

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА IIIVmрMLM ДЛЯ ПОДТВЕРЖДЕНИЯ И ПОИСКА НОВЫХ ГЕНОМНЫХ АССОЦИАЦИЙ У КУЛЬТУРНОГО НУТА

© 2024 г. М.А. Дук*, **, #, А.А. Канапин*, М.П. Банкин*, М.Г. Самсонова*

*Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,
Политехническая ул., 29, Санкт-Петербург, 195251, Россия

**Физико-технический институт им. А.Ф.Иоффе,
Политехническая ул., 26, Санкт-Петербург, 195251, Россия

#E-mail: duk@mail.ioffe.ru

Поступила в редакцию 14.05.2024 г.

После доработки 14.05.2024 г.

Принята к публикации 03.06.2024 г.

Нут (*Cicer arietinum*) является важной сельскохозяйственной культурой, которая выращивается на Ближнем Востоке, в Средней Азии, Турции, Индии и на юге России и используется во множестве традиционных блюд. Уменьшение генетического разнообразия при доместикации, а также большая чувствительность культуры к абиотическим и биотическим стрессам наталкивают на мысль об использовании староместных сортов в селекционных программах по улучшению культуры. Новый метод IIIVmрMLM для полногеномного поиска ассоциаций позволил выявить новые, расположенные около или внутри важных генов, варианты в геномах образцов коллекции нута ВИР имени Н.И. Вавилова и провести оценку пригодности этих образцов для выращивания в условиях Кубани и Астрахани.

Ключевые слова: нут, GWAS, IIIVmрMLM, староместные сорта, многолокусные модели.

DOI: 10.31857/S0006302924060126, **EDN:** NKTLLJ

Нут бараний (*Cicer arietinum*) – это однолетнее самоопыляющееся растение, выращиваемое на Ближнем Востоке, Индии, Турции, Средней Азии и юге России, и применяемое во множестве традиционных блюд [1, 2]. Нут условно делится на сорта с крупными светлыми семенами (кабули), используемыми в различных пищевых продуктах, и на сорта с мелкими темными семенами (дези), выращиваемыми преимущественно на корк животных [3].

Нут является теплолюбивым растением, чувствительным к условиям окружающей среды, и очень подвержен грибковым заболеваниям при влажной погоде [4]. Также существует большая изменчивость между сортами в весе семян и бобов, количестве ветвей, весе надземной части, скороспелости и длительности цветения. Кроме того, различные сорта показывают большую изменчивость в зависимости от места выращивания, поэтому активно исследуются механизмы цветения [5], созревания и устойчивости к абиотическим стрессам [6], которые могут оказать критическое влияние на успех выращивания культуры в разных странах.

Значительное уменьшение генетического разнообразия вида после доместикации [7] приводит

к идее использования в селекционных программах староместных сортов, которые могут стать донорами предпочтительных аллелей, оказывающих влияние на критически важные характеристики. В данный момент ведутся различные исследования по улучшению культуры [8], и полногеномный поиск ассоциаций для коллекции образцов, содержащих староместные сорта и важные селекционные линии может предоставить дополнительную информацию для их использования в селекционных программах.

Ранее мы провели полногеномный поиск ассоциаций для нута с помощью моделей Blink, FarmCPU, SUPER, MLM [9], однако было выявлено лишь небольшое количество ассоциаций. Это может быть связано с тем, что однолокусные модели, такие как MLM, имеют поправку Бонферрони на множественное тестирование, которая приводит к завышению ошибки 1 рода и может оказаться слишком строгой для обнаружения связей со сложными признаками [10]. Мультилокусные модели тестируют все маркеры в рамках одной линейной модели и оценивают эффекты всех маркеров, что помогает решить эту проблему и выявить новые ассоциации.

Таблица 1. Расшифровка используемых кодов фенотипических признаков

Краткое название	Подробное описание признака
DFst	Количество дней между всходами и началом цветения
DF	Продолжительность цветения в днях
Dmat	Количество дней между всходами и созреванием
PoW	Вес бобов с растения
PoNP	Количество бобов с растения
PWwP	Вес растения с бобами
100SW	Вес 100 семян
PH	Высота растения
HFP	Высота прикрепления первого боба
NPB	Количество ветвей первого порядка
NSB	Количество ветвей второго порядка
LS	Размер листочка в баллах

Модель IIIVmрMLM [10, 11] является мультилокусной моделью и позволяет оценивать все эффекты одновременно с помощью эмпирического Байесовского алгоритма максимизации ожидания, а все ненулевые эффекты дополнительно оцениваются с помощью теста отношения правдоподобия для значимых QTN. В этом методе расчет большого количества компонентов дисперсии был заменен расчетом трех сжатых оценок, что позволяет методу быть не слишком сложным в вычислительном плане. Особенности растительных выборок учтены при строгости выявления ассоциаций в новом методе IIIVmрMLM [11], что позволяет найти новые варианты, а также подтвердить варианты, найденные ранее другими моделями.

В данной работе метод IIIVmрMLM в режиме Single_env применялся отдельно для поиска ассоциаций на данных двух опытных станций. Были выявлены новые варианты и подтверждены варианты, найденные ранее с помощью пакета GAPIT [12], а рассчитываемый написанным для R пакетом IIIVmрMLM [13] аддитивный эффект каждого варианта позволил оценить продуктивность каждого сорта в зависимости от местности и выявить два староместных сорта, несущих наибольшее количество предпочтительных аллелей, для использования в селекционных программах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Генотипические и фенотипические данные. В работе рассматривается набор из 171 образца нута из коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР, Санкт-Петербург, Россия), включающий в

себя 147 староместных сортов (ландрасов) и 23 культурных сорта. Ландрасы были собраны Н.И. Вавиловым во время его экспедиций 1920–1930-х годов.

Фенотипирование образцов нута проведено на двух опытных станциях ВИР – на Кубани и в Астрахани. Кубанская опытная станция ($45^{\circ}18' с.ш.$ и $40^{\circ}52' в.д.$) расположена в степной зоне Прикубанской равнины, в 80 км от предгорий Кавказа. Типичными почвами этих регионов являются прикаспийские черноземы со слабощелочной кислотностью. Климат станции характеризуется неоптимальным количеством осадков и высокими колебаниями всех климатических показателей. Астраханская опытная станция ($46^{\circ}06' с.ш.$ и $48^{\circ}04' в.д.$) расположена в пределах Прикаспийской низменности в южной части Астраханской области. Климат региона самый засушливый и континентальный на европейской территории Российской Федерации. В данном исследовании рассматривались 12 фенотипических признаков, сокращенные коды названий которых приведены в табл. 1. При поиске геномных ассоциаций была проведена квантильная нормализация фенотипических данных для каждого из признаков.

The DNeasy Plant Mini Kit использовали для извлечения ДНК из собранных листьев. ДНК секвенировали в BGI Group (Китай) с использованием протокола Illumina, генерирующего парные чтения длиной 150 п.н., которые были сопоставлены со сборкой эталонного генома нута ASM33114v1 с помощью bwa-mem с использованием параметров по умолчанию [38]. NGSEP v4.0 [39] использовали для вызова вариантов, после чего SNP были дополнительно отфильтрованы с помощью VCFtools [40] для сохранения SNP с ча-

стотой минорных аллелей (MAF) $> 5\%$ и частотой вызова генотипов $> 85\%$, в результате чего для дальнейшего анализа было оставлено 170 966 SNP.

Анализ геномных ассоциаций. Для преобразования форматов генетических данных для использования в пакете IIIVmMLM использовали программы TASSEL5 [41] и PLINK [42]. Для анализа геномных ассоциаций использовали пакет IIIVmMLM [13] для R в режиме Single_env на данных каждой опытной станции отдельно. Результаты сравнивали с ассоциациями, полученными в пакете GAPIT [12] для R, ранее опубликованные в [9].

Пересечения с генами. Данные о координатах генов были взяты из GFF-файла версии 1 Cicer_arietinum_GA_v1.0.gene.gff, функциональное описание генов было получено из базы данных PulseDB: <https://www.pulsedb.org/Analysis/1869759>.

