

АНАЛИЗ НУКЛЕОТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ КОДИРУЮЩЕГО УЧАСТКА ГЕНА *ABI3* У СОРТООБРАЗЦОВ ГОРОХА С РАЗЛИЧНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ ЗАПАСНЫХ БЕЛКОВ СЕМЯН

К. П. Гайнуллина^{1,2}, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории геномики растений, старший научный сотрудник лаборатории селекции и семеноводства кормовых и зерновых культур, karina28021985@yandex.ru, ORCID ID: 0000-0001-6246-1214;
С. Д. Румянцев¹, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории геномики растений, rumyantsev-serg@mail.ru, ORCID ID: 0000-0002-5331-448X;
Ф. А. Давлетов³, доктор сельскохозяйственных наук, заведующий лабораторией селекции и первичного семеноводства зернобобовых и крупяных культур, davletovfa@mail.ru, ORCID ID: 0000-0002-7421-869X;
Б. Р. Кулуев¹, доктор биологических наук, заведующий лабораторией геномики растений, kuluev@bk.ru, ORCID ID: 0000-0002-1564-164X

¹Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук,
450054, Республика Башкортостан, г. Уфа, проспект Октября, д. 71/1Е;

²Опытная станция «Уфимская» – обособленное структурное подразделение
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук,
450535, Республика Башкортостан, Уфимский район, с. Чернотесовский, ул. Тополиная, д. 1;

³Башкирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства –
обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного
научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра
Российской академии наук,
450059, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Рихарда Зорге, д. 19

Основным источником растительного протеина в мире являются зернобобовые культуры, среди которых в России наиболее распространен горох посевной. В регуляции биологических процессов, связанных с созреванием семян и накоплением в них запасных питательных веществ, в том числе белков, задействованы десятки и даже сотни генов. Исследования, проведенные на родственных гороху видах бобовых, свидетельствуют о том, что одним из генов, находящихся на высшем иерархическом уровне в этой регуляторной цепи, является ген транскрипционного фактора *ABI3*, однако его роль в биосинтезе и накоплении запасных белков семян остается малоизученной. Цель работы – выявление высокобелковых генотипов гороха и анализ нуклеотидных последовательностей кодирующего участка гена *ABI3* для поиска возможных ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с содержанием протеина в их семенах. Исследования проводились в 2020–2021 годах. Объектом исследования послужили 37 сортообразцов гороха посевного из коллекции генетических ресурсов зернобобовых культур ВИР. Содержание протеина в семенах определяли по методу Брэдфорда. Подбор праймеров и сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей осуществляли с помощью программ PrimerSelect и MegAlign. Секвенирование проводили по методу Сэнгера. Были выделены сортообразцы гороха с наиболее высоким (Аксацкий усатый 55, Сахарный) и низким (К-8361 (ВИР), Фрегат) содержанием белка в семенах. У данных сортообразцов проведено секвенирование кодирующего участка гена *ABI3*. Сравнительный анализ их нуклеотидных последовательностей с аннотированной в базе данных GenBank последовательностью участка гена *ABI3* выявил среди них значительную вариабельность: нуклеотидные замены, делецию 6 нуклеотидов. У высокобелкового сорта Сахарный обнаружена 9-нуклеотидная инсерция, приводящая к вставке трех дополнительных аминокислот, а у низкобелкового сорта Фрегат – однонуклеотидная инсерция, вызывающая сдвиг рамки считывания. Полученные данные могут свидетельствовать о взаимосвязи между мутациями в гене *ABI3* и накоплением белка в семенах гороха.

Ключевые слова: горох, запасные белки семян, *ABI3*, ДНК-полиморфизм, маркер-ориентированная селекция.

Для цитирования: Гайнуллина К. П., Румянцев С. Д., Давлетов Ф. А., Кулуев Б. Р. Анализ нуклеотидных последовательностей кодирующего участка гена *ABI3* у сортообразцов гороха с различным содержанием запасных белков семян // Зерновое хозяйство России. 2023. Т. 15, № 2. С. 34–40. DOI: 10.31367/2079-8725-2023-85-2-34-40.



