

УДК 519.876.5

## ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ СТАРОМЕСТНЫХ СОРТОВ НУТА

© 2021 г. А.Б. Соколкова\*, С.В. Булынцев\*\*, П.Л. Чанг\*\*\*, Н. Карраскила-Гарсия\*\*\*, Д.Р. Кук\*\*\*, Э. Веттберг\*\*\*\*, М.А. Вишнякова\*\*\*\*\*, С.В. Нуждин\*, \*\*\*\*\*, М.Г. Самсонова\*

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

\*\*Кубанская опытная станция Федерального исследовательского центра «Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова»,  
352183, Краснодарский край, Гулькевичский район, пос. Ботаника, Центральная ул., 2

\*\*\*Калифорнийский университет в Дэвисе, 95616, Дэвис, США

\*\*\*\*Университет Вермонта, 05405, Берлингтон, США

\*\*\*\*\*Федеральный исследовательский центр «Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова», 190000, Санкт-Петербург, Большая Морская ул., 42–44

\*\*\*\*\*Университет Южной Калифорнии, 90089, Лос-Анджелес, США

E-mail: m.samsonova@spbstu.ru

Поступила в редакцию 20.11.2020 г.

После доработки 20.11.2020 г.

Принята к публикации 27.11.2020 г.

Коллекция банка семян Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР) содержит староместные сорта, собранные в основных исторических центрах выращивания нута и его вторичной диверсификации. В статье приведен анализ результатов фенотипирования 407 староместных сортов нута на полях Кубанской опытной станции ВИР в 2017 г. Проведенный GWAS-анализ выявил три однонуклеотидных полиморфизма на хромосомах 2, 7 и 8, значимо ассоциированных с фенотипическим признаком «число дней цветения». Эти однонуклеотидные полиморфизмы и районы генома рядом с ними были идентифицированы в предыдущих исследованиях. При оценке взаимодействия «генотип—среда» были выявлены «лучшие» в средах генотипы для фенотипических признаков, связанных с семенами растений. Найденные генотипы имеют альтернативную гомозиготу в позиции Ca7:30930779, которая значимо ассоциирована с данными фенотипическими признаками при фенотипировании на Кубанской опытной станции ВИР в 2016 г. и с периодом цветения при фенотипировании в 2017 г. Полученные результаты могут ускорить поиск образцов коллекции наиболее перспективных для возделывания сортов нута.

*Ключевые слова:* нут (*Cicer arietinum* L.), генотипирование путем секвенирования, однонуклеотидные полиморфизмы, геномный анализ ассоциаций, GGE biplot анализ.

DOI: 10.31857/S0006302921010051

Нут (*Cicer arietinum*) является одним из наиболее широко выращиваемых зернобобовых культур в мире и обеспечивает жизненно важный источник диетического белка для ~15% населения земного шара. Нут был впервые одомашнен примерно 10 тыс. лет назад в регионе Плодородного полумесяца и затем распространился в Индию (~6000 лет назад), а также в Эфиопию и Северную Африку (~3000 лет назад) [1]. В статье проведен анализ 407 староместных сортов, собранных из основных исторических центров выращивания нута и его вторичной диверсификации. Эти образцы являются частью коллекции банка семян

Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР) в Санкт-Петербурге, которая была сформирована в результате экспедиций под руководством Н.И. Вавилова в 1911–1940 гг.

В нашей предыдущей работе [2] был проведен геномный анализ ассоциаций (GWAS) для поиска статистически значимых ассоциаций между однонуклеотидными полиморфизмами (ОНП) и фенотипическими признаками, измеренными на Кубанской опытной станции ВИР в 2016 г. GWAS-анализ выявил большое количество геномных интервалов и потенциальных генов-кандидатов, которые могут влиять на важные агрономические признаки. Кроме того, в работе [3] мы идентифицировали 13 ОНП, ассоциированных с

Сокращения: GWAS – геномный анализ ассоциаций, ОНП – однонуклеотидные полиморфизмы.

**Таблица 1.** Фенотипические признаки, оцененные в 2017 г. на Кубанской опытной станции, отобранные для GWAS анализа

Фенотипический признак	Единица измерения
Поражаемость аскохитозом	балл
Число дней от начала цветения до начала созревания	дни
Число дней цветения	дни
Число дней созревания	дни
Число дней от посева до начала всходов	дни
Число дней от начала всходов до начала цветения	дни
Число дней от начала всходов до начала созревания	дни
Число дней от начала всходов до конца цветения	дни
Число дней от начала всходов до конца созревания	дни

биоклиматическими переменными в местах сбора образцов и являющимися сильными кандидатами как маркеры локальной адаптации.

В 2017 г. на полях Кубанской опытной станции ВИР был осуществлен посев 407 образцов нута, фенотипированных там же в 2016 г., но на другом месте в соответствии с севооборотом. Был проведен GWAS-анализ для поиска значимо ассоциированных ОНП с фенотипическими признаками и сравнение результатов с найденными районами генома в анализе данных 2016 г.