Оценка качества сортов относительно места выращивания. Для оценки качества сортов использовалась оценка TI-score, посчитанная отдельно для двух опытных станций. Оценка получается таким образом: если сорт содержит вариант, ассоциированный с фенотипическими данными рассматриваемой опытной станции и оказывающий положительное действие на величину фенотипического признака, то величина TI увеличивается на 1, если содержится вариант, оказывающий негативное действие, то величина TI уменьшается на 1. В данном случае положительным действием считалось уменьшение количества дней до созревания (Dmat), а также увеличение веса бобов с растения (PoW), числа бобов с растения (PoNP) и веса растения с бобами (PWwP). Также рассматривалось количество QTN с предпочтительным эффектом у каждого сорта без учета QTN с негативным эффектом.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В данном исследовании был проведен полногеномный поиск ассоциаций по 12 фенотипическим признакам: количеству дней между всходами и началом цветения (DFst), продолжительности цветения (DF), количеству дней между всходами и созреванием (Dmat), весу всех бобов с растения (PoW), количество бобов с растения (PoNP), весу растения с бобами (PWwP), весу 100 семян (100SW), высоте растения (PH), высоте прикрепления первого боба (HFP), количеству ветвей первого порядка (NPB), количеству ветвей второго порядка (NSB), размеру листочка (LS). Полный список и краткие коды для дальнейшего обозначения признаков приведен в таблице 1.

Была использована собранная во Всероссийском институте генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова коллекция из 171 образца

нута, в том числе 147 образцов староместных сортов. Образцы были выращены на двух опытных станциях с разным климатом: в Астрахани с резко континентальным климатом и на Кубани с умеренно континентальным климатом.

Значения фенотипических признаков сильно варьируют между сортами коллекции, как можно видеть на рис. 1. Кроме того, значения фенотипических признаков существенно различаются между опытными станциями. Для сравнения фенотипических данных, полученных с двух опытных станций был выполнен тест Манна–Уитни, и только для четырех признаков – числа дней от всходов до цветения, веса 100 семян, высоты прикрепления первого боба и количества ветвей второго порядка – различия между измерениями на двух опытных станциях не были статистически значимы, что говорит о важном влиянии условий выращивания на характеристики растений.

Всего для 12 фенотипических признаков на двух опытных станциях методом IIIVmMLM было обнаружено 474 ассоциированных с признаками SNP, которые, согласно принятой терминологии, мы обозначили QTN (quantitative trait nucleotide). После фильтрации по MAF остается 170 966 SNP. Так как коллекция нута содержит большое количество староместных сортов, по большому количеству вариантов являющихся гетерозиготными, уже после проведения анализа были исключены QTN, по которым 95% растений были гетерозиготными, так как такие варианты не позволяли гарантированно проверить статистическую значимость найденных ассоциаций, то есть значимость различий между образцами, содержащими и не содержащими альтернативный аллель. После исключения таких ассоциаций осталось 455 QTN.

Только для признака «вес всех бобов с растения (PoW)», количество QTN при выращивании в Астрахани превышало таковое в Кубанских данных (рис. 2а). Для таких признаков, как количество бобов с растения (PoNP) и вес 100 семян (100SW) было найдено заметно больше QTN при выращивании образцов на Кубани, чем в Астрахани. Распределение QTN по хромосомам для данных Астраханской и Кубанской опытных станций практически одинаковое, как можно видеть на рис. 2б, и зависит в общем только от длины соответствующей хромосомы. Так, малое количество QTN на 8 хромосоме для обеих опытных станций связано с тем, что эта хромосома самая короткая из всех у нута.

Найденные QTN объясняют от 36.56% (для количества дней от всходов до созревания) до 55.50% (для количества ветвей первого порядка) вариации в данных Астраханской опытной станции, и от 36.32% (для высоты прикрепления первого боба) до 53.26% (для веса ста семян) вариа-

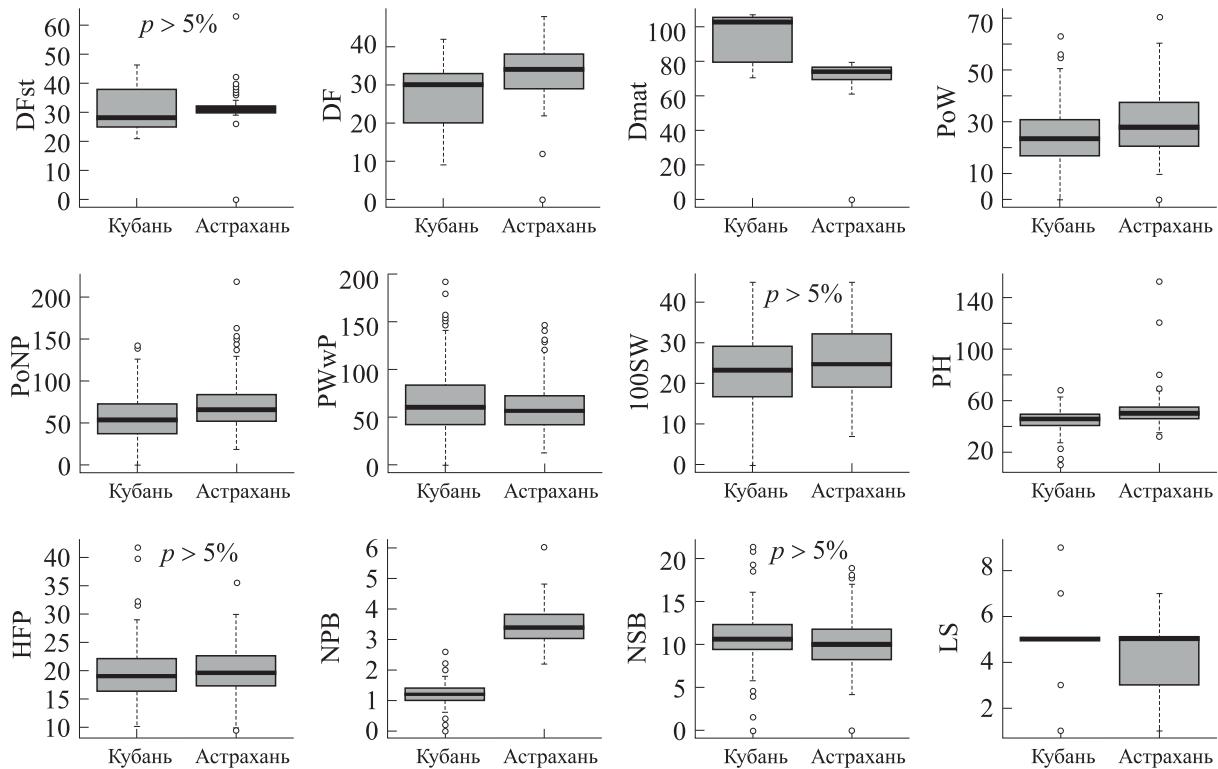


Рис. 1. Диаграммы размаха значений фенотипических признаков на разных опытных станциях. Отметки $p > 5\%$ для признаков количества дней от всходов до цветения (DFst), веса ста семян (100SW), высоты прикрепления первого боба (HFP) и числа ветвей второго порядка (NSB) означают, что различия между опытными станциями в значениях этих признаков не являются статистически значимыми по критерию Манна-Уитни.

ции в данных Кубанской опытной станции (табл. 2). В табл. 2 также приведен список QTN, которые объясняют наибольший процент вариации индивидуальных признаков на каждой опытной станции. Можно видеть, что такие QTN встречаются на всех хромосомах, кроме восьмой. При этом для данных Астраханской опытной станции большая часть QTN расположена на первой или второй хромосоме, тогда как для данных Кубанской опытной станции такие варианты распределены по семи хромосомам (табл. 2).

Из 455 QTN, найденных методом 3IVmrMLM, 29 были ранее найдены методами FarmCPU, Blink, SUPER или MLM в пакете GAPIT [12] и опубликованы в работе [9] (табл. 3). При этом, помимо ассоциации с признаком высота прикрепления первого боба, программа 3VmMLM вычленила ассоциацию QTN Ca3_3964840 и QTN Ca6_38136682 с признаками количеством дней между всходами и цветением и высотой растения, соответственно. QTN Ca4_7480193 и QTN Ca4_28678319, ассоциированные по данным пакета GAPIT с двумя признаками – высотой растения и высотой прикрепления первого боба, при использовании программы 3VmMLM оказались ассоциированными только с высотой растения. В целом эти отличия не играют большой роли, так

как такие признаки, как высота растения и высота прикрепления первого боба коррелируют друг с другом.