ANALYSIS OF NUCLEOTIDE SEQUENCES OF THE *ABI3* GENE CODING REGION IN PEA VARIETIES WITH DIFFERENT PERCENTAGE OF SEED STORAGE PROTEINS

K. P. Gainullina^{1,2}, Candidate of Biological Sciences, senior researcher of the laboratory for primary legume breeding and seed production, senior researcher of the laboratory for plant genomics, karina28021985@yandex.ru, ORCID ID: 0000-0001-6246-1214;

S. D. Rumyantsev¹, Candidate of Biological Sciences, researcher of the laboratory for plant genomics, rumyantsev-serg@mail.ru, ORCID ID: 0000-0002-5331-448X;

F. A. Davletov³, Doctor of Agricultural Sciences, head of the laboratory for primary legume breeding and seed production, davletovfa@mail.ru, ORCID ID: 0000-0002-7421-869X;

B. R. Kuluev¹, Doctor of Biological Sciences, head of the laboratory for plant genomics, kuluev@bk.ru, ORCID ID: 0000-0002-1564-164X

¹*Institute of Biochemistry and Genetics, separate structural unit*

of the FSBSI Ufa Federal Research Center of RAS, 450054, Republic of Bashkortostan, Ufa, Oktyabr Av., 71/ 1E;

²*Experimental Station "Ufimskaya", separate structural unit*

of the FSBSI Ufa Federal Research Center of RAS, 450535, Republic of Bashkortostan, Ufimsky region, v. of Chernolesovsky, Topolinaya Str., 1

³*Bashkiriya Research Institute of Agriculture, separate structural unit*

of the FSBSI Ufa Federal Research Center of RAS,

450059, Republic of Bashkortostan, Ufa, Rikhard Zorge Str., 19

The main source of vegetable protein in the world are leguminous crops, among which peas are the most common in Russia. Dozens and even hundreds of genes are involved in the regulation of biological processes associated with the maturation of seeds and the accumulation of reserve nutrients in them, including proteins. The study conducted on legume species related to peas indicate that one of the genes at the highest hierarchical level in this regulatory chain is the *ABI3* transcription factor gene; however, its role in the biosynthesis and accumulation of seed storage proteins remains poorly studied. The purpose of the current work is to identify high-protein pea genotypes and analyze the nucleotide sequences of the coding region of the *ABI3* gene to search for possible DNA polymorphisms associated with protein percentage in their seeds. The study was carried out in 2020–2021. The objects of the study were 37 pea varieties from the collection of genetic resources of leguminous crops of VIR. Protein percentage in seeds was determined by the Bradford method. Selection of primers and comparative analysis of nucleotide sequences were performed using the PrimerSelect and MegAlign programs. Sequencing was performed according to the Sanger method. There were identified pea varieties with the highest ('Aksaisky Usaty 55', 'Sakharny') and low ('K-8361' (VIR), 'Fregat') seed protein percentage. In these variety samples, the coding region of the *ABI3* gene was sequenced. Comparative analysis of their nucleotide sequences with the sequence of the *ABI3* gene fragment annotated in the GenBank database revealed significant variability among them: nucleotide substitutions, deletion of 6 nucleotides. In the high protein variety 'Sakharny', there has been found a 9-nucleotide insertion, leading to the insertion of three additional amino acids, and in the low-protein variety Fregat, there has been found a single nucleotide insertion, causing a shift in the reading frame. The data obtained may indicate a correlation between mutations in the *ABI3* gene and protein accumulation in pea seeds.

Keywords: peas, seed storage proteins, *ABI3*, DNA polymorphism, marker-based selection.

Введение. Одной из важнейших зернобобовых культур в мире является горох посевной (*Pisum sativum* L.). Ценный высокобелковый продукт, получаемый из гороха, находит широкое продовольственное и промышленное применение и занимает важное место в питании населения, в том числе благодаря его дешевизне по сравнению с белками животного происхождения. Велико значение гороха и в качестве ценного корма, отличающегося не только высоким содержанием белка, но и сбалансированностью аминокислотного состава (Гайнуллина и др., 2020).

Благодаря этим качествам в России горох является основной зернобобовой культурой, возделываемой на обширной территории. Его успешно выращивают в разных почвенно-климатических условиях: на севере – до приполярной зоны, а на юге, западе и востоке – до государственных границ нашей страны (Зотиков и др., 2020). Несмотря на широкое распространение, объемы производства и качество зерна этой ценной зернобобовой культуры значительно отстают от потребностей народного хозяйства. В связи с этим актуальной задачей современной селекции гороха является создание качественно новых высокопродуктивных сортов гороха с высоким уровнем содержания протеина в семенах. Выведение новых сортов гороха методами классической селекции требует больших временных затрат: как правило, на создание сорта уходит 12–15, а иногда и 18 лет.

