ИЗУЧЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ

Научная статья
УДК 365.656:581.143.6:635.656
DOI: 10.30901/2227-8834-2026-2-o19

(cc) BY

Регенерация растений овощного гороха в культуре *in vitro*

О. В. Путина[1], Р. С. Рахмангулов[2], Н. В. Поливара[1], Н. Н. Коваленко[1], Ю. В. Ухатова[2], Е. К. Хлесткина[2]

[1] Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Крымская опытно-селекционная станция – филиал ВИР, Крымск, Россия

[2] Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

Автор, ответственный за переписку: Ольга Владимировна Путина, olga-rhji@mail.ru

Актуальность. Регенерация гороха (*Pisum sativum* L.) через индукцию органогенеза в каллусной ткани – один из основных этапов создания трансформированных линий. В этой связи цель наших исследований заключалась в разработке протокола получения растений-регенерантов овощного гороха различных морфотипов через культуру тканей посредством инициации органогенеза.
Материалы и методы. Объектами исследования были овощные сорта гороха ‘Парус’ (к-9350) и ‘Красавчик’ (к-9449). На этапе введения в асептические условия при обработке набухших и сухих семян оценивали три стерилизующих агента. Через девять суток после посадки семян на питательную среду проростки разделяли на верхушечную почку, следующий за ней узел без листового аппарата и семядольный узел. Полученные экспланты переносили на четыре варианта питательных сред индукции каллуса. Для инициации морфогенеза тестировали три модификации сред. Сформированные побеги пересаживали на среды, содержащие ½ солей МС с добавлением 2 и 4 мг/л ИМК.
Результаты. Оптимальное соотношение всхожих семян к неинфицированным эксплантам получено при обработке сухих семян 1-процентным раствором NaOCl. Образование каллуса зафиксировано у всех типов эксплантов на всех вариантах сред. Изучение влияния гормонов роста на побегообразование каллусных агрегатов показало, что повышение концентрации цитокинина приводит к увеличению числа каллусов, образующих побеги, и количества побегов.
Заключение. Разработан протокол получения растений-регенерантов через культуру тканей посредством инициации органогенеза. Для индукции каллусной ткани питательные среды МСК2 (НУК 5 мг/л) и МСК3 (ИМК 6 мг/л и БАП 1 мг/л) рекомендованы как наиболее органогенные. Оптимальной средой для образования побегов является МСП2 (БАП 2,5 мг/л и ИМК 0,5 мг/л). Варианты сред для формирования корней имеют схожую положительную эффективность. Способность к регенерации в культуре тканей у сортов ‘Парус’ и ‘Красавчик’ была сопоставима.

Ключевые слова: овощной горох, стерилизация семян, каллус, органогенез

Благодарности: работа выполнена при финансовой поддержке проекта РНФ № 21-66-00012 «Создание с использованием генетических технологий и изучение новых линий растений, адаптированных к меняющимся условиям окружающей среды, обладающих повышенной продуктивностью и диетической ценностью».

Для цитирования: Путина О.В., Рахмангулов Р.С., Поливара Н.В., Коваленко Н.Н., Ухатова Ю.В., Хлесткина Е.К. Регенерация растений овощного гороха в культуре *in vitro*. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2026;187(2):92-104. DOI: 10.30901/2227-8834-2026-2-o19

Прозрачность финансовой деятельности: авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы. Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы.

© Путина О.В., Рахмангулов Р.С., Поливара Н.В., Коваленко Н.Н., Ухатова Ю.В., Хлесткина Е.К., 2026

STUDYING AND UTILIZATION OF PLANT GENETIC RESOURCES

Original article
DOI: 10.30901/2227-8834-2026-2-o19

In vitro regeneration of vegetable pea plants

Olga V. Putina[1], Ruslan S. Rakhmangulov[2], Nadezhda V. Polivara[1], Natalya N. Kovalenko[1], Yulia V. Ukhatova[2], Elena K. Khlestkina[2]

[1] N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, Krymsk Experiment Breeding Station – branch of VIR, Krymsk, Russia
[2] N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia

Corresponding author: Olga V. Putina, olga-rhji@mail.ru

Background. The objective of our research was to obtain regenerated plants of vegetable pea through tissue culture by initiating organogenesis.
Materials and methods. Two vegetable pea cultivars served as the research material. Three sterilizing agents were evaluated when processing dry and swollen seeds. The explants were the apical bud, the next node without the leaf apparatus, and the cotyledon node. Four variants of callus induction media were studied, three variants for shoot formation, and two for rhizogenesis.
Results. Callus formation was recorded for all types of explants on all variants of media. The study of the effect of phytohormones on the shoot formation in callus aggregates showed that an increase in the concentration of cytokinin leads to an increase in the number of shoot-forming calli and the number of shoots.
Conclusions. Dry seeds should be used when cultivating pea plants with wrinkled seeds *in vitro*, with 1% NaOCl solution as a sterilizing agent. For callus tissue production, it is recommended to use the second (NAA, 5 mg/L) or third (IBK, 6 mg/L, and 6-BAP, 1 mg/L) variants of MSC. MSS2 (6-BAP, 2.5 mg/L, and IBC, 0.5 mg/L) proved to be the optimal shoot induction environment. The media variants for rhizogenesis induction had similar effectiveness.

Keywords: vegetable pea, seed sterilization, callus, organogenesis

Acknowledgments: the work was supported financially by the Russian Science Foundation under Project No. 21-66-00012 "Genetic technologies-based development and assessement of novel lines of crop plants, adapted to the changing environment and having increased productivity and dietary value".

For citation: Putina O.V., Rakhmangulov R.S., Polivara N.V., Kovalenko N.N., Ukhatova Yu.V., Khlestkina E.K. *In vitro* regeneration of vegetable pea plants. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding.* 2026;187(2):92-104. (In Russ.). DOI: 10.30901/2227-8834-2026-2-o19

Financial transparency: the authors have no financial interest in the presented materials or methods. The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors or their employers.

Введение

Овощной горох (*Pisum sativum* L.) – высокопитательная зернобобовая культура (Kumari, Deka, 2021). Значительное содержание в семенах общего протеина с перевариваемостью *in vitro* более 80%, большого числа незаменимых аминокислот в белковых фракциях, высокоамилозного крахмала, витаминов, макро- и микроэлементов позволяет отнести горох к функциональным продуктам (Wu, et al., 2023). Повышение питательной ценности овощного гороха – это одна из основных задач селекции.

Применение современных генетических и биотехнологических методов селекции повышает эффективность и скорость создания новых генотипов растений с улучшенными свойствами. В последнее время наиболее распространенный способ трансформации растений – редактирование генома с использованием системы CRISPR/Cas9 (Khlestkina, Shumny, 2016; Wada et al., 2020; Gan, Ling, 2022). Метод основан на индукции сайт-специфичного расщепления двух цепей молекулы ДНК реципиента с ее последующей естественной репарацией (Jinek et al., 2012). Для доставки плазмидной конструкции непосредственно в клетки растений часто применяют высоковирулентные штаммы *Agrobacterium tumefaciens* или бомбардировку микрочастицами (Kuluev et al., 2019; Ukhatova et al., 2023). Трансформируют различные типы эксплантов, из которых получают нулевые трансформанты с помощью прямого органогенеза (Li et al., 2023) или опосредовано, через культуру тканей (Bhowmik et al., 2023). На основе растений-регенерантов создают генно-редактированные линии со стабильной целевой мутацией, передающейся следующим поколениям, и отсутствием чужеродных генов.