Из найденных QTN 63 попали в гены или располагались на расстоянии менее чем 1000 п.н. выше или ниже «по течению». 9 из таких генов кодируют известные белки, причем у 22 генов QTN локализуется внутри гена (табл. 4).

Староместные сорта являются важным источником генетического разнообразия и могли бы стать в селекционных программах донорами новых аллелей с предпочтительным эффектом. Так, в данном исследовании мы сконцентрировались на таких признаках, как скороспелость (число дней от всходов до созревания, Dmat), вес бобов с растения (PoW), число бобов с растения (PoNP) и вес растения с бобами (PWwP). С точки зрения предпочтительных сельскохозяйственных характеристик еще может быть важен вес 100 семян, однако эта характеристика не сильно отличается в данных разных опытных станций. Для оценки качества каждого сорта для климата соответствующей опытной станции была введена характеристика TI-score, которая увеличивалась на 1, если образец содержал альтернативный аллель с предпочтительным эффектом (то есть растения, содержащие этот вариант, показывали либо мень-

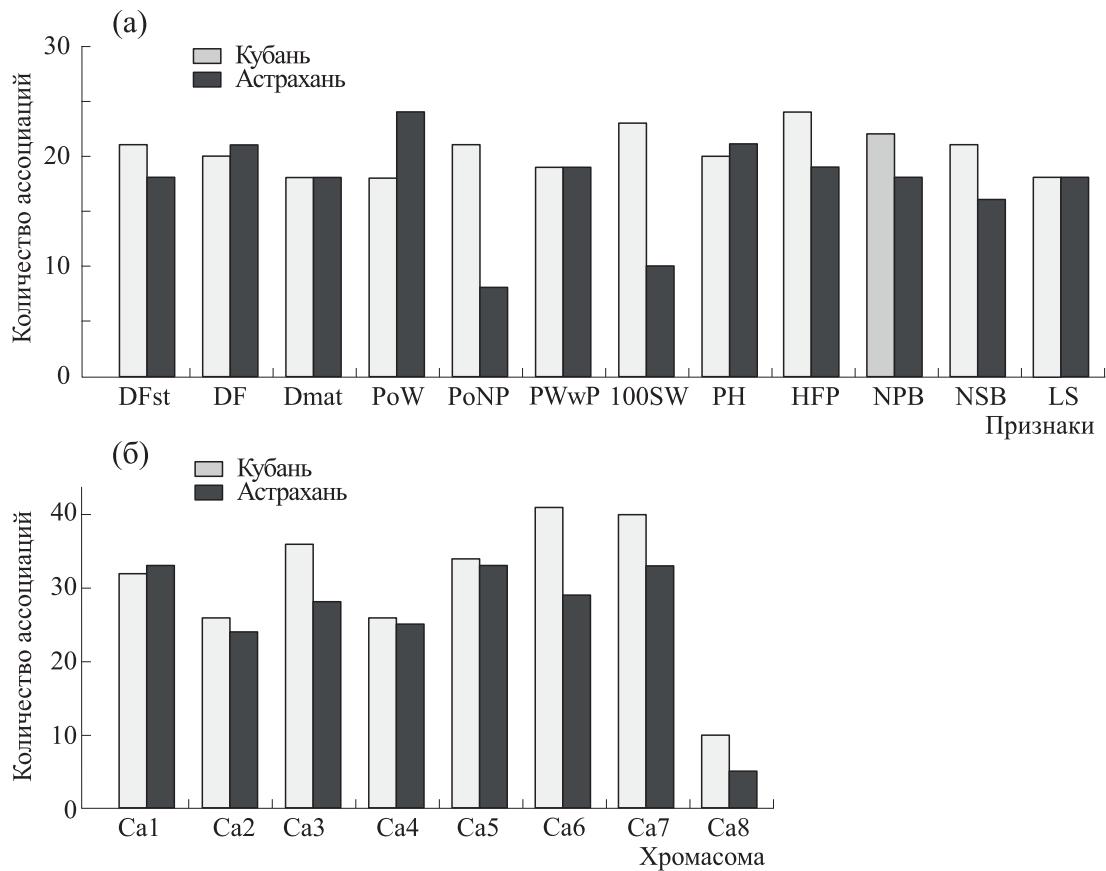


Рис. 2. Общее количество QTN, найденное методом IIIVmMLM при выращивании образцов в Астрахани и на Кубани для каждого признака (а) и для каждой хромосомы (б).

шее количество дней до созревания, либо больший вес растения или бобов, либо большее число бобов), и уменьшалась на 1, если образец содержал альтернативный аллель с негативным эффектом.

На Кубанской опытной станции 75 староместных сортов имели положительное значение TI-score, тогда как на Астраханской опытной станции таких сортов было только 8. В табл. 5, помимо этих сортов, приведены еще 10 сортов, лучших для климата Кубанской опытной станции. Также два староместных сорта имели положительное значение характеристики TI и для Кубанской, и для Астраханской опытной станции, а именно: VIR0217 (Афганистан, дези) и VIR0637 (Иордания, дези). Эти сорта могут стать донорами новых вариантов для улучшения культуры.

ОБСУЖДЕНИЕ

Из-за большого влияния климатических особенностей на важные сельскохозяйственные качества нута, важно провести полногеномный поиск ассоциаций отдельно для каждой опытной станции, чтобы выявить варианты, оказывающие

наибольшее влияние на растение в соответствующем климате, поэтому метод IIIVmMLM был применен к данным разных опытных станций отдельно в моде Single_env.

Многие из найденных нами QTN попадают в гены с важными функциями, или оказываются вблизи них, что может быть связано с их влиянием на транскрипционную или посттранскрипционную регуляцию. Многие из таких QTN также объясняют значимый процент вариации в признаке. Например, QTN Ca7_44115084 и Ca6_4538128 в генах *Ca_21365* (кодирует глутатион-S-трансферазу) и *Ca_05847* (кодирует белок NEDD1) объясняют наибольший процент вариации для таких признаков, как количество дней от всходов до цветения и число бобов с растения соответственно. У *Arabidopsis thaliana* белок NEDD1 участвует в клеточном делении [14], а глутатион-S-трансфераза участвует в липидном обмене и детоксикации у различных организмов [15, 16].

Интересно, что два QTN – Ca5_39553204, ассоциированный с количеством бобов на Астраханской опытной станции, и Ca5_39576662, ассоциированный с числом ветвей первого порядка на Кубанской опытной станции, попали в тело

Таблица 2. Процент объясненной вариации и QTN, объясняющие наибольшее количество вариации (% от r^2) в соответствующем признаке в данных разных опытных станций

Признак	Опытная станция	% вариации, объясненной всеми QTN	QTN	r^2 (%)
DFst	Астрахань	36.56	Ca7_44115084	5.9942
	Кубань	42.72	Ca7_37703980	3.9486
DF	Астрахань	39.19	Ca1_46864656	4.2536
	Кубань	50.89	Ca2_24113184	6.532
Dmat	Астрахань	42.98	Ca6_41622185	4.1573
	Кубань	46.23	Ca1_30627361	5.1945
PoW	Астрахань	43.38	Ca7_10545614	3.1257
	Кубань	48.61	Ca3_10254742	4.4301
PoNP	Астрахань	37.32	Ca5_7093405	6.2341
	Кубань	46.65	Ca6_4538128	5.0146
PWwP	Астрахань	52.49	Ca4_19608475	5.5026
	Кубань	50.42	Ca3_9527988	5.4915
100SW	Астрахань	49.09	Ca1_39213592	8.6285
	Кубань	53.26	Ca5_39387480	5.2738
PH	Астрахань	47.82	Ca1_35351884	3.4422
	Кубань	41.48	Ca5_25653166	3.882
HFP	Астрахань	43.56	Ca7_165722	5.3449
	Кубань	36.32	Ca7_35466316	4.0876
NPB	Астрахань	55.5	Ca7_41412619	6.3837
	Кубань	41.18	Ca1_22241685	3.712
NSB	Астрахань	49.08	Ca1_31713912	5.0263
	Кубань	51.41	Ca3_14099605	4.5697
LS	Астрахань	40.47	Ca7_35974625	5.934
	Кубань	34.82	Ca4_11296429	6.3798

гена *Ca_07489*, кодирующего серин/треонинпротеинкиназу. Кроме того, три QTN: *Ca1_37335878*, *Ca2_29653004* и *Ca7_35974625*, ассоциированные с размером листочка на обеих опытных станциях, также попадают в окрестность генов, предположительно кодирующих серин/треонинпротеинкиназы. У *Arabidopsis thaliana* серин/треонинпротеинкиназы участвуют в передаче сигнала посредством активных форм кислорода, в ответах на биотический стресс, в развитии растения, включая корневую систему [17]. Таким образом,

можно предположить, что общее здоровье растения и его корневой системы опосредованно оказывает влияние на количество ветвей, размер листа и, в конечном итоге, на число бобов.

