

МОЛОДЧЕНКОВА О. О.<sup>1✉</sup>, КАРТУЗОВА Т. В.<sup>1</sup>, ЛАВРОВА Г. Д.<sup>1</sup>, КОБЛАЙ С. В.<sup>1</sup>,  
МІЩЕНКО Л. Т.<sup>2</sup>, ЛЕВИЦЬКИЙ Ю. А.<sup>1</sup>, БЕЗКРОВНА Л. Я.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннезнавства та сортовивчення, Україна, 65036, м. Одеса, Овідіопольська дорога, 3, ORCID: 0000-0003-2511-0866, 0000-0003-4122-7298, 0000-0002-3086-6572, 0000-0002-4509-2717, 0000-0003-1203-8498, 0000-0003-2227-1541

<sup>2</sup> Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології та медицини», Україна, 01601, м. Київ, вул. Володимирська, 64/13, ORCID: 0000-0003-0697-6971

✉ [olgamolod@ukr.net](mailto:olgamolod@ukr.net)

## ОСОБЛИВОСТІ БІЛКОВОГО КОМПЛЕКСУ НАСІННЯ ГОРОХУ (*PISUM SATIVUM* L.)

**Мета.** Дослідити особливості білкового комплексу насіння гороху (*Pisum sativum* L.) сортів української та закордонної селекції різних за морфотипом для використання при доборі сортів продовольчого напрямку. **Методи.** Стандартні та розроблені в лабораторії методики біохімічного аналізу рослин (метод К'ельдаля, спектрофотометричні методи, електрофорез). Статистичний аналіз результатів досліджень проводили за допомогою програми Libre Office Calc (GNU Lesser General Public Licensev3), програми аналізу зображень «Imagel». **Результати.** Дослідження вмісту білка, 11S та 7S глобулінів, їх співвідношення в насінні гороху сортів української та закордонної селекції показало наявність достовірних генотипних відмінностей за вивченими показниками в залежності від їх морфотипу. За допомогою електрофоретичного, денситометричного аналізів виявлені сортові відмінності за інтенсивністю смуг, наявністю-відсутністю деяких компонентів у електрофоретичних спектрах 11S та 7S глобулінів, які впливають на харчову цінність насіння гороху. **Висновки.** Отримані результати за біохімічним складом насіння дозволяють розробити методи добору сортів гороху продовольчого напрямку.

**Ключові слова:** горох, морфотип, якість насіння, білок, віцилін, легумін.

Одним із основних джерел рослинного білка в харчуванні людини та тварин є зернобобові культури. Білки зернобобових культур за якістю близькі до тваринного, а за амінокислотним складом — до ідеального білка (за виключенням вмісту сірковмісних амінокислот) [1]. Горох — найпоширеніша із зернобобових культур на Землі, що пояснюється його цінними продовольчими й кормовими якостями та високою врожайністю, сприятливими умовами вирощуван-

ня [2]. Насіння гороху містить 20-35 % білка. Відомо, що білок гороху – найдешевший та найбільш високоякісний, в якому багато життєво необхідних для людини та тварин амінокислот – цистеїну, лізину, триптофану, аргініну, метіоніну [3]. У насінні гороху превалюють легкорозчинні білки – глобуліни та альбуміни, на долю яких приходить до 80–90 % від загального білка. Завдяки цьому білки гороху легко засвоюються організмом людини та тварин. Найбільш перспективними білками для виробництва харчових продуктів із зернобобових культур є глобулінові фракції, які мають константу седиментації 7S і 11S та їх вміст, співвідношення у сумарному білку визначають його якість, оскільки вони неоднаково збалансовані за амінокислотним складом. Запасні білки гороху складаються в основному із трьох глобулінів – легуміну, віциліну та конвіциліну, кожний з яких представлений декількома поліпептидами. Легумін є гексамером з молекулярною масою 300–450 кДа і складається з окремих субодиниць з молекулярною масою 50–70 кДа, кожна із яких містить кислий та лужний поліпептиди (з молекулярною масою ~ 30–40 кДа та ~ 20 кДа відповідно), що поєднані між собою дисульфідними зв'язками. Віцилін — це тримерний протеїн з молекулярною масою близько 170 кДа. У цих глобулінів було показано генетично контрольовану варіабельність [4]. Відомо, що легумін і віцилін гліколізовані та містять ковалентно зв'язані вуглеводи: перший – глюкозу, манозу та глюкозамін, а фракції віциліна, в основному манозу. Встановлено, що не всі субодиниці запасних білків гороху гліколізовані однаково. Очевидно, що можуть існувати генетично обумовлені міжсортівні відмінності в кількості вуглеводів [4, 5].