Получение трансформированных растений через культуру тканей посредством инициации органогенеза и соматического эмбриогенеза применяют при трансформации и зернобобовых культур (Finer, 2016; Song et al., 2020; Qi et al., 2023), в том числе гороха (Kaur et al., 2022; Bhowmik et al., 2023; Hodgins et al., 2024). Оптимизация этапов получения растений-регенерантов гороха через культуру тканей в большинстве случаев ведется с использованием кормовых, зимующих и полевых сортов. Эффективность процесса зависит от генотипа, типа экспланта и состава питательных сред. В данных экспериментах (Kunakh et al., 1984; Nadolska-Orczyk et al., 1994; El Sayed H., El Sayed A., 2011; Türkoğlu et al., 2023) инициированный каллус часто имел низкую морфогенную способность, вплоть до полного отсутствия. Кроме того, полученные побеги не всегда образовывали полноценную корневую систему, что значительно снижает вероятность получения регенерантов. Таким образом, перед проведением трансформации важно разработать протокол получения растений-регенерантов в культуре *in vitro*.

Цель наших исследований заключалась в разработке протокола получения растений-регенерантов овощного гороха через культуру тканей посредством инициации органогенеза. В связи с этим решались следующие задачи: проводилось сравнение эффективности стерилизации семян в сухом виде и после их набухания; оценивалась результативность трех стерилизующих агентов («Белизны», «Велтолена», «Перекиси водорода»); выявлялся тип экспланта, образующий каллус; определялся состав питательных сред для получения калллуса, побегов и корней; велась оценка регенерационной способности генотипов гороха.

Материалы и методы

Объектами выбраны два коммерческих сорта овощного гороха безлисточкового (‘Парус’, к-9350) и обычного (‘Красавчик’, к-9449) морфотипов с зелеными морщинистыми (мозговыми) семенами.

Ввод овощных сортов гороха в культуру *in vitro* и последующие пассажи эксплантов, каллусов, а также побегов проводили в условиях ламинарного бокса LAMSYSTEMS Neoteric (Россия). В период культивирования и адаптации растений-регенерантов к нестерильным условиям среды температура воздуха на фитоплощадке поддерживалась на уровне 22–26°С, освещенность составляла 5 тыс. лк, продолжительность светового дня – 16 часов, темновая фаза – 8 часов.

Оценивали эффективность обеззараживания семян в сухом виде и после их предварительного замачивания в течение суток (рис. 1). В качестве основных стерилизующих агентов использовали растворы «Белизны» (гипохлорит натрия, 1%, АО «Каустик»), «Велтолена» (клатрат четвертичного аммониевого соединения с карбамидом, 0,5%, ООО «НПО «ВЕЛТ») и «Перекиси водорода» (H_2O_2, 3%, АО «САМАРАМЕДПРОМ»).

Схема опыта по оценке эффективности обеззараживания семян овощного гороха представлена в таблице 1.

(1) (2)

Рис. 1. Семена овощного гороха сорта ‘Красавчик’: сухие (1) и через сутки после набухания (2)
Fig. 1. Seeds of the vegetable pea cv. ‘Krasavchik’: dry (1), and one day after swelling (2)

Таблица 1. Варианты опыта по оценке эффективности стерилизации семян гороха
Table 1. Variants of the experiment to assess the effectiveness of pea seed sterilization

Фактор 1 (сорт)	Фактор 2 (состояние семян)	Фактор 3 (стерилизующий агент)
'Парус' (120*)	Сухие (60)	«Белизна» (20)
		«Велтолен» (20)
		«Перекись водорода» (20)
	Набухшие (60)	«Белизна» (20)
		«Велтолен» (20)
		«Перекись водорода» (20)
'Красавчик' (120)	сухие (60)	«Белизна» (20)
		«Велтолен» (20)
		«Перекись водорода» (20)
	Набухшие (60)	«Белизна» (20)
		«Велтолен» (20)
		«Перекись водорода» (20)

Примечание: * – в скобках указано число семян каждого варианта опыта, шт.
Note: * – parenthesized is the number of seeds for each variant of the experiment, pcs.

Повторность опыта была двукратной. Всего в культуру *in vitro* введено 240 шт. семян.

Семена высаживали в стеклянные пробирки, заполненные 8 мл питательной среды (табл. 2). На десятый день после ввода в культуру учитывали количество инфицированных семян, число проростков выше 1,5 см, высоту побегов и длину корней.

Обеззараживание семян проводили по следующему протоколу:

- обработка семян поверхностно-активными веществами – 15 мин;
- промывание дистиллированной водой – 3 раза по 5 мин;
- обработка 96-процентным этанолом – 1 мин;
- в условиях ламинарного бокса обработка стерилизующими агентами сухих и набухших семян – 3 раза по 5 мин;
- промывание дистиллированной автоклавированной водой – 3 раза по 5 мин.

Проростки (по 8 шт. каждого сорта гороха) разделяли на три типа эксплантов (верхушечную почку, следующий за ней узел без листа и прилистников, семядольный узел) для их оценки по способности инициировать каллусную ткань (рис. 2). Затем 48 эксплантов по 16 шт. каждого типа переносили на среды для индукции каллуса (см. табл. 2). Контрольный вариант (МС) не содержал гормоны. Экспериментальные питательные среды были дополнены МСК1 – 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислотой (2,4-Д, 2 мг/л), МСК2 – альфа-нафтилуксусной кислотой (НУК, 5 мг/л), МСК3 – индолил-3-масляной кислотой (ИМК, 6 мг/л) в сочетании с 6-бензиламинопурином (БАП, 1 мг/л). После 30 дней культивирования оценивали число и процент эксплантов, образовавших каллусную ткань.

В процессе культивирования некоторые экспланты и каллусы погибали. Полученный каллус пересаживали на среду МС с добавлением ИМК (6 мг/л) для его поддержания и роста. Через 35 дней увеличившиеся в размере каллусные структуры делили на сегменты 1,0–1,5 см и переносили на три варианта сред для индукции побегообразования (см. табл. 2). Общее число каллусных агрегатов в опыте составило 49 шт. Пассаж проводили через 45 дней, если закладки побеговых почек не наблюдали. При формировании побегов их отсаживали на среды для корнеобразования, а каллусы переносили на свежую среду (с тем же составом) для получения новых побегов. В период наблюдений учитывали число каллусов, образовавших побеги, общее число побегов и в пересчете на один каллус, а также количество нормально развитых побегов. Определяли процент каллусов, сформировавших побеги, и процент нормально развитых побегов.

Побеги высотой более 4 см переносили на питательные среды, содержащие ½ МС, сахарозы 3% и агара 0,7%, ИМК в концентрации 2,0 мг/л (МСР1) и 4,0 (МСР2), для начала образования корней.

Растения-регенеранты пересаживали в пластиковые контейнеры, наполненные предварительно пропаренной смесью торфа, земли и песка в соотношении 1 : 1 : 1. Первую неделю в период адаптации растения накрывали прозрачной крышкой, которую в дальнейшем убирали. Каждое растение подкармливали 20 мл среды МСР1 без сахарозы и агара.

На этапе оценки результатов опыта по установлению эффективности стерилизации семян для выявления значимых отличий между вариантами по параметрам «высота побега» и «длина корня» применяли t-test для неравных выборок с использованием программного обеспечения STATISTICA 10. Для установления наименьшей существенной разницы между вариантами опыта по параметрам «инфицировано семян» и «число проростков выше 1,5 см» проводили многофакторный дисперсионный анализ с применением критерия Фишера (Factorial ANOVA, Fisher's LSD test). Частотный анализ по параметрам, выявляющим тип экспланта, образующего каллус, и определяющим оптимальные среды для получения каллуса, побегов и корней, осуществляли в Microsoft Of-

Таблица 2. Варианты питательных сред для различных этапов культивирования
Table 2. Variants of nutrient media for different stages of cultivation

Этап культивирования	Питательная среда	
	Название	Состав*
Ввод в культуру *in vitro*		МС без витаминов, БАП 0,5 мг/л
Образование каллуса	МС	МС
	МСК1	МС, 2,4-Д 2 мг/л
	МСК2	МС, НУК 5 мг/л
	МСК3	МС, ИМК 6 мг/л и БАП 1 мг/л
Поддержание каллуса		МС, ИМК 6 мг/л
Побегообразование	МСП1	МС, БАП 1,0 мг/л и ИМК 0,5 мг/л
	МСП2	МС, БАП 2,5 мг/л и ИМК 0,5 мг/л
	МСП3	МС, БАП 5,0 мг/л и ИМК 0,5 мг/л
Образование корней	МСР1	½МС, ИМК 2,0 мг/л
	МСР2	½МС, ИМК 4,0 мг/л

Примечание: * – МС – минеральные соли (Murashige, Skoog, 1962), 0,1 мг/л тиамина, 0,5 пиридоксина, 0,5 никотиновой кислоты, 100 мг/л мезоинозита, 30 г/л сахарозы, 7 г/л агара; 2,4-Д – 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота; НУК – альфа-нафтилуксусная кислота; ИМК – индолил-3-масляная кислота; БАП – 6-бензиламинопурин

Note: * – MC consists of mineral salts (Murashige, Skoog, 1962), 0.1 mg/L of thiamine, 0.5 of pyridoxine, 0.5 of nicotinic acid, 100 mg/L of mesoinositol, 30 g/L of sucrose, and 7 g/L of agar; 2,4-Д is 2,4-dichlorophenoxyacetic acid; НУК is alpha-naphthylacetic acid; ИМК is indolyl-3-butyric acid; БАП is 6-benzylaminopurine

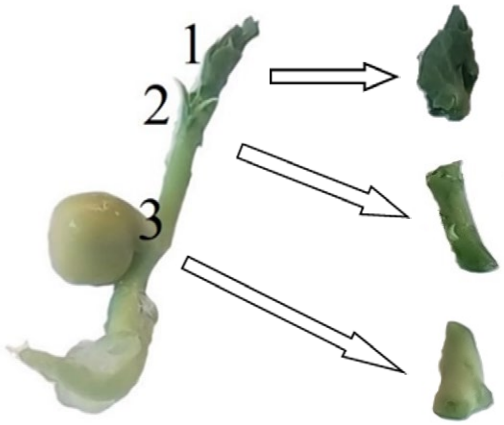


Рис. 2. Типы эксплантов гороха, используемые для индукции каллуса: 1 – верхушечная почка; **2** – узел без листа и прилистников; **3** – семядольный узел

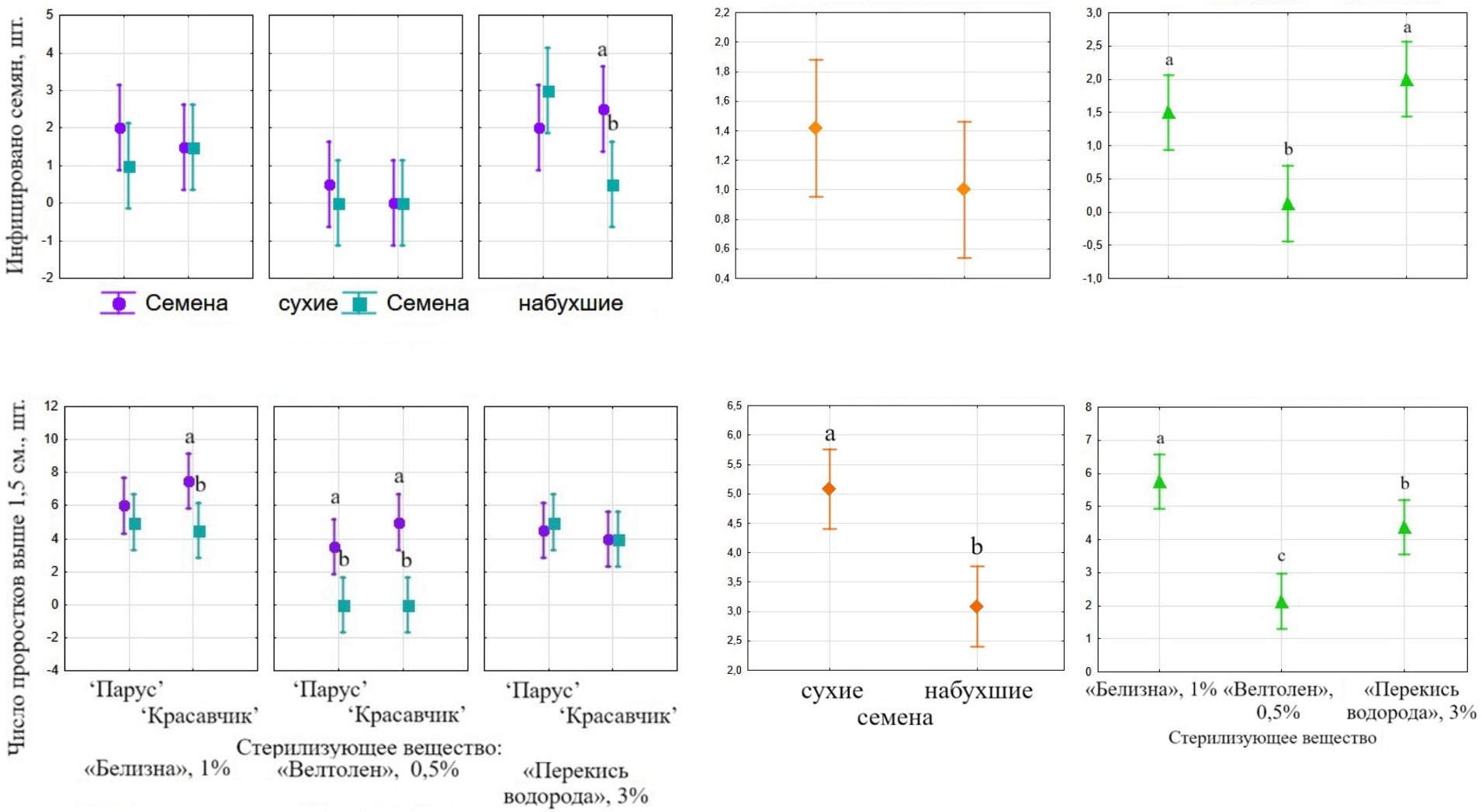
Fig. 2. Types of pea explants used for callus induction: 1 – apical bud; **2** – node without a leaf or stipules; **3** – cotyledon node

fice Excel. На графиках и в таблицах указаны средние значения признака с доверительным интервалом 0,95.

Результаты и обсуждение

Для оценки эффективности вариантов стерилизации семян овощного гороха на десятый день после ввода в культуру *in vitro* проводили учеты и измерение биометрических параметров (рис. 3, табл. 3). Анализировали по 120 шт. семян сортов ‘Парус’ (к-9350) и ‘Красавчик’ (к-9449). Число инфицированных семян между сортами значимо не отличалось, как и между вариантами при обеззараживании сухих семян и после их набухания. Сравнение влияния дезинфицирующих средств показало, что оно значимо выше при обработке семян раствором «Велтолена». Между средними значениями числа инфицированных эксплантов при обработке семян «Белизной» и «Перекисью водорода» значимых отличий не установлено (см. рис. 3).

Число проростков выше 1,5 см оказалось больше у сорта ‘Парус’ безлисточкового морфотипа. Среднее значение этого признака при обеззараживании сухих семян было значимо выше, чем в варианте с набухшими семенами: разница составила 2,1 шт. Степень воздействия



[a, b, c] – значимые отличия между вариантами по результатам дисперсионного анализа (Factorial ANOVA) с критерием Фишера (LSD test), при $p < 0,05$ /
[a, b, c] – significant differences between variants based on the results of Factorial ANOVA with Fisher's LSD test, $p < 0.05$

Рис. 3. Оценка эффективности вариантов стерилизации семян гороха в зависимости от их состояния (сухие, набухшие), сорта ('Парус', 'Красавчик') и стерилизующего агента («Белизна», «Велтолен», «Перекись водорода»)

Fig. 3. Assessment of the effectiveness of sterilization options for pea seeds depending on their condition (dry or swollen), the cultivar ('Parus' or 'Krasavchik'), and the sterilizing agent (Belizna, Veltolen, or hydrogen peroxide)

Таблица 3. Значения биометрических параметров проростков овощного гороха в зависимости от вариантов опыта по оценке эффективности стерилизации семян

Table 3. The values of biometric parameters in vegetable pea plantlets depending on the experiment's options for assessing the effectiveness of seed sterilization

Параметр	Сорт		Семена		Стерилизующее средство		
	'Парус'	'Красавчик'	сухие	набухшие	«Белизна»	«Велтолен»	«Перекись водорода»
Высота побега, см.	3,5 ± 0,3	3,8 ± 0,4	3,6 ± 0,3	3,7 ± 0,5	**4,1 ± 0,4**[a]	2,7 ± 0,5[b]	**3,7 ± 0,4**[a]
Длина корня, см.	**4,0 ± 0,6**[a]	3,2 ± 0,5[b]	3,5 ± 0,5	3,8 ± 0,5	**4,2 ± 0,5**[a]	0,9 ± 0,4[b]	**4,3 ± 0,4**[a]

Примечание: [a, b] – значимые отличия между вариантами по результатам t-test для неравных выборок, при $p < 0,05$

Note: [a, b] – significant differences between variants based on the *t*-test for independent samples, $p < 0.05$

дезинфицирующих средств также различалась. Максимальное число проростков (5,6 шт.) получено при использовании раствора «Белизны», минимальное (2,1) – «Велтолена». Отдельно следует отметить, что в варианте стерилизации набухших семян «Велтоленом» (0,5% по действующему веществу [д. в.]) инфицирования и прорастания семян не наблюдалось.

Средние значения биометрических параметров (высота побега и длина корня), характеризующих развитие проростков изучаемых сортов гороха при различных вариантах стерилизации семян, представлены в таблице 3. Высота побегов у сортов 'Парус' и 'Красавчик' значимо не отличалась. Не наблюдалось разницы по этому признаку и между семенами, обработанными в сухом и набухшем виде. На высоту проростков оказывали влияние применяемые обеззараживающие средства (см. табл. 3). Использование «Велтолена» (0,5%) замедляло рост побегов. Средние значения этого признака были значимо выше при применении «Белизны» (1%) и «Перекиси водорода» (3%).

Длина корня была больше у растений сорта 'Парус' (см. табл. 3). Средние значения этого признака в опыте с сухими и набухшими семенами не различались. Дезинфицирующие средства по-разному влияли на рост корневой системы. Применение раствора «Велтолена» ингибировало развитие корней. Использование «Белизны» и «Перекиси водорода» в качестве стерилизующих агентов оказывало более благоприятное воздействие, длина корней была значимо больше (см. табл. 3).

Наибольший дезинфицирующий эффект установлен при применении раствора «Велтолена» (0,5%). Однако отмечено, что данный препарат значимо снижает число проростков и ингибирует их рост и развитие. Низкий уровень инфицирования семян и высокий по числу хорошо развитых проростков установлены при использовании в качестве стерилизующего агента раствора «Белизны» (1%).

После оценки эффективности различных вариантов стерилизации материала полученные здоровые и хорошо развитые побеги были разделены на три типа эксплантов (см. рис. 2), которые перенесли на четыре разные среды для индукции каллуса (см. табл. 2). Через 30 дней после посадки оценивали число и процент эксплантов, образовавших каллусную ткань. Между сортами 'Парус' и 'Красавчик' по данным параметрам разницы не выявлено. Образование каллуса отмечалось для всех типов эксплантов (верхушечная почка, узел без листа и прилистников, семядольный узел), наибольшее число получено из верхушечной почки. Варианты питательных сред также отличались по эффективности индукции каллусной ткани (табл. 4). Максимальный процент эксплантов, образовавших каллус, зафиксирован на среде МСК1 с применением ауксина 2,4-Д в концентрации 2 мг/л. Однако в дальнейшем из этих каллусов не наблюдалось индукции побегов. Отмечено, что при применении ауксина 2,4-Д образуется светло-желтый каллус. При добавлении в питательную среду гормона НУК в концентрации 5 мг/л формируется зеленый каллус и корни. Исполь-

Таблица 4. Индукция каллусогенеза в зависимости от сорта гороха, типа экспланта и гормонального состава питательной среды

Table 4. Induction of callus formation depending on the pea cultivar, type of the explant, and hormone composition of the nutrient medium

Параметр	Сорт		Тип экспланта*			Питательные среды индукции каллуса**			
	'Парус'	'Красавчик'	1	2	3	МС	МСК1	МСК2	МСК3
Число эксплантов, шт.	24	24	16	16	16	12	12	12	12
Число эксплантов, образовавших каллус, шт.	13	13	**10**	9	7	1	**10**	8	7
Процент образования каллуса, %	54,2	54,2	**62,5**	56,3	43,8	8,3	**83,3**	66,7	58,3

Примечание: * – типы экспланта: 1 – верхушечная почка, 2 – следующий за ней узел без листа и прилистников, 3 – семядольный узел; ** – МС, МСК1, МСК2, МСК3 – см. табл. 2

Note: * – explant types: 1 – apical bud, 2 – next node without a leaf or stipules, and 3 – cotyledon node; ** – МС, МСК1, МСК2, МСК3 – see Table 2

зование ИМК в концентрации 6 мг/л в сочетании с БАП (1 мг/л) способствует формированию темно-зеленого каллуса и побегов. Данные наблюдения согласуются с ранее описанными при изучении эффективности каллусогенеза и органогенеза гороха посевного (El Sayed H., El Sayed A., 2011).

Полученный каллус пересаживали на питательную среду для его поддержания и роста на 35 дней (см. табл. 2). Побеги и корни удаляли без учета, предполагая, что они развились из апикальной или пазушной меристемы (Jackson, Hobbs, 1990; El Sayed H., El Sayed A., 2011). Далее каллусные агрегаты размером 1,0–1,5 см переносили на три различные среды для побегообразования (табл. 2, 5).

Хорошо развитые 3 побега (2 – сорта ‘Парус’, 1 – ‘Красавчик’) были пересажены на среду МСР1, содержащую ИМК в концентрации 2 мг/л, и 4 побега (2 – ‘Парус’, 2 – ‘Красавчик’) – на МСР2 (ИМК 4 мг/л). При использовании питательной среды МСР1 для индукции ризогенеза получено одно растение-регенерант, на варианте МСР2 – два. Далее эти три растения были переведены в нестерильные условия.

Для культуры овощного гороха с мозговой (морщинистой) поверхностью семян впервые разработан протокол получения растений-регенерантов через культуру тканей, начиная с этапа стерилизации семян и заканчивая пересадкой регенерировавших растений в почвосмесь.

Таблица 5. Индукция побегообразования в зависимости от генотипа и гормонального состава питательной среды

Table 5. Induction of shoot formation depending on the genotype and hormone composition of the nutrient medium

Параметр	Сорт		Питательные среды индукции побегов*		
	‘Парус’	‘Красавчик’	МСП1	МСП2	МСП3
Посажено каллусов, шт.	28	21	16	18	15
Число каллусов, образовавших побеги, шт.	**6**	2	2	3	3
Процент каллусов, образовавших побеги от общего их числа, %	**21,4**	9,5	12,5	16,7	**20,0**
Число побегов, шт.	**17**	10	2	6	**19**
Число побегов на один каллус, образовавший побеги, шт.	2,8	**5,0**	1,0	2,0	**6,3**
Число побегов высотой более 4 см, шт.	4	3	2	3	2
Процент нормально развитых побегов от общего их числа, %	23,5	30,0	**100,0**	50,0	10,5

Примечание: * – МСП1 (БАП 1,0 мг/л и ИМК 0,5 мг/л); МСП2 (БАП 2,5 мг/л и ИМК 0,5 мг/л); МСП3 (БАП 5,0 мг/л и ИМК 0,5 мг/л)

Note: * – MSS1 (BAP 1.0 mg/L, and IBA 0.5 mg/L); MSS2 (BAP 2.5 mg/L, and IBA 0.5 mg/L); MSS3 (BAP 5.0 mg/L, and IBA 0.5 mg/L)

Каллусные ткани двух изучаемых генотипов проявили способность к органогенезу. Число каллусов, образовавших побеги, их процент и общее число были выше у сорта ‘Парус’ (безлисточкового морфотипа), тогда как у сорта ‘Красавчик’ (обычного морфотипа) сформировалось большее число побегов из одного каллуса. Между сортами не наблюдалось значительной разницы по числу и проценту нормально развитых побегов (см. табл. 5). Индукция побегов зависела от концентрации гормонов в питательной среде. Максимальное число и процент каллусов с зафиксированным побегообразованием (20%) отмечены на среде МСП3. Общее число побегов и их количество в пересчете на один каллус увеличивались с ростом концентрации БАП, достигая максимальных значений (19 шт. и 6,3 шт. соответственно) на третьем варианте среды (см. табл. 5). Однако не все образовавшиеся побеги развивались: некоторые останавливались в росте, имели аномальное строение или были витрифицированными (гипергидротированными, стекловидными). Наибольшее число нормально развитых побегов получено на среде МСП2 (БАП 2,5 мг/л и ИМК 0,5 мг/л). Процент нормально развитых побегов от общего их числа уменьшался (от 100% до 10,5%) с увеличением концентрации цитокинина в среде (см. табл. 5).

Разработок протокола стерилизации семян гороха с морщинистой (мозговой) поверхностью практически не встречается в научных исследованиях. Для образцов с округлыми семенами (с гладкой поверхностью) показана высокая (до 90%) эффективность использования для обеззараживания хлорсодержащих препаратов (Sashchenko, Podvigina, 2014). Предложенный в разделе «Материалы и методы» протокол стерилизации сухих семян овощного гороха с мозговой поверхностью с применением раствора «Белизны» (1% по д. в.) позволяет получить 67,5% здоровых проростков от общего числа семян, введенных в культуру *in vitro*. От здоровых и хорошо развитых проростков гороха были отделены: верхушечная почка, следующий за ней узел без листа и прилистников, семядольный узел – для оценки способности эксплантов изучаемых генотипов индуцировать каллусогенез.

Частота образования первичного каллуса гороха кормового и зимующего в зависимости от сорта составляла 60–100% (Kunakh et al., 1984; Türkoğlu et al., 2023). В исследовании (Soboleva, 2016) высокий процент (80–95%) индукции каллуса наблюдался в равной степени у двух сортов и двух линий посевного гороха с округлыми семенами. Генотипы отличались по типу роста стебля (детерминантные и индетерминантные) и строению листового

аппарата (безлисточкового морфотипа или с ярусной гетероморфностью, с обычными прилистниками или редуцированными в зоне плодоношения). В проведенном нами эксперименте также не наблюдалось различий между сортами овощного гороха с мозговой поверхностью семян обычного морфотипа ('Красавчик') и безлисточкового ('Парус') по способности инициировать первичный каллус (с частотой 54,2%).

Индукция каллусной ткани возможна из различных типов эксплантов: зародышевой почки, семядолей, семядольного узла, гипокотиля, верхушки побега, узла (Jackson, Hobbs, 1990; Nadolska-Orczyk et al., 1994; El Sayed H., El Sayed A., 2011; Türkoğlu et al., 2023). Сегменты стебля (77,6% в среднем), листа (72,6%) и корня (70,3%) не имели значимых отличий по частоте каллусообразования (Kunakh et al., 1984). В нашем исследовании каллусогенез был зафиксирован для всех типов эксплантов. Частота индукции каллуса зависела от типа экспланта и убывала в следующем направлении: верхушечная почка (62,5%) → узел без листа и прилистников (56,3%) → семядольный узел (43,8%).

Состав питательной среды оказывает влияние на каллусогенез эксплантов гороха. При использовании пяти вариантов сред максимальный процент эксплантов, образующих каллусную ткань (в среднем 96%), зафиксирован на средах Мурасиге – Скуга и B-5 при добавлении 2,4-Д (2–10 мг/л). Частота каллусогенеза на других средах не превышала 43% (Kunakh et al., 1984). В одной из работ (El Sayed H., El Sayed A., 2011) для индукции каллуса использовали среды Мурасиге – Скуга, SH-M и Хеллера с различными концентрациями гормонов. Универсальной для всех типов эксплантов была среда Мурасиге – Скуга в сочетании с кинетином (0,2 мг/л) и 2,4-Д (2,0 мг/л). Полученные нами данные согласуются с представленными в литературе: максимальный процент каллусогенеза (83,5%) достигнут при добавлении в среду МС ауксина 2,4-Д (2 мг/л).

Образование почек из каллусной ткани и дальнейшее развитие побегов наблюдается в тех случаях, когда для получения первичного каллуса экспланты культивировались на средах без добавления 2,4-Д, либо после проведения нескольких пассажей на обедненных средах без данного гормона (Kunakh et al., 1984), либо после пересадки на среду Мурасиге – Скуга с добавлением БАП (2,0 мг/л) и ИУК (0,2 мг/л) (El Sayed H., El Sayed A., 2011). В связи с этим мы пересаживали каллус на среду, содержащую ИМК (6 мг/л). Однако индуцировать органогенез из каллусных тканей, изначально полученных на среде с 2,4-Д, не удалось. Побеги формировались из каллуса, первоначально образованного при добавлении в среду НУК (5 мг/л) или ИМК (6 мг/л) в сочетании с БАП (1 мг/л).

Органогенная реакция каллусной ткани гороха также зависит от генотипа и типа экспланта. Индукция и рост побегов наблюдались у одной линии в культурах тканей листового, стеблевого и корневого происхождения, а также у одного сорта при использовании сегментов листа и корня. Из длительно пассируемой каллусной ткани (более трех лет) других трех генотипов, полученной из участков стебля, листа и корня, при пересадке на 60 различных сред побегов не образовалось (Kunakh et al., 1984). Другие исследователи (Jackson, Hobbs, 1990; Nadolska-Orczyk et al., 1994) достигли органогенеза каллусных агрегатов, инициированных из незрелых семядолей и семядольного узла, с частотой 70–100% и числом побегов на эксплант 3,3–9,9 шт. в зависимости от генотипа. Каллус, индуцированный из зародышевой почки (плюмулы) и незрелого листа, образовывал побеги реже (0–56% и 24–28%, соответственно) и в меньшем количестве (0,0–0,6 шт. и 0,2–0,3 шт.). Высокая частота (до 100%) индукции органогенеза отмечена при использовании узла стебля в качестве экспланта (Tzitzikas et al., 2004; El Sayed H., El Sayed A., 2011). В эксперименте (El Sayed H., El Sayed A., 2011) из каллусной ткани, полученной из семядолей, междоузлий, сегментов листа и корня, побеговые почки не формировались.

В наших опытах оба генотипа овощного гороха формировали побеги в культуре тканей. Число побегов на одном каллусе у сорта 'Парус' было 2,8 шт., у сорта 'Красавчик' – 5,0 шт. Высокий органогенный ответ каллуса отмечают, когда он образуется из эксплантов, содержащих меристематические ткани (Jackson, Hobbs, 1990; Tzitzikas et al., 2004; El Sayed H., El Sayed A., 2011; Soboleva, 2016). В соответствии с этим нами были выбраны следующие типы эксплантов: верхушечная почка, узел с удаленным листом и прилистниками и семядольный узел. Органогенный ответ каллусных агрегатов получен у сорта 'Красавчик' в случае их происхождения из верхушечной почки и семядольного узла, у сорта 'Парус' – из всех типов эксплантов.

Значительное влияние на способность каллусных тканей формировать побеги оказывает состав питательной среды. В исследовании (El Sayed H., El Sayed A., 2011) наибольший процент каллусов с побегами (89%) зафиксирован при добавлении в среду БАП (2,0 мг/л) и НУК (2,0 мг/л). Увеличение концентрации цитокинина до 5 мг/л вызывало ингибирование побегообразования (27%). Изменение концентрации НУК (от 0,0 мг/л до 5,0 мг/л) в присутствии БАП не оказывало значительного влияния на процесс органогенеза. Добавление в среду только ауксина инициировало рост корней, а не побегов. В другом исследовании (Nadolska-Orczyk et al., 1994) частота образования побегов достигала 86% при культивировании каллусных тканей на среде, содержащей высокую концентрацию ауксина (ИМК 5 мг/л) и низкую цитокинина (БАП 0,5 мг/л). Побегообразование с частотой до 100% получено на среде с добавлением БАП (1,0 мг/л), однако повышение концентрации гормона до 10 мг/л приводило к аномалиям развития (Jackson, Hobbs, 1990).

Выявленные в нашей работе закономерности индукции побегообразования несколько отличаются от литературных данных. Отмечено следующее: при повышении концентрации БАП (от 1,0 до 5,0 мг/л) увеличивается процент каллусов, образующих побеги (до 20%), растет общее число побегов и их количество на одном каллусе (до 6,3 шт.), однако снижается процент нормально развитых побегов (от 100% до 10,5%). Оптимальная среда для получения побегов – МСП2 (БАП 2,5 мг/л и ИМК 0,5 мг/л). При ее использовании 16,7% каллусов образуют побеги (по 2,0 шт.), из которых 50,0% – без аномалий в развитии.

Регенерированные побеги, полученные при длительном культивировании каллусных тканей в исследовании, описанном ранее (Kunakh et al., 1984), не образовывали корней. Индуцировать ризогенез удалось в других экспериментах. Частота формирования корней составила 15–39% в зависимости от генотипа при культивировании побегов на среде ½ Мурасиге – Скуга без использования гормонов либо с ИУК (0,1 мг/л) (Nadolska-Orczyk et al., 1994). Отмечено влияние состава питательной среды на процесс корнеобразования (Tzitzikas et al., 2004). При добавлении в среду B5 гормонов ИМК, НУК, ИУК

в концентрации 0,5 мг/л частота ризогенеза составила 50, 24 и 9% соответственно. В исследовании прошлых лет (Jackson, Hobbs, 1990) способность образовывать корни была обусловлена гормональным составом среды, на которой получали побеги. Индукция корней у 90% побегов достигнута на среде ½ B5 с НУК (0,186 мг/л) для побегов, образованных на среде с содержанием БАП 1,0 мг/л. Побеги, сформированные при высоких концентрациях БАП (до 10 мг/л), имели аномальное развитие и после переноса на среду ризогенеза образовывали каллус, а не корневую систему.

В нашем эксперименте регенерированные побеги были перенесены на среду ½ МС с добавлением ИМК (2,0 мг/л или 4,0 мг/л). Процент индукции корней составил 33% и 50% соответственно. Ризогенез побегов сорта 'Парус' достиг 50%, сорта 'Красавчик' – 33%. Полученные регенеранты были пересажены в почвосмесь.

Исследование проводили на двух сортах овощного гороха с морщинистыми (мозговыми) семенами зеленой окраски – обычного ('Красавчик') и безлисточкового ('Парус') морфотипов. Генотипы показали схожую реакцию при культивировании. На этапе оценки эффективности стерилизации семян значимых отличий по числу инфицированных семян и высоте побегов не выявлено. Однако число проростков выше 1,5 см и более длинные корни наблюдались у сорта 'Парус'. Это может быть связано с энергией прорастания семян, их всхожестью и биологическими особенностями генотипа.

Каллусная ткань индуцирована из всех типов эксплантов с частотой 54,2%. После пересадки на среды побегообразования из 28 каллусов сорта 'Парус' на шести из них образовалось 17 побегов, четыре из которых не имели аномалий в развитии. Каллусы сорта 'Красавчик' были способны к органогенезу в меньшей степени. Формирование побегов наблюдалось на двух каллусах из 21. Всего получено 10 побегов, три из которых были хорошо развиты. Таким образом, независимо от числа органогенных каллусов, они регенерировали с сопоставимой частотой нормально развитые побеги ('Парус' – 23,5%, 'Красавчик' – 30,0). Индукция побегов достигнута из каллусных тканей всех типов эксплантов сорта 'Парус'. Каллусные агрегаты сорта 'Красавчик' образовывали побеги в случае их происхождения из верхушечной почки и семядольного узла. У сорта 'Парус' ризогенез отмечен у двух из четырех побегов, а у сорта 'Красавчик' – у одного из трех.

Проведенный эксперимент по регенерации овощного гороха посредством инициации органогенеза через культуру тканей продолжался 8 месяцев (с учетом наблюдений после перевода их в нестерильные условия). Его основные этапы и их продолжительность отражены в таблице 6. Изучаемые генотипы имели сопоставимую реакцию во всех опытах эксперимента. При вводе в культуру *in vitro* 240 семян овощного гороха из 48 эксплантов получено два растения-регенеранта сорта 'Парус' и один – сорта 'Красавчик'.

Таблица 6. Протокол для получения растений-регенерантов овощного гороха через культуру тканей
Table 6. Protocol for obtaining regenerated plants of vegetable peas through tissue culture

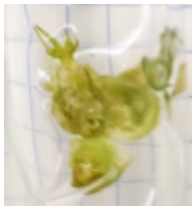
Этап эксперимента / рекомендуемый вариант	Продолжительность этапа	Общее число объектов наблюдения, шт.	Полученное число ожидаемых объектов, шт. (%)	Объект
Получение проростков	10 дней	240 семян	98 (41) проростков	
Сухие семена, «Белизна» (гипохлорит натрия, 1%)		40	27 (68)	
Индукция каллуса	30 дней	48 эксплантов	26 (54) каллусов	
МСК2		12	8 (67)	
Поддержание и рост каллусной ткани	35 дней	26 каллусов	—	

Таблица 6. Окончание
Table 6. The end

Этап эксперимента / рекомендуемый вариант	Продолжительность этапа	Общее число объектов наблюдения, шт.	Полученное число ожидаемых объектов, шт. (%)	Объект
Побегообразование	2–3 месяца	49 каллусных агрегатов	8 (16) каллусов с зафиксированным побегообразованием 7 (14) нормально развитых побегов от общего числа побегов	
МСП2		18	3 (17) 3 (50)	
Ризогенез	1–2 месяца	7 побегов	3 (43) растения-регенеранта	
МСР2		4	2 (50)	
Итого:	5–7 месяцев	240 семян	3 (1) растения-регенеранта	

Заключение

Разработан протокол получения растений-регенерантов овощного гороха через культуру тканей от этапа стерилизации семян до перевода регенерантов в нестерильные условия. Обеззараживание сухих семян овощного гороха рекомендуется проводить с использованием в качестве стерилизующего агента однопроцентного раствора гипохлорита натрия («Белизна»), что позволяет получить 67,5% неинфицированных проростков от общего числа семян, введенных в культуру *in vitro*. Для регенерации растений гороха через культуру тканей эксплантом нужно выбирать верхушку побега и переносить ее на среду индукции каллуса МСК2 (НУК 5 мг/л) или МСК3 (ИМК 6 мг/л в сочетании с БАП 1 мг/л). Пересадка каллусных агрегатов на питательную среду МСП2 (6-БАП 2,5 мг/л в сочетании с ИМК 0,5 мг/л) обеспечивает получение нормально развитых побегов, которые в дальнейшем способны формировать корневую систему. Экспериментальные среды ризогенеза (½ МС, ИМК 2,0 мг/л, и ½ МС, ИМК 4,0 мг/л) имеют схожую положительную эффективность. Разработанный протокол позволяет интенсифицировать процесс регенерации овощного гороха опосредовано, через культуру тканей. Регенерационная способность изучаемых генотипов овощного гороха с морщинистой поверхностью семян обычного ('Красавчик') и безлисточкового ('Парус') морфитипов сопоставима.

References / Литература

Bhowmik P., Yan W., Hodgins C., Polley B., Warkentin T., Nickerson M. et al. CRISPR/Cas9-mediated lipoxygenase gene-editing in yellow pea leads to major changes in fatty acid and flavor profiles. *Frontiers in Plant Science*. 2023;14:1246905. DOI: 10.3389/fpls.2023.1246905

El Sayed H., El Sayed A. Regeneration of callus and organogenesis from explants in *Pisum sativum* L. using various basal medium cultures. *Egyptian Journal of Experimental Biology*. 2011;7(1):143-151. URL: https://www.egyseb.net//?mno=186938 [дата обращения: 09.03.2024].

Finer J.J. Generation of transgenic soybean (*Glycine max*) via particle bombardment of embryogenic cultures. *Current Protocols in Plant Biology*. 2016;1(4):592-603. DOI: 10.1002/cppb.20039

Gan W.C., Ling A.P.K. CRISPR/Cas9 in plant biotechnology: applications and challenges. *BioTechnologia*. 2022;103(1):81-93. DOI: 10.5114/bta.2022.113919

Hodgins C.L., Salama E.M., Kumar R., Zhao Y., Roth S.A., Cheung I.Z. et al. Creating saponin-free yellow pea seeds by

CRISPR/Cas9-enabled mutagenesis on β-amyrin synthase. *Plant Direct*. 2024;8(1):e563. DOI: 10.1002/pld3.563

Jackson J.A., Hobbs S.L.A. Rapid multiple shoot production from cotyledonary node explants of pea (*Pisum sativum* L.). *In Vitro Cellular and Developmental Biology*. 1990;26(8):835-838. DOI: 10.1007/bf02623626

Jinek M., Chylinski K., Fonfara I., Hauer M., Doudna J.A., Charpentier E. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science (New York)*. 2012;337(6096):816-821. DOI: 10.1126/science.1225829

Kaur R., Donoso T., Scheske C., Lefsrud M., Singh J. Highly efficient and reproducible genetic transformation in pea for targeted trait improvement. *ACS Agricultural Science and Technology*. 2022;2(4):780-787. DOI: 10.1021/acsagscitech.2c00084

Khlestkina E.K., Shumny V.K. Prospects for application of breakthrough technologies in breeding: the CRISPR/Cas9 system for plant genome editing. *Russian Journal of Genetics*. 2016;52(7):676-687. DOI: 10.1134/S102279541607005X

Kuluev B.R., Gumerova G.R., Mikhaylova E.V., Gerashchenkov G.A., Rozhnova N.A., Vershinina Z.R. et al. Delivery of CRISPR/Cas components into higher plant cells for genome editing. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2019;66(5):694-706. DOI: 10.1134/S102144371905011X

Kumari T., Deka S.C. Potential health benefits of garden pea seeds and pods: A review. *Legume science*. 2021;3(2):e82. DOI: 10.1002/leg3.82

Kunakh V.A., Voiltyuk L.I., Alkhimova E.G., Alpatova L.K. Callus tissue formation and induction of organogenesis in *Pisum sativum* L. (Polucheniye kallusnykh tkaney i induktsiya organogeneza u *Pisum sativum* L.). *Russian Journal of Plant Physiology*. 1984;31(3):542-548. [in Russian] (Кунах В.А., Войтюк Л.И., Алхимова Л.К., Алпатова Л.К. Получение каллусных тканей и индукция органогенеза у *Pisum sativum* L. *Физиология растений*. 1984;31(3):542-548).

Li G., Liu R., Xu R., Varshney R.K., Ding H., Li M. et al. Development of an *Agrobacterium*-mediated CRISPR/Cas9 system in pea (*Pisum sativum* L.). *The Crop Journal*. 2023;11(1):132-139. DOI: 10.1016/j.cj.2022.04.011

Murashige T., Skoog F.A. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962;15(3):473-497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x

Nadolska-Orczyk A., Miłkowska L., Orczyk W. Two ways of plant regeneration from immature cotyledons of pea. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. 1994;63(2):153-157. DOI: 10.5586/asbp.1994.020

Qi T., Tang T., Zhou Q., Yang W., Hassan M.J., Cheng B. et al. Optimization of protocols for the induction of callus and plant regeneration in white clover (*Trifolium repens* L.). *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(14):11260. DOI: 10.3390/ijms241411260

Sashchenko M.N., Podvigina O.A. Peculiarities of pea plant development during microclonal propagation *in vitro* culture conditions. *Bulletin of Altai State Agricultural University*. 2014;6(116):24-29. [in Russian] (Сащенко М.Н., Подвигина О.А. Особенности развития растений гороха при микроклональном размножении в условиях культуры *in vitro*. *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. 2014;6(116);24-29).

Soboleva G.V. Regeneration of peas plants (*Pisum sativum* L.) in callus tissue culture. *Legumes and Groat Crops*. 2016;3(19);27-35. [in Russian] (Соболева Г.В. Регенерация растений гороха (*Pisum sativum* L.) в культуре каллусной ткани. *Зернобобовые и крупяные культуры*. 2016;3(19);27-35).

Song G.Q., Han X., Wiersma A.T., Zong X., Awale H.E., Kelly J.D. Induction of competent cells for *Agrobacterium tumefaciens*-mediated stable transformation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *PLoS One*. 2020;15(3):e0229909. DOI: 10.1371/journal.pone.0229909

Türkoğlu A., Bolouri P., Haliloğlu K., Eren B., Demirel F., Işık M.İ. et al. Modeling callus induction and regeneration in hypocotyl explant of fodder pea (*Pisum sativum* var. *arvense* L.) using machine learning algorithm method. *Agronomy*. 2023;13(11):2835. DOI: 10.3390/agronomy13112835

Tzitzikas E.N., Bergervoet M., Raemakers K., Vincken J.P., van Lammeren A., Visser R.G.F. Regeneration of pea (*Pisum sativum* L.) by a cyclic organogenic system. *Plant Cell Reports*. 2004;23(7):453-460. DOI: 10.1007/s00299-004-0865-0

Ukhatova Y.V., Erastenkova M.V., Korshikova E.S., Krylova E. A., Mikhailova A.S., Semilet T.V. et al. Improvement of crops using the CRISPR/Cas system: new target genes. *Molecular Biology*. 2023;57(3):375-397. DOI: 10.1134/S0026893323030135

Wada N., Ueta R., Osakabe Y., Osakabe K. Precision genome editing in plants: state-of-the-art in CRISPR/Cas9-based genome engineering. *BMC Plant Biology*. 2020;20(1):234. DOI: 10.1186/s12870-020-02385-5

Wu D.T., Li W.X., Wan J.J., Hu Y.C., Gan R.Y., Zou L. A comprehensive review of pea (*Pisum sativum* L.): chemical composition, processing, health benefits, and food applications. *Foods*. 2023;12(13):2527. DOI: 10.3390/foods12132527

Информация об авторах

Ольга Владимировна Путина, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Крымская опытно-селекционная станция – филиал ВИР, 353384 Россия, Краснодарский край, Крымск, ул. Вавилова, 12, olga-rhji@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-1013-7273

Руслан Султанович Рахмангулов, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, заведующий лабораторией, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, r.rakhmangulov@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0003-1200-3113

Надежда Васильевна Поливара, младший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Крымская опытно-селекционная станция – филиал ВИР, 353384 Россия, Краснодарский край, Крымск, ул. Вавилова, 12, olgarhji@gamil.com, https://orcid.org/0009-0000-5789-5149

Наталья Николаевна Коваленко, доктор биологических наук, заведующая лабораторией, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Крымская опытно-

селекционная станция – филиал ВИР, 353384 Россия, Краснодарский край, Крымск, ул. Вавилова, 12, nnkovalenko59@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-5287-7635

Юлия Васильевна Ухатова, кандидат биологических наук, заместитель директора, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, y.ukhatova@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0001-9366-0216

Елена Константиновна Хлесткина, доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, директор, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, director@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0002-8470-8254

Information about the authors

Olga V. Putina, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, Krymsk Experiment Breeding Station – branch of VIR, 12 Vavilova St., Krymsk 353384, Russia, olga-rhji@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-1013-7273

Ruslan S. Rakhmangulov, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, Head of a Laboratory, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, r.rakhmangulov@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0003-1200-3113

Nadezhda V. Polivara, Associate Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, Krymsk Experiment Breeding Station – branch of VIR, 12 Vavilova St., Krymsk 353384, Russia, olgarhji@gamil.com, https://orcid.org/0009-0000-5789-5149

Natalya N. Kovalenko, Dr. Sci. (Biology), Head of a Laboratory, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, Krymsk Experiment Breeding Station – branch of VIR, 12 Vavilova St., Krymsk 353384, Russia, nnkovalenko59@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-5287-7635

Yulia V. Ukhatova, Cand. Sci. (Biology), Deputy Director, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, y.ukhatova@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0001-9366-0216

Elena K. Khlestkina, Dr. Sci. (Biology), Corresponding Member of the RAS, Director, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, director@vir.nw.ru, https://orcid.org/0000-0002-8470-8254

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.
Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interests: the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 01.08.2025; одобрена после рецензирования 20.04.2026; принята к публикации 04.05.2026.
The article was submitted on 01.08.2025; approved after reviewing on 20.04.2026; accepted for publication on 04.05.2026.