Современные достижения молекулярной биологии и генетики позволяют значительно ускорить этот процесс, предоставляя селекционерам возможность изучать и оценивать исходный материал не только по фенотипическим признакам, но и непосредственно по генотипу с использованием ДНК-маркеров для более точной и быстрой идентификации растений с высоким генетическим потенциалом (Гайнуллина и др., 2022). Для гороха маркер-ориентированная селекция актуальна прежде всего в отношении повышения урожайности и качества зерна. Известно, что у многих видов растений, в том числе у гороха, все этапы созревания семян контролируются генами транскрипционных факторов *LEC1*, *LEC2*, *FUSCA3* (*FUS3*) и *ABI3* (Boulard et al., 2017; Malovichko et al., 2020), однако их роль в биосинтезе и накоплении запасных белков все еще остается малоизученной.

В связи с этим целью работы стало выявление высокобелковых генотипов гороха и анализ нуклеотидных последовательностей кодирующего участка гена *ABI3* для поиска возможных ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с содержанием протеина в их семенах.

Материалы и методы исследований. Опыты проводились в 2020–2021 годах. Материалом для исследования послужили 37 сортообразцов гороха посевного (*Pisum sativum* L.) различного эколого-географического происхождения, полученные из ВИРа и ежегодно пересеваемые в коллекционном питомнике ла-

боратории селекции и первичного семеноводства зернобобовых и крупяных культур Чишминского селекционного центра БНИИСХ УФИЦ РАН, расположенного в Предуральской лесостепной зоне Республики Башкортостан. Концентрацию белка в семенах определяли на планшетном спектрофотометре LS 55 Luminescence Spectrometer («PerkinElmer», США) в трехкратной повторности по методу Бредфорда. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы STATISTICA 13.3 («StatSoft», США). Для выделения ДНК семена сортов образцов гороха проращивали на чашках Петри в нестерильных условиях. ДНК выделяли из 5–7-дневных проростков набором «Genomic DNA Purification Kit» («Thermo Fisher Scientific», США). Для амплификации целевого фрагмента размером 1426 п.н. использовали праймеры Ps_ABI3_F5'-ATGGTGAATGAAAGAGAAGAAGAC-3' и Ps_ABI3_R 5'-AACCTTGATGATGATTCCTATGAT-3' («Евроген», Россия), подобранные с помощью программы PrimerSelect («DNASoft», США). Последовательность участка данного гена взята из базы данных GenBank (AB080195.1). ПЦР проводили в амплификаторе «T-100» («Bio-Rad», США). Конечный объем реакционной смеси составлял 25 мкл и содержал 1 мкл раствора геномной ДНК, 12,5 мкл раствора Dream Taq™ PCR Master Mix («Thermo Fisher Scientific», США), по 1 мкл каждого праймера и 9,5 мкл стерильной деионизированной воды. Амплификацию проводили по следующей программе: начальная денатурация при 95 °С – 3 мин; 40 циклов: денатурация при 95 °С – 30 с, отжиг праймеров при 56 °С – 40 с, элонгация при 72 °С – 1 мин 10 с; конечная элонгация при 72 °С – 10 мин. Продукты амплификации разделяли методом горизонтального электрофореза в камере Sub-Cell GT («Bio-Rad», США) в 1%-м агарозном геле в течение 1 ч при напряжении 120 В. Визуализацию и документирование результатов электрофореза осуществляли в гель-документирующей системе Gel Doc™ EZ System («Bio-Rad», США) с помощью программного обеспечения Image Lab™ Software. Перед секвенированием полученные ампликоны очищали набором реагентов «diaGene»

(«Диаэм», Россия). Секвенирование проводили по методу Сэнгера. Конечный объем реакционной смеси составлял 10 мкл и содержал 1 мкл праймера, 1 мкл очищенной ДНК-матрицы, 7,5 мкл стерильной деионизированной воды и 0,5 мкл Big-dye chemistry v3.1 («Thermo Fisher Scientific», США). Последовательность циклов секвенирующей реакции была следующей: денатурация при 96 °С в течение 10 с, отжиг праймера при 56 °С в течение 5 с и элонгация при 60 °С в течение 4 мин для всех 30 циклов. Флуоресцентно меченые продукты амплификации анализировали с использованием генетического анализатора Applied Biosystems 3500 (США). Секвенирование исследуемого участка гена ABI3 каждого сорта образца проводили с двух концов при помощи прямого и обратного праймеров в трех биологических и двух технических повторностях. Далее для каждого сорта образца путем выравнивания полученных нуклеотидных последовательностей было составлено по одной консенсусной последовательности. Компьютерный анализ нуклеотидных последовательностей выполняли с помощью программы MegAlign (DNASoft, США), нумерацию нуклеотидов осуществляли по референсному гену ABI3 из GenBank.

Результаты и их обсуждение. Количество белка в семенах гороха мировой коллекции ВИР колеблется от 18 до 35 % (Пономарева и Селехов, 2017). Значительное влияние на содержание белка и его качество оказывают особенности генотипа сорта, а также гидротермические факторы, уровень инсоляции и продолжительность светового дня в зоне возделывания (Пислегина и Четвертных, 2020). В большинстве регионов нашей страны величина данного показателя составляет 22–26 %. Так, например, в условиях Центральной России при детерминированном максимуме урожайности зерна в нем содержится 22–23 % протеина (Пономарева, 2020). Среди исследованных нами сортов образцов гороха в условиях Республики Башкортостан наибольшим количеством белка в семенах отличались Аксайский усатый 55 (23,5±0,6 %), Сахарный (25,3±0,5 %), наименьшим – К-8361 (ВИР) (18,2±0,2 %), Фрегат (19,1±0,3 %) (см. таблицу).

**Содержание белка в семенах сортов образцов гороха
различного эколого-географического происхождения (в среднем за 2020–2021 гг.)
Protein percentage in seeds of pea varieties
of various ecological and geographical origin (mean in 2020–2021)**

Название сорта образца	Происхождение	Направление использования	Содержание белка в семенах, % ($\bar{X}_{cp} \pm Sx_{cp}$)
Памяти Хангильдина	Республика Башкортостан	зерновое	21,3±0,5
Чишминский 75	Республика Башкортостан	зерновое	22,0±0,7
Чишминский 229	Республика Башкортостан	зерновое	22,1±0,6
Кормовой 5	Республика Башкортостан	укосно-зерновое	21,5±0,4
Мелкосемянный 2	Республика Башкортостан	зерновое	20,2±0,4
Аксайский усатый 55	Ростовская область	зерновое	23,5±0,6*
И-0141090 (ВИР)	Тюменская область	зерновое	21,4±0,3
Алла	Орловская область	укосное	21,0±0,5
Смарагд	Германия	зерновое	20,8±0,8

Окончание табл.

Название сортообразца	Происхождение	Направление использования	Содержание белка в семенах, % ($X_{cp} \pm Sx_{cp}$)
К-6285 (ВИР)	Чехия	укусное	21,3±0,3
К-8750 (ВИР)	Португалия	зерновое	21,6±0,6
Frey Heinrich	Германия	зерновое	20,1±0,4
К-6017 (ВИР)	Франция	зерновое	20,3±0,7
И-0141085 (ВИР)	Тюменская область	укусное	21,6±0,4
К-8714 (ВИР)	Республика Адыгея	зерновое	21,5±0,5
К-6299 (ВИР)	Марокко	зерновое	20,3±0,5
К-7041 (ВИР)	Ливия	зерновое	20,4±0,4
К-5044 (ВИР)	Китай	зерновое	20,1±0,2
Флагман 10	Самарская область	зерновое	20,5±0,6
Фрегат	Республика Татарстан	зерновое	19,1±0,3*
Зеленозерный 1	Воронежская область	зерновое	20,4±0,5
Труженик	Украина	зерновое	20,8±0,6
К-8361	Англия	зерновое	18,2±0,2*
Батрак	Орловская область	зерновое	20,2±0,4
Омский 18	Омская область	зерновое	21,0±0,5
Фараон	Орловская область	зерновое	20,7±0,7
Томас	Тюменская область	зерновое	20,0±0,2
К-5598 (ВИР)	Франция	зерновое	20,3±0,3
И-0141092 (ВИР)	Тюменская область	зерновое	21,4±0,6
Мультик	Орловская область	зерновое	20,5±0,5
К-8568 (ВИР)	Англия	зерновое	20,0±0,3
К-9458 3716/04 (ВИР)	Тюменская область	укусное	20,6±0,5
КТ-6453 (ВИР)	Республика Татарстан	зерновое	20,4±0,2
К-8289 (ВИР)	Нидерланды	зерновое	20,9±0,6
Аксайский усатый 5	Ростовская область	зерновое	20,1±0,3
Avola	Нидерланды	овощное	21,8±0,4
Сахарный	Московская область	овощное	25,3±0,5*

Примечание. * – различия достоверны при $p < 0,05$.

Эти 4 сортообразца были отобраны нами для секвенирования и сравнительного биоинформационного анализа нуклеотидных последовательностей кодирующего участка гена транскрипционного фактора *ABI3*, который по литературным данным (Chen et al., 2018; Lalanne et al., 2021) участвует в регуляции экспрессии генов запасных белков семян у родственных гороху видов бобовых – *Medicago*

truncatula Gaertn., *Glycine max* L. Merr. и некоторых других. В результате амплификации геномной ДНК, выделенной из сортообразцов Аксайский усатый 55, Сахарный, К-8361 (ВИР), Фрегат, с разработанными нами праймерами были получены ПЦР-продукты, размеры которых соответствовали длине целевого фрагмента (около 1426 п.н.) (рис. 1).

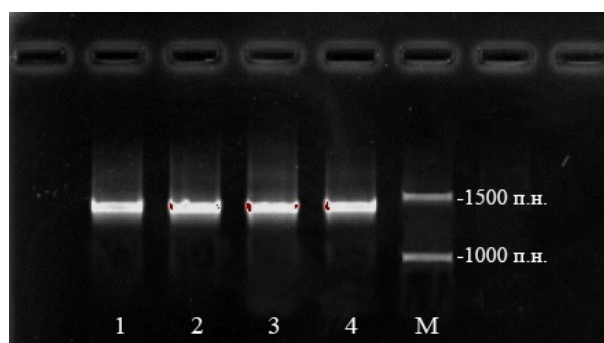


Рис. 1. Электрофореграмма ПЦР-продуктов, полученных в результате амплификации кодирующего участка гена *ABI3*: 1 – Аксайский усатый 55, 2 – Сахарный, 3 – Фрегат, 4 – К-8361 (ВИР), М – ДНК-маркер Step 50plus («Диаэм», Россия)

Fig. 1. Electropherogram of PCR products obtained through amplification of the coding region of the *ABI3* gene: 1 – 'Aksaisky Usaty 55', 2 – 'Sakharny', 3 – 'Fregat', 4 – 'K-8361' (VIR), M – 'Step 50plus' DNA marker (Diaem, Russia)

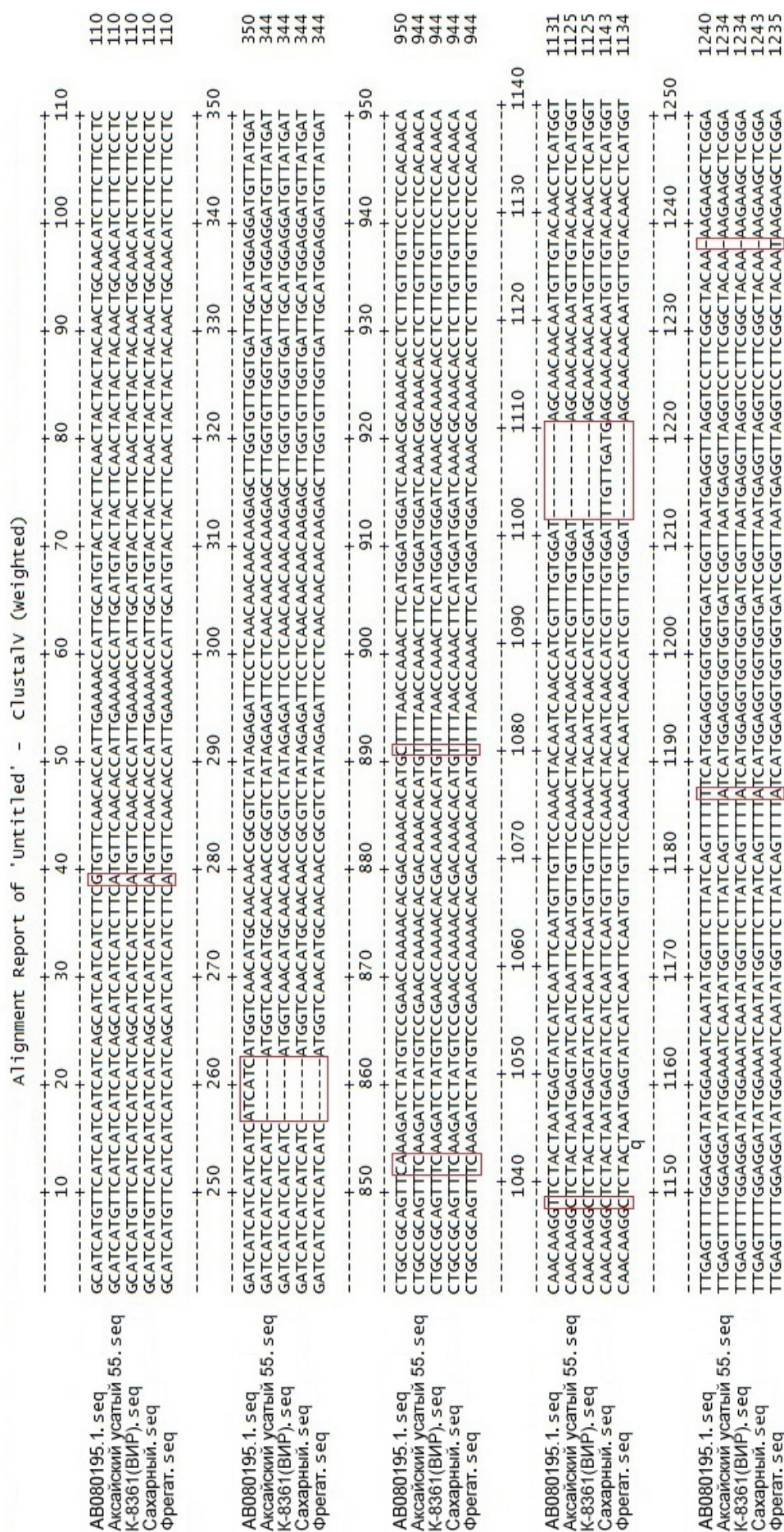


Рис. 2. Фрагмент множественного выравнивания нуклеотидных последовательностей участка гена *ABI3* у изученных сортов гороха

в сравнении с нуклеотидной последовательностью из базы данных GenBank (AB080195.1)

Fig. 2. Fragment of multiple alignment of the nucleotide sequences of the *ABI3* gene region in the studied pea varieties in comparison with the nucleotide sequence from the GenBank database (AB080195.1)

После секвенирования и сравнительного анализа полученных ампликонов было установлено, что у сорта Сахарный, характеризующегося высоким содержанием белка в семенах, в кодирующем участке гена *ABI3* имеется инсерция из 9 нуклеотидов (TTGTTGATG) в позиции 1103–1112 п.н., у низкобелкового сорта Фрегат – однонуклеотидная вставка (Т) в позиции 1238 п.н. (рис. 2). Результаты выравнивания аминокислотных последовательностей всех четырех образцов показывают, что инсерция 9 нуклеотидов у сорта Сахарный приводит к вставке трех дополнительных аминокислот: двух лейцинов и метионина. Однонуклеотидная вставка (Т) у сорта Фрегат вызывает сдвиг рамки считывания и соответственно стоп-кодона за пределы изучаемого фрагмента генома гороха.

По сравнению с аннотированной в базе данных GenBank нуклеотидной последовательностью участка гена транскрипционного фактора гороха *ABI3* (AB080195.1) все 4 изученных нами сортообразца имеют следующие отличия: замены А→Г, ТС→СА, Т→С, С→Т, А→Т в позициях 39, 852–853, 891, 1038, 1187 п.н. соответственно, а также 6-нуклеотидную делецию (ATCATC) в позиции 257–263 п.н.

Выводы. В результате проведенного исследования были выделены высокобелковые сорта гороха посевного Аксайский усатый 55 (23,5±0,6 %) и Сахарный (25,3±0,5 %), которые могут быть использованы в селекции в качестве источников высокого содержания протеина в семенах. Анализ нуклеотидных последовательностей кодирующего участка гена транскрипционного фактора *ABI3* у высоко- и низкобелковых сортообразцов гороха показал различия в структуре этого гена (инделы, замены нуклеотидов) между исследованными сортообразцами, а также в сравнении с аннотированной последовательностью нуклеотидов из GenBank. Кратность длины обнаруженных инделов (6 и 9 п.н.) размеру кодона (3 п.н.) предполагает наличие соответствующих изменений в аминокислотной последовательности, что было подтверждено нами *in silico* и может быть ассоциировано со способностью к биосинтезу и накоплению запасных белков в семенах гороха.

Финансирование. Исследование Б. Р. Кулуева выполнено в рамках государственного задания Минобрнауки России № 122030200143-8, работы К. П. Гайнуллиной поддержаны грантом АН РБ № 22-14-20049 (соглашение № 1 от 06.06.2022 г.).

Библиографические ссылки

1. Гайнуллина К. П., Кулуев Б. Р., Давлетов Ф. А. Оценка генетического разнообразия сортов и линий гороха с помощью SSR-анализа // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020. Т. 181, № 3. С. 70–80. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-70-80.
2. Гайнуллина К. П., Кулуев Б. Р., Давлетов Ф. А. Создание исходного материала для селекции гороха методом химического мутагенеза и оценка его генетического разнообразия с использованием SSR-маркеров // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2022. Т. 183, № 3. С. 111–122. DOI: 10.30901/2227-8834-2022-3-111-122.
3. Зотиков В. И., Полухин А. А., Грядунова Н. В., Сидоренко В. С., Хмызова Н. Г. Развитие производства зернобобовых и крупяных культур в России на основе использования селекционных достижений // Зернобобовые и крупяные культуры. 2020. № 4(36). С. 5–17. DOI: 10.24411/2309-348X-2020-11198.
4. Пислегина С. С., Четвертных С. С. Влияние погодных условий на продолжительность вегетационного периода и продуктивность гороха // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2020. Т. 21, № 5. С. 521–530. DOI: 10.30766/2072-9081.2020.21.5.521-530.
5. Пономарева С. В., Селехов В. В. Влияние погодных условий на урожай и качество сортов гороха // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2017. № 1(56). С. 20–27. EDN: XVRTXB.
6. Пономарева, С. В. Оценка сортов полевого гороха (*Pisum arvense* L.) на содержание белка в зерне: взаимосвязи хозяйственно полезных признаков с погодно-климатическими условиями // Зерновое хозяйство России. 2020. № 2(68). С. 13–17. DOI: 10.31367/2079-8725-2020-68-2-13-17.
7. Boulard C., Fatihi A., Lepiniec L., Dubreucq B. Regulation and evolution of the interaction of the seed B3 transcription factors with NF-Y subunits // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Gene Regulatory Mechanisms. 2017. Vol. 1860, Iss. 10. P. 1069–1078. DOI: 10.1016/j.bbagrm.2017.08.008.
8. Chen M., Lin J. Y., Hur J., Pelletier J. M., Baden R., Pellegrini M., Haradab J. J., Goldberg R. B. Seed genome hypomethylated regions are enriched in transcription factor genes // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2018. Vol. 115, № 35. P. 8315–8322. DOI: 10.1073/pnas.1811017115.
9. Lalanne D., Malabarba J., Ly Vu J., Hundertmark M., Delahaie J., Leprince O., Buitink J., Verdier J. *Medicago* *ABI3* splicing isoforms regulate the expression of different gene clusters to orchestrate seed maturation // Plants. 2021. № 10(8). P. 1710–1725. DOI: 10.3390/plants10081710.
10. Malovichko Y. V., Shtark O. Y., Vasileva E. N., Nizhnikov A. A., Antonets K. S. Transcriptomic insights into mechanisms of early seed maturation in the garden pea (*Pisum sativum* L.) // Cells. 2020. № 9(3). P. 779–810. DOI: 10.3390/cells9030779.

References

1. Gainullina K. P., Kuluev B. R., Davletov F. A. Otsenka geneticheskogo raznoobraziya sortov i linii gorokha s pomoshch'yu SSR-analiza [Estimation of the genetic diversity of pea varieties and lines using SSR-analysis] // Trudy po prikladnoi botanike, genetike i selektsii. 2020. T. 181, № 3. S. 70–80. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-70-80.
2. Gainullina K. P., Kuluev B. R., Davletov F. A. Sozdanie iskhodnogo materiala dlya selektsii gorokha metodom khimicheskogo mutageneza i otsenka ego geneticheskogo raznoobraziya s ispol'zovaniem SSR-

markerov [Development of initial material for pea breeding by chemical mutagenesis and estimation of its genetic diversity using SSR-markers] // Trudy po prikladnoi botanike, genetike i seleksii. 2022. T. 183, № 3. S. 111–122. DOI: 10.30901/2227-8834-2022-3-111-122.

3. Zotikov V.I., Polukhin A.A., Gryadunova N.V., Sidorenko V.S., Khmyzova N.G. Razvitie proizvodstva zernobobovykh i krupyanykh kul'tur v Rossii na osnove ispol'zovaniya selektsionnykh dostizhenii [Development of the production of leguminous and cereal crops in Russia based on the use of breeding achievements] // Zernobobovye i krupyanye kul'tury. 2020. № 4(36). S. 5–17. DOI: 10.24411/2309-348X-2020-11198.

4. Pislegina S. S., Chetvertnykh S. S. Vliyanie pogodnykh uslovii na prodolzhitel'nost' vegetatsionnogo perioda i produktivnost' gorokha [Effect of weather conditions on length of a vegetation period and productivity of peas] // Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka. 2020. T. 21, № 5. S. 521–530. DOI: 10.30766/2072-9081.2020.21.5.521-530.

5. Ponomareva S. V., Selekhev V. V. Vliyanie pogodnykh uslovii na urozhai i kachestvo sortov gorokha [Effect of weather conditions on productivity and quality of pea varieties] // Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka. 2017. № 1(56). S. 20–27. EDN: XVRTXB.

6. Ponomareva S. V. Otsenka sortov polevogo gorokha (*Pisum arvense* L.) na sodержание belka v zerne: vzaimosvyazi khozyaistvenno poleznykh priznakov s pogodno-klimaticheskimi usloviyami [Estimation of field pea varieties (*Pisum arvense* L.) for protein percentage in grain: correlation between economically valuable traits and weather and climatic conditions] // Zernovoe khozyaistvo Rossii. 2020. № 2(68). S. 13–17. DOI: 10.31367/2079-8725-2020-68-2-13-17.

7. Boulard C., Fatihi A., Lepiniec L., Dubreucq B. Regulation and evolution of the interaction of the seed B3 transcription factors with NF-Y subunits // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Gene Regulatory Mechanisms. 2017. Vol. 1860, Iss. 10. P. 1069–1078. DOI: 10.1016/j.bbagrm.2017.08.008.

8. Chen M., Lin J. Y., Hur J., Pelletier J. M., Baden R., Pellegrini M., Haradab J. J., Goldberg R. B. Seed genome hypomethylated regions are enriched in transcription factor genes // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2018. Vol. 115, № 35. P. 8315–8322. DOI: 10.1073/pnas.1811017115.

9. Lalanne D., Malabarba J., Ly Vu J., Hundertmark M., Delahaie J., Leprince O., Buitink J., Verdier J. *Medicago ABI3* splicing isoforms regulate the expression of different gene clusters to orchestrate seed maturation // Plants. 2021. № 10(8). P. 1710–1725. DOI: 10.3390/plants10081710.

10. Malovichko Y. V., Shtark O. Y., Vasileva E. N., Nizhnikov A. A., Antonets K. S. Transcriptomic insights into mechanisms of early seed maturation in the garden pea (*Pisum sativum* L.) // Cells. 2020. № 9(3). P. 779–810. DOI: 10.3390/cells9030779.

Поступила: 05.12.22; доработана после рецензирования: 28.02.23; принята к публикации: 28.02.23.

Критерии авторства. Авторы статьи подтверждают, что имеют на статью равные права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Авторский вклад. Кулуев Б. Р. – концептуализация исследования; Гайнуллина К. П. – подготовка опыта; Гайнуллина К. П., Румянцев С. Д. – выполнение лабораторных опытов и сбор данных; Давлетов Ф. А., Гайнуллина К. П. – анализ данных и их интерпретация; Кулуев Б. Р., Гайнуллина К. П. – подготовка рукописи.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.