

# ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ И ИХ ДИКИХ РОДИЧЕЙ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ И ПРИКЛАДНЫХ ПРОБЛЕМ

Научная статья  
УДК 635.65:631.523  
DOI: 10.30901/2227-8834-2023-1-194-204



## К вопросу о ранней диагностике низкого содержания танинов в семенах бобов конских (*Vicia faba* L.)

С. М. Мамедова, В. С. Попов, А. Е. Соловьева, И. Н. Перчук, Л. Л. Малышев, М. А. Вишнякова

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

Автор, ответственный за переписку: Сейдаханым Мирмагомедовна Мамедова, s.mamedova@vir.nw.ru

**Актуальность.** Использование бобов конских (*Vicia faba* L.) в качестве кормового и пищевого растения сдерживается наличием антипитательных веществ, в частности содержанием фенольных соединений – танинов – в семенной оболочке. Наличие в генофонде низкотаниновых или безтаниновых форм позволяет вести селекцию на этот признак. Цель работы – осуществить биохимическую валидацию известного морфологического маркера низкого содержания танинов, а также выявить связи между рядом фенотипических признаков, характеризующихся накоплением фенольных соединений – танинов и антоцианов, с их концентрацией для использования в качестве дополнительных морфологических маркеров низкого содержания этих антипитательных веществ в семенах бобов.

**Материалы и методы.** У 10 образцов бобов из коллекции ВИР с разной окраской семенной кожуры анализировали связи наличия/отсутствия антоциана на проростках, пигментации на лепестках, темных экстрафлоральных нектарников на прилистниках с содержанием танинов и антоцианов. Растения выращивали и изучали в Ленинградской обл. в 2020–2021 гг. Танины в семенах определяли методом Левенталя. Антоцианы определяли в зеленой массе растений спектрофотометрическим методом.

**Результаты и заключение.** Выявлены разные комбинации изученных морфологических признаков, связанных с окраской изучаемых органов. Определена высокая положительная корреляция между содержанием антоцианов и танинов ( $r = 0,79$ ), а также прямая связь высокого значения этих признаков с наличием темного экстрафлорального нектарника на прилистниках и антоциана на проростках. Отсутствие антоцианового окрашивания проростков и отсутствие темноокрашенного экстрафлорального нектарника на прилистниках могут служить маркерами низкотаниновых генотипов на ранних стадиях развития растений. Светлая, долго не темнеющая окраска семенной кожуры также может быть свидетельством низкого содержания танинов.

**Ключевые слова:** антоциан в проростках, фенольные соединения, белоцветковость, экстрафлоральные нектарники, морфологические маркеры

**Благодарности:** статья выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации по договору № 075-15-2020-911 от 16.11.2020 о предоставлении гранта в виде субсидии из федерального бюджета Российской Федерации. Грант предоставлен для государственной поддержки создания и развития Научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

**Для цитирования:** Мамедова С.М., Попов В.С., Соловьева А.Е., Перчук И.Н., Малышев Л.Л., Вишнякова М.А. К вопросу о ранней диагностике низкого содержания танинов в семенах бобов конских (*Vicia faba* L.). *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2023;184(1):194-204. DOI: 10.30901/2227-8834-2023-1-194-204

# IDENTIFICATION OF THE DIVERSITY OF CULTIVATED PLANTS AND THEIR WILD RELATIVES FOR SOLVING FUNDAMENTAL AND APPLIED PROBLEMS

Original article

DOI: 10.30901/2227-8834-2023-1-194-204

## Concerning the issue of early diagnostics of low tannin content in faba bean seeds (*Vicia faba* L.)

Seidkhanym M. Mamedova, Vitaliy S. Popov, Alla E. Solovyeva,  
Irina N. Perchuk, Leonid L. Malyshev, Margarita A. Vishnyakova

*N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia*

**Corresponding author:** Seidkhanym M. Mamedova, [s.mamedova@vir.nw.ru](mailto:s.mamedova@vir.nw.ru)

**Background.** The use of faba bean (*Vicia faba* L.) as a feed and food plant is hindered by the presence of antinutritional substances and in particular phenolic compounds – tannins – in the seed coat. The existence of low-tannin or zero-tannin forms in the faba bean gene pool allows breeders to promote this trait. The aim of this work was to carry out biochemical validation of a known morphological marker of low tannin content and identify relationships of some phenotypic traits characterized by accumulation of phenolic compounds (tannins and anthocyanins) with their concentration for use as additional morphological markers of the low content of these antinutrients in bean seeds.