На сьогодні культура гороху представлена різними морфотипами: листочковий, вусатий,

© МОЛОДЧЕНКОВА О. О., КАРТУЗОВА Т. В., ЛАВРОВА Г. Д., КОБЛАЙ С. В.,  
МІЩЕНКО Л. Т., ЛЕВИЦЬКИЙ Ю. А., БЕЗКРОВНА Л. Я.

гетерофільний, «люпиноїд» [6]. Не дивлячись на те, що листочкові форми за даними фізіологів мають більш високий потенціал продуктивності та стійкості до різного роду стресів, включаючи водний дефіцит, селекція гороху на даний час базується на використанні безлисточкових (вусатих) генотипів, тому що властива їм висока стійкість до вилягання компенсує негативні наслідки накопичення рецесивних алелей у сучасних сортів та забезпечує переваги в агроценозах у порівнянні з іншими формами. Виробники даної культури з Європейського союзу, Канади, Китаю та інших країн ще на початку 80-х рр. зробили свій вибір на користь сортів з вусатим типом листя. У сучасному державному реєстрі сортів рослин придатних до поширення в Україні превалюють сорти вусатого морфотипу.

Метою досліджень було дослідити генотипні особливості білкового комплексу насіння гороху сортів української та закордонної селекції різних за морфотипом для використання при доборі сортів продовольчого напрямку.

### Матеріали і методи

Об'єктом досліджень було насіння сортів гороху (*Pisum sativum* L.) української та закордонної селекції вусатого («Світ», «Камертон», «Дарунок Степу», «Отаман», «Гайдук», «Магнат», «Achat», «Астронавт», «Зекон», «Мадонна», «Беркут», «Комбайновий 1»), листочкового («Аскет», «Благодатний», «Інтенсивний 92», «Лугановський») та гетерофільного морфотипів («Спартак», «А<sub>3</sub>1397»).

Визначення вмісту білка проводили методом К'ельдаля на KjltecAuto-1030 [7], фракціонування білків за методом [5]. 11S та 7S глобулінові фракції виділяли за методом, розробленим в лабораторії [8].

Електрофорез білків проводили в 15 % ПААГ, який містив 1 % SDS з використанням системи фірми «Нем-Нoff». В якості маркерів молекулярної маси використовували наступну білкову суміш: 97 кДа – фосфорилаза В, 67 кДа – бичачий сироватковий альбумін, 45 кДа – альбумін яечний, 25 кДа – хімотрипсиноген, 20,1 кДа – інгібітор трипсину, 13,7 кДа – рибонуклеаза А. Значення молекулярної маси компонентів білкових фракцій розраховували згідно з каліб-

рувальним графіком залежності між  $\log M$  та відносною рухливістю білка відносно рухливості бромфенолового синього. Вміст компонентів в електрофоретичних спектрах білків визначали за допомогою програм аналізу зображень «Imagel».

Статистичний аналіз результатів досліджень проводили за допомогою програми Libre Office Calc (GNU Lesser General Public License v 3).