Многие из генов участвуют в контроле роста и развития растений. Так, например, ассоциированный с длительностью цветения QTN *Ca1_16671522* локализуется в гене *Ca_06900*, кодирующем регулятор дифференцировки бутонов цветка у цветной капусты [18]. QTN *Ca3_8285781*, ассоциированный со скороспелостью (признак

Таблица 3. QTN, найденные ранее пакетом GAPIT и подтвержденные также новым методом IIIVmрMLM

QTN	Признак (IIIVm- рMLM)	Признак (GAPIT)	Модель в GAPIT	Опытная станиця
Ca1_16671522*	DF	DF	FarmCPU	A**
Ca1_18866042	PH	PH	FarmCPU/Blink	K
Ca1_22963404	LS	LS	FarmCPU/Blink	A
Ca1_26297505	PWwP	PWwP	FarmCPU	K
Ca2_11031394	100SW	100SW	FarmCPU/Blink	K
Ca3_3964840	DFst, HFP	HFP	FarmCPU/MLM/GLM/Blink	K
Ca3_6550815	LS	LS	FarmCPU	K
Ca3_8285781	Dmat	Dmat	Blink	A
Ca4_4866118	PH	PH	Blink	K
Ca4_7480193	PH	PH/HFP	FarmCPU/Blink/SUPER/Blink	K/A
Ca4_11296429	LS	LS	FarmCPU	K
Ca4_19608475	PWwP	PWwP	FarmCPU/Blink	A
Ca4_28678319	PH	PH/HFP	FarmCPU/Blink/FarmCPU	K/A
Ca4_32898006	100SW	100SW	Blink	K
Ca4_33076884	DF	DF	FarmCPU	A
Ca5_4619531	PWwP	PWwP	FarmCPU	K
Ca5_24177498	Dmat	Dmat	Blink	K
Ca5_24460834	PWwP	PWwP	FarmCPU/Blink	A
Ca5_25653166	PH	PH	Blink	K
Ca6_8506723	DFst	DFst	Blink	K
Ca6_24539191	PWwP	PWwP	FarmCPU	K
Ca6_35831438	PH	PH	FarmCPU/Blink	A
Ca6_38136682	HFP, PH	HFP	Blink	A
Ca6_44176749	PoW	PoW	Blink	A
Ca6_52822315	DF	DF	Blink	K
Ca7_25146185	NPB	NPB	FarmCPU/Blink	K
Ca7_27384412	100SW	100SW	FarmCPU	K
Ca7_28975339	NPB	NPB	FarmCPU/Blink	K
Ca8_6085438	PH	PH	Blink	A

Примечание. * — Обозначение QTN следует принятой номенклатуре: СаНомерхромосомы_Позиция в хромосоме; ** — ассоциация QTN с признаком обнаружена на Астраханской (A), Кубанской (K) опытных станциях или на обеих станциях (A/K).

Таблица 4. QTN, попавшие в гены нута с известной функцией

Признак (опытная станция)	QTN	r2(%)	Ближайший ген	Положение QTN относительно CDS**	Белок
DFst (A)	Ca7_44115084*	6.0	Ca_21365	GB***	Аналог глутатион S-трансферазы 3
DFst (K)	Ca1_34415550	2.0	Ca_25480	296 п.н., 3'	Белок SAR DEFICIENT 1
DFst (K)	Ca1_47379214	1.3	Ca_12918	GB	Предполагаемый белок TSUD_08610
DFst (K)	Ca3_33599380	1.6	Ca_23666	GB	Аналог хлоропластного K(+) эффлюксного антипортера 2
DFst (K)	Ca6_15579891	1.2	Ca_05341	824 п.н., 5'	Белок EMBRYO DEFECTIVE 514
DF (A)	Ca1_16671522	1.8	Ca_06900	GB	Аналог укороченного фактор транскрипции цветной капусты
DF (A)	Ca1_27535099	1.0	Ca_25066	GB	Предполагаемый белок TSUD_335600
DF (K)	Ca6_52822315	6.5	Ca_27699	GB	Белок LYK2
DF (K)	Ca7_37894908	1.6	Ca_16382	GB	Убиквитин-карбоксильная гидролаза 2
DF (K)	Ca8_11317824	2.2	Ca_16826	GB	Аналог белок-переносчик фосфатидилинозитола 3
Dmat (A)	Ca3_8285781	1.4	Ca_24378	GB	Аналог гомеобокс- лейцинового белка-молнии PROTODERMAL FACTOR 2
Dmat (A)	Ca6_59277761	2.7	Ca_18848	975 п.н., 5'	Белок устойчивости к болезням RPS4B
Dmat (K)	Ca3_6791279	5.1	Ca_16555	GB	Аналог хлоропластной длинноцепочечной ацил-СоА- синтетазы 9
Dmat (K)	Ca3_15051454	3.2	Ca_22493	847 п.н., 3'	Белок восстановления ДНК RAD4
Dmat (K)	Ca4_21792726	2.1	Ca_19083	254 п.н., 5'	Вероятная пектин- метилтрансфераза QUA2
Dmat (K)	Ca5_24177498	2.2	Ca_17652	GB	Предполагаемый белок DVH24_038707
Dmat (K)	Ca5_46770326	2.8	Ca_04136	GB	Аналог белка DETOXIFICATION 9
Dmat (K)	Ca7_30208157	4.4	Ca_11706	GB	Аналог транспортера металлов Nramp2
Dmat (K)	Ca8_6708652	2.0	Ca_10713	GB	Предполагаемый WRKY транскрипционный фактор 27