**Materials and methods.** Associations of the presence/absence of anthocyanin in seedlings, pigmentation on petals, and dark extrafloral nectaries on stipules with the content of tannins and anthocyanins were analyzed in 10 faba bean accessions with different seed coat colors from the VIR collection. The plants were grown and evaluated in Leningrad Province in 2020–2021. Tannins in seeds were assessed using Leventhal's method. Anthocyanins were analyzed in the green biomass of plants using a spectrophotometric method.

**Results and conclusion.** Different combinations of the studied morphological features associated with the coloration of the studied organs were found. A high positive correlation between the levels of anthocyanins and tannins ( $r = 0.79$ ) was identified as well as a direct connection of the high value of these traits with the presence of a dark extrafloral nectary on stipules and anthocyanin in seedlings. The absence of anthocyanin staining on seedlings and the absence of dark-colored extrafloral nectaries on stipules can serve as markers of low-tannin genotypes in the early stages of plant development. The light seed coat color that does not darken for a long time may also be the evidence of low tannin content.

**Keywords:** anthocyanins in seedlings, phenolic compounds, white flowers, extrafloral nectaries, morphological markers

**Acknowledgements:** The article was made with the support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation under Agreement No. 075-15-2020-911 dated November 16, 2020 on providing a grant in the form of subsidies from the Federal Budget of the Russian Federation. The grant was provided as governmental support for the establishment and development of the World-Class Scientific Center 'Agrotechnologies for the Future'.

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

**For citation:** Mamedova S.M., Popov V.S., Solovyeva A.E., Perchuk I.N., Malyshev L.L., Vishnyakova M.A. Concerning the issue of early diagnostics of low tannin content in faba bean seeds (*Vicia faba* L.). *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2023;184(1):194-204. DOI: 10.30901/2227-8834-2023-1-194-204

## Введение

Бобы конские (*Vicia faba* L.) – одно из наиболее древних domesticiрованных растений. В Средневековье бобы были доминирующей зернобобовой культурой в Европе, а также имели большое значение в питании людей в Японии и Китае (Muratova, 1931; Biddle, 2017). Постепенно роль культуры в Европе начала снижаться из-за предпочтения интродуцированных фасоли и сои, а в нашей стране – вследствие расширения посевов кукурузы, позднее сои и нута.

Между тем кормовую и пищевую ценность этой культуры трудно переоценить. Семена бобов содержат 27–35% белка и конкурируют с горохом и фасолью (Smirnova-Ikonnikova, 1962; Duranti, 2006), зеленая масса содержит сырого белка в 1,5–2 раза больше, чем кукуруза – 13,8–21,5% (Jenson, 1962). Фактор, усложняющий использование и селекцию бобов – антипитательные вещества, в частности конденсированные танины, локализованные в семенной оболочке. Танины – широко распространенные в растениях полифенольные соединения (флавоноиды), известные своими свойствами связывать белки, что снижает усвояемость последних и, как следствие, сказывается при кормлении, особенно моногастровых животных (Woyengo, Nyachoti, 2012). Таким образом, создание сортов, в которых содержание танинов сведено к минимуму, – ключевая задача селекции этой культуры.

Известно о значительной изменчивости содержания танинов в семенах бобов (Bond, Smith, 1989). Установлено, что низкое содержание этих полифенольных соединений у *V. faba* определяется аллелями *zt-1* и *zt-2*, (*zero-tannin*) (Picard, 1976), которые обладают плейотропным эффектом, в частности определяют отсутствие черной пигментации на околоцветнике (Cabrega, Martin, 1986; Duc et al., 1999). Данная мутация легко распознается в полевых условиях, служит морфологическим маркером низкотаниновых форм, но встречается редко, а данные о ее биохимической валидации практически отсутствуют.

Полагают, что с низким содержанием танинов в семенах бобов могут быть связаны и другие морфологические признаки растения, такие как темное пятно на прилистниках и окраска семенной оболочки (Weins, 2016).