### Результати та обговорення

Результати досліджень показали, що вміст білка коливався у сортів, що вивчалися, від 19,1 % до 24,3 %: у сортів вусатого морфотипу середній вміст білка був  $21,46 \pm 0,4$ ; у сортів листочкового морфотипу –  $21,33 \pm 0,2$ ; у сортів гетерофільного морфотипу –  $21,28 \pm 1,5$  (табл.). Вміст основних білків зернобобових культур – глобулінів, за нашими даними, в залежності від сорту гороху коливався від 55,4 % до 79,0 % від сумарного білка [9]. За літературними даними [4], леугмін та віцилін відрізняються за кількісним вмістом окремих амінокислот. За нашими даними, віцилін має менше глютамінової кислоти та триптофану, тоді як леугмін збагачений цими амінокислотами, але містить менше лізину [9]. Взяті у дослідження сорти гороху відрізнялися за кількісним вмістом віциліну і леугміну та їх співвідношенням. Так, вміст віциліну (7S глобуліну) в насінні гороху коливався в залежності від сорту від 7,1 % до 17,01 %: у сортів вусатого морфотипу середній вміст віциліну був  $12,72 \pm 0,9$ ; у сортів листочкового морфотипу –  $11,92 \pm 2,1$ ; у сортів гетерофільного морфотипу –  $8,85 \pm 0,5$ . Вміст леугміну (11S глобуліну) коливався від 13,45 % до 27,01 %: у сортів вусатого морфотипу середній вміст леугміну був  $19,40 \pm 1,1$ ; у сортів листочкового морфотипу –  $23,92 \pm 1,7$ ; у сортів гетерофільного морфотипу –  $16,76 \pm 2,7$ . Співвідношення 11S/7S глобулінів було від 1,19 до 2,76: у сортів вусатого морфотипу –  $1,58 \pm 0,1$  (середнє по сортах); у сортів листочкового морфотипу –  $2,1 \pm 0,3$ ; у сортів гетерофільного морфотипу –  $1,88 \pm 0,2$ . Показано, що співвідношення леугміну/віциліну є важливим для визначення як харчової цінності, так і функціональних властивостей білків гороху [10].

Таблиця. Вміст білка, 11S та 7S глобулінів, їх співвідношення в насінні сортів гороху

Сорт	Вміст білка, %	Вміст 11S глобуліну (легуміну), %	Вміст 7S глобуліну (віциліну), %	11S/7S
Сорти вусатого морфотипу				
Світ	19,13	14,89	12,28	1,21
Дарунок Степу	20,36	21,61	16,95	1,27
Отаман	24,30	13,99	8,64	1,62
Гайдук	22,30	13,45	11,21	1,19
Магнаг	22,11	23,07	16,28	1,42
Камертон	21,84	21,75	16,94	1,28
Беркут	21,84	22,44	12,36	1,82
Комбайновий 1	23,39	21,80	15,82	1,38
Achat	20,38	18,16	7,11	2,55
Астронавт	20,84	21,83	10,32	2,11
Зекон	20,34	15,73	9,83	1,60
Мадонна	20,75	24,09	14,94	1,61
Середнє за морфотипом	21,46 $\pm$ 0,4	19,40 $\pm$ 1,1	12,72 $\pm$ 0,9	1,58 $\pm$ 0,1
Сорти листочкового морфотипу				
Благодатний	21,29	27,01	13,86	1,95
Аскет	21,48	18,85	7,91	2,38
Інтенсивний 92	20,79	24,53	8,90	2,76
Луганський	21,75	25,29	17,01	1,49
Середнє за морфотипом	21,33 $\pm$ 0,2	23,92 $\pm$ 1,7	11,92 $\pm$ 2,1	2,10 $\pm$ 0,3
Сорти гетерофільного морфотипу				
Спартак	19,75	19,49	9,37	2,08
A <sub>3</sub> 1397	22,81	14,03	8,33	1,68
Середнє за морфотипом	21,28 $\pm$ 1,5	16,76 $\pm$ 2,7	8,85 $\pm$ 0,5	1,88 $\pm$ 0,2
M	21,41	20,11	12,11	1,74
SD	0,30	0,99	0,83	0,11
max	24,30	27,01	17,01	2,76
min	19,13	13,45	7,11	1,19
CV, %	6,04	21,09	28,95	27,01

Примітки: M – середня арифметична по досліді, SD – стандартне відхилення ознаки по всій сукупності експериментальних сортів, найменша істотна різниця по досліді при  $p < 0,05$  (NIP<sub>0,05</sub>), CV – коефіцієнт варіації.

За даними електрофоретичного аналізу (рис.), білкова фракція 7S глобуліну містила 29 білкових компонентів, а фракція 11S – 38 поліпептидних смуг з молекулярною масою від 97 кДа до 10 кДа. 11S білкова фракція містила основні компоненти з молекулярною масою в області 60-67 кДа, 45 кДа, 40 кДа та 35 кДа, які за літературними даними, можуть бути віднесені до легуміну. Компонент з молекулярною масою 40 кДа відноситься до кислої субодиниці легуміну. Електрофоретичний спектр 7S глобулінів містить 5 компонентів віциліну з молекулярною масою в області 97 кДа, 65 кДа, 44-45 кДа та 35 кДа, 5 компонентів конгліциніну з молекулярною масою в області 200-100 кДа, 63-67 кДа та 4 компоненти провіциліну з молекулярною масою в області 66 кДа, 30 кДа, 20 кДа та 14,4 кДа [5]. Показано, що віцилін та конвіцилін, особли-

во конвіцилін з молекулярною масою 63 кДа та віцилін з молекулярною масою 44 кДа, можуть викликати алергійну реакцію в організмі людини [11]. Нами були встановлені чіткі відмінності як за інтенсивністю фарбування та зміщенням однакових за рухливістю білкових компонентів глобулінів, так і за наявністю та відсутністю компонентів, які характерні для певного генотипу. Так, наприклад, у сорту «Отаман» в електрофоретичному спектрі 11S глобулінів відсутні компоненти в зонах з молекулярною масою 65 кДа та 22 кДа. У сорту «Achat» в електрофоретичному спектрі 7S глобулінів були відсутні компоненти в зонах з молекулярною масою 35 кДа та 12 кДа, в той час, як в електрофоретичному спектрі 11S глобулінів є компонент в зоні з молекулярною масою 30 кДа, відсутній у інших сортів

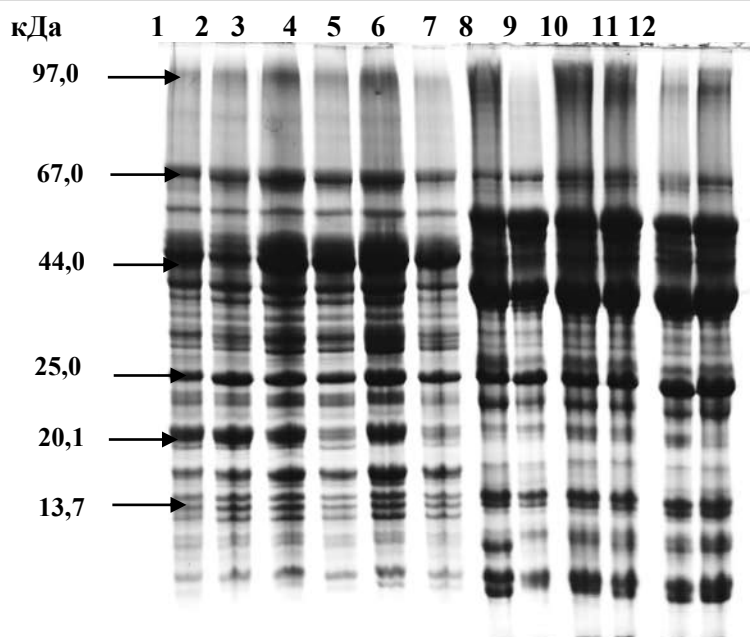


Рис. Електрофорез в 12,5 % ПААГ з SDS 11S і 7S глобулінів насіння сортів гороху: 1 – «Світ» – 11S глобуліни; 2 – «Achat» – 11S глобуліни; 3 – «А31061 (Спартак)» – 11S глобуліни; 4 – «А3 1397» – 11S глобуліни; 5 – «Аскет» – 11S глобуліни; 6 – «Отаман» – 11S глобуліни; 7 – «Світ» – 7S глобуліни; 8 – «Achat» – 7S глобуліни; 9 – «А31061 (Спартак)» – 7S глобуліни; 10 – «А31397» – 7S глобуліни; 11 – «Аскет» – 7S глобуліни; 12 – «Отаман» – 7S глобуліни. М – маркери молекулярної маси.

У сорту «Отаман» в електрофоретичному спектрі 7S глобулінів був відсутній компонент з молекулярною масою 20 кДа. У сорту «Зекон» в електрофоретичному спектрі 11S глобулінів були відсутні компоненти з молекулярною масою близько 30-35 кДа та 20-25 кДа. У сорту «Благодатний» в електрофоретичному спектрі 7S глобулінів були відсутні компоненти в зоні з молекулярною масою 30 кДа та 20 кДа (рис.).

Виявлені генотипові відмінності за інтенсивністю смуг, наявністю-відсутністю деяких компонентів у електрофоретичних спектрах глобулінів гороху, можуть впливати на харчову цінність насіння. Маючи дані кількісного вмісту загального білка, вмісту, співвідношення та компонентного складу 11S та 7S глобулінів, враховуючи їхні функціональні властивості, наявність у компонентному складі білків субодиниць, які негативно впливають на здоров'я людини, можна буде на ранніх етапах селекції добирати генотипи, біохімічні показники яких відповідають потребам, необхідним для створення сортів продовольчого напрямку.

### Висновки

Дослідження біохімічних показників,

пов'язаних з якістю насіння (вмісту білка, основних фракцій білкового комплексу – легуміну та віциліну) в насінні показало наявність достовірних відмінностей за вивченими показниками у досліджених сортів гороху в залежності від їх морфотипу. За допомогою електрофоретичного та денситометричного аналізів виявлені сортові відмінності за інтенсивністю смуг, наявністю/відсутністю деяких компонентів у електрофоретичних спектрах віциліну та легуміну, які впливають на харчову цінність насіння гороху. Отримані результати за біохімічним складом насіння дозволяють розробити методи добору сортів гороху продовольчого напрямку. Комплексне вивчення сортів гороху різних морфотипів продемонструвало, що сучасні сорти з вусатим типом листя у цілому не поступаються, а кращі сорти навіть переважають за біохімічними показниками листочкові. Це є наслідком посиленої селекційної роботи з безлисточковими генотипами за останні десятиріччя. Також можна визначити практичну цінність гетерофільного морфотипу у тому, що він має високий біологічний потенціал та володіє високими фізіологічними показниками продукційного процесу, та потребує подальшого вивчення.

## References

1. Semba R. D., Ramsing R., Rahman N., Kraemer K., Bloem M. W. Legumes as a sustainable source of protein in human diets. *Global Food Security*. 2021. Vol. 28. P. 100520. doi: 10.1016/j.gfs.2021.100520.
2. Dahl W. J., Foster L. M., Tyler R. T. Review of the health benefits of peas (*Pisum sativum* L.). *Br. J. Nutr.* 2012. Vol. 108 (1). P. 3–10. doi: 10.1017/S0007114512000852.
3. Carbonaro M., Nucara A. Legume proteins and peptides as compounds in nutraceuticals: a structural basis for dietary health effects. *Nutrients*. 2022. Vol. 14 (1188). P. 1–11. doi: 10.3390/nu14061188.
4. Tzitzikas E. N., Vincken J. P., de Groot J., Gruppen H., Visser R. G. Genetic variation in pea seed globulin composition. *J. Agric. Food Chem.* 2006. Vol. 54 (2). P. 425–433. doi: 10.1021/jf0519008.
5. Rubio L. A., Pérez A., Ruiz R., Guzmán M. A., Aranda- Olmedo I., Clemente A. Characterization of pea (*Pisum sativum*) seed protein fractions. *J. Sci. Food Agric.* 2014. Vol. 94 (2). P. 280–287. doi: 10.1002/jsfa. 6250.
6. Koblay S. V. Adaptive capacity of different varieties of pea morfotipe in conditions of the south of Ukraine. *Breeding and seed production*. 2016. Vol. 110. P. 82–90. [in Ukrainian]
7. Kjeldahl J. Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischen Körpern. *Zeitschrift für analytische Chemie*. 1983. Vol. 22 (1). P. 366–383. doi: 10.1007/BF01338151.
8. Adamovska V. G., Molodchenkova O. O., Kartuzova T. V., Sichkar V. I., Lavrova G. D. The method of selection of soybean genotypes of the food direction: Patent for utility model 107671 Ukraine; published on 24.06.2016. [in Ukrainian]
9. Adamovska V. G., Molodchenkova O. O., Sichkar V. I., Kartuzova T. V., Levitsky Yu. A., Bezkrovna L. Ya. Biochemical characteristics of genotypes of leguminous crops of the South of Ukraine in connection with seed quality breeding. *Bulletin of Plant Breeding & Genetics Institute-National Center of Seed and Cultivar Investigation*. 2015. Vol. 26 (66). P. 107–124. [in Ukrainian]
10. Taghvaei M., Sadeghi R., Smith R. Seed to seed variation of proteins of the yellow pea (*Pisum sativum* L.). *PLoS ONE*. 2022. Vol. 17 (8). e0271887. doi: 10.1371/journal.pone.0271887.
11. Sanchez Monge R., Lopez Torrejón G., Pascual C. Y., Varela J., Martin Esteban M., Salcedo G. Vicilin and convicilin are potential major allergens from pea. *Clinical & Experimental Allergy*. 2004. Vol. 34 (11). P. 1747–1753. doi: 10.1111/j.1365-2222.2004.02085.x.

**MOLODCHENKOVA O. O.<sup>1</sup>, KARTUZOVA T. V.<sup>1</sup>, LAVROVA G. D.<sup>1</sup>, KOBLAY S. V.<sup>1</sup>,  
MISHCHENKO L. T.<sup>2</sup>, LEVITSKY Yu. A.<sup>1</sup>, BEZKROVNA L. Ya.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Plant Breeding and Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivar investigations, Ukraine, 65036, Odesa, Ovidiopol'skaya doroga, 3*

<sup>2</sup> *Taras Shevchenko National University of Kyiv, Educational and Scientific Centre "Institute of Biology and Medicine", Ukraine, 01601, Kyiv, Volodymyrska str., 64/13*

#### **PECULIARITIES OF THE PROTEIN COMPLEX OF SEEDS OF PEA (*PISUM SATIVUM* L.)**

**Aim.** To investigate the features of the protein complex of pea seeds (*Pisum sativum* L.) of varieties of Ukrainian and foreign breeding of different morphotypes for use at the selection of varieties of food direction. **Methods.** Standard and developed in Laboratory of Plant Biochemistry methods of plant biochemical analysis (Kjeldahl method, spectrophotometric methods, electrophoresis). Statistical analysis of research results was carried out using the programs Libre Office Calc (GNU Lesser General Public Licensev3), "Imagel". **Results.** The study of the content of protein, 11S and 7S globulins, their ratio in the seeds of peas of Ukrainian and foreign varieties showed the presence of reliable varietal differences according to the studied characteristics depending on their morphotype. Using electrophoretic and densitometric analyses, varietal differences in the intensity of bands, the presence or absence of some components in the electrophoretic spectra of 11S and 7S globulins, which affect the nutritional value of pea seeds, were established. **Conclusions.** The obtain results shown that it will be possible to select genotypes of food direction using the studied biochemical characteristics of evaluation.

**Keywords:** pea, morphotype, seed quality, protein, vicilin, legumin.