Таблица 4. Продолжение

PoW (A)	Ca2_15613331	2.1	Ca_18543	459 п.н., 3'	Белок, содержащий пентатрикопептидные повторы At2g33760
PoW (A)	Ca7_12538901	1.7	Ca_09263	573 п.н., 3'	Хлоропластная DEAD-box АТР-зависимая РНК хеликаза 3
PoW (K)	Ca6_37763788	3.7	Ca_19541	186 п.н., 5'	Частичный полипротеин gag
PoNP (A)	Ca4_35694984	4.0	Ca_22447	GB	Аналог диацилглицерин О-ацилтрансфераза 2D
PoNP (A)	Ca5_39553204	5.2	Ca_07489	GB	Аналог серин/треонин протеинкиназы OXI1
PoNP (K)	Ca4_21234531	1.6	Ca_19058	504 п.н., 3'	Субтилизин-подобная протеаза SBT1.6
PoNP (K)	Ca6_4538128*	5.0	Ca_05847	GB	Белок NEDD1 (низкого качества)
PoNP (K)	Ca6_32049391	3.9	Ca_15208	GB	Аналог флаванол синтазы/флавонон-3-гидролазы
PWwP (A)	Ca2_23905777	2.5	Ca_14940	410 п.н., 5'	Аналог белка MAIN-LIKE 2
PWwP (A)	Ca5_24460834	4.3	Ca_15581	GB	Аналог синтазы слезоточивого фактора
PWwP (K)	Ca5_4619531	2.7	Ca_25450	887 п.н., 5'	Аналог этилен-чувствительного транскрипционного фактора CRF6
PWwP (K)	Ca5_33200399	5.0	Ca_05012	GB	Фосфолипид: аналог диацилглицерол-ацилтрансферазы 1
100SW (K)	Ca2_11031394	5.3	Ca_17551	293 п.н., 3'	Белок тетраспанин-10-подобный
100SW (K)	Ca6_34567506	1.0	Ca_15816	907 п.н., 5'	Аналог белка фосфотазы 2C 77
100SW (K)	Ca7_33146251	1.4	Ca_16146	651 п.н., 3'	Гистон-деацетилаза 6
100SW (K)	Ca8_11015588	1.3	Ca_19750	969 п.н., 5'	Частичный транспозонный полипротеин Ty3-I Gag-Pol
PH (A)	Ca5_24728609	2.3	Ca_15604	581 п.н., 5'	Хлоропластная токоферол циклаза
PH (A)	Ca8_6085438	2.2	Ca_01938	GB	40S рибосомный белок S21-2
PH (K)	Ca4_29214438	1.6	Ca_14152	GB	Неописанный белок, аналог PB18E9.04c
PH (K)	Ca6_26266117	2.0	Ca_25507	315 п.н., 5'	Аспартил протеаза APCB1
HFP (A)	Ca6_53308665	3.8	Ca_22925	790 п.н., 3'	UDP-гликозил-трансфераза 89B2
HFP (K)	Ca7_551221	1.1	Ca_24413	216 п.н., 3'	Аналог белка RDM1

Таблица 4. Окончание

NPB (A)	Ca1_8647989	5.2	Ca_08100	76 п.н., 5'	EEF1A лизин метилтрансфераза 2
NPB (A)	Ca1_25058610	2.3	Ca_18317	495 п.н., 3'	60S рибосомный белок L3
NPB (A)	Ca3_3521384	2.7	Ca_21350	GB	Брефелдин А-ингибированный белок обмена гуаниновых нуклеотидов 5
NPB (K)	Ca4_35741005	1.6	Ca_22449	585 п.н., 5'	Кинезино-подобный белок KIN-14E
NPB (K)	Ca5_39576662	2.2	Ca_07489	GB	Аналог серин/треонин протеин-киназы OX11
NPB (K)	Ca7_15463169	1.7	Ca_09916	GB	Аналог белка, содержащего пентатрикопептидные повторы At5g08305
NPB (K)	Ca7_28975339	2.1	Ca_11806	454 п.н., 3'	Аналог диригентного белка 18
NSB (K)	Ca5_3593017	2.0	Ca_18703	421 п.н., 3'	PI-PLC X доменсодержащий белок At5g67130
LS (A)	Ca1_37335878	2.5	Ca_21837	785 п.н., 5'	Предполагаемая серин/треонин протеинкиназа PBL3
LS (A)	Ca7_35974625	5.9	Ca_17801	427 п.н., 5'	Аналог протеин киназы PINOID
LS (K)	Ca2_29653004	2.4	Ca_16124	201 п.н., 3'	Предполагаемая серин/треонин протеинкиназа WNK3

Примечание. (A) и (K) означают, что ассоциацию между QTN и признаком наблюдали на Астраханской или Кубанской опытной станции соответственно. * – QTN, которые объясняют наибольший процент вариации соответствующего признака, ** – CDS – кодирующая область, *** – GB – внутри кодирующей области.

Dmat), находится в гене *Ca_24378* для PROTO-DERMAL FACTOR 2 – белка, участвующего в дифференцировке клеток [19]. QTN *Ca4_21234531*, ассоциированный с числом бобов (PoNP), расположен в окрестности гена *Ca_19058*, кодирующего субтилизин-подобную протеазу SBT1.6, которая играет важную роль в формировании семенных оболочек, запуская активацию ферментов, модифицирующих клеточную стенку [20].

QTN *Ca7_37894908* и *Ca8_11317824*, ассоциированные с признаком DF (продолжительность цветения), попадают соответственно в ген *Ca_16382*, кодирующий убиквитин-карбоксилную гидролазу, и в ген *Ca_16826*, кодирующий бе-

лок-переносчик фосфатидилинозитола. Эти белки участвуют в белковом обмене, передаче сигнала и транспорте мембран [21, 22]. В сохранении целостности мембран [23] участвует хлоропластная токоферолцилаза, кодируемая геном *Ca_15604*, в котором находится QTN *Ca5_24728609*. QTN *Ca6_53308665*, ассоциированный с высотой прикрепления первого боба (HFP), попадает в окрестность гена *Ca_22925*. Этот ген кодирует UDP-гликозилтрансферазу, осуществляющую перенос сахаров на широкий спектр акцепторов, от гормонов и вторичных метаболитов до биотических и абиотических химических веществ и токсинов в окружающей среде [24].

Таблица 5. Сорта с лучшими комбинациями QTN для 4 признаков: скороспелость (или количество дней от всходов до созревания (Dmat), вес бобов с растения (PoW), число бобов с растения (PoNP), вес растения с бобами (PWwP)

Опытная станция	Описание сорта	Название сорта	TI-score
Астраханская	VIR0620: местный сорт, Израиль (дези)	Local	7
	VIR0839: местный сорт, Испания, (кабули)	POIS CHICHE DE CASTILLA	7
	VIR0217: местный сорт, Афганистан (дези)	Local	5
	VIR0239: местный сорт, Афганистан (кабули)	Local	4
	VIR0111: селекционный сорт, Германия (кабули)	Erbsen Spanische Kicher	3
	VIR0454: местный сорт, Алжир (кабули)	Local	2
	VIR0635: местный сорт, Иордания (дези)	Local	2
	VIR0637: местный сорт, Иордания (дези)	Local	1
Кубанская	VIR0244: местный сорт, Афганистан (кабули)	Local	13
	VIR0865: местный сорт, Турция (дези)	local	12
	VIR0406: местный сорт, Иран (дези)	Local	11
	VIR0669: местный сорт, Кипр (кабули)	Local	11
	VIR0539: местный сорт, Сирия (дези)	Local	10
	VIR0230: местный сорт, Афганистан (дези)	Local	9
	VIR0034: местный сорт, Индия (дези)	GRAM TYPE 15	9
	VIR0538: местный сорт, Сирия (кабули)	Local	9
	VIR0225: местный сорт, Афганистан (дези)	Local	8
	VIR0545: местный сорт, Азербайджан (кабули)	Local	8
	VIR0596: местный сорт, Турция (кабули)	Local	8

QTN Ca3_6791279 в гене *Ca_16555*, Ca3_15051454 в окрестности гена *Ca_22493*, Ca4_21792726 в окрестности гена *Ca_19083*, Ca7_30208157 в гене *Ca_11706*, а также Ca8_6708652 в гене *Ca_10713* оказались ассоциированы со скороспелостью (признак Dmat). Гены, в которые попали эти QTN, участвуют в различных реакциях обмена веществ [25] и ответа на абиотические стрессы [26], скорость которых, вероятно, опосредованно влияет на скорость созревания плодов.

Ген *Ca_09263*, в окрестность которого попадает QTN Ca7_12538901, ассоциированный с PoW (вес бобов); ген *Ca_01938*, содержащий Ca8_6085438, который ассоциирован с высотой растения (признак PH); ген *Ca_18317*, в окрестность которого попадает Ca1_25058610, ассоциированный с числом ветвей первого порядка (признак PBN), кодируют белки, участвующие в работе рибосом [27]. QTN Ca6_15579891, ассоциированный со скоростью зацветания (признак DFst) и локализующийся в окрестности гена

Ca_05341, кодирует белок, который у *Arabidopsis thaliana* участвует в формировании рибосом и влияет на скорость деления клеток [28].

QTN Ca5_4619531, ассоциированный с PoWP (вес растения с бобами), расположен в окрестности гена *Ca_25450* этилен-чувствительного транскрипционного фактора CRF6, который участвует в сигнальных путях, связанных с развитием семян и листьев [29].