Темное пятно на прилистниках – экстрафлоральный нектарник, свойственный некоторым представителям трибы *Viciaeae*, в том числе *V. faba*. Он представлен железистыми волосками и несколькими подлежащими слоями тонкостенных паренхимных секреторных клеток (Heneidak, Hasson, 2007). Его темную окраску объясняют наличием флавоноидных пигментов в железистых волосках у высокотаниновых форм и отсутствием таковой у безтаниновых (Weins, 2016). Однако убедительных доказательств этого нет. Нет также сведений об изменчивости и частоте встречаемости признака наличия/отсутствия антоциановой окраски на проростках бобов, которая отмечена в ряде исследований (Goyal, 1965; Metz et al., 1992) и которая по мере роста растения остается на стебле. В исследовании Н. F. Croft с соавторами утверждается, что антоциановая окраска проростков также может свидетельствовать о наличии танинов в семенах и характерна для форм с их высоким содержанием (Croft et al., 1980). Таким образом, можно предполагать, что плейотропное действие аллелей *zt-1* и *zt-2* распространяется и на наличие темных пятен (экстрафлоральных нектарников) на прилистниках

бобов, и на антоциановое окрашивание проростков и стебля.

Известно, что танины и антоцианы – вещества фенольного цикла – флавоноиды. Оба соединения продуцируются родственными ветвями флавоноидного пути и используют одни и те же метаболические промежуточные продукты (Gutierrez, Torres, 2019). Однако закономерности взаимосвязи наличия этих продуктов в органах растений бобов конских, а также корреляции их содержания с другими признаками не были объектом специальных исследований.

Цель данной работы – биохимическая валидация морфологического маркера – низкого содержания танинов у белоцветковых образцов, а также выявление связей между наличием пигментации на лепестках, окраской семенной кожуры и рубчика семени, наличием темного пятна (экстрафлорального нектарника) на прилистниках, антоциана на проростках и содержанием танинов в семенах у бобов конских с целью поисков возможных дополнительных морфологических маркеров низкого содержания этих антипитательных веществ в семенах бобов.

## Материалы и методы

В исследование взяты 10 образцов бобов из коллекции ВИР разных лет поступления в коллекцию. Эти образцы отобраны по результатам предварительного биохимического анализа. Образцы преимущественно светлосемянные, относятся к восточно-европейской группе и к разновидностям *major*, *minor*, *equina*, по классификации В. С. Муратовой (Muratova, 1931). Растения выращивали и изучали на экспериментальных полях научно-производственной базы «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» (г. Пушкин, Санкт-Петербург) по методике, принятой в ВИР (Vishnyakova et al., 2018).

При создании выборки отбирали низкотаниновые образцы, придерживаясь принципа их максимального разнообразия по комплексу изучаемых признаков: сочетание окраски семенной кожуры, окраски рубчика и наличия/отсутствия пигментации на лепестках и темноокрашенных экстрафлоральных нектарников, а также размера и формы семян.

Светлая окраска семян варьировала от почти белой, до оттенков кремово-бежевой и светло-коричневой окраски. По используемой некогда в ВИР «шкале хромотаксии» П. А. Саккардо (Mishchenko, 1915), эти образцы можно отнести к категории *albus* – белый (с грязноватым оттенком или примесями других оттенков) и *lateritius* (кремовый, бежевый, светло-коричневый). Категорию *lateritius* мы подразделили на две группы: светлые (кремовые и бежевые) и темные (оттенки светло-коричневого).

У сорта 'Русские черные' окраска семенной кожуры по этой шкале отнесена к категории *pigum* – черная.

Для ранней диагностики присутствия антоцианов было проведено проращивание семян в чашках Петри, в стерильных условиях.

Растения выращивали в лаборатории оздоровления растений в световой комнате при температуре 28°C и при круглосуточном освещении до появления проростков. Далее проростки выращивали в отсутствии света. Для оценки окраски проростков семена после проращивания на свету следует содержать в темноте, так как у этилированных растений контраст фиолетового цве-

та и его отсутствия более выражен вследствие отсутствия зеленой окраски фона (Goyal, 1965).

Массу 1000 семян определяли по традиционной методике (Vishnyakova et al., 2018).

Муку из бобов получали методом прямого помола цельных семян с оболочками. Содержание сухого вещества муки определяли методом, основанном на взвешивании части измельченной средней пробы до и после высушивания при температуре 100–102°C до постоянной массы (Ermakov, Arasimovich, 1987). Все полученные значения танинов и дубильных веществ пересчитывали на сухое вещество.

Танины в семенах определяли методом Левентала перманганатом калия в кислой среде в присутствии индикатора и катализатора индигосульфокислоты. Так как перманганат калия частично окисляет и низкомолекулярные фенольные соединения, применяли осаждение дубильных веществ желатином, основанным на легкой окисляемости последних как веществ фенольной природы (Razarenova, Zhokhova, 2011).