Известно, что в структуре фенотипической изменчивости количественных признаков, с которыми имеет дело селекция, большую роль играет взаимодействие «генотип—среда». Для оценки стабильности и адаптивности генотипов был проведен GGE (genotype plus genotype-environment interaction) biplot-анализ для трех фенотипических признаков: число дней цветения, число семян на одно растение и вес семян с одного растения. При оценке взаимодействия «генотип—среда» были использованы значения фенотипических признаков, измеренных на Кубанской опытной станции ВИР в 2016 и 2017 гг., а также фенотипические признаки, измеренные в 2000–2005 гг. при посеве староместных сортов нута на опытной станции организации ICARDA (Международный центр сельскохозяйственных исследований засушливых регионов) в Алеппо (Сирия). Полученные результаты могут быть использованы в будущем для отбора генотипов с лучшими значениями фенотипов и фенотипической стабильностью.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Генетический материал и геномные данные.** Генетический материал был получен из староместных образцов нута, собранных в 1920–1930 гг. в основных исторических центрах выращивания нута и его вторичной диверсификации, сохраняемых в коллекции ВИР. В изучение вошли образ-

цы, собранные на Ближнем Востоке, в Северной Африке, Пакистане, Марокко, Бирме, Средней Азии, европейской части бывшего СССР и др. Для осуществления генотипирования путем секвенирования (GBS) был использован протокол из статьи [4]. Данные секвенирования доступны в базе данных Национального центра биотехнологий, код BioProject PRJNA388691. Набор ОНП, использованных в данной работе был получен в статье [2]: поиск ОНП был произведен с помощью программы Genome Analysis Tool Kit (GATK) [5], после фильтрации полученных ОНП с помощью программы VCFtools [6] для дальнейшего анализа были использованы 407 образцов нута и 2579 найденных у них ОНП. Обозначения образцов приведены в соответствии с их нумерацией при поиске ОНП.

**Фенотипирование образцов на полях Кубанской опытной станции ВИР в 2017 г.** В 2017 г. на полях Кубанского филиала ВИР был осуществлен посев 407 образцов нута из набора, изученного там же в 2016 г. Климат Кубанской опытной станции хорошо подходит для выращивания нута. Все агротехнические приемы при обработке почвы и посева были идентичны 2016 г. Описание фенотипирования в 2016 г. приведено в статье [2].

Для проведения GWAS-анализа были выбраны девять фенотипических признаков (см. табл. 1), значения которых были измерены для всей выборки из 407 образцов, изученных в нашей предыдущей работе [2].

Для проведения GGE biplot-анализа были отобраны три фенотипических признака (число дней цветения, число семян на одно растение и вес семян с одного растения), оценка которых была произведена ранее на Кубанской опытной станции ВИР в 2016 г. и в другой локации — на опытной станции организации ICARDA в Алеппо.

**Статистический анализ** количественных фенотипических признаков был выполнен с помощью программной среды R [7].

**GWAS-анализ** был проведен с использованием линейных смешанных моделей, реализованных в пакете программ FaST-LMM [8]. Анализ главных компонент 2579 ОНП, проведенный в программной среде R [7], выявил, что первые восемь главных компонент объясняют 48% вариативности всех ОНП. Поэтому для учета популяционной структуры линейная смешанная модель была применена ко всем фенотипическим признакам с восемью главными компонентами, которые были использованы в качестве ковариатов. Для каждого фенотипического признака результат GWAS анализа был подвержен коррекции на множественное тестирование [9] с пороговым значением 0.05. Кроме того, для определения значимо ассоциированных с фенотипическими признаками ОНП был использован параметр геномного контроля ( $\lambda_{GC}$ ).

**GGE biplot-анализ.** Для проведения GGE biplot-анализа были отобраны три фенотипических признака: число дней цветения, число семян на одно растение и вес семян с одного растения. Эти фенотипические признаки были оценены в двух разных локациях: на Кубанской опытной станции ВИР в 2016 и 2017 гг. и на опытной станции организации ICARDA в Алеппо. Посев староместных сортов нута в Сирии проводили в 2000–2005 гг. Для исследования были подсчитаны средние значения фенотипических признаков, измеренных в этот период. Значения фенотипических признаков, измеренных на Кубанской опытной станции ВИР, будут рассмотрены отдельно по году фенотипирования. Оценка взаимодействия генотип-среда для фенотипического признака число дней цветения была произведена для 63 генотипов, для которых фенотипический признак был измерен во всех трех средах. Оценка взаимодействия генотип-среда для фенотипических признаков число семян на одно растение и вес семян с одного растения была произведена для 32 генотипов. GGE biplot-анализ был проведен с помощью библиотеки в R metan (Multi-Environment Trial Analysis) [10].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

**Фенотипирование на Кубанской опытной станции ВИР в 2017 г.** В 2017 г. на полях Кубанской опытной станции ВИР был осуществлен посев 407 староместных образцов нута, изученных там же в 2016 г. Описание фенотипирования на Кубанской станции ВИР в 2016 г. приведено в нашей предыдущей работе [2]. Сумма активных температур за лето 2016 г. составила 3073°C. Абсолютный максимум составил 39.8°C во второй декаде июля. Летом 2016 г. были зарегистрированы два опасных явления: в июне ливневый дождь с выпадением града, в августе – сильная жара. Сезон 2017 г. отличался наступлением ранней весны. В

течение весеннего периода наблюдались колебания температур и возврат холодных периодов. Сумма активных температур за весенний период составила 736°C, что на 59°C меньше нормы. В связи с этим посев образцов осуществляли на четыре дня позже по сравнению с 2016 г. (2 мая). Летний период характеризовался резкими колебаниями среднесуточных температур воздуха в июне и июле. Сумма активных температур за лето 2017 г. составила 2887°C. Абсолютный максимум составил 38.1°C во второй декаде августа. Кроме того, в августе зарегистрировано опасное явление – «сильная жара» продолжительностью 13 дней, максимальная температура воздуха превышала 35°C.

**GWAS-анализ по результатам фенотипирования на Кубанской опытной станции ВИР в 2017 г.** Для проведения GWAS-анализа по результатам фенотипирования в 2017 г. были выбраны девять фенотипических признаков (табл. 1), значения которых были измерены для всей выборки из 407 образцов, изученных в нашей предыдущей работе [2].

Для каждого фенотипического признака для учета популяционной структуры GWAS анализ был проведен с восемью главными компонентами в качестве ковариантов, которые были подсчитаны на основе 2579 ОНП. GWAS-анализ выявил три ОНП на хромосомах 2, 7 и 8 соответственно, значимо ассоциированных с фенотипическим признаком «число дней цветения» (табл. 2).

ОНП Ca2:17161884 значимо ассоциирован с периодом цветения на Кубани в 2017 г. Этот ОНП, как и ОНП Ca2:17161867, ассоциированный с весом растения без бобов при фенотипировании на Кубани в 2016 г. [2], находится в области интрона гена Ca\_16015 (табл. 2). Ген Ca\_16015 кодирует фосфоенолпируваткарбоксылазу – фермент, участвующий в фиксации углерода и цикле трикарбоновых кислот [11]. ОНП Ca7:30930779 значимо ассоциирован с периодом цветения на Кубани в 2017 г. и с фенотипическими признаками, измеренными на Кубани в 2016 г. – числом семян на одно растение и весовыми характеристиками образцов [2] (табл. 2). ОНП на восьмой хромосоме Ca8:10314452, ассоциированный с периодом цветения на Кубани в 2017 г., также был идентифицирован в наших предыдущих исследованиях. Этот ОНП значимо ассоциирован с весовыми характеристиками растений при фенотипировании на Кубани в 2016 г. [2] (табл. 2). Кроме того, при поиске ОНП, значимо ассоциированных с биоклиматическими переменными в местах сбора образцов в работе [3], две биоклиматические переменные SMS1 и SMS3, которые включают температурные характеристики, были совместно ассоциированы с ОНП Ca8:10314452 (табл. 2). ОНП Ca8:10314452 находится на расстоянии ~25 kb от

**Таблица 2.** ОНП, выявленные по результатам GWAS анализа и их связь с ОНП, выявленными в наших предыдущих исследованиях

Позиция	Хромосома	Признак	Ген
17161867	Ca2	Вес растения без бобов, Кубань 2016 [2]	Ca_16015
17161884		<b>Число дней цветения, Кубань 2017</b>	
30930779	Ca7	Число семян на одно растение, Кубань 2016 [2]	—
		Вес растения без бобов, Кубань 2016 [2]	
		<b>Число дней цветения, Кубань 2017</b>	
		Вес семян с одного растения, Кубань 2016 [2]	
		Вес растения, Кубань 2016 [2]	
		Вес бобов, Кубань 2016 [2]	
10314452	Ca8	Вес растения без бобов, Кубань 2016 [2]	—
		<b>Число дней цветения, Кубань 2017</b>	
		Вес растения, Кубань 2016 [2]	
		SMS1 [3]	
		SMS3 [3]	

ОНП, ассоциированного с весом растения в работе [12].

**GGE biplot-анализ.** Для оценки взаимодействия генотип-среда был использован GGE biplot-анализ. В работе рассматривали три среды выращивания староместных сортов нута: Кубанская опытная станция ВИР в 2016 г., Кубанская опытная станция ВИР в 2017 г. и опытная станция организации ICARDA в Алеппо (Сирия). Описание фенотипирования на Кубанской опытной станции и климатические условия выращивания в 2016 и 2017 гг. приведены выше. Фенотипирование в Сирии проводили в 2000–2005 гг. в условиях засушливого климата. Посев образцов проводили в феврале, а сбор урожая – в августе. Описание анализа фенотипических признаков, изученных в Сирии, приведено в работе [13]. Для исследования были рассчитаны средние значения феноти-

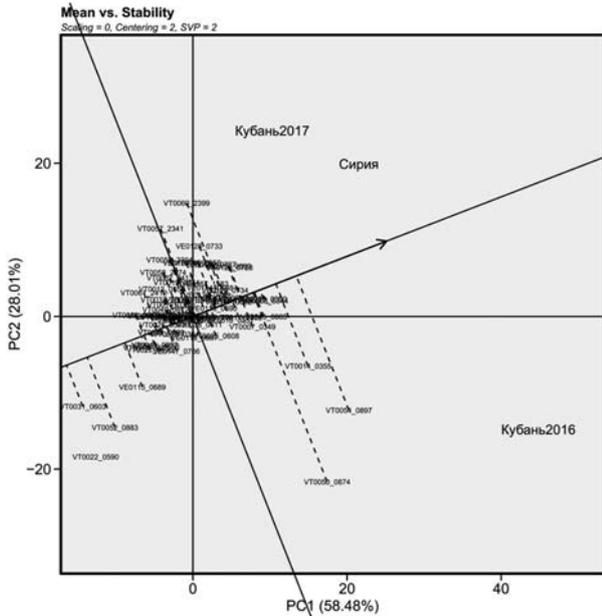
пических признаков, измеренных в указанный период. Для проведения GGE biplot-анализа отобраны три фенотипических признака, оценка которых была произведена во всех трех средах – число дней цветения, число семян на одно растение и вес семян с одного растения.

Оценка стабильности и адаптивности генотипов для фенотипического признака «число дней цветения» была произведена для 63 генотипов. В табл. 3 представлены описательные статистики фенотипического признака с учетом среды фенотипирования.

GGE biplot-анализ показал, что первые две главные компоненты объясняют 86.5% от общей изменчивости, вызванной взаимодействием «генотип-среда» (рис. 1). Визуализация GGE biplot-анализа, представленная на рис. 1, дает возможность оценить генотипы по их стабильности и

**Таблица 3.** Описательные статистики фенотипического признака «число дней цветения»

Признак	Среднее	Медиана	Стандартное отклонение	Минимальное значение	Максимальное значение
Число дней цветения, Кубань 2016	17.56	16	5.98	8	40
Число дней цветения, Кубань 2017	19.67	20	3.94	10	29
Число дней цветения, Сирия	26.73	28	4.26	9	34



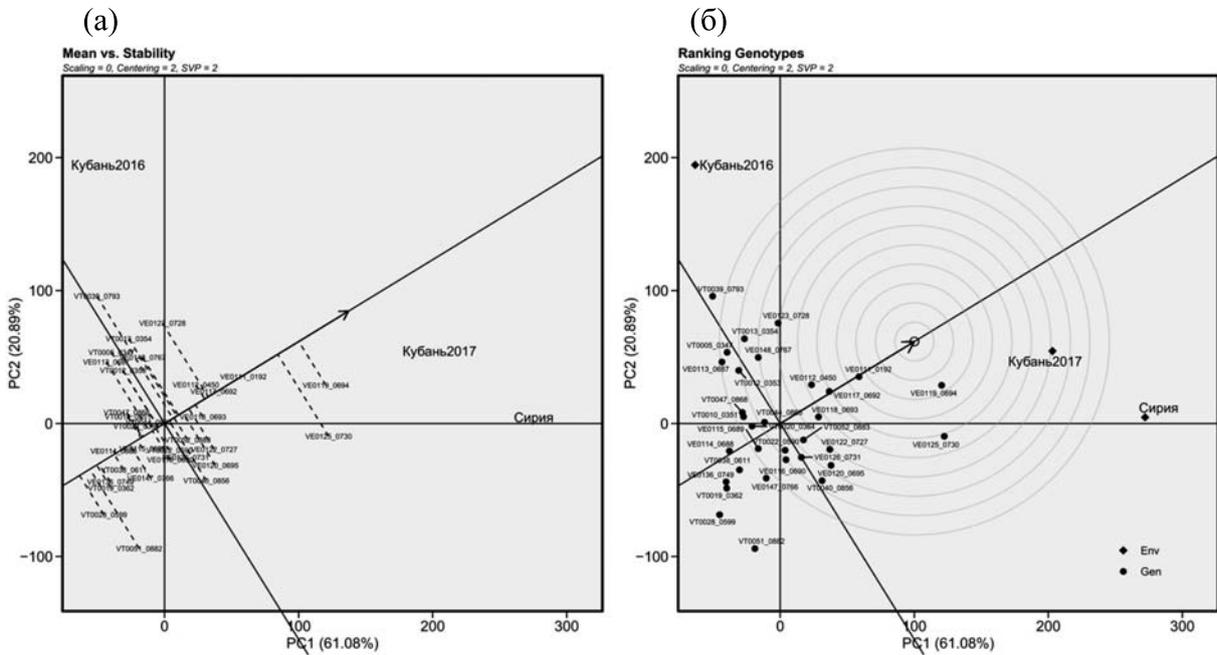
**Рис. 1.** Визуализация GGE biplot-анализа для фенотипического признака «число дней цветения». Ранжирование генотипов по значению фенотипического признака и стабильности.

ранжировать их по значению фенотипического признака. Среднее значение фенотипа для каждого генотипа оценивается по проекции их маркеров на ось, обозначенную на рисунке стрелкой.

Стабильность оценивается по проекции на ось, перпендикулярную данной оси. Таким образом, можно сделать вывод, что генотип VT0054\_0897 имеет максимальное среднее значение, а генотип VT0031\_0603 имеет минимальное среднее значение фенотипического признака число дней цветения. Кроме того, генотипы VT0050\_0874 и VT0054\_0897 проявили себя как наиболее вариабельные.

Оценка взаимодействия «генотип-среда» для фенотипического признака число семян на одно растение была произведена для 32 генотипов. В табл. 4 представлены описательные статистики фенотипического признака с учетом среды фенотипирования.

GGE biplot-анализ показал, что первые две главные компоненты объясняют 82% от общей изменчивости, вызванной взаимодействием «генотип-среда» (рис. 2а,б). Из визуализации GGE biplot-анализа, представленной на рис. 2а, мы можем сделать вывод, что генотип VE0119\_0694 имеет максимальное среднее значение, а генотип VT0028\_0599 – минимальное среднее значение фенотипического признака «число семян на одно растение». Генотип VT0039\_0793 является самым вариабельным. При визуализации GGE biplot-анализа, представленной на рис. 2б, можно выделить генотипы, объединяющие высокие значения фенотипического признака и стабильность. Центр концентрических кругов представляет собой положение «идеального» генотипа, который



**Рис. 2.** Визуализация GGE biplot-анализа для фенотипического признака «число семян на одно растение»: (а) – ранжирование генотипов по значению фенотипического признака и стабильности, (б) – ранжирование генотипов по близости к «идеальному» генотипу.

**Таблица 4.** Описательные статистики фенотипического признака «число семян на одно растение»

Признак	Среднее	Медиана	Стандартное отклонение	Минимальное значение	Максимальное значение
Число семян на одно растение, Кубань 2016	77.31	69.5	37.35	17	176
Число семян на одно растение, Кубань 2017	123.97	122	45.69	47	254
Число семян на одно растение, Сирия	65.95	37.5	53.11	18	196

**Таблица 5.** Описательные статистики фенотипического признака «вес семян с одного растения»

Признак	Среднее	Медиана	Стандартное отклонение	Минимальное значение	Максимальное значение
Вес семян с одного растения, Кубань 2016	14.75	12.1	9.29	3.5	46.8
Вес семян с одного растения, Кубань 2017	19.73	20.6	7.27	7.5	44.2
Вес семян с одного растения, Сирия	19.79	20.05	7.78	6.9	52.1

может и не существовать, но его можно использовать в качестве эталонного генотипа. Можно сделать вывод, что для фенотипического признака «число семян на одно растение» наиболее желательным является генотип VE0119\_0694, максимально приближенный к «идеальному» генотипу.

Оценка стабильности и адаптивности генотипов для фенотипического признака «вес семян с одного растения» была произведена для 32 генотипов. В табл. 5 представлены описательные статистики фенотипического признака с учетом среды фенотипирования.

GGE biplot-анализ показал, что первые две главные компоненты объясняют 78% от общей изменчивости, вызванной взаимодействием «генотип–среда» (рис. 3а,б). При визуализации GGE biplot-анализа, представленной на рис. 3а, можно сделать вывод, что генотип VT0040\_0856 имеет максимальное среднее значение, а генотип VE0147\_0766 – минимальное среднее значение фенотипического признака «число семян на одно растение». Кроме того, генотипы VT0039\_0793 и VT0040\_0856 являются самыми вариабельными. При визуализации GGE biplot-анализа, представленной на рис. 3б, можно сделать вывод, что генотип VT0010\_0351 является наиболее приближенным к «идеальному» генотипу.

Для фенотипических признаков «число семян на одно растение» и «вес семян с одного расте-

ния» наиболее информативным является представление результатов GGE biplot-анализа в виде многоугольника «где какой генотип выигрывает» (рис. 4а,б). Пунктирные линии, которые делят график на сектора, разделяют его на набор сред. Генотипы, являющиеся вершинами многоугольника, имеют наибольшее значение фенотипического признака в средах, попадающих в один с ними сектор. Для фенотипического признака «число семян на одно растение» генотип VT0039\_0793 был лучшим в среде «Кубань, 2016»; генотип VE0119\_0694 – в среде «Кубань, 2017»; генотип VE0125\_0730 – в среде «Сирия» (рис. 4а). Для фенотипического признака «вес семян с одного растения» генотипы VT0040\_0856 и VE0125\_0730 были лучшими в средах «Кубань, 2017» и «Сирия», образующих мега-среду, а генотип VT0039\_0793 – в среде «Кубань, 2016» (рис. 4б).

Для фенотипического признака «число семян на одно растение» при фенотипировании на Кубанской опытной станции ВИР в 2016 г. в нашей предыдущей работе [2] был найден значимо ассоциированный с этим признаком ОНП на седьмой хромосоме Ca7:30930779. В табл. 6 представлены значения генотипов, которые являются «лучшими» в средах в этой позиции. Интересным является то, что генотип VT0039\_0793, являющийся «лучшим» в среде «Кубань, 2016» и генотип

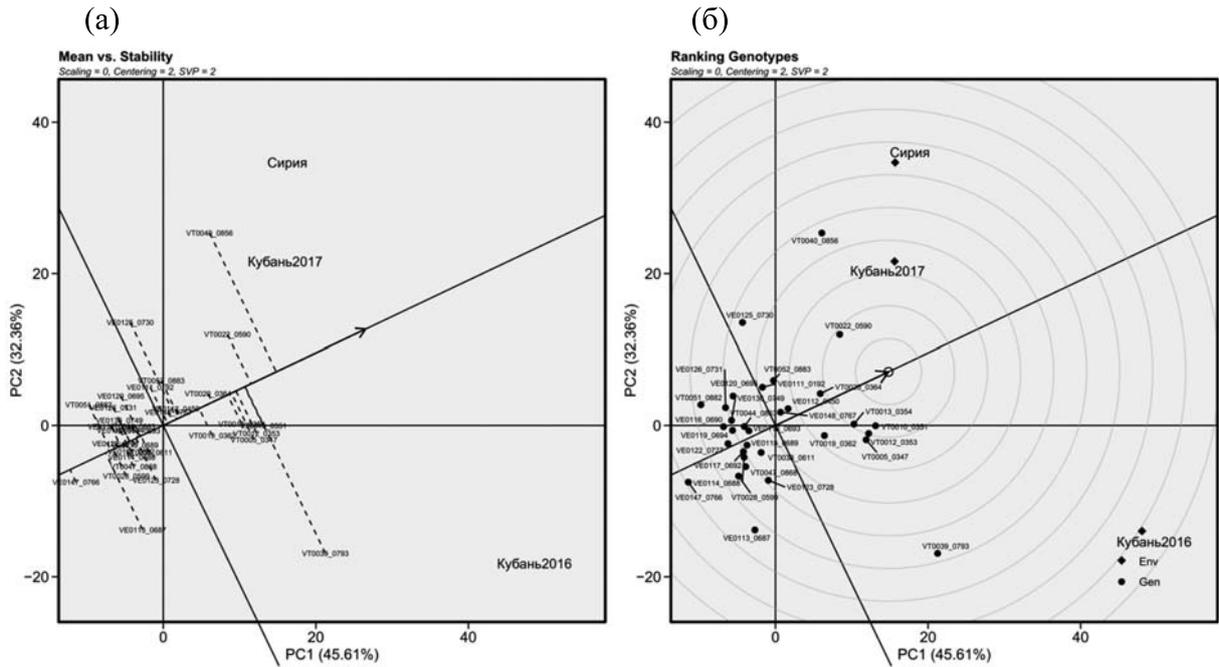


Рис. 3. Визуализация GGE biplot-анализа для фенотипического признака «вес семян с одного растения»: (а) – ранжирование генотипов по значению фенотипического признака и стабильности, (б) – ранжирование генотипов по близости к «идеальному» генотипу.

VE0125\_0730, являющийся «лучшим» в среде «Сирия», имеют альтернативную гомозиготу (1/1) в позиции Ca7:30930779. Из 32 анализируемых генотипов только у шести генотипов в дан-

ной позиции присутствует альтернативная гомозигота (1/1).

Для фенотипического признака «вес семян с одного растения» при фенотипировании на Ку-

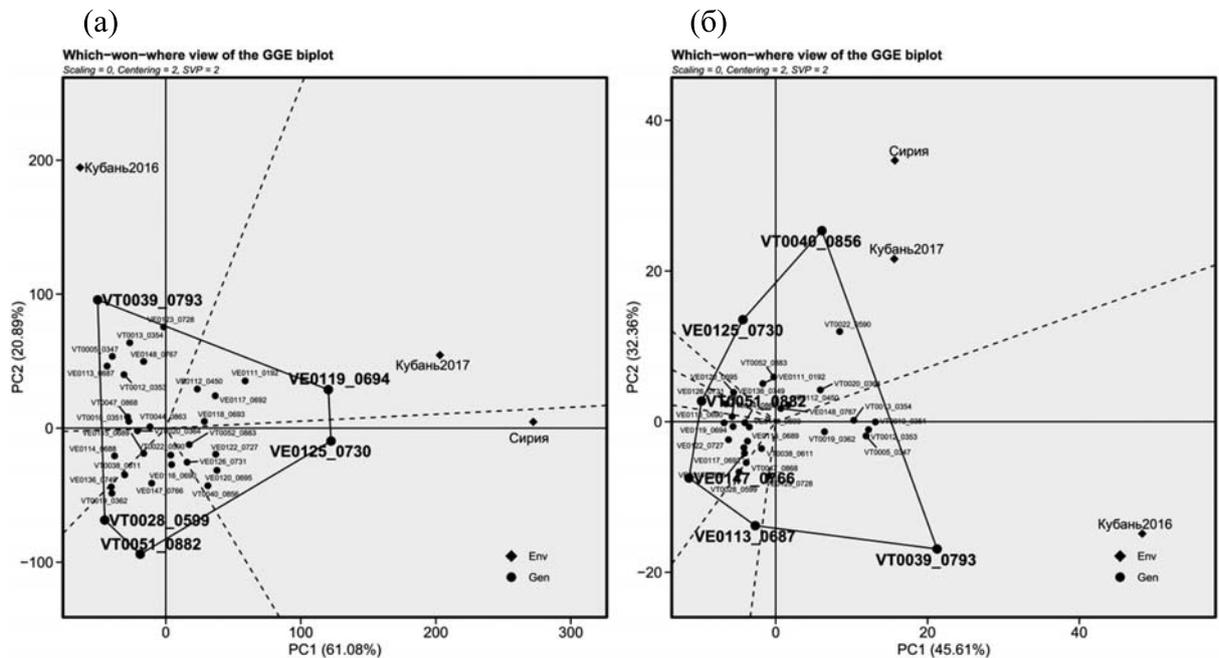


Рис. 4. Визуализация GGE biplot-анализа в виде многоугольника «где какой генотип выигрывает» для фенотипического признака «число семян на одно растение» (а) и признака «вес семян с одного растения» (б).

**Таблица 6.** Значения генотипов, которые являются «лучшими» в средах, в позиции, найденной в GWAS-анализе для фенотипического признака «число семян на одно растение»

Среда	Кубань, 2016	Кубань, 2017	Сирия
Генотип	<b>VT0039_0793</b>	VE0119_0694	<b>VE0125_0730</b>
<b>Ca7:30930779</b>	<b>1/1</b>	0/1	<b>1/1</b>

**Таблица 7.** Значения генотипов, которые являются «лучшими» в средах, в позициях, найденных в GWAS-анализе для фенотипического признака «вес семян с одного растения»

Среда/Мега-среда	Кубань, 2017; Сирия		Кубань, 2016
Генотип	VT0040_0856	<b>VE0125_0730</b>	<b>VT0039_0793</b>
Ca4:33967674	1/1	0/0	0/0
<b>Ca7:30930779</b>	0/1	<b>1/1</b>	<b>1/1</b>

банской опытной станции ВИР в 2016 г. в нашей предыдущей работе [2] были обнаружены два значимо ассоциированных с этим признаком ОНП: на четвертой хромосоме Ca4:33967674 и тот же ОНП на седьмой хромосоме, что и для признака «число семян на одно растение» Ca7:30930779. В табл. 7 представлены значения генотипов, которые являются «лучшими» в средах, в этой позиции.

### ОБСУЖДЕНИЕ

В структуре фенотипической изменчивости количественных признаков, с которыми имеет дело селекция, большую роль играет взаимодействие «генотип–среда». Для более объективной оценки фенотипических признаков в 2017 году на полях Кубанской опытной станции ВИР был осуществлен посев 407 староместных образцов нута, фенотипированных там же в 2016 г. Проведенный GWAS-анализ выявил три ОНП на хромосомах 2, 7 и 8 соответственно, значимо ассоциированных с фенотипическим признаком число дней цветения на Кубани в 2017 г. Найденные ОНП попадают в районы генома, ранее идентифицированные в GWAS-анализе по результатам фенотипирования на Кубанской опытной станции ВИР в 2016 г. [2]. GGE biplot-анализ фенотипических признаков, связанных с семенами растений, – числом семян на одно растение и весом семян с одного растения – выявил два «лучших» в средах генотипа: VT0039\_0793 и VE0125\_0730. Генотип VT0039\_0793, собранный в Турции, был «лучшим» в среде «Кубань, 2016» для обоих фенотипических признаков. Генотип VE0125\_0730, собранный в Эфиопии, был «лучшим» в среде «Сирия»

для фенотипического признака «число семян на одно растение». Также в мегасреде «Кубань, 2017» и «Сирия» этот генотип был «лучшим» для фенотипического признака «вес семян с одного растения». Объяснением того, что образцы, собранные в Турции и Эфиопии, проявили себя как «лучшие» в средах «Кубань, 2016» и «Сирия» соответственно, может быть близость погодных условий в годы исследования. Генотипы VT0039\_0793 и VE0125\_0730 имеют альтернативную гомозиготу в позиции Ca7:30930779, которая значимо ассоциирована с фенотипическими признаками «число семян на одно растение» и «вес семян с одного растения» при фенотипировании на Кубанской опытной станции ВИР в 2016 г. Кроме того, данный ОНП значимо ассоциирован с периодом цветения при фенотипировании на Кубанской опытной станции ВИР в 2017 г. Из 32 анализируемых в GGE biplot-анализе генотипов, только у шести генотипов в данной позиции присутствует альтернативная гомозигота. Результаты данной работы могут помочь селекционерам в отборе наиболее перспективных для возделывания староместных сортов нута из коллекции банка семян ВИР.

### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Фенотипирование на Кубанской опытной станции ВИР в 2017 г., GWAS- и GGE biplot-анализы были поддержаны грантом Российского научного фонда № 16-16-00007 (для АБС, СВН, МГС). Работа была также поддержана соглашением о сотрудничестве от Агентства США по международному развитию в рамках программы «Накорми будущее» AID-OAA-A-14-00008 (для

ДК, ПЧ, СВН), Фондом Зумберджа (для СВН), грантом IOS-1339346 от Программы генома растений Национального научного фонда США (для ДК).

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. R. J. Redden and J. D. Berger, In *Chickpea Breeding & Management*, Ed. by S. S. Yadav, R. Redden, W. Chen, B. Sharma (CABI, Wallingford, UK, 2007), pp. 1–13.
2. A. Sokolkova, et al., *Int. J. Mol. Sci.* **21**, 3952 (2020).
3. А.Б. Соколкова и др., *Биофизика* **65** (2), 276 (2020).
4. E. J. von Wettberg, P. L. Chang, A. Greenspan, et al., *Nature Commun.* **9**, Art. 649 (2018). DOI: 10.1038/s41467-018-02867-z
5. A. McKenna, M. Hanna, E. Banks, et al., *Genome Res.* **20**, 1297 (2010).
6. P. Danecek, A. Auton, G. Abecasis, et al., *Bioinformatics* **27**, 2156 (2011).
7. *R: A Language and Environment for Statistical Computing* (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2018). Available online: <https://www.R-project.org/> (accessed on 15 June 2020).
8. C. Lippert, J. Listgarten, Y. Liu, et al., *Nat. Methods* **8**, 833 (2011).
9. J. D. Storey, *Ann. Stat.* **31**, 2013 (2003).
10. T. Olivoto and A. D. Lucio, *Methods Ecol. Evol.* **11**, 783 (2020). DOI: 10.1111/2041-210X.13384.
11. R. Chollet, J. Vidal, M. H. O’Leary, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **47**, 273 (1996).
12. R. K. Varshney, M. Thudi, M. Roorikiwal, et al., *Nat. Genet.* **51**, 857 (2019). DOI: 10.1038/s41588-019-0401-3.
13. E. Plekhanova, M. A. Vishnyakova, S. Bulyntsev, et al., *Sci. Rep.* **7**, 4816 (2017).

## Genomic Analysis of Historic Chickpea Landraces

**A.B. Sokolkova\***, **S.V. Bulyntsev\*\***, **P.L. Chang\*\*\***, **N. Carrasquilla-Garcia\*\*\***, **D.R. Cook\*\*\***, **E. von Wettberg\*\*\*\***, **M.A. Vishnyakova\*\*\*\*\***, **S.V. Nuzhdin\***, **\*\*\*\*\***, and **M.G. Samsonova\***

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

\*\**Kuban Experimental Station, Federal Research Center “Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources”, ul. Tsentralnaya 2, pos. Botanika, Gulkevichi District, Krasnodar Krai, 352183 Russia*

\*\*\**University of California, Davis, California, 95616 United States of America*

\*\*\*\**University of Vermont, Burlington, Vermont, 05405 United States of America*

\*\*\*\*\**Federal Research Center “Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources”, ul. Bolshaya Morskaya 42–44, St. Petersburg, 190000 Russia*

\*\*\*\*\**University of Southern California, Los Angeles, California, 90089 United States of America*

The collection of seeds and living plants at N.I. Vavilov All Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR) contains historic chickpea landraces sampled from major historic centers of chickpea cultivation and secondary diversification. In this work, we analyze the results obtained from phenotype characterization of 407 historic chickpea landraces grown in the trial fields of Kuban experimental station, VIR, in 2017. GWAS analysis identified three single nucleotide polymorphisms on chromosomes 2, 7 and 8, highly associated with the phenotype trait, i.e. days to flowering. These single nucleotide polymorphisms and the regions of genome near to these single nucleotide polymorphisms were identified in previous studies. Estimation of the Genotype-Environment interaction for phenotypic traits coincident with plant seeds led to identification of the “best” genotypes in the environments. These genotypes have an alternative homozygote at loci Ca7:30930779 which shows similar phenotypic traits described during phenotype characterization of seeds grown in the trial fields of Kuban experimental station, VIR in 2016 and with the period of flowering typical of phenotype characterization of plants in 2017. The obtained results can speed up the search for the seed samples most promising for cultivation of chickpea landraces.

*Keywords: chickpea (Cicer arietinum L.), genotyping by sequencing, single nucleotide polymorphisms, genome-wide association study, GGE biplot analysis*