

УГЛЕВОДНЫЙ СОСТАВ СЕМЯН И ЕГО СВЯЗЬ С ДРУГИМИ СЕЛЕКЦИОННО ЗНАЧИМЫМИ ПРИЗНАКАМИ У ОВОЩНОГО ГОРОХА (*Pisum sativum* L.) В УСЛОВИЯХ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

О.В. ПУТИНА¹, С.В. БОБКОВ², М.А. ВИШНЯКОВА³

Основная форма углеводов в семенах гороха — крахмал. Соотношение составляющих его полисахаридов амилозы и амилопектина контролируется генетически. В селекции гороха наиболее часто используется рецессивный аллель *r* локуса *RUGOSUS*, определяющий повышенное содержание амилозы в крахмале, что фенотипически проявляется мозговой поверхностью семян у овощных сортов. Высокая доля амилозы в крахмале (более 70 %) способствует медленному переходу сахаров в крахмал, что увеличивает период технической спелости зеленого горошка, определяет использование овощного гороха в диетическом питании, а также в качестве сырья при создании биодеградирующих пластмасс и пленок. Сведений об изменчивости содержания амилозы в крахмале у сортов овощного гороха очень мало, а данные о связях этого признака с другими селекционно значимыми свойствами растений в научной литературе отсутствуют. Мы впервые изучили образцы овощного гороха из коллекции ВИР (Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, г. Санкт-Петербург) и селекционные формы, созданные на Крымской опытно-селекционной станции (Краснодарский край), по составу крахмала в зрелых семенах, сравнив показатели в сезоны вегетации с разными погодными условиями, и выявили связь между количеством амилозы, мелкосемянностью и числом семян в бобе. Цель работы заключалась в изучении полиморфизма овощного гороха по углеводному составу, поиске генотипов с высоким содержанием амилозы в крахмале зрелых семян и анализе связей между составом крахмала семян и другими селекционно значимыми признаками растений. Полевые исследования образцов ($n = 39$) проводили в 2015–2016 годах в Краснодарском крае. Анализ содержания крахмала в семенах осуществляли поляриметрически, количество амилозы в крахмале определяли фотоэлектроколориметрическим методом. Выявилась зависимость изучаемых признаков от условий среды. В более благоприятных условиях 2016 года наблюдалось значительное ($p < 0,05$) повышение семенной продуктивности (на 4,5 г/растение), снижение интенсивности накопления крахмала в семенах (на 2,4 %), содержащего на 1,6 % больше амилозы в сравнении с показателем в 2015 году. Мы не обнаружили статистически значимых различий ($p < 0,05$) в семенной продуктивности и углеводном составе семян между образцами с традиционным (*Af*) и безлисточковым (*af*) морфотипом. Отсутствие таких различий между этими морфотипами указывает на возможность вовлекать безлисточковые мутанты в селекцию. В оба года исследований максимально высокое содержание амилозы в крахмале отмечали у образцов с меньшей массой 1000 семян (в 2015 году $r = -0,34$, в 2016 — $r = -0,32$; $p < 0,05$) и большим числом зерен в бобе (в 2015 году $r = 0,47$, в 2016 — $r = 0,41$; $p < 0,05$). Показана обратная зависимость между содержанием крахмала в семенах и амилозы в крахмале (в 2015 году $r = -0,60$, в 2016 — $r = -0,49$; $p < 0,05$). Выявлены генотипы — источники высокого содержания крахмала в семенах и амилозы в крахмале: сорта Грюнди (в среднем за 2 года соответственно 31,9 и 75,1 %; $p < 0,05$), Дьюранго (32,0 и 74,1 %; $p < 0,05$), Гропеса (35,1 и 75,4 %; $p < 0,05$). Выделены образцы овощного гороха с сочетанием высокого содержания амилозы в крахмале с мелкосемянностью (сорта СВ 0987 ЮЦ — 79,5 % в среднем за 2 года, Винко — 72,2 %, Омега — 74,0 %, Гропеса — 75,4 %, Бутана — 72,4 %; $p < 0,05$) и большим (более 8 шт.) числом зерен в бобе (сорта Мушио — 77,5 %, Олинда — 71,4 %; $p < 0,05$).

Ключевые слова: крахмал, амилоза, продуктивность, морфотипы, *Pisum sativum* L., овощной горох, связи признаков.

Овощной горох (*Pisum sativum* L.) — исключительно важная продовольственная культура: в фазу технической спелости он служит источником высококачественных белков, углеводов, микроэлементов и витаминов. Основная форма углеводов в семенах гороха — крахмал. Соотношение полисахаридов амилозы и амилопектина, образующих крахмал, контролируется генетически. Известно, что в крахмале семян с морщинистой поверхностью (мозговых), которые присущи сортам овощного гороха, на амилозу приходится не менее 60 %, в то время как в семенах с гладкой поверхностью — 25–30 % (1). По природе мономеров, из которых построены полисахариды крахмала, он сходен с клетчаткой (последняя играет важную роль в поддер-

жании функции кишечника и способствует предотвращению рака толстой кишки): в крахмале это α -форма глюкозы, в целлюлозе — β -форма, при этом структура образуемых гомополимеров неодинакова (2-4).

Высокоамилозный крахмал определяет более медленное перезревание зерна в фазу технической спелости (5), что востребовано при производстве овощного гороха. Крахмал высокоамилозных сортов также служит ценным сырьем в химической промышленности при создании биодеградирующих пластмасс (6), к примеру технических и упаковочных (в том числе съедобных пленок для пищевой промышленности), а также термопластических пленок для медицины (7). Таким образом, создание сортов овощного гороха, в семенах которых повышено содержание не только витаминов, микронутриентов, но и амилозы, становится важным направлением селекции, особенно в связи со стратегией биофортификации — повышения питательной ценности сельскохозяйственных культур.

У гороха описано не менее 6 генов (локусов), ответственных за синтез крахмала, амилозы и амилопектина (*r*, *rb*, *rug3*, *rug4*, *rug5*, *lam*) (8). Наиболее перспективен для использования в селекции рецессивный аллель *r* локуса *RUGOSUS*. В гомозиготном состоянии он определяет мозговую (морщинистую) поверхность семян. У генотипов *rr* в зародышах значительно снижается активность фермента SBE (starch branching enzyme), ответственного за синтез амилопектина, что, в свою очередь, приводит к уменьшению количества крахмала, увеличению содержания амилозы и 2-кратному накоплению сахарозы по сравнению с аналогичным показателем для гладких семян. У таких растений семена на вкус более сладкие и поглощают больше воды, которую они отдают при созревании, приобретая морщинистую поверхность. При этом происходит уменьшение относительной доли запасного белка легумина (9). Рецессивная мутация гена *rb* уменьшает активность АДФ-глюкозо-пирофосфорилазы, ответственной за скорость превращения сахарозы в крахмал. В результате 2-кратно снижается синтез крахмала (в сравнении с диким типом), увеличивается содержание глюкозы и жира (10, 11). Рецессивный аллель *rug3* проявляется сокращением доли крахмала в семенах (до 1 % от сухого вещества, тогда как у дикого типа она достигает 50 %) и в листьях ввиду отсутствия активности пластидной фосфоглюкомутазы (PGM), катализирующей превращение глюкозо-6-фосфата в глюкозо-1-фосфат (12). Мутация в локусе *rug4* вызывает снижение активности синтетазы сахарозы (Sus) в развивающихся семенах, корнях, клубеньках и листьях (13). Рецессивный аллель *rug5* приводит к уменьшению активности крахмальной синтазы II (SSII), участвующей в синтезе амилопектина, удлинняя его молекулы, в сравнении с молекулами дикого типа (14). Аллель *lam* кодирует ослабленную версию связанной с гранулами крахмальной синтазы I, не оказывает влияния на изменение формы семени и содержание крахмала, приводит к значительному уменьшению синтеза амилозы в эмбрионах (15, 16). Известно, что содержание амилозы в крахмале увеличивается в заключительные фазы развития семени (17).

В мировой научной литературе работы, посвященные скринингу сортов гороха по содержанию амилозы в семенах и характеру изменчивости этого признака, очень немногочисленны (2, 3, 18, 19). При этом, например, М. Нуб1 с соавт. (19), несмотря на большой объем изученного материала (более 400 образцов), проводили оценку в течение одного года, и сами авторы считают полученные результаты предварительными. Сведения же о связях состава крахмала овощного гороха с другими селекционно значимыми признаками отсутствуют вообще. Между тем, в селекцию овощного гороха все больше вовлекаются безлисточковые морфотипы (*af*)

и формы с детерминантным типом роста (*det*, *def*), у которых существенно изменен морфофизиологический статус растения (20). Сообщалось о создании безлисточкового высокоамилозного сорта гороха с содержанием крахмала в семенах 28,8 % и амилозы в крахмале 70,9 % (21). Перспективно получение форм с фасциацией стебля в сочетании с детерминантным типом роста (аллели генов *det* и *fa*) (22-24). Поэтому для целенаправленного выведения высокоамилозных сортов с перечисленными признаками необходимо знать, какова взаимосвязь этих признаков с углеводным составом семян.

В настоящей работе мы впервые изучили полиморфизм набора образцов овощного гороха из коллекции ВИР и селекционных форм по составу крахмала в зрелых семенах, сравнив показатели в сезоны вегетации с разными погодными условиями, и выделили генотипы с высоким содержанием амилозы в крахмале. При этом выявили связь между количеством амилозы, мелкосемянностью (низкая масса 1000 семян) и числом семян в бобе, но отсутствие различий по накоплению амилозы между традиционным морфотипом и морфотипами, полученными на основе рецессивных мутаций, что указывает на возможность вовлечения как обычных, так и безлисточковых форм в селекцию высокоамилозных сортов.

Нашей целью была количественная оценка содержания крахмала и амилозы в семенах овощного гороха и анализ связей между этим показателем и другими селекционно значимыми признаками растений.

Методика. Материалом для исследования служили 39 образцов овощного гороха из коллекции ВИР (Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова) и селекционного материала Крымской опытно-селекционной станции. В выборку входили современные сорта, перспективные линии и оригинальные мутантные формы, происходящие из шести стран — России (18 шт.), Нидерландов (16 шт.), Германии (2 шт.), Бельгии (1 шт.), США (1 шт.) и Турции (1 шт.). У всех образцов семена мозговые (морщинистые), что свидетельствует о наличии в генотипе рецессивного аллеля *r* в гомозиготном состоянии. Из 39 изученных образцов 30 имели обычный морфотип по листу (*Af*) и 9 были безлисточковыми (усатые) (мутация *af*). При этом 3 образца были гомозиготами по аллелю *det*, контролирующему ограниченный (детерминантный) тип роста. Кроме того, в выборку включили оригинальную фасцированную форму (спонтанный мутант по аллелям *fa* или *fas*).

Полевые исследования проводили в 2015-2016 годах на селекционных полях Крымской опытно-селекционной станции (Краснодарский край). Почвы участка — слитые и деградированные черноземы глинистого механического состава. Посев осуществлялся сеялкой СКС-6-10 с междурядьем 15 см на глубину 5-6 см, площадь делянки под каждый образец — 10 м². В соответствии с нормой высева овощного гороха на делянке умещалось 900-1200 растений, из которых в фазу технической спелости отбирали 15 растений для морфоструктурного анализа. При наступлении биологической зрелости уборку семян проводили селекционным комбайном Sampo 130 («Sampo Rosenlew Oy», Финляндия). Семена доводили до оптимальной влажности (14 %), после чего отбирали пробы для биохимических исследований.

Фенологические, морфологические и биометрические параметры изучали в соответствии с рекомендациями (25) и методикой полевых опытов (26). Для оценки продуктивности растений в фазу технической спелости собирали учетные снопы. Растения в снопах обмолачивали вручную, после чего взвешивали полученный зеленый горошек и рассчитывали массу зерна с одного растения.

Содержание крахмала определяли по Эверсу с использованием кругового поляриметра СМ-3 («Загорский оптико-механический завод», Россия) (27), количество амилозы в крахмале — с помощью фотоколориметра КФК-2МП («Загорский оптико-механический завод», Россия) (27, 28). Биохимический анализ выделившихся образцов проводили в 3-кратной повторности.

При статистической обработке данных рассчитывали средние (x_{cp}) и стандартные ошибки средних ($\pm SEM$). Средние значения показателей у обычных и мутантных форм сравнивали по t -критерию Стьюдента (t -test). Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Дисперсионный анализ (ANOVA) проводили с использованием критерия наименьшей значимости (LSD test). Для математической обработки данных применяли пакет программы Statistica 10 («StatSoft, Inc.», США).

Результаты. Условия вегетации растений в годы исследований были контрастными. В 2015 году в период от посева до всходов гидротермический коэффициент (ГТК) составил 7,9 (при оптимальном значении 1,0-1,2). С фазы 2-3 листьев и до цветения среднесуточные температуры превышали оптимальные при практически полном отсутствии осадков, но 31 мая выпало 45,5 мм осадков, в результате чего окончание налива бобов совпало с условиями переувлажнения (ГТК от 2,0 до 2,8). В 2016 году после посева и до фазы 2-3 листьев сумма активных температур больше 10 °С превышала показатель 2015 года, создавая более благоприятные условия для роста растений. В период фаза 2-3 листьев—цветение в 2016 году сумма активных температур была ниже, а сумма осадков — выше, чем в 2015, и ГТК в среднем оказался равен 0,8. Во время налива бобов достаточная сумма активных температур выше 10 °С и большое количество осадков положительно отразились на продуктивности семян с растения в фазу технической спелости.

Сравнивая погодные условия 2 лет исследований, можно констатировать, что второй год был более благоприятным для роста и развития овощного гороха. Продуктивность зерна (масса семян с растения) в фазу технической спелости у сортов и линий в 2015 году была статистически значимо ($p < 0,05$) ниже, чем в 2016 (на 4,5 г/растение). В 2015 году продуктивность варьировала от 3,5 до 12,9 г/растение, в 2016 году — от 5,0 до 18,3 г/растение. Среднее содержание крахмала в биологически зрелых семенах, напротив, было значимо ($p < 0,05$) выше в 2015 году и варьировало в зависимости от сорта от 29,4 до 37,4 %, тогда как в 2016 — от 26,0 до 35,8 %. Содержание амилозы и его колебания были почти одинаковыми в оба года (от 61,2 до 82,1 % в 2015 и от 61,9 до 82,6 % в 2016 году), но среднее значение за 2015 год в сравнении с 2016 годом было ниже на 1,6 % ($p < 0,05$) (табл. 1).

1. Продуктивность и биохимические показатели в изученной выборке сортов, линий и мутантных форм овощного гороха (*Pisum sativum* L.) по годам наблюдений ($n = 39$, $x_{cp} \pm SEM$, Краснодарский край)

Название, № по каталогу ВИР (генотип)	Страна происхождения	Продуктивность, г/растение		Содержание, %			
				крахмал		амилоза в крахмале	
		2015	2016	2015	2016	2015	2016
Г-9349/5, к-9349	Россия	5,9	16,2	33,7	29,5	66,4	72,9
Увертюра, и-148154	Бельгия	3,7	14,5	36,6	31,9	61,3	73,6
Салинеро, и-148155	Нидерланды	4,8	15,3	30,2	29,6	71,5	72,2
Асана, и-148158	Нидерланды	3,5	12,0	29,6	29,6	73,8	72,7
Прим, и-0155213	Россия	5,0	12,9	32,0	27,1	70,0	70,0
Стайл, и-148163 (afaf)	США	4,9	10,1	31,8	30,1	67,7	72,8
Карина, и-630921	Нидерланды	4,2	14,1	34,2	30,2	62,8	76,1
Хезбана, и-148159 (afaf)	Нидерланды	7,6	9,9	33,6	29,6	68,6	75,0

Винко, и-148164	Нидерланды	5,8	8,6	31,2	29,8	68,5	75,9
Альфа 2, к-7071	Россия	9,6	7,2	31,4	28,8	68,0	71,4
Олинда, и-630922	Нидерланды	6,6	17,2	34,0	31,7	70,1	72,6
Г-9424/7, к-9424	Россия	8,4	14,7	36,1	31,8	69,1	74,3
Гропеса, к-9730 (afaf)	Нидерланды	5,5	16,1	34,4	35,8	76,3	74,4
Г-305/28	Россия	8,9	18,3	35,5	28,1	61,2	72,6
СВ 0987 ЮЦ, к-9728	Нидерланды	6,7	9,4	30,3	32,2	82,1	76,8
Грюнди, и-148165	Нидерланды	6,8	12,5	34,2	29,6	74,4	75,7
Муцио, и-148166	Нидерланды	8,3	8,7	32,4	29,3	75,6	79,3
Беркут, к-8856	Россия	11,6	11,0	33,8	29,5	67,5	74,6
Эштон, и-148174	Нидерланды	6,0	15,1	31,9	27,9	74,3	82,6
Дьюранго, и-148170	Нидерланды	6,3	9,4	33,2	30,7	75,8	72,3
Веста, к-9352	Россия	12,5	15,7	32,7	30,8	68,1	74,0
Ресал, и-148175	Нидерланды	9,0	12,3	32,6	30,9	67,8	66,7
Донана, и-148177 (afaf)	Нидерланды	7,5	5,0	32,7	32,0	66,5	64,3
Бинго, и-148178 (afaf)	Нидерланды	9,1	12,2	34,8	31,6	70,1	68,0
Омега, и-148176	Турция	10,1	9,4	32,4	30,2	73,0	75,0
Дружный, к-9351 (detdet)	Россия	10,0	14,6	37,4	31,8	66,8	64,2
Спонтанный мутант (fafaf, fafaf)	Россия	10,5	12,4	34,3	34,2	65,2	63,5
Г-388/45	Россия	10,7	15,9	35,1	31,1	64,7	66,8
Рейнбер, и-148181	Германия	12,0	15,0	34,8	34,6	68,0	62,4
Амбассадор, и-148179	Германия	7,9	12,0	33,4	31,2	69,6	72,4
Адагумский, к-7071	Россия	9,3	8,7	36,3	31,7	66,8	64,9
Г-349/442 (afaf, detdet)	Россия	7,4	13,8	32,7	32,8	72,8	67,7
Парус, к-9350 (afaf)	Россия	8,1	11,2	30,3	26,0	75,0	78,4
Г-344/16	Россия	10,2	12,2	31,3	30,4	68,7	61,9
Бутана, и-148180 (afaf)	Нидерланды	8,9	9,6	31,8	29,9	73,0	71,8
Г-387 (afaf, detdet)	Россия	7,8	14,2	33,3	32,2	72,0	69,5
Г-359/58	Россия	11,5	17,4	30,6	29,6	73,3	67,7
Красавчик, к-9449	Россия	11,3	15,7	29,4	27,6	78,3	77,2
Исток, к-9353	Россия	12,9	11,8	32,5	30,9	74,4	76,8
$x_{cp} \pm SEM$		8,1 \pm 0,4*	12,6 \pm 0,5*	33,0 \pm 0,3*	30,6 \pm 0,3*	70,2 \pm 0,7	71,8 \pm 0,8

* Различия по годам статистически значимы по *t*-критерию Стьюдента при $p < 0,05$.

Сравнение по *t*-критерию Стьюдента семенной продуктивности, содержания и состава крахмала в семенах у 35 образцов с обычным типом роста, но имеющих разный листовой морфотип, свидетельствовало об отсутствии значимой разницы (при $p < 0,05$) в проявлении этих признаков между листочковым (обычным) и безлисточковым (усатым) формами (табл. 2). В среднем по годам продуктивность листочковых морфотипов была равна 10,6 г/растение, содержание крахмала в семенах — 31,6 %, содержание амилозы в крахмале — 71,4 %, а для усатых форм эти показатели составили соответственно 9,0 г/растение, 31,7 % и 71,6 % (при $p < 0,05$).

2. Семенная продуктивность, содержание крахмала в семенах и амилозы в крахмале у изученных образцов овощного гороха (*Pisum sativum* L.) в зависимости от морфотипа по годам наблюдений ($x_{cp} \pm SEM$, Краснодарский край)

Морфотип	n	Масса семян с растения, г		Содержание, %			
		2015	2016	крахмал в семенах		амилоза в крахмале,	
				2015	2016	2015	2016
		Тип листа					
Обычный	28	8,2 \pm 0,5	13,0 \pm 0,6	32,9 \pm 0,4	30,2 \pm 0,3	70,2 \pm 0,9	72,6 \pm 0,9
Усатый	7	7,4 \pm 0,6	10,6 \pm 1,3	32,8 \pm 0,6	30,7 \pm 1,1	71,0 \pm 1,4	72,1 \pm 1,8
		Тип роста стебля					
Обычный	35	8,0 \pm 0,4	12,5 \pm 0,5	32,9 \pm 0,3	30,3 \pm 0,3	70,4 \pm 0,8	72,5 \pm 0,8
Детерминантный	4	8,9 \pm 0,8	13,8 \pm 0,5	34,4 \pm 1,0	32,8 \pm 0,5*	69,2 \pm 1,9	66,2 \pm 1,4*

Примечание. Описание сортов (коллекция ВИР, Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, г. Санкт-Петербург) и селекционных образцов (Крымская опытно-селекционная станция, Краснодарский край) см. в таблице 1.

* Различия с обычным типом статистически значимы по *t*-критерию Стьюдента при $p < 0,05$.

Следует отметить, в последние десятилетия генеральное направление селекции зернового гороха базируется на использовании безлисточковых генотипов как более технологичных и адаптивных. По экологической устойчивости лучшие безлисточковые сорта не уступают листочковым, демонстрируя преимущество по урожайности в годы, контрастные по гидро-

термическому режиму (22). Однако в селекции овощного гороха в нашей стране они еще не стали приоритетными. Между тем, ранее в условиях Краснодарского края нами выявлены овощные сорта безлисточкового морфотипа, которые по урожайности зеленого горошка, распределению сухих веществ, продуктивности листовой поверхности и чистой продуктивности фотосинтеза достоверно не отличались от сортов-стандартов с обычным морфотипом (29). Эти результаты дают основание полагать, что и высокоамилозные сорта могут создаваться на основе безлисточковых морфотипов.

В отношении перспективности мутантных форм с ограниченным ростом стебля пока сложно сделать определенное заключение. В 2015 году у детерминантных образцов и форм с фасциацией стебля также не выявили каких-либо особенностей и значимой разницы по продуктивности и углеводному составу семян при сравнении со средними показателями в выборке растений с обычным типом роста стебля (см. табл. 2). Однако в условиях 2016 года у мутантов отмечали более высокое содержание крахмала в семенах и низкое — амилозы в крахмале в сравнении с таковым у образцов, не несущих эти мутации (см. табл. 2). В среднем по годам продуктивность мутантных форм составила 11,3 г/растение, содержание крахмала в семенах — 33,6 %, амилозы в крахмале — 67,7 % (при $p < 0,05$). Известно, что сорта с детерминантным типом роста технологичны при уборке и характеризуются сжатым репродуктивным периодом, дружным созреванием, устойчивостью к полеганию (21, 23). Поэтому мы считаем, что в дальнейшем необходимо продолжить изучение углеводного состава семян у таких мутантов с привлечением большего числа образцов.

Таким образом, за 2 года наблюдений содержание крахмала у всех изученных нами образцов овощного гороха изменялось в пределах 26,0-37,4%, амилозы — от 61,9 до 82,6 %. Столь большая изменчивость свидетельствует о необходимости скрининга генофонда овощного гороха при поиске исходного материала для селекции высокоамилозных сортов.

Корреляционный анализ (табл. 3) показал наличие связей, устойчивых в течение 2 лет. Так, содержание амилозы в крахмале отрицательно коррелировало с количеством крахмала в семенах (в 2015 году $r = -0,60$, в 2016 году $r = -0,49$). Следует отметить, что в научной литературе сведения о связи содержания амилозы и крахмала в морщинистых семенах противоречивы. Если R. Kosson с соавт. (30) тоже указывают на отрицательную корреляцию, то M. Nybl с соавт. (19) нашли положительную связь между этими признаками. Напомним, однако, что последние авторы признают свои результаты предварительными, но скрининг такого рода также считают необходимым для селекции на улучшение углеводного состава семян овощного гороха. Нами впервые выявлена отрицательная связь между содержанием амилозы в крахмале и массой 1000 семян (в 2015 году $r = -0,34$, в 2016 — $r = -0,32$) и положительная — с числом семян в бобе (по годам $r = 0,47$ и $r = 0,41$). То есть чем меньше масса 1000 семян, тем больше их число в бобе и выше содержание амилозы в крахмале, а повышенное содержание крахмала в семенах предполагало уменьшение содержания амилозы. Таким образом, перспективными для селекции можно считать образцы с содержанием амилозы в крахмале более 70 % и массой 1000 семян менее 150 г: сорта СВ 0987 ЮЦ (к-9728, 87 г), Винко (и-148164, 131 г) и Омега (и-148176, 135 г) традиционного морфотипа, безлисточковые сорта Гропеса (к-9730, 87 г), Бутана (и-148180, 146 г) и сорта с 8-10 семенами в бобе Муцио (и-148166, 10,0 шт.), Грюнди (и-148165, 8,5 шт.), СВ 0987 ЮЦ (8,4 шт.), Бутана (8,4 шт.), Олинда (и-630922, 8,3 шт.), Гропеса (8,0 шт.). Отметим, что сорта Муцио и Олинда характеризовались также средним варьированием числа

семян в бобе в оба года наблюдений (Сv от 10 до 20 %), тогда как у остальных оно было высоким.

3. Корреляции между содержанием амилозы и крахмала в семенах и другими селекционно значимыми признаками у изученных образцов овощного гороха (*Pisum sativum* L.) по годам наблюдений (Краснодарский край)

Признак \ Признак	2015 год											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	1,00	0,31	0,92*	0,21	0,41*	0,78*	0,67*	0,24	0,15	0,67*	0,00	0,21
2		1,00	0,24	0,06	0,02	0,03	0,44*	0,61*	-0,37*	-0,22	0,08	-0,34*
3			1,00	0,15	0,37*	0,67*	0,61*	0,25	0,20	0,61*	-0,01	0,26
4				1,00	-0,61*	0,39*	0,12	-0,10	-0,07	0,29	-0,06	-0,09
5					1,00	0,41*	0,09	0,06	-0,01	0,30	0,07	0,21
6						1,00	0,37*	-0,12	0,05	0,82*	-0,02	0,19
7							1,00	0,27	0,45*	0,50*	0,07	0,08
8								1,00	-0,28	-0,30	0,16	-0,34*
9									1,00	0,59*	-0,05	0,47*
10										1,00	-0,07	0,42*
11											1,00	-0,60*
12												1,00
	2016 год											
1	1,00	-0,03	0,91*	0,38*	0,34*	0,41*	0,39*	-0,06	-0,29	0,17	0,24	-0,36*
2		1,00	-0,05	-0,08	-0,17	-0,62*	0,36*	0,64*	-0,35*	-0,69*	-0,38*	-0,32*
3			1,00	0,19	0,41*	0,38*	0,36*	-0,05	-0,15	0,21	0,14	-0,20
4				1,00	-0,58*	0,18	0,17	-0,23	-0,19	0,09	-0,01	-0,08
5					1,00	0,39*	0,00	-0,06	-0,04	0,26	0,29	-0,17
6						1,00	-0,04	-0,56*	0,12	0,88*	0,42*	-0,04
7							1,00	0,17	0,29	0,07	-0,12	-0,11
8								1,00	-0,26	-0,62*	-0,18	-0,23
9									1,00	0,57*	-0,06	0,41*
10										1,00	0,32*	0,17
11											1,00	-0,49*
12												1,00

Примечание. 1 — период всходы—техническая спелость, сут; 2 — масса 1000 семян, г; 3 — число непродуктивных узлов, шт.; 4 — число продуктивных узлов, шт.; 5 — число бобов на цветоносе, шт.; 6 — число выполненных бобов на растении, шт.; 7 — длина боба, см; 8 — ширина боба, см; 9 — число зерен в бобе, шт.; 10 — семян с растения, шт.; 11 — содержание крахмала в семенах, %; 12 — содержание амилозы в крахмале, %.

* Корреляции статистически значимы при $p < 0,05$.

4. Сорты овощного гороха (*Pisum sativum* L.), выделившиеся в изученной выборке ($n = 39$) высоким содержанием крахмала и амилозы по годам наблюдений (Краснодарский край)

Сорт	Страна происхождения	Содержание, %			
		крахмал		амилоза в крахмале	
		2015	2016	2015	2016
Прима (К)	Россия	32,2	27,1	70,0	70,0
Салинеро	Нидерланды	30,3*	29,6*	71,5	72,2
Асана	Нидерланды	29,6*	29,6*	73,8*	72,7*
Олинда	Нидерланды	33,8*	31,7*	70,1	72,6*
Гропеса ^а	Нидерланды	34,2*	35,8*	76,3*	74,4*
СВ 0987 ЮЦ	Нидерланды	30,1*	32,2*	82,1*	76,8*
Грюнди ^а	Нидерланды	34,1*	29,6*	74,4*	75,7*
Муцио	Нидерланды	32,1	29,3*	75,6*	79,3*
Эштон	Нидерланды	31,8	27,9*	74,3*	82,6*
Дьюранго ^а	Нидерланды	32,9*	30,7*	75,8*	72,3*
Омега	Турция	32,3	30,2*	73,0*	75,0*
Парус	Россия	30,4*	26,0*	75,0*	78,4*
Бутана	Нидерланды	31,8	29,9*	73,0*	71,8
Красавчик	Россия	29,4*	27,6	78,3*	77,2*
Исток	Россия	32,3	30,9*	74,4*	76,8*
$x_{cp} \pm SEM$		31,8±0,4	29,9±0,6	74,5±0,8	75,2±0,9

Примечание. К — сорт-контроль; ^а — источники аллелей высокого содержания крахмала в семенах и амилозы в крахмале. Описание сортов (коллекция ВИР, Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, г. Санкт-Петербург) и селекционных образцов (Крымская опытно-селекционная станция, Краснодарский край) см. в таблице 1.

* Различия с контролем статистически значимы при $p < 0,05$.

Всего за 2 года изучения из 39 образцов мы отобрали 15 с высоким

содержанием амилозы в крахмале (более 70 %) (табл. 4). Также выделились сорта, значительно превосходящие сорт-контроль по содержанию крахмала в семенах: Грюнди — со средним по годам содержанием крахмала 31,9 % и амилозы в крахмале 75,0 %, Дьюранго — с показателями соответственно 31,8 и 74,1 % и сорт Гропеса безлисточкового морфотипа — с показателями 35,0 и 75,4 % (см. табл. 4).

Итак, установлена зависимость углеводного состава семян овощного гороха (количество крахмала в семенах и содержание в нем амилозы) с условиями вегетации и выявлен характер взаимозависимости между этими биохимическими показателями и рядом селекционно значимых признаков растений. Отрицательными корреляциями связаны содержание амилозы в семенах и масса 1000 семян, а также количество крахмала в семенах и содержание амилозы в крахмале; положительная связь обнаружена между содержанием амилозы в крахмале и числом зерен в бобе. Не найдены статистически значимые различия по семенной продуктивности, содержанию крахмала в зрелых семенах и амилозы в крахмале между листочковым (обычным) и безлисточковым (усатым) морфотипами. Следовательно, селекцию на повышенное содержание крахмала и амилозы в семенах можно вести на основе обоих морфотипов. Выявлены образцы, которые могут быть использованы в селекции как источники генов, определяющих высокое содержание крахмала в семенах и амилозы в крахмале, а также признаки, положительно связанные с высоким накоплением амилозы, — мелкосемянность (с массой 1000 семян менее 150 г) и число зерен в бобе более 8 шт.

¹Крымская опытно-селекционная станция —
Филиал ФГБНУ ФИЦ Всероссийский институт
генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова,
353384 Россия, Краснодарский край, г. Крымск, ул. Вавилова, 12,
e-mail: kross67@mail.ru;
²ФГБНУ Всероссийский НИИ зернобобовых и крупяных
культур,
302502 Россия, Орловская обл., пос. Стрелецкий,
ул. Молодежная, 10, корп. 1,
e-mail: svbobkov@gmail.com;

³ФГБНУ ФИЦ Всероссийский институт
генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова,
190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42-44,
e-mail: m.vishnyakova.vir@gmail.com ✉

Поступила в редакцию
11 июня 2017 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2018, V. 53, № 1, pp. 179-188

SEED CARBOHYDRATE COMPOSITION AND ITS RELATION TO ANOTHER BREEDING IMPORTANT TRAITS OF GARDEN PEA (*Pisum sativum* L.) IN KRASNODAR REGION

O.V. Putina¹, S.V. Bobkov², M.A. Vishnyakova³

¹Krymsk Breeding Station — Branch of Federal Research Center the Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, Federal Agency for Scientific Organizations, 12, ul. Vavilova, Krymsk, 353384 Russia, e-mail kross67@mail.ru;

²All-Russian Research Institute of Legumes and Groat Groves, Federal Agency for Scientific Organizations, 10/1, ul. Molodezhnaya, Orel, 302502 Russia, e-mail svbobkov@gmail.com;

³Federal Research Center the Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, Federal Agency for Scientific Organizations, 42-44, ul. Bol'shaya Morskaya, St. Petersburg, 190000 Russia, e-mail m.vishnyakova.vir@gmail.com (✉ corresponding author)

ORCID:

Putina O.V. orcid.org/0000-0003-1013-7273

Bobkov S.V. orcid.org/0000-0002-8146-0791

The authors declare no conflict of interests

Received June 11, 2017

Vishnyakova M.A. orcid.org/0000-0003-2808-7745

doi: 10.15389/agrobiol.2018.1.179eng

Abstract

Starch is the main pea (*P. sativum* L.) seed carbohydrate in which the amylose to amylopectin ratio is controlled genetically. Recessive allele *r* of locus RUGOSUS determines an increase in the amylose fraction which leads to the wrinkled-seed character of vegetable peas. A high proportion of amylose in pea starch (more than 70 %) promotes a slow transition of sugars to starch and results in a longer period of technical ripeness. High-amylose starch determines the use of peas in dietary nutrition, and also as raw materials for biodegradable plastics and films. Pea diversity on amylose content is poorly studied, and no data about the relationship between this trait and other agronomically valuable parameters is available. This study is the first to report polymorphism of VIR Collection accessions (Vavilov Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia) and breeding forms from Krymsk Experimental Breeding Station (Krasnodarskii krai, Russia) on carbohydrate composition under contrast weather conditions, and a relationship between the amylose content in seeds, smaller seed size and seed number per pod. The objectives of this work were to reveal garden pea polymorphism on starch carbohydrate composition, to seek for genotypes with high-amylose starch in mature seeds and to estimate the relationships between the seed starch composition and other valuable traits in pea plants. In 2015 and 2016, 39 vegetable pea specimens were tested in field trials in Krasnodarskii krai. Starch content in seeds was determined polarimetrically, and iodine-based calorimetry was used for amylose assessment. The biochemical traits were influenced by environmental conditions. In more favorable 2016 as compared to 2015, seed productivity per plant was 4.5 g higher, the starch accumulation decreased by 3.6 %, whereas the amylose content in starch increased by 1.6 % ($p < 0.05$). There was no statistically significant difference in amylose content detected between accessions of leafy (*Af*) and semi-leafless (*af*) morphotypes in contrast weather conditions of 2015 and 2016 which indicates that both types may be involved in breeding programs. In both years, the highest amylose proportion in starch was in accessions with smaller 1000 seed weight ($r = -0.34$ in 2015, $r = -0.32$ in 2016; $p < 0.05$) and the largest seed number per pod ($r = 0.47$ in 2015, $r = 0.41$ in 2016; $p < 0.05$). Starch and amylose contents correlated inversely ($r = -0.60$ in 2015, $r = -0.49$ in 2016; $p < 0.05$). Varieties Grundy, Durango, and Gropesa were starch-rich with the high amylose level in starch and could serve as donor genotypes. Starch and amylose contents, as averaged over a two-year period, were 31.9 and 75.1 % ($p < 0.05$), respectively, for Grundy, 32.0 and 74.1 % ($p < 0.05$) for Durango, 35.1 and 75.4 % ($p < 0.05$) for Gropesa. Among the varieties studied, SV 0987 UC, Vinco, Omega, Gropesa, and Butana possessed the high amylose level in seeds (79.5, 72.2, 74.0, 75.4 and 72.4 %, respectively, as averaged over 2 years) and small-sized seeds ($p < 0.05$). Varieties Mucio and Olinda were high in amylose (77.5 and 71.4 %, respectively) in combination with more than 8 seeds per pod ($p < 0.05$).

Keywords: starch, amylose, seed productivity, morphotypes, *Pisum sativum* L., garden peas, relations of the traits.

REFERENCES

1. Hilbert G.E., Mac Masters M.M. Pea starch, a starch of high amylose content. *J. Biol. Chem.*, 1946, 162: 229-238.
2. Dostalova R., Horacek J., Hasalova I., Trojan R. Study of resistant starch (RS) content in peas during maturation. *Czech. J. Food Sci.*, 2009, 27: 120-124.
3. Pavlovskaya N.E., Zelenov A.N., Suchkova T.N. *Khranenie i pererabotka sel'khozsyrya*, 2007, 8: 57-59 (in Russ.).
4. Andreev N.R., Lukin N.D., Bykova S.T. *Materialy Mezhdunarodnoi konferentsii «Khlebopekarnoe proizvodstvo-2014»* [Proc. Int. Conf. «Bakery production-2014»]. Moscow, 2014: 143 (in Russ.).
5. Drozd A.M., Samarina L.N., Shvetsov A.S. *Trudy Krymskoi OSS* (Krasnodar), 1968, IV: 146-152 (in Russ.).
6. Karpunin I.I., Kuz'michev V.V., Balabanov T.F. *Nauka i tekhnika*, 2015, 5: 54-59 (in Russ.).
7. Bogracheva T., Topliff I., Meares C., Rebrov A., Hedley C. Starch thermoplastic films from a range of pea (*Pisum sativum*) mutants. *Proc. 5th European Conf. on Grain Legumes*. Dijon, France, 2004: 47-48.
8. *Peas*. John Innes Centre. Available <https://www.jic.ac.uk/staff/trevor-wang/app-gen/starch/mutants.html>. Accessed March 29, 2016.
9. Bhattacharyya M., Martin C., Smith A. The importance of starch biosynthesis in the wrinkled seed shape character of peas studied by Mendel. *Plant Mol. Biol.*, 1993, 22(3): 525-531 (doi: 10.1007/BF00015981).
10. Smith A.M., Bettey M., Bedford I. D. Evidence that the *rb* locus alters the starch content of developing pea embryos through an effect on ADP glucose pyrophosphorylase. *Plant Physiol.*, 1989, 4: 1279-1284 (doi: 10.1104/pp.89.4.1279).
11. Hylton C., Smith A.M. The *rb* mutation of peas causes structural and regulatory changes in ADP glucose pyrophosphorylase from developing embryos. *Plant Physiol.*, 1992, 99(4): 1626-1634 (doi: 10.1104/pp.99.4.1626).

12. Harrison C.J., Hedley C.L., Wang T.L. Evidence that the *rug3* locus of pea (*Pisum sativum* L.) encodes plastidial phosphoglucomutase confirms that the imported substrate for starch synthesis in pea amyloplasts is glucose-6-phosphate. *The Plant Journal*, 1998, 13(6): 753-762 (doi: 10.1046/j.1365-313X.1998.00077.x).
13. Creig J., Barratt P., Tatge H., Déjardin A., Handley L., Gardner C.D., Barber L., Wang T., Hedley C., Martin C., Smith A.M. Mutations at the *rug4* locus alter the carbon and nitrogen metabolism of pea plants through an effect on sucrose synthase. *The Plant Journal*, 1999, 17(4): 353-362 (doi: 10.1046/j.1365-313X.1999.00382.x).
14. Creig J., Lloyd J.R., Tomlinson K., Barder L., Edwards A., Wang T.L., Martin C., Hedley C.L., Smith A.S. Mutations in the gene encoding starch synthase II profoundly alter amylopectin structure in pea embryos. *Plant Cell*, 1998, 10(3): 413-426 (doi: 10.1105/tpc.10.3.413).
15. Denyer K., Barber L.M., Edwards E.A., Smith A.M., Wang T.L. Two isoforms of the GBSSI class of granule - bound starch synthase are differentially expressed in the pea plant (*Pisum sativum* L.). *Plant, Cell & Environment*, 1997, 20(12): 1566-1572 (doi: 10.1046/j.1365-3040.1997.d01-48.x).
16. Wang T.L., Domoney C., Hedley C.L., Casey R., Grusak M. A. Can we improve the nutritional quality of legume seeds? *Plant Physiol.*, 2003, 131(3): 886-891 (doi: 10.1104/pp.102.017665).
17. Matters G.L., Boyer C.D. Soluble starch synthases and starch branching enzymes from cotyledons of smooth- and wrinkled-seeded lines of *Pisum sativum* L. *Biochem. Genet.*, 1982, 20(9-10): 833-848.
18. Haase N.U. A Rapid test procedure for estimating the amylose content of pea starch. *Plant Breeding*, 1993, 111(4): 325-329 (doi: 10.1111/j.1439-0523.1993.tb00649.x).
19. Hybl M., Urban J., Vaclavikova J., Griga M. Evaluation of a collection of pea genetic resources for seed starch, amylose/amylopectin and protein content. *Czech J. Genet. Plant*, 2001, 37(4): 114-123.
20. Kof E.M., Kondykov I.V. Pea (*Pisum sativum* L.) growth mutants. *International Journal of Plant Developmental Biology*, 2007, 1(1): 141-146.
21. Zelenov A.N., Kondykov I.V., Suchkova T.N., Kuznetsova L.N. *Zemledelie*, 2012, 5: 36-37 (in Russ.).
22. Kondykov I.V., Zotikov V.I., Zelenov A.N., Kondykova N.N., Uvarov V.N. *Biologiya i selektsiya determinantnykh form gorokha* [Biology and selection of determinate forms of peas]. Orel, 2006 (in Russ.).
23. Sinjushin A.A. Mutations of determinate growth and their application in legume breeding. *Legume Perspectives*, 2015, 6: 14-15.
24. Talucdar D., Sinjushin A. Cytogenomics and mutagenomics in plant functional biology and breeding. In: *PlantOmics: the omics of plant science*. D. Barh, M.S. Khan, E. Davies (eds.) Springer, India, 2015: 113-156 (doi: 10.1007/978-81-322-2172-2).
25. Vishnyakova M.A., Burlyaeva M.O., Semenova E.V., Seferova I.V., Solov'eva A.E., Shelenga T.V., Bulyntsev S.V., Buravtseva T.V., Yan'kov I.I., Aleksandrova T.G., Egorova G.P. *Kollektsiya mirovykh geneticheskikh resursov zernovykh bobovykh VIR: popolnenie, sokhranenie i izuchenie* [VIR World Collection of genetic resources of grain legumes: replenishment, preservation and study]. St. Petersburg, 2010 (in Russ.).
26. Dospekhov B.A. *Metodika polevogo opyta (s osnovami statisticheskoi obrabotki rezul'tatov issledovaniy)* [Methods of field trials with data statistical processing]. Moscow, 1979 (in Russ.).
27. Ermakov A.I., Arasimovich V.V., Yarosh N.P., Peruanskii Yu.V., Lukovnikova G.A., Ikonnikova M.I. *Metody biokhimicheskogo issledovaniya rasteniy* [Methods of biochemical study of plants]. Leningrad, 1987 (in Russ.).
28. Juliano B.O. A simplified assay for milled-rice amylase. *Cereal Science Today*, 1971, 16(11): 334-340.
29. Alikina O.V., Besedin A.G., Putin O.V., Vishnyakova M.A. *Trudy po prikladnoi botanike, genetike i selektsii*, 2016, 177(1): 35-51 (in Russ.).
30. Kosson R., Czuchajowska Z., Yeshaiah P. Smooth and wrinkled peas. 1. General physical and chemical characteristics. *J. Agric. Food Chem.*, 1994, 42: 92-99 (doi: 10.1021/jf00037a014).

Научные собрания

2nd INTERNATIONAL CONFERENCE ON BIORESOURCE TECHNOLOGY FOR BIOENERGY, BIOPRODUCTS & ENVIRONMENTAL SUSTAINABILITY

(16-19 September 2018, Melia Sitges, Spain)

Key topic areas:

- Pretreatment and de-construction of biomass/bioresources
- Bioresources (including waste) recovery and recycling, including microbial electrochemical systems; bioresources for biofuels (liquid and gaseous); bioresources for biobased chemicals & products, including gas fermentation and in situ product recovery; thermochemical conversion;
- Biorefineries and white biotechnology

Information: <https://www.elsevier.com/events/conferences/international-conference-on-bioresource-technology-for-bioenergy-bioproducts-and-environmental-sustainability>