Антоцианы определяли в зеленой массе растений спектрофотометрическим методом. Для этого с потенциально пигментсодержащих участков растения (на что указывает розоватый оттенок) брали навеску в 1 г и растирали в ступке до однородной массы. Экстракцию пигментов проводили 1-процентным раствором соляной кислоты. Оптическую плотность экстрактов измеряли спектрофотометрически при длине волны 510 нм. Содержание суммы антоцианов рассчитывали в мг/100 г в пересчете на цианидин-3,5-дигликозид (Wu et al., 2006).

Содержание белка в семенах определяли по методу Кьельдаля: навеску муки минерализовали при нагревании с концентрированной серной кислотой при 420°C в течение полутора часов. Определение азота проводили используя полуавтоматический анализатор Kjeltec 2200 (FOSS, Швеция) с последующим титрованием 0,1 н раствором серной кислоты. Общее содержание белка рассчитывали по азоту с коэффициентом 6,25 (для бобовых культур) (Ermakov, Arasimovich, 1987).

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием пакета программ Statistica 12.0: она включала в себя дисперсионный и корреляционный анализ, а также построение уравнения линейной регрессии между содержанием антоцианов и танинов.

## Результаты

Проведен анализ вариантов сочетания в одном генотипе признаков: 1) цветка – отсутствия/наличия черной пигментации на крыльях венчика; 2) семян – размера, окраски семенной кожуры и рубчика; 3) прилистников – наличия/отсутствия темного пятна; 4) проростков – наличия/отсутствия антоциана, а также содержания танинов и белка в семенах, антоцианов в зеленой массе.

Первые два признака легли в основу подбора растительного материала по принципу максимального разнообразия коллекционных образцов (табл. 1).

Выявлены следующие комбинации изученных морфологических признаков, связанных с окраской изучаемых органов:

1. Светлые семена (albus) – светлый рубчик – белые цветки без пигментации – зеленые проростки без антоциана – прилистники без темного пятна.

2. Кремово-бежевые семена (lateritius-светлый) – светлый рубчик – белые цветки без пигментации – зеленые проростки без антоциана – прилистники с темным пятном.

3. Кремово-бежевые семена (lateritius-светлый) – светлый рубчик – белые цветки без пигментации – проростки с антоцианом – прилистники без темного пятна.

4. Бежево-коричневые семена (lateritius-темный) – темный рубчик, цветки с пигментным пятном на лепестках – проростки с антоцианом – прилистники с темным пятном.

5. Темная семенная кожура (nigrum) – темный рубчик – цветки с черным пятном на лепестках – проростки с антоцианом – темное пятно на прилистниках (см. табл. 1).

Следует отметить, что в пределах каждого образца была обнаружена только одна комбинация.

Определено содержание антоцианов в зеленой массе и танинов в семенах изученных образцов (см. табл. 1).

У пяти образцов, относящихся по шкале хромотаксии к категории albus, содержание антоцианов (6,84–8,89 мг/100 г) достоверно ниже почти в два раза, чем у образцов из категорий lateritius (14,02–23,85 мг/100 г) и nigrum – 21,99 мг/100 г. Аналогичная изменчивость характерна для содержания танинов: в группе albus самые низкие значения – 0,10–0,35%, в группе lateritius достоверно выше – 0,32–0,78%, как и у образца с семенной кожурой категории nigrum – 0,60%. Достоверно более высокая средняя концентрация танинов выявлена для групп: с пигментацией на лепестках; с антоциановыми проростками; с наличием пигментных пятен на прилистниках (экстрафлоральных нектарников) (табл. 2) и у образцов с темным рубчиком (см. табл. 1; табл. 2).

Выявлены высокая положительная корреляция между содержанием антоцианов и танинов ( $r = 0,79$ , коэффициент линейной регрессии  $b = 0,032$   $p = 0,05$ ) (рисунки), высокая положительная корреляция между концентрацией антоциана и белка ( $r = 0,76$ ) и средняя положительная связь между белком и танинами ( $r = 0,60$ ). Между содержанием танинов и размером семян связь очень слабая.

