



## МИКРОСАТЕЛЛИТНЫЙ АНАЛИЗ СОРТООБРАЗЦОВ ГОРОХА С КонтРАСТНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ БЕЛКА В СЕМЕНАХ

\*Гайнуллина К.П.<sup>1,2</sup>, Слинкин А.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия

<sup>2</sup>Опытная станция «Уфимская» – обособленное структурное подразделение Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия

<sup>3</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный аграрный университет», Уфа, Россия

\*e-mail: [karina28021985@yandex.ru](mailto:karina28021985@yandex.ru)

### Резюме

В статье рассмотрена проблема поиска ассоциаций аллельных вариантов микросателлитных локусов с содержанием протеина в семенах гороха. Среди всех зернобобовых культур, отличающихся высокобелковостью, горох является наиболее адаптивной культурой к условиям Предуральской степной зоны Республики Башкортостан. Его возделывание является перспективным на данной территории. Для выявления аллельных вариантов, которые могут быть использованы в будущем в качестве ДНК-маркеров высокого содержания запасных белков семян (легумина, вицилина, конвицилина) было проведено генотипирование сортов и линий гороха посевного различного эколого-географического происхождения. По методу Бредфорд было определено содержание общего белка в исследуемых сортаобразцах данной культуры, и выявлены сортаобразцы, контрастно различающиеся по данному признаку. Были сформированы две группы образцов с высоким ( $23,5 \pm 0,4$  –  $26,1 \pm 0,5\%$ ) и низким ( $18,0 \pm 0,3$  –  $19,7 \pm 0,3\%$ ) содержанием белка. Затем было проведено генотипирование вышеперечисленных групп методом SSR-анализа. В результате примененной методики была получена информация об аллельном составе сортаобразцов с высоким и низким содержанием запасных белков семян. Полученные данные планируется использовать в качестве дополнительных критериев при отборе родительских форм в скрещиваниях для получения высокобелковых гибридов.

**Ключевые слова:** горох посевной, *Pisum sativum* L., микросателлитный анализ, содержание протеина в семенах

**Цитирование:** Гайнуллина К.П., Слинкин А.А. Микросателлитный анализ сортаобразцов гороха с контрастным содержанием белка в семенах // *Biomics*. 2024. Т.16(2). С.188-194. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2024-10

© Авторы

### MICROSATELLITE ANALYSIS OF PEA VARIETIES WITH CONTRASTING PROTEIN CONTENT IN SEEDS

\*Gainullina K.P.<sup>1,2</sup>, Slinkin A.A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

<sup>2</sup>Experimental Station «Ufinskaya» – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

<sup>3</sup>Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education «Bashkir State Agrarian University», Ufa, Russia

\*e-mail: [karina28021985@yandex.ru](mailto:karina28021985@yandex.ru)

### Resume

The article considers the problem of searching for associations of allelic variants of microsatellite loci with protein content in pea seeds. Among all leguminous crops characterized by high protein content, pea is the most adaptive

crop to the conditions of the Urals steppe zone of the Republic of Bashkortostan. Its cultivation is promising in this territory. To identify allelic variants that can be used in the future as DNA markers of high content of reserve seed proteins (legumin, vicilin, convicilin), genotyping of varieties and lines of seed pea of different ecological and geographical origin was carried out. According to the Bradford method, the content of total protein in the studied cultivars was determined, and cultivars contrasting in this trait were identified. Two groups of samples with high ( $23.5 \pm 0.4$  -  $26.1 \pm 0.5\%$ ) and low ( $18.0 \pm 0.3$  -  $19.7 \pm 0.3\%$ ) protein content were formed. Then, genotyping of the above groups was performed by SSR analysis. As a result of the applied methodology, information on allelic composition of varietal samples with high and low content of spare seed proteins was obtained. The obtained data are planned to be used as additional criteria for selection of parental forms in crosses to obtain high-protein hybrids.

**Keywords:** seed pea, *Pisum sativum* L., microsatellite analysis, seed protein content

**Citation:** Gainullina K.P., Slinkin A.A. Microsatellite analysis of pea varieties with contrasting protein content in seeds. *Biomics*. 2024. V.16(2). С.188-194. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2024-10 (In Russian)

## © The Authors

### Введение

Горох посевной (*Pisum sativum* L.) является основной зернобобовой культурой в мире [Шелепина (Shelepina), 2016; Warkentin et al., 2020]. Он используется на пищевые, кормовые и сидерационные цели [Давлетов и др. (Davletov et al.), 2018]. В основе повышения урожайности, качества зерна, технологичности и адаптивности гороха лежит создание его новых сортов, при этом источником исходного материала для селекции является коллекция генетических ресурсов ВИР. Для однозначной идентификации сортообразцов гороха, сохраняемых в коллекции, существует необходимость в разработке методов генетической паспортизации этой культуры, а для повышения эффективности селекции и сокращения временных затрат на создание новых высокопродуктивных, богатых по содержанию ценного протеина сортов – выявление ДНК-маркеров данных признаков.

Маркер-ориентированная селекция у гороха должна вестись, прежде всего, в отношении повышения урожайности и качества зерна. Качество зерна гороха, в первую очередь, определяется содержанием и качественным составом белка. Белок гороха на 80% от общего содержания представлен альбуминами и глобулинами. Известно, что их синтез контролируется по меньшей мере 40 генами и 10 различными генетическими локусами [Chen et al., 2002]. В данной работе мы провели генотипирование сортов и линий гороха, контрастно различающихся по содержанию запасных белков семян, по SSR-маркерам для поиска аллельных вариантов, которые в дальнейшем могут быть использованы в качестве ДНК-маркеров в селекции гороха на высокое содержание белка в семенах.

Цель работы заключалась в поиске ДНК-маркеров, связанных с повышенным содержанием белка в семенах гороха. Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи: 1) выделить сортообразцы гороха посевного из коллекции мировых генетических ресурсов ВИР с контрастным содержанием белка в семенах; 2) отобрать наиболее информативные

SSR-маркеры для генотипирования сортов и линий гороха; 3) выполнить SSR-фингерпринтинг выделенных сортообразцов с применением отобранных микросателлитных маркеров; 4) произвести поиск ассоциаций полиморфизма SSR-локусов с содержанием протеина в семенах сортов и линий гороха.

### Материалы и методы

Материалом для исследования послужил имеющийся в лаборатории геномики растений ИБГ УФИЦ РАН и лаборатории селекции и первичного семеноводства зернобобовых и крупяных культур БНИИСХ УФИЦ РАН коллекционный материал гороха посевного (120 сортообразцов), а также 30 новых сортов и линий, полученных в 2023 г. из отдела генетических ресурсов зернобобовых культур ВИР в рамках договора о научном сотрудничестве (№ 155д/23 от 19.04.2023 г.).

Полевые опыты закладывались на опытных делянках ИБГ УФИЦ РАН и на полях Чишминского селекционного центра по растениеводству БНИИСХ УФИЦ РАН. Почвы опытного участка представлены среднемощным карбонатным черноземом. В пахотном слое почвы содержится 8,0% гумуса, на 100 г воздушно-сухой почвы приходится 20-23 мг P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 40-42 мг K<sub>2</sub>O, рН=6,8. Содержание гумуса определяли по Тюрину (ГОСТ 26213-91), подвижных соединений фосфора – по Чирикову (ГОСТ 26204-91), обменного калия – по Масловой (ГОСТ 26210-91).

Посев производился в конце апреля селекционной сеялкой СКС-6-10. Площадь делянки – 3 м<sup>2</sup>. Площадь питания растений – 20 ? 5 см. Всходы появились через 9-10 суток. Погодные условия в 2023 г. складывались неблагоприятно для вегетации гороха. В период «всходы–цветение» растения гороха росли и развивались при недостатке влаги и повышенной температуре. Установившаяся с 10 июля сухая, жаркая погода вызвала ускоренное развитие растений и преждевременное созревание семян.

Изучение коллекционного материала гороха проводили в соответствии с методическими указаниями ВИР [Корсаков и др. (Korsakov et al.), 1975],

фенологические наблюдения, учеты и измерения – по методике государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур [Федин (Fedin), 1985]. Содержание белка в семенах определяли по методу Бредфорд [Bradford, 1976]. Семена каждого из исследуемых сортообразцов измельчали в ступке. Измельченные навески массой 200 мг помещали в эппендорфы, добавляли по 1000 мкл фосфатного буфера (0,05 М, рН=7,0), перемешивали и оставляли при +5°C на

12 ч. Центрифугировали образцы при +5°C в центрифуге 5430 R (Eppendorf, Германия) в течение 20 мин. Отбирали по 5 мкл супернатанта, добавляли 150 мкл реактива Бредфорд (краситель Кумасси G-250) и 95 мкл дистиллированной воды. Измерение концентрации белка проводили на спектрофотометре LS 55 Luminescence Spectrometer (Perkin-Elmer, США) в трехкратной повторности. Калибровочную кривую строили по бычьему сывороточному альбумину (Sigma, США).

Таблица 1. Микросателлитные маркеры, использованные для анализа молекулярно-генетического полиморфизма сортов и линий гороха.

Table 1. Microsatellite markers used to analyze molecular genetic polymorphism of pea varieties and lines.

SSR-маркер SSR marker	Последовательность праймеров от 5' к 3' Primer sequence from 5' to 3'	Число аллелей Number of alleles	PIС PIC	Размер ампликона, bp [Loridon et al., 2005] Amplicon size, bp [Loridon et al., 2005]
AD174	F: GGAGGGATGATTCTAACAAAGGT R: AACTCCCACCTCCTCGAACTATT	6	0,81	96
AD61	F: CTCATTCAATGATGATAATCCTA R: ATGAGGTACTTGTGTGAGATAAA	7	0,84	138
AA355	F: AGAAAAATTCTAGCATGATACTG R: GGAAATATAACCTCAATAACACA	7	0,84	180
D21	F: TATTCTCCTCCAAAATTTCCCTT R: GTCAAAATTAGCCAAATTCCTC	6	0,81	200
AA200	F: ACCGAAGAGCATTTTTCCCTAAG R: TCCATCAGTTCCTAATTCATC	4	0,67	220
AA285	F: TCGCCTAATCTAGATGAGAATA R: CTTAACATTTTAGGTCTTGGAG	5	0,69	248
AD270	F: CTCATCTGATGCGTTGGATTAG R: AGGTTGGATTTGTTGTTTGTG	6	0,81	290
AD147	F: AGCCCAAGTTTCTTCTGAATCC R: AAATTCGCAGAGCGTTTGTTC	7	0,84	330
AA67	F: CCCATGTGAAATTCTTGAAGA R: GCATTTCACTTGATGAAATTTTCG	5	0,75	370
AD146	F: TGCTCAAGTCAATATATGAAGA R: CAAGCAAATAGTTGTTTTGTTA	7	0,84	390
AB29	F: GCTTTTACCTTGCAGCCCA R: GAACAAGTCAATTCCTGATTTATTTCC	4	0,69	415

Для выделения ДНК семена сортообразцов гороха проращивали на чашках Петри в нестерильных условиях. ДНК выделяли из 96-100 мг гомогенизированных в 200 мкл ТЕ-буфера тканей 5-7-дневных проростков с помощью коммерческого набора «Genomic DNA Purification Kit» (Thermo Fisher Scientific, США). Добавляли 400 мкл лизирующего буфера (Lysis solution) и инкубировали в термостате «Термит» (ДНК-Технология, Россия) при 65°C в течение 5 мин. Незамедлительно приливали 600 мкл хлороформа, встряхивали и центрифугировали при 10 тыс. об./мин. в течение 10 мин. на центрифуге MiniSpin (Eppendorf, Германия). Супернатант отбирали и добавляли 800 мкл осаждающего буфера (Precipitation solution – 80 мкл, стерильная ампульная H<sub>2</sub>O – 720 мкл). Встряхивали и

центрифугировали при 14 тыс. об./мин. в течение 15 мин. Супернатант удаляли, осадок растворяли в 100 мкл раствора NaCl. Добавляли 300 мкл охлажденного этилового спирта (96%), инкубировали при -70°C в течение 30 мин. и осаждали ДНК центрифугированием при 14 тыс. об./мин. в течение 10 мин. на центрифуге MiniSpin (Eppendorf, Германия). Этиловый спирт удаляли, осадок сушили при комнатной температуре в течение 2 ч и растворяли в 50 мкл дистиллированной воды.

Фрагментный анализ проводили на капиллярном анализаторе (секвенаторе) «Нанофор 5» (Синтол, Россия) с использованием флуоресцентно меченых праймеров (таблица 1). Реакционная смесь содержала 10 мкл формамида, 1 мкл ампликона, 1 мкл маркера длин фрагментов SD-450.

**Результаты исследования и их обсуждение**  
**Отбор сортообразцов гороха посевного с**  
**контрастным содержанием белка в семенах**

Количество белка в семенах гороха мировой коллекции ВИР колеблется от 18 до 35% [Ашиев (Ashiev), 2014; Пономарева и др. (Ponomareva et al.), 2017]. Значительное влияние на содержание белка и его качество оказывают особенности генотипа сорта, а также гидротермические факторы, уровень инсоляции

и продолжительность светового дня в зоне возделывания [Воскобулова и др. (Voskobulova et al.), 2019]. В большинстве регионов нашей страны величина данного показателя составляет 22-26% [Шелепина (Shelepina), 2016]. Так, например, в условиях Центральной России при детерминированном максимуме урожайности зерна в нем содержится 22-23% протеина [Зеленов и др. (Zelenov et al.), 2016].

Таблица 2. Характеристика сортообразцов гороха, выделившихся в 2022-2023 гг. наибольшим (n=12) и наименьшим (n=10) содержанием протеина в семенах (различия достоверны при p<0,05)  
 Table 2. Characterization of pea cultivars distinguished in 2022-2023 by the highest (n=12) and lowest (n=10) protein content in seeds (differences are reliable at p<0.05)

№/название сортообразца No./variety name	№ в коллекции ВИР No. in VIR collection	Название сортообразца Variety name	Происхождение Origin	Содержание белка в семенах Protein content in seeds
<b>высокобелковые сортообразцы</b>				
6-20	К-9774	Степняк Stepnjak	Россия, Самарская обл. Russia, Samara region.	23,5±0,4%
10-20	К-10224	Асс 339	Сирия   Syria	23,5±0,4%
2-30	К-1768	Штамбовый Мальцева Shtambovy Maltseva	Россия, Воронежская обл. Russia, Voronezh region.	23,7±0,3%
12-30	К-9407	Аванс Avans	Россия, Алтайский край Russia, Altai region	23,7±0,4%
13-30	К-9432	Эффектный Effektny	Украина Ukraine	26,1±0,5%
14-30	К-9457	3698/04	Россия, Тюменская обл. Russia, Tyumen region.	24,1±0,4%
15-30	К-9524	–	Франция   France	25,0±0,3%
17-30	К-8788	Орел-326 Orel-326	Россия, Орловская обл. Russia, Orel region.	23,7±0,4%
19-30	К-8793	Орел-332 Orel-332	Россия, Орловская обл. Russia, Orel region.	23,7±0,3%
21-30	К-9383	Северянин Severjanin	Россия, Кировская обл. Russia, Kirov obl.	23,8±0,4%
Батрак Batrak	–	Батрак Batrak	Россия, Орловская обл. Russia, Orel region.	23,5±0,3%
Cobri	–	Cobri	Нидерланды   Netherlands	25,5±0,5%
<b>низкобелковые сортообразцы</b>				
1-20	К-8613	Wav 27101	Великобритания Great Britain	18,0±0,3%
5-20	К-8972	SH 91-6-5-1-1-5	Болгария   Bulgaria	19,0±0,2%
9-20	К-9950	Chlorotica	Швеция   Sweden	18,0±0,3%
Фрегат Fregat	К-9772	Фрегат Fregat	Россия, Татарстан Russia, Tatarstan	19,5±0,3%
5-30	К-3196	–	Турция   Turkey	19,7±0,3%
8-30	К-7503	76-16-16	США   USA	19,4±0,2%
10-30	К-8902	Ascona	Нидерланды   Netherlands	18,7±0,4%
23-30	К-9392	L-29201282	Австралия   Australia	18,6±0,3%
24-30	К-9393	L-29201428	Австралия   Australia	18,6±0,2%
29-30	К-9479	Peragis Beisaaterbse	Германия   Germany	19,7±0,3%

Среди исследованных нами в 2022-2023 гг. в условиях Республики Башкортостан 150 сортообразцов гороха посевного различного эколого-географического происхождения были отобраны сорта и линии с наибольшим ( $23,5 \pm 0,4$  –  $26,1 \pm 0,5\%$ ) и наименьшим ( $18,0 \pm 0,3$  –  $19,7 \pm 0,3\%$ ) содержанием белка в семенах, которые по данному показателю достоверно отличались от остальных сортообразцов, а также выделялись по селекционно-ценным признакам (скороспелостью, высокими показателями элементов семенной продуктивности, устойчивостью к полеганию, неосыпаемостью семян) или их комплексу (табл. 2).

Сортообразцы, представленные в таблице 2, были отобраны нами для SSR-анализа.

**Поиск ассоциаций полиморфизма микросателлитных локусов с содержанием протеина в семенах сортов и линий гороха**

Нами был проведен фрагментный анализ сортов и линий гороха, представленных в таблице 4, который позволил определить точные размеры аллелей. На основе полученных нами данных по полиморфизму микросателлитных локусов у сортообразцов гороха посевного, контрастно различающихся по способности к биосинтезу и накоплению запасных белков семян, был произведен расчет частот выявленных аллелей. Сравнительный анализ распределения частот аллелей локуса AD174 показал, что в группе высокобелковых сортообразцов несколько чаще встречались аллели 88 bp (33,3%) и 94 bp (25,0%), в группе низкобелковых – аллели 86 bp (20,0%) и 92 bp (20,0%). По локусу AA355

у сортов и линий с высоким содержанием протеина в семенах преобладали аллели 180 bp (29,2%) и 188 bp (25,0%), с низким – аллели 172 bp и 182 bp (по 20,0%). По остальным изученным нами локусам (AA200, AA285, AD147) различий в частотах встречаемости аллелей между высоко- и низкобелковыми сортообразцами выявлено не было.

Стоит отметить, что аллели 240, 244 bp локуса AA355, 82 bp локуса AD174, 194, 220, 226 bp локуса AA200, 242, 244 bp локуса AA285 и 292, 300, 312, 316 bp локуса AD147 были обнаружены только в группе сортообразцов с высоким содержанием запасных белков семян, в то время как аллели 172, 182 bp локуса AA355, 84, 90, 106, 112 bp локуса AD174, 198, 202 bp локуса AA200, 236, 238, 252 bp локуса AA285 и 288, 318 bp локуса AD147 – только в группе сортообразцов с низким содержанием запасных белков семян. Полученная информация о распределении аллелей изученных микросателлитных локусов у высоко- и низкобелковых сортов и линий гороха может служить дополнительным критерием при подборе родительских пар для гибридизации при селекции гороха на высокое содержание протеина в семенах.

Для определения степени генетического сходства/различия изученных сортообразцов гороха нами был проведен кластерный анализ методом ближайшего соседа путем вычисления матрицы нормированных евклидовых расстояний и построена дендрограмма (рис. 1).

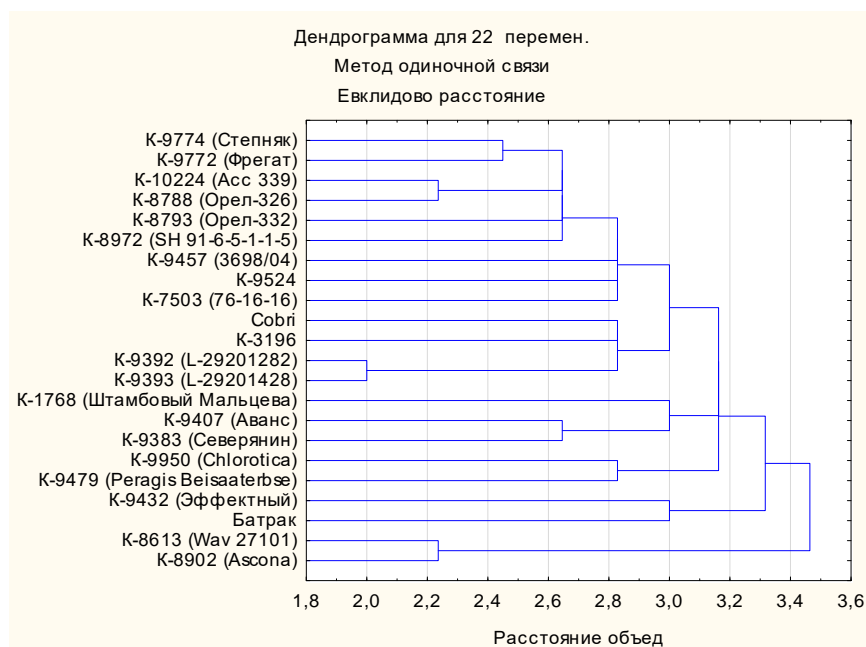


Рисунок 1. Дендрограмма генетического подобия 22 сортов и линий гороха на основе данных SSR-анализа  
Figure 1: Dendrogram of genetic similarity of 22 pea varieties and lines based on SSR analysis data

Как видно из рисунка 1, некоторые высокобелковые ((К-10224 (Асс 339) и К-8788 (Орел-326); К-1768 (Штамбовый Мальцева), К-9407 (Аванс) и К-9383 (Северянин); К-9432 (Эффектный) и Батрак)) и низкобелковые ((К-9392 (L-29201282) и К-9393 (L-29201428); К-9950 (Chlorotica) и К-9479 (Peragis

Beisaaterbse); К-8613 (Wav 27101) и К-8902 (Ascona)) сортообразцы сгруппировались в отдельные мелкие кластеры, однако четкого подразделения сортов и линий на группы с высоким и низким содержанием протеина в семенах по пяти изученным микросателлитным локусам не наблюдалось.

#### Литература

1. Ашиев А. Р. Исходный материал гороха (*Pisum Sativum* L.) и его селекционное использование в условиях Предуральской степи Республики Башкортостан : специальность 06.01.05 "Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений" : диссертация на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук – Казань, 2014. – 184 с. – EDN HQU MNZ.
2. Бобков С.В., Башкирова К.А. Изучение полиморфизма запасных белков у родителей и гибридов дикого и культурного гороха // Земледелие. 2022. № 5. С. 35-39. doi: 10.24412/0044-3913-2022-5-35-39
3. Воскобулова Н.И., Верещагина А.С., Ураскулов Р.Ш., Курилкина М.Я. Аминокислотный состав и биологическая ценность белка гороха в зависимости от приемов возделывания // Животноводство и кормопроизводство. 2019. № 102(3). С. 117-125. DOI: 10.33284/2658-3135-102-3-117
4. Давлетов Ф.А., Гайнуллина К.П. Видовой состав зернобобовых культур в условиях Предуральской степи Республики Башкортостан // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2018. № 6(74). С. 33-36. EDN YSUBSH.
5. Зеленев А.А., Задорин А.М., Уваров В.Н., Зеленев А.Н. Ген и источники для селекции гороха на повышение биоэнергетического потенциала растения и методы работы с ними // Земледелие. 2016. № 4. С. 29-33. – EDN VWBIVV.
6. Кокаева З.Г., Гостимский С.А. Оценка генетического полиморфизма сортов, линий и мутантов гороха посевного (*Pisum sativum* L.) с помощью ДНК-маркеров на основе ретротранспозонов // Сельскохозяйственная биология. 2007. Т. 42, № 3. С. 38-43. – EDN IAEQFV.
7. Корсаков Н. И., Адамова О. П., Буданова В. И. и др. Методические указания по изучению коллекции зерновых бобовых культур / Всесоюзный научно-исследовательский институт растениеводства им. Н. И. Вавилова. – Ленинград : ВИР, 1975. - 59 с.
8. Пономарева С. В., Селехов В. В. Влияние погодных условий на урожай и качество сортов гороха // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2017. – № 1(56). – С. 20-27. – EDN XVRTXB.
9. Федин М.А. Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. Москва, 1985. - 263 с.
10. Шелепина Н.В. Использование продуктов переработки зерна гороха в пищевых технологиях // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2016. Т. 6, № 4. С. 110-118. doi: 10.21285/2227-2925-2016-6-4-110-118
11. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Analytical Biochemistry. 1976. V. 72(1-2). P. 248-254. doi: 10.1006/abio.1976.9999
12. Chen M., Lin J.Y., Hur J., Pelletier J.M., Baden R., Pellegrini M., Haradab J.J., Goldberg R.B. Seed genome hypomethylated regions are enriched in transcription factor genes // Proceedings of the National Academy of Sciences of USA. 2018. V. 115(35) E8315-E8322. doi: 10.1073/pnas.1811017115
13. Lalanne D., Malabarba J., Ly Vu J., Hundertmark M., Delahaie J., Leprince O., Buitink J., Verdier J. *Medicago ABI3* splicing isoforms regulate the expression of different gene clusters to orchestrate seed maturation // Plants. 2021. V. 10(8) 1710. doi: 10.3390/plants10081710
14. Loridon K., McPhee K.E., Morin J., Dubreuil P., Pilet-Nayel M.L., Aubert G., Rameau C., Baranger A., Coyne C.J., Lejeune-Henault I., Burtin C. Microsatellite marker polymorphism and mapping in pea (*Pisum sativum* L.) // Theoretical and Applied Genetics. 2005. V. 111. P. 1022-1031. doi: 10.1007/s00122-005-0014-3
15. Malovichko Y.V., Shtark O.Y., Vasileva E.N., Nizhnikov A.A., Antonets K.S. Transcriptomic insights into mechanisms of early seed maturation in the garden pea (*Pisum sativum* L.) // Cells. 2020. V. 9(3). 779. doi: 10.3390/cells9030779
16. Naito S., Hirai M.Y., Chino M., Komeda Y. Expression of a soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) seed storage protein gene in transgenic *Arabidopsis thaliana* and its response to nutritional stress and to abscisic acid mutations // Plant Physiology. 1994. V. 104(2). P. 497-503. doi: 10.1104/pp.104.2.497
17. Warkentin T., Kolba N., Tako E. Low phytate peas (*Pisum sativum* L.) improve iron status, gut microbiome, and brush border membrane functionality

*in vivo (Gallus gallus)* // *Nutrients*. 2020. V. 12(9). 2563. doi: 10.3390/nu12092563

### References

- Ashiev A. R. Initial material of pea (*Pisum Sativum* L.) and its breeding use in the conditions of the Urals steppe of the Republic of Bashkortostan : specialty 06.01.05 "Breeding and seed production of agricultural plants" : dissertation for the degree of candidate of agricultural sciences / Arkady Rusekovich Ashiev. Dissertation for the degree of Candidate of Agricultural Sciences - Kazan, 2014. - 184 c. - EDN HQUMNZ.
- Bobkov S.V., Bashkirova K.A. Study of polymorphism of storage proteins in parents and hybrids of wild and cultivated peas. *Agriculture*. 2022. No. 5. P. 35-39. doi: 10.24412/0044-3913-2022-5-35-39
- Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 1976. V. 72(1-2). P. 248-254. doi: 10.1006/abio.1976.9999
- Chen M., Lin J.Y., Hur J., Pelletier J.M., Baden R., Pellegrini M., Haradab J.J., Goldberg R.B. Seed genome hypomethylated regions are enriched in transcription factor genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*. 2018. V. 115(35) E8315-E8322. doi: 10.1073/pnas.1811017115
- Davletov F.A., Gainullina K.P. Species composition of leguminous crops in the conditions of the Cis-Ural steppe of the Republic of Bashkortostan. *News of the Orenburg State Agrarian University*. 2018. No. 6(74). P.33-36.
- Fedin M.A. Methodology of state variety testing of agricultural crops. Moscow, 1985. - 263 c.
- Kokaeva Z. G., S. A. Gostimsky Assessment of genetic polymorphism of varieties, lines and mutants of common pea (*Pisum sativum* L.) using DNA markers based on retrotransposons. *Agricultural biology*. 2007. V. 42, No. 3. P. 38-43.
- Korsakov N. I., Adamova O. I. P., Budanova V. I. et al. Methodical instructions for studying the collection of grain legumes / All-Union Research Institute of Plant Industry named after N.I. Vavilov. - Leningrad : VIR, 1975. - 59 c.
- Lalanne D., Malabarba J., Ly Vu J., Hundertmark M., Delahaie J., Leprince O., Buitink J., Verdier J. *Medicago ABI3* splicing isoforms regulate the expression of different gene clusters to orchestrate seed maturation. *Plants*. 2021. V. 10(8) 1710. doi: 10.3390/plants10081710
- Loridon K., McPhee K.E., Morin J., Dubreuil P., Pilet-Nayel M.L., Aubert G., Rameau C., Baranger A., Coyne C.J., Lejeune-Henault I., Burstin C. Microsatellite marker polymorphism and mapping in pea (*Pisum sativum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2005. V. 111. P. 1022-1031. doi: 10.1007/s00122-005-0014-3
- Malovichko Y.V., Shtark O.Y., Vasileva E.N., Nizhnikov A.A., Antonets K.S. Transcriptomic insights into mechanisms of early seed maturation in the garden pea (*Pisum sativum* L.). *Cells*. 2020. V. 9(3). 779. doi: 10.3390/cells9030779
- Naito S., Hirai M.Y., Chino M., Komeda Y. Expression of a soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) seed storage protein gene in transgenic *Arabidopsis thaliana* and its response to nutritional stress and to abscisic acid mutations. *Plant Physiology*. 1994. V. 104(2). P. 497-503. doi: 10.1104/pp.104.2.497
- Ponomareva S. V., Selekhov V. V. Influence of weather conditions on yield and quality of pea varieties // *Agrarnaya nauka Euro-North-East*. - 2017. - № 1(56). - C. 20-27. - EDN XVRTXB.
- Shelepina N.V. Use of pea grain processing products in food technologies. *News of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2016. V. 6, No. 4. P. 110-118. doi: 10.21285/2227-2925-2016-6-4-110-118
- Translated with DeepL.com (free version)
- Voskobulova N.I., Vereshchagina A.S., Uraskulov R.Sh., Kurilkina M.Ya. Amino acid composition and biological value of pea protein depending on cultivation methods. *Animal Husbandry and Feed Production*. 2019. No. 102(3). P. 117-125. DOI: 10.33284/2658-3135-102-3-117
- Warkentin T., Kolba N., Tako E. Low phytate peas (*Pisum sativum* L.) improve iron status, gut microbiome, and brush border membrane functionality *in vivo (Gallus gallus)*. *Nutrients*. 2020. V. 12(9). 2563. doi: 10.3390/nu12092563
- Zelenov A. A., Zadorin A. M., Uvarov V. N., Zelenov A. N. Genes and sources for breeding peas to increase the bioenergy potential of the plant and methods of working with them. *Agriculture*. 2016. No. 4. P. 29-33.