Гены, в которые попали найденные QTN, часто были связаны с реакцией растений на различные абиотические и биотические стрессы. Например, Ca6_34567506, ассоциированный с весом семян (PoW), расположен в окрестности гена *Ca_15816*, кодирующего белковую фосфатазу 2C 77, которая вовлечена в механизм закрытия устьиц в ответ на влажность и освещенность [30]. Ген *Ca_25480*, в окрестности которого локализуется Ca1_34415550, ассоциированный с DFst (скоростью зацветания) и ген *Ca_22447*, содержащий Ca4_35694984, ассоциированный с числом бобов (PoNP) кодируют белок SAR DEFICIENT 1 и диацилглицерин-О-ацилтрансферазу 2 соответственно. Оба этих белка участвуют в ответе на абиотические стрессы [31, 32]. QTN Ca3_33599380, также ассоциированный с признаком DFst, находится в гене *Ca_23666*, который кодирует K(+) - эффлюксный антиporter, участвующий в биосинтезе клеточной стенки и устойчивости к соли [33]. Ca6_26266117, ассоциированный с PH (высота растения), расположен в окрестности гена *Ca_25507*, кодирующего аспартил-протеазу APCB1, участвующую в базальном иммунитете растений [34]. QTN Ca3_3521384, ассоциированный с числом ветвей первого порядка (PBN), попадает в ген *Ca_21350*, кодирующий брефелдин А-ингибиторный белок обмена гуаниновых нуклеотидов, который участвует в процессах раннего развития [35], а также вовлечен в работу иммунитета, регулируемого салициловой кислотой.

Ген *Ca_27699*, содержащий QTN Ca6_52822315, который ассоциирован с длительностью цветения (признак DF), кодирует белок LYK2. Аналог белка DETOXIFICATION 9 кодирует ген *Ca_18848*, в окрестности которого локализуется QTN Ca6_59277761, ассоциированный со скоростью созревания (признак Dmat). Ген *Ca_04136*, в который попал QTN Ca5_46770326, тоже ассоциированный со признаком Dmat, кодирует белок RPS4B. Все эти белки связаны с ответом растения на биотический стресс [36, 37]. Вероятно, общее здоровье растения оказывает опосредованное влияние на скорость зацветания и созревание плодов. Такая же связь, вероятно, есть и у QTN Ca5_24460834, ассоциированного с весом растения с бобами (PWwP), который попадает в ген *Ca_15581*, кодирующий слезоточивый

фактор, который важен для отпугивания вредителей.

При оценке качества сортов оказалось, что лишь небольшое их количество имеют положительную оценку TI-score для Астраханской опытной станции, тогда как значения этой характеристики для Кубанской опытной станции были положительными у 75 сортов, причем у 5 сортов значение этой оценки было больше 10. Эти результаты наталкивают на мысль, что рассматриваемые сорта нута в целом оказались менее приспособлены к климату Астрахани по сравнению с климатом Кубани.

При оценке качества сортов рассматривался рассчитанный пакетом IIIVmrMLM аддитивный эффект для каждого признака. Аддитивный характер аллелей с предпочтительным эффектом подтверждается, если мы рассматриваем величину каждого признака отдельно для сортов, содержащих разное количество предпочтительных аллелей (рис. 3). В данном случае рассматривали только количество аллелей с позитивным эффектом у каждого сорта, и не учитывали число аллелей с негативным эффектом. На рис. 3 можно видеть, что количество дней до созревания (Dmat) и вес растения с бобами (PWwP) в данных Кубанской опытной станции, а также вес бобов (PoW) и вес растений с бобами (PWwP) в данных Астраханской опытной станции статистически значимо коррелируют с количеством у растения предпочтительных аллелей. Отсутствие статистически значимая корреляция в остальных случаях (пометка $p > 5\%$ на графиках) связана, вероятно, с накоплением у образцов также и аллелей с негативным эффектом, которые тоже вносят свой вклад. Так, например, только максимальное число аллелей с позитивным эффектом для веса бобов (PoW) в данных Кубанской опытной станции и числа бобов (PoNP) в данных Астраханской опытной станции приводят к статистически значимому увеличению этих признаков у группы сортов, а сорта с меньшим количеством аллелей различаются по значению этих признаков не слишком сильно.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность Суперкомпьютерному центру Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого (scc.spbstu.ru) за предоставление отличных вычислительных ресурсов и поддержку данного проекта.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 22-46-02004).

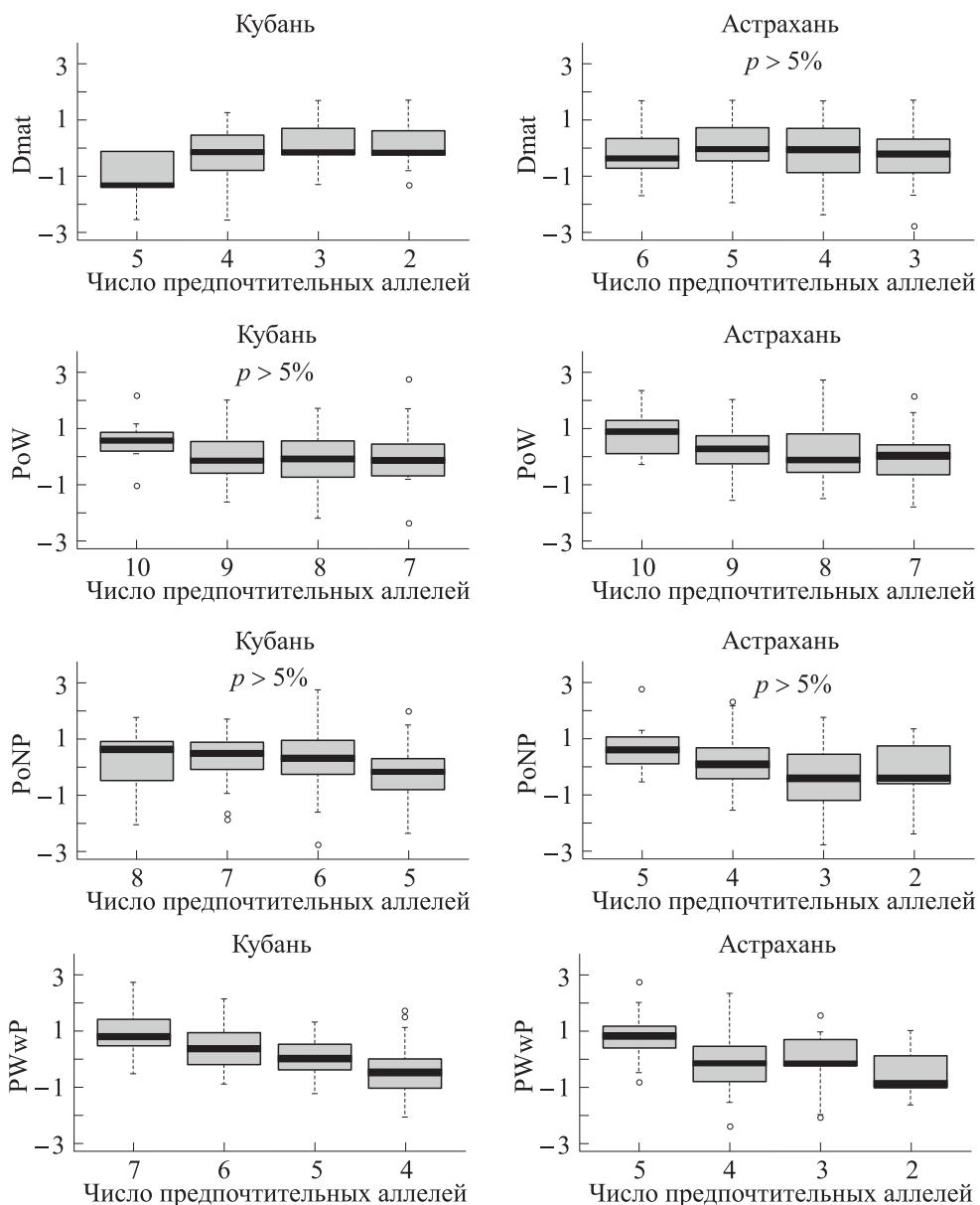


Рис. 3. Диаграммы размаха значений фенотипических признаков у сортов, содержащих различное количество предпочтительных аллелей локусов QTN, ассоциированных с числом дней от всходов до созревания (Dmat), весом бобов с растения (PoW), числом бобов с растения (PoNP), весом растения с бобами (PWwP). По оси ординат представлены нормированные величины признаков. Пометки $p > 5\%$ соответствуют случаям, когда корреляция между средними значениями признака и числом предпочтительных аллелей не была статистически значимой.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с изложенными в статье данными.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания собственных исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Redden, R. J. and Berger J. D. History and origin of Chickpea. In *Chickpea Breeding & Management*. Ed. by S.S. Yadav, R. Redden, W. Chen, and B. Sharma (CABI, Wallingford, UK, 2007), pp. 1–13.
2. Varshney R.K., Thudi M., Roorkiwal M., He W., Upadhyaya H. D., Yang W., Bajaj P., Cubry P., Rathore A., Jian J., Doddamani D., Khan A. W., Garg V., Chitikineni A., Xu D., Gaur P. M., Singh N. P., Chaturvedi S. K., Nadigatla G. V. P. R., Krishnamurthy L., Dixit G. P., Fikre A., Kimurto P. K.,

- Sreeman S. M., Bharadwaj C., Tripathi S., Wang J., Lee S. H., Edwards D., Polavarapu K. K. B., Penmetsa R. V., Crossa J., Nguyen H. T., Siddique K. H. M., Colmer T. D., Sutton T., von Wettberg E., Vigouroux Y., Xu X., and Liu X.. Resequencing of 429 chickpea accessions from 45 countries provides insights into genome diversity, domestication and agronomic traits. *Nat. Genet.*, **51**, 857–864 (2019). DOI: 10.1038/s41588-019-0401-3
3. Thudi M., Chitikineni A., Liu X., He W., Roorkiwal M., Yang W., Jian J., Doddamani D., Gaur P. M., Rathore A., Samineni S., Saxena R. K., Xu D., Singh N. P., Chaturvedi S. K., Zhang G., Wang J., Datta S. K., Xu X., and Varshney R. K. Recent breeding programs enhanced genetic diversity in both desi and kabuli varieties of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Sci. Rep.*, **6**, 38636 (2016). DOI: 10.1038/srep38636
4. Kumar J. and Abbo S. Genetics of flowering time in chickpea and its bearing on productivity in semiarid environments. *Adv. Agronomy*, **72**, 107–138 (2001). DOI: 10.1016/S0065-2113(01)72012-3
5. Gursky V. V., Kozlov K. N., Nuzhdin S. V., and Samsonova M. G. Dynamical modeling of the core gene network controlling flowering suggests cumulative activation from the *FLOWERING LOCUS T* gene homologs in chickpea. *Front Genet.*, **9**, 547 (2018). DOI: 10.3389/fgene.2018.00547
6. Jha Ch. U., Kole Ch. P., and Singh P. N. QTL mapping for heat stress tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Legume Res.*, **44** (4), 382–387 (2019). DOI: 10.18805/LR-4121
7. Sokolkova A., Bulyntsev S. V., Chang P. L., Carrasquilla-Garcia N., Igolkina A. A., Noujdina N. V., von Wettberg E., Vishnyakova M. A., Cook D. R., Nuzhdin S. V., and Samsonova M. G. Genomic analysis of vavilov's historic chickpea landraces reveals footprints of environmental and human selection. *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 3952 (2020). DOI: 10.3390/ijms21113952
8. Varshney R. K., Roorkiwal M., Sun Sh., Bajaj P., Chitikineni A., Thudi M., Singh N. P., Du X., Upadhyaya H. D., Khan A. W., Wang Y., Garg V., Fan G., Cowling W. A., Crossa J., Gentzbittel L., Voss-Fels K. P., Valluri V. K., Sinha P., Singh V. K., Ben C., Rathore A., Punna R., Singh M. K., Tar'an B., Bharadwaj Ch., Yasin M., Pithia M. S., Singh S., Soren Kh. R., Kudapa H., Jarquín D., Cubry Ph., Hickey L. T., Dixit G. P., Anne-Thuillet C., Hamwieh A., Kumar Sh., Deokar A. A., Chaturvedi S. K., Francis A., Howard R., Chattopadhyay D., Edwards D., Lyons E., Vigouroux Y., Hayes B. J., von Wettberg E., Datta S. K., Yang H., H. Nguyen T., Wang J., Siddique K. H. M., Mohapatra T., Bennetzen J. L., Xu X., Liu X. A chickpea genetic variation map based on the sequencing of 3,366 genomes, *Nature*, **599** (7886), 622–627 (2021). DOI: 10.1038/s41586-021-04066-1,
9. Duk M. A., Kanapin A. A., Bankin M. P., Vishnyakova M. A., Bulyntsev S. V., and Samsonova M. G., Genome-wide association analysis in chickpea land- races and cultivars. *Biophysics*, **68**, 952–963 (2023). DOI: 10.1134/S0006350923060076
10. Zhang Y.-M., Jia Z., and Dunwell J. M. Editorial: The application of new multi-locus GWAS methodologies in the genetic dissection of complex traits. *Front. Plant Sci.*, **10**, 100 (2019). DOI: 10.3389/fpls.2019.00100
11. Zhang Y.-W., Tamba C. L., Wen Y.-J., Li P., Ren W.-L., Ni Y.-L., Gao J., and Zhang Y.-M. mrMLM v4.0.2: An R platform for multi-locus genome-wide association studies. *Genom. Proteom. Bioinform.*, **18**, 481–487 (2020). DOI: 10.1016/j.gpb.2020.06.006
12. Wang J. and Zhang Z. GAPIT Version 3: Boosting power and accuracy for genomic association and prediction. *Genom. Proteom. Bioinform.*, **19** (4), 629–640 (2021). DOI: 10.1016/j.gpb.2021.08.005
13. Li M., Zhang Y.-W., Xiang Y., Liu M.-H., and Zhang Y.-M. IIIVmrMLM: The R and C++ tools associated with 3VmrMLM, a comprehensive GWAS method for dissecting quantitative traits. *Mol. Plant*, **15** (8), 1251–1253 (2022). DOI: 10.1016/j.molp.2022.06.002
14. Zeng C. J. T., Lee Y.-R. J., and Liu B. The WD40 repeat protein NEDD1 functions in microtubule organization during cell division in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, **21** (4), 1129–1140 (2009). DOI: 10.1105/tpc.109.065953
15. Jakobsson P.-J., Mancini J. A., Riendeau D., and Ford-Hutchinson A. W., Identification and characterization of a novel microsomal enzyme with glutathione-dependent transferase and peroxidase activities. *J. Biol. Chem.*, **272** (36), 22934–22939 (1997). DOI: 10.1074/jbc.272.36.22934
16. Steinmetz-Spa J., Liu J., Singh R., Ekoff M., Boddul S., Tang X., Bergqvist F., Idborg H., Heitel P., Rönnberg E., Merk D., Wermeling F., Haeggström J. Z., Nilsson G., Steinhilber D., Larsson K., Korotkova M., and Jakobsson P.-J. *J. Lipid Res.*, **63** (12), 100310, (2022). DOI: 10.1016/j.jlr.2022.100310
17. M. C. Rentel, D. Lecourieux, F. Ouaked, S. L. Usher, L. Petersen, H. Okamoto, H. Knight, S. C. Peck, C. S. Grierson, H. Hirt, and M. R Knight, OXI1 kinase is necessary for oxidative burst-mediated signalling in *Arabidopsis*. *Nature*, **427** (6977), 858–861 (2004). DOI: 10.1038/nature02353
18. Li X. F., Shen R. J., Liu P. L., Tang Z. C., and He Y. K. Molecular characters and morphological genetics of CAL gene in Chinese cabbage. *Cell Res.*, **10** (1), 29–38 (2000). DOI: 10.1038/sj.cr.7290033
19. Ogawa E., Yamada Y., Sezaki N., Kosaka S., Kondo H., Kamata N., Abe M., Komeda Y., and Takahashi T. ATM1 and PDF2 Play a Redundant and Essential Role in *Arabidopsis* Embryo Development. *Plant Cell Physiol.*, **56** (6), 1183–1192 (2015). DOI: 10.1093/pcp/pcv045
20. Rautengarten C., Usadel B., Neumetzler L., Hartmann J., Büsisis D., and Altmann Th. A subtilisin-like serine protease essential for mucilage release from *Arabidopsis* seed coats. *Plant J.*, **54** (3), 466–480 (2008). DOI: 10.1111/j.1365-313X.2008.03437.x

21. Tian G., Lu Q., Kohalmi S. E., Rothstein S. J., and Cui Y. Evidence that the *Arabidopsis* Ubiquitin C-terminal Hydrolases 1 and 2 associate with the 26S proteasome and the TREX-2 complex. *Plant Signal. Behav.*, **7** (11), 1415–1419 (2012). DOI: 10.4161/psb.21899
22. Cockcroft Sh. and Garner K. Function of the phosphatidylinositol transfer protein gene family: is phosphatidylinositol transfer the mechanism of action? *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, **46** (2), 89–117 (2011). DOI: 10.3109/10409238.2010.538664
23. Kumar R., Raclaru M., Schüßeler T., Gruber J., Sadre R., Lühs W., Zarhloul K. M., Friedt W., Enders D., Frentzen M., and Veier D. Characterisation of plant tocopherol cyclases and their overexpression in transgenic *Brassica napus* seeds. *FEBS Lett.*, **579**, 1357–1364 (2005). DOI: 10.1016/j.febslet.2005.01.030
24. Bowles D., Lim E.-K., Poppenberger B., and Vaistij F.E. Glycosyltransferases of lipophilic small molecules. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **57**, 567–597 (2006). DOI: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105429
25. P. Gao, Z. Xin, and Z.-L. Zheng, The *OSU1/QUA2/TSD2*-encoded putative methyltransferase is a critical modulator of carbon and nitrogen nutrient balance response in *Arabidopsis*. *PLoS One*, **3** (1), e1387 (2008). DOI: 10.1371/journal.pone.0001387
26. T. Lahari, Lazaro J., and Schroeder D. F. RAD4 and RAD23/HMR Contribute to *Arabidopsis* UV Tolerance. *Genes*, **9** (1), 8 (2018). DOI: 10.3390/genes9010008
27. Okanami M., Meshi T., and Iwabuchi M. Characterization of a DEAD box ATPase/RNA helicase protein of *Arabidopsis thaliana*. *Nucl. Acids Res.*, **26** (11), 2638–2643 (1998). DOI: 10.1093/nar/26.11.2638
28. Meinke D. W. Genome-wide identification of *EMBRYO-DEFECTIVE* (*EMB*) genes required for growth and development in *Arabidopsis*. *New Phytol.*, **226**, 306–325 (2020). DOI: 10.1111/nph.16071
29. Rashotte A. M., Mason M. G., Hutchison C. E., Ferreira F. J., Schaller G. E., and Kieber J. J. A subset of *Arabidopsis* AP2 transcription factors mediates cytokinin responses in concert with a two-component pathway *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103** (29), 11081–11085 (2006). DOI: 10.1073/pnas.060203810
30. Hua D., Wang C., He J., Liao H., Duan Y., Zhu Z., Guo Y., Chen Z., and Gong Z. A plasma membrane receptor kinase, GHR1, mediates abscisic acid- and hydrogen peroxide-regulated stomatal movement in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, **24**, 2546–2561 (2012). DOI: 10.1105/tpc.112.100107
31. Zhang Y., Xu Sh., Ding P., Wang D., Cheng Y. T., He J., Gao M., Xu F., Li Y., Zhu Z., Li X., and Zhang Y., Control of salicylic acid synthesis and systemic acquired resistance by two members of a plant-specific family of transcription factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107** (42), 18220–18225 (2010). DOI: 10.1073/pnas.1005225107
32. Chen B., Wang J., G. Zhang, Liu J., Manan S., Hu H., and Zhao J. Two types of soybean diacylglycerol acyltransferases are differentially involved in triacylglycerol biosynthesis and response to environmental stresses and hormones. *Sci. Rep.*, **6**, 28541 (2016). DOI: 10.1038/srep28541
33. Zhu X., Pan T., Zhang X., Fan L., Quintero F. J., Zhao H., Su X., Li X., Villalba I., Mendoza I., Shen J., Jiang L., Pardo J. M., and Qiu Q.-Sh. K⁺ Efflux Antiporters 4, 5, and 6 Mediate pH and K⁺ Homeostasis in Endomembrane Compartments. *Plant Physiol.*, **178** (4), 1657–1678 (2018). DOI: 10.1104/pp.18.01053
34. Li Y., Kabbage M., W. Liu, and Dickman M. B. Aspartyl protease-mediated cleavage of bag6 is necessary for autophagy and fungal resistance in plants. *Plant Cell*, **28**, 233–247 (2016). DOI: 10.1105/tpc.15.00626
35. Tanaka H., Kitakura S., Rakusova H., Uemura T., Feraru M. I., De Rycke R., Robert S., Kakimoto T., and Friml J. Cell polarity and patterning by pin trafficking through early endosomal compartments in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genetics*, **9** (5), e1003540 (2013). DOI: 10.1371/journal.pgen.1003540
36. <https://www.uniprot.org/uniprotkb/Q9SGI7/entry>
37. Saucet S. B., Ma Y., Sarris P. F., Furzer O. J., Sohn K. H., Jones J. D. Two linked pairs of *Arabidopsis* TNL resistance genes independently confer recognition of bacterial effector AvrRps4. *Nat. Commun.*, **6**, 6338 (2015). DOI: 10.1038/ncomms7338, PMID: 25744164.
38. Li H. and Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform. *Bioinformatics*, **25** (14), 1754–1760 (2009). DOI: 10.1093/bioinformatics/btp324
39. Tello D., Gonzalez-Garcia L. N., Gomez J., Zuluaga-Monares J. C., Garcia R., Angel R., Mahecha D., Duarte E., Leon M. D. R., Reyes F., Escobar-Velásquez C., Linares-Vásquez M., Cardozo N., and Duitama J. NGSEP 4: Efficient and accurate identification of orthogroups and whole-genome alignment. *Mol. Ecol. Resour.*, **23** (3), 712–724 (2023). DOI: 10.1111/1755-0998.13737
40. Danecek P., Auton A., Abecasis G., Albers C. A., Banks E., DePristo M. A., Handsaker R. E., Lunter G., Marth G. T., Sherry S. T., McVean G., and Durbin R. The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics*, **27** (15), 2156–2158 (2011). DOI: 10.1093/bioinformatics/btr330
41. Bradbury P. J., Zhang Z., Kroon D. E., Casstevens T. M., Ramdoss Y., and Buckler E. S. TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*, **23** (19), 2633–2635 (2007). DOI: 10.1093/bioinformatics/btm308
42. Purcell S., Neale B., Todd-Brown K., Thomas L., Ferreira M. A., Bender D., Maller J., Sklar P., de Bakker P. I., Daly M. J., and Sham P. C. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am. J. Hum. Genet.*, **81** (3), 559–575 (2007). DOI: 10.1086/519795

Using the IIIVmrMLM Method to Confirm and Search New Genome-Wide Associations in Chickpea

M.A. Duk*, **, A.A. Kanapin*, M.P. Bankin*, and M.G. Samsonova*

*Peter the Great St.-Petersburg Polytechnic University, Polytekhnicheskaya ul. 29, St.Petersburg, 195251 Russia

**Ioffe Institute, Polytekhnicheskaya ul. 26, St.Petersburg, 195251 Russia

Chickpea (*Cicer arietinum*) is an important crop grown in the Middle East, Central Asia, Turkey, India and southern Russia and used in a wide variety of traditional dishes. The decrease in genetic diversity during domestication, as well as the crop's greater sensitivity to abiotic and biotic stresses, provides the idea of using landraces in breeding programs to improve the crop. The new IIIVmrMLM method for genome-wide association search allowed us to identify new variants in the genetic data of the chickpea collection, which were localized within important genes, and to identify landraces best suited to the climate of the two experimental stations.

Keywords: chickpea, GWAS, IIIVmrMLM, landraces, multilocus models