Обнаружена связь между наличием темного пятна на прилистниках и присутствием антоцианов у проростков. Сопряженное наличие пигментации на лепестках, проростках и прилистниках характерно для двух категорий по шкале хромотаксии: nigrum и для подгруппы категории lateritius, которую мы обозначили как «темная» (темно-бежевая или разные оттенки коричневого). В подгруппе «светлая» категории lateritius такого согласованного сочетания не наблюдается (см. табл. 1). Для нее характерны отсутствие пигментации на лепестках и светлый рубчик, но наличие антоциана на проростках и пигментации на прилистниках – варьирующие признаки. Между тем отсутствие пигментации на лепестках и отсутствие темного пятна на прилистниках всегда идут в связке. Исключение составляет только сорт 'Top-less', у которого отсутствие пигментации на лепестках сочетается с наличием пигментированного нектарника. Следует отметить особенность этого сорта: околоцветник лишен пигментации в начале цветения, но со временем на нем появляются пигментные пятна, которые, сливаясь, дают почти типичную для большинства бобов черную пигментацию лепестков.

**Таблица 1.** Окраска семенной кожуры, рубчика, наличие пигментации на лепестках, на прилистниках, проростках, концентрация танинов и антоцианов в образцах бобов из коллекции ВИР

**Table 1.** Coloration of the seed coat and hilum, presence of pigmentation on the petals, stipules and seedlings, and concentration of tannins and anthocyanins in faba bean accessions from the VIR collection

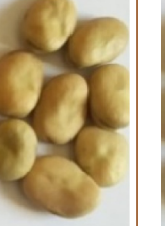
№ по каталогу ВИР	Название сорта	Окраска семенной кожуры	Внешний вид семян	Окраска рубчика	Наличие пигментации на лепестках	Наличие темного пятна на прилистнике	Наличие антоцианов на проростках	Антоцианы* в зеленной массе, мг/100г	Танины* в семенах, %	Белок в семенах*, %	Размер семян (масса 1000 семян), г
2671	Находка	albus		светлый	нет	нет	нет	7,78	0,10	31,8	550,0
2581	ЛБ-71	albus		светлый	нет	нет	нет	7,62	0,17	31,1	630,0
1801	Konservenmeister	albus		светлый	нет	нет	нет	6,84	0,26	32	1071,4
2286	Toret	albus		светлый	нет	нет	нет	8,89	0,34	31,8	800,0
2580	Анна	albus		светлый	нет	нет	нет	7,25	0,35	31,5	1250,0

Таблица 1. Окончание  
Table 1. The end

№ по каталогу ВИР	Название сорта	Окраска семенной кожурь	Внешний вид семян	Окраска рубчика	Наличие пигмента- ции на лепестках	Наличие темного пятна на прилист- нике	Наличие антоциа- нов на пропостках	Антоцианы* в эс- леной массе, мг/100г	Танины* в семе- нах, %	Белок в семенах*, %	Размер семян (мас- са 1000 семян), г
2112	Top-less	lateritius		светлый	нет	есть	нет	14,02	0,32	31,6	588,8
2582	Широкко	lateritius		светлый	нет	нет	есть	14,1	0,69	30,9	770,0
2396	Исток	lateritius		темный	есть	есть	есть	14,21	0,76	33,5	600,0
2264	Вировские овощные	lateritius		темный	есть	есть	есть	23,85	0,78	33,7	1250,0
1375	Русские черные	niger		темный	есть	есть	есть	21,99	0,60	34,4	1010,0

Примечание: \* – на сухое вещество  
Note: \* – on dry weight basis

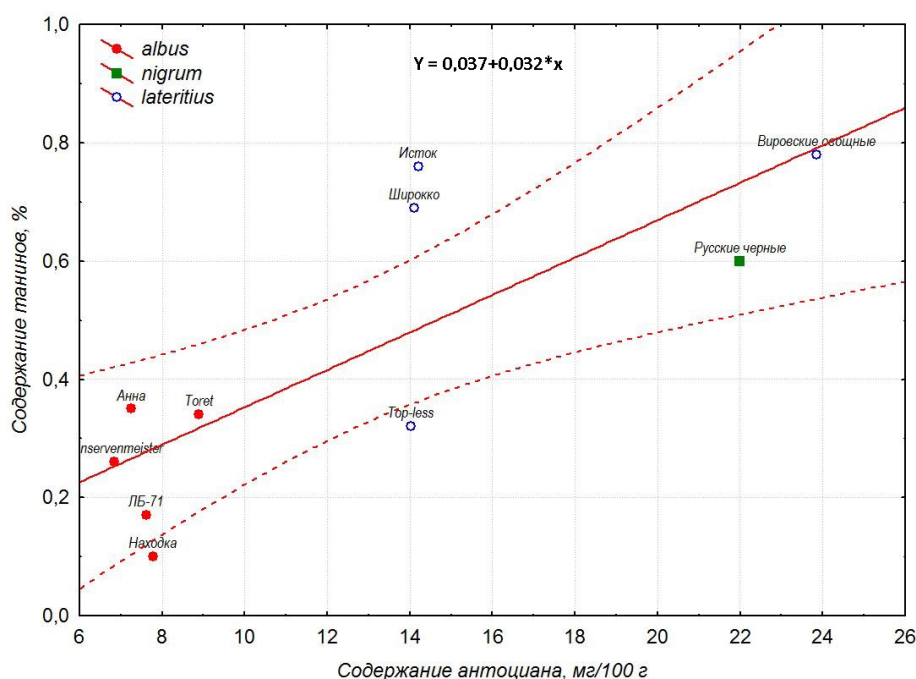
**Таблица 2. Среднее содержание танинов и достоверность различий в образцах бобов конских с разными морфологическими характеристиками**

**Table 2. Mean tannin content and statistical significance of differences in faba bean accessions with different morphological characteristics**

Состояние признака	$\bar{X}$	$S_x$	$F$	$p$
<b>Окраска семенной кожуры</b>				
Albus	0,244	0,048	7,04	0,021
Nigrum	0,600			
Lateritius	0,638	0,108		
<b>Окраска рубчика</b>				
Светлый	0,319	0,071	11,28	0,010
Темный	0,713	0,057		
<b>Наличие пигментации на лепестках</b>				
Отсутствует	0,319	0,071	11,28	0,010
Присутствует	0,713	0,057		
<b>Наличие темного пятна на прилистнике</b>				
Отсутствует	0,319	0,071	11,28	0,010
Присутствует	0,713	0,057		
<b>Наличие антоциана на проростках</b>				
Отсутствует	0,244	0,048	15,94	0,004
Присутствует	0,630	0,084		

Примечание:  $\bar{X}$  – среднее содержание танинов; %;  $S_x$  – ошибка среднего;  $F$  – критерий Фишера;  $p$  – доверительная вероятность (уровень принятия нулевой гипотезы – 0,05)

Note:  $\bar{X}$  – mean tannin content, %;  $S_x$  – error of the mean;  $F$  –  $F$ -test;  $p$  – confidence probability (the acceptance level of the null hypothesis is 0.05)



**Рисунок. Регрессионная зависимость содержания танинов в семенах от содержания антоциана в вегетативной массе бобов конских**

**Figure. Regression dependence of tannin content in seeds on the content of anthocyanin in the vegetative biomass of faba beans**

## Обсуждение

Морфологические маркеры (выявляемые на уровне фенотипа организма) в основной своей массе – мутантные рецессивные формы различных генов или их аллелей (чаще всего это точечные мутации на уровне отдельных нуклеотидов). Значительный интерес для генетико-селекционных исследований имеют мутантные линии с генами, проявляющимися на ранних стадиях развития и находящимися в одной группе сцепления. Многие из этих маркеров генетически сцеплены с важными хозяйственно значимыми и агрономическими признаками, что позволяет значительно удешевить и упростить получение новых генетически и селекционно значимых форм (Chesnokolov et al., 2020).

Исследованное нами наличие антоцианового окрашивания у проростков, которое потом присутствует и на стебле растущего растения, – самое раннее проявление признака, положительно коррелирующего с содержанием танинов в семенах бобов ( $r = 0,79$ ).

По литературным данным, фенотипическими характеристиками – возможными морфологическими маркерами низкотаниновых форм – предлагают считать окрашенные экстрафлоральные нектарники и окраску семенной оболочки (Weins, 2016).

Установленные корреляции, а также сопряженность абсолютных значений биохимических признаков с наличием темного пятна на прилистниках и наличие антоциана на проростках позволяют считать последние морфологическими маркерами высокой концентрации танинов в семенах бобов.

Окраска семенной кожуры и окраска рубчика также могут быть маркерами количества танинов в растении, так как семена категории *albus* и светлой подгруппы категории *lateritius* со светлым рубчиком, как показано в нашей работе, имеют низкое содержание танинов. При подборе исходного материала для селекции низкотаниновых сортов эти признаки могут быть изначальными ориентирами.

Проанализированные признаки, рекомендуемые в качестве маркеров, ