нежели у видов, у которых были описаны их гомологи. Эти данные показывают не только сложность генетического контроля развития у высших растений в целом, но и явную необходимость дальнейшего изучения особенностей регуляции морфогенеза у растений с различным таксономическим положением. Существование таксоноспецифических вариаций путей регуляции развития не исключает возможные затруднения при распространении выводов, сделанных в отношении модельных объектов, на другие виды. Затруднения такого рода возникают, как было показано, даже при сопоставлении видов одного класса (*Rosidae*) – гороха и резуховидки. Многие группы высших растений изучены значительно слабее; так, весьма спорна возможность перенесения данных, полученных на модельном объекте – рисе (*Oryza sativa* L.: *Poaceae*), на значительную часть Однодольных, поскольку Злаки являются весьма специализированной группой.

Все вышеперечисленное подтверждает необходимость более глубокого изучения генетики развития растений на примере различных объектов, среди которых горох посевной является одним из наиболее предпочтительных и перспективных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александров В.Г., Александрова О.Г. // Тр. по прикл. бот., ген. сел. 1935. Серия 3 (9). С. 1.

2. Вавилов Н.И. Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости. М.–Л.: Сельхозгиз, 1935. 56 с.
3. Лутова Л.А., Проворов Н.А., Тиходеев О.Н., Тихонович И.А., Ходжайова Л.Т., Шишкова С.О. Генетика развития растений. СПб.: Наука, 2000. 539 с.
4. Николаев С.В., Пененко А.В., Лавреха В.В., Мелнесс Э.Д., Колчанов Н.А. // Онтогенез. 2007. Т. 38. № 6. С. 457.
5. Синюшин А.А., Гостимский С.А. // Онтогенез. 2006. Т. 37. № 6. С. 449.
6. Тихонович И.А., Проворов Н.А. // Экологическая генетика. 2003. Т. 1. С. 36.
7. Чуб В.В., Пенин А.А. // Онтогенез. 2004. Т. 35. С. 280.
8. Яковлев В.Л., Чекалин Н.М. // НТБ ВНИИЗБК. 1992. № 39. С. 101.
9. Ambrose M.J. // *Pisum Genet.* 2003. V. 35. P. 1.
10. Arumingtyas E.L., Floyd R.S., Gregory M.J., Murfet I.C. // *Pisum Genet.* 1992. V. 24. P. 17.
11. Berbel A., Navarro C., Ferrandiz C., Canas L.A., Madueno F., Beltran J.-P. // *Plant J.* 2001. V. 25. № 4. P. 441.
12. Beveridge C.A., Weller J.L., Singer S.R., Hofer J.M.I. // *Plant Physiol.* 2003. V. 131. P. 927.
13. Blixt S. // *Pisum Newslett.* 1970. V. 2. P. 11.
14. Borisov A.Y., Danilova T.D., Koroleva T.A., Naumkina T.S., Pavlova Z.B., Pinaev A.G., Shtark O.Y., Tsyganov V.E., Voroshilova V.A., Zhernakov A.I., Zhukov V.A., Tikhonovich V.A. // *Biologia.* 2004. V. 59. № 13. P. 137.
15. Bradley D., Carpenter R., Copsey L., Vincent C., Rothstein S., Coen E. // *Nature.* 1996. V. 379. P. 791.
16. Busch A., Zachgo S. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. V. 104. № 42. P. 16 714.
17. 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.R. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004. V. 101. № 3. P. 15 289.
18. Coen E., Meyerowitz E. // *Nature.* 1991. V. 353. P. 31.
19. Davies B., Cartolano M., Schwarz-Sommer Z. // *Adv. Bot. Res.* 2006. V. 44. P. 279.
20. Ferrandiz C., Gomez M.D., Navarro C., Canas L., Beltran J.-P. // *Int. J. Dev. Biol.* 1996. Suppl. 1. P. 129.
21. Ferrandiz C., Navarro C., Gomez M.D., Canas L.A., Beltran J.P. // *Dev. Genet.* 1999. V. 25. № 3. P. 280.
22. Foucher F., Morin J., Courtiade J., Cadioux S., Ellis N., Banfield M.J., Rameau C. // *Plant Cell.* 2003. V. 15. P. 2742.
23. Fukuda T., Yokoyama J., Maki M. // *J. Mol. Evol.* 2003. V. 57. № 5. P. 588.
24. Gould K.S., Cutter E.G., Young J.P.W. // *Can. J. Bot.* 1986. V. 64. P. 1268.
25. Gourlay C.W., Hofer J.M.I., Ellis T.H.N. // *Plant Cell.* 2000. V. 12. P. 1279.
26. Haughn G.W., Somerville C.R. // *Devel. Genet.* 1988. V. 9. P. 73.
27. Hecht V., Foucher F., Ferrandiz C., Macknight R., Navarro C., Morin J., Vardy M.E., Ellis N., Beltran J.P., Rameau C., Weller J.L. // *Plant Physiol.* 2005. V. 137. P. 1420.
28. Hirsch A.M., Krupp R.S.N., Lin Yimei, Wang S.S., Yang W., Tucker S.C. // *Can. J. Bot.* 2002. V. 80. № 7. P. 732.
29. Hofer J., Turner L., Hellens R., Ambrose M., Matthews P., Michael A., Ellis N. // *Curr. Biol.* 1997. V. 7. P. 581.
30. Hole C.C., Hardwick R.C. // *Ann. Bot.* 1976. V. 40. P. 707.
31. Ingensiep H.W. // *Pisum Newslett.* 1986. V. 18. P. 67.
32. Ingensiep H.W., Lenz J. // *Pisum Newslett.* 1987. V. 19. P. 15.
33. Jeong S., Trotochaud A.E., Clark S.E. // *Plant Cell.* 1999. V. 11. P. 1925.
34. Kalo P., Seres A., Taylor S.A., Jakab J., Kevei Z., Kereszt A., Endre G., Ellis T.H., Kiss G.B. // *Mol. Gen. Genomics.* 2004. V. 272. P. 235.
35. Kayes J.M., Clark S.E. // *Development.* 1998. V. 125. P. 3843.
36. Lamprecht H. // *Agri Hort. Gen.* 1945. V. 3. P. 45.
37. Lamprecht H. // *Agri Hort. Gen.* 1947. V. 5. P. 16.
38. Lamprecht H. // *Agri Hort. Gen.* 1952. V. 10. P. 158.
39. Lamprecht H. // *Agri Hort. Gen.* 1953. V. 11. P. 40.
40. Lamprecht H. // *Agri Hort. Gen.* 1953. V. 11. P. 122.
41. Lamprecht H., Mrkos H. // *Agri Hort. Gen.* 1950. V. 8. P. 153.
42. Lenhard M., Laux T. // *Development.* 2003. V. 130. P. 3163.
43. Lenz J., Ingensiep H.W. // *Pisum Newslett.* 1987. V. 19. P. 25.
44. Lindquist K. // *Hereditas.* 1951. V. 37. P. 389.
45. Makasheva R.Kh., Drozd A.M. // *Pisum Newslett.* 1987. V. 19. P. 31.
46. Marx G., Hagedorn D.J. // *J. Hered.* 1962. V. 53. P. 31.
47. Mendel G. // *Verh. Naturf. Ver. Brunn.* 1866. V. 4. S. 3.
48. Ratcliffe O.J., Amaya I., Vincent C.A., Rothstein S., Carpenter R., Coen E.S., Bradley D.J. // *Development.* 1998. V. 125. P. 1609.
49. Reid J.B., Murfet I.C. // *Ann. Bot.* 1984. V. 53. P. 369.
50. Reid J.B., Ross J.J. // *Physiol. Plant.* 1988. V. 72. P. 547.
51. Reid J.B., Ross J.J. // *Physiol. Plant.* 1989. V. 75. P. 81.
52. Sagan M., Duc G. // *Symbiosis.* 1996. V. 20. P. 229.
53. Schoof H., Lenhard M., Haecker A., Mayer K.F.X., Jurgens G., Laux T. // *Cell.* 2000. V. 100. P. 635.
54. Searle I.R., Men A.E., Laniya T.S., Buzas D.M., Iturbe-Ormaetxe I., Carroll B.J., Gresshoff P.M. // *Science.* 2003. V. 299. P. 109.
55. Sidorova K.K., Shumny V.K., Vlasova E.Yu., Glianenko M.N., Mishchenko T.M. // *Pisum Genet.* 2002. V. 34. P. 23.
56. Sidorova K.K., Uzhintseva L.P. // *Pisum Genet.* 1995. V. 27. P. 21.
57. Singer S.R., Hsiung L.P., Huber S.C. // *Amer. J. Bot.* 1990. V. 77 (10). P. 1330.
58. Singer S., Sollinger J., Maki S., Fishbach J., Short B., Reinke C., Fick J., Cox L., McCall A., Mullen H. // *Bot. Rev.* 1999. V. 65. № 4. P. 385.
59. Swiecicki W.K. // *Pisum Newslett.* 1987. V. 19. P. 72.

60. *Swiecicki W.K.* // *Pisum Genet.* 2001. V. 33. P. 19.
61. *Szczyglowski K., Amyot L.* // *Plant Physiol.* 2003. V. 131. P. 935.
62. *Taguchi-Shiobara F., Yuan Z., Hake S., Jackson D.* // *Genes and Dev.* 2001. V. 15. P. 2755.
63. *Tattersall A.D., Turner L., Knox M.R., Ambrose M.J., Ellis T.H.N., Hofer J.M.I.* // *Plant Cell.* 2005. V. 17. P. 1046.
64. *Taylor S., Hofer J., Murfet I.* // *Plant Cell.* 2001. V. 13. P. 31.
65. *Taylor S.A., Hofer J.M.I., Murfet I.C., Sollinger J.D., Singer S.R., Knox M.R., Ellis T.H.N.* // *Plant Physiol.* 2002. V. 129. P. 1150.
66. *Tsyganov V.E., Pavlova Z.B., Kravchenko L.V., Rozov S.M., Borisov A.Y., Lutova L.A., Tikhonovich I.A.* // *Ann. Bot.* 2000. V. 86. P. 975.
67. *Tucker S.C.* // *Amer. J. Bot.* 1989. V. 76. P. 714.
68. *Waites R., Selvadurai H.R.N., Oliver I.R., Hudson A.* // *Cell.* 1998. V. 93. № 5. P. 779.
69. *Weigel D., Meyerowitz E.* // *Cell.* 1994. V. 78. P. 203.
70. *Weller J.* // *Pisum Genet.* 2007. V. 39. P. 1.
71. *Winfield P.J.* // *Pisum Genet.* 1987. V. 19. P. 84.
72. *Yamamoto E., Karakaya H.C., Knap H.T.* // *Biochim. Biophys. Acta.* 2000. V. 1491. P. 333.
73. *Yaxley J.R., Ross J.J., Sherriff L.J., Reid J.B.* // *Plant Physiol.* 2001. V. 125. P. 627.
74. *Young J.P.W.* // *Ann. Bot.* 1983. V. 52. P. 311.

Achievements and Prospects of Using Pea (*Pisum sativum*) as a Model Object in Plant Developmental Genetics

A. A. Sinyushin, S. A. Gostimskii

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian

The main results obtained using pea (*Pisum sativum*) as a model object and modern methods of developmental plant genetics are considered. Possible approaches to studying of this species are analyzed. The possibility to approximate the data obtained on traditional model objects and representatives of other taxa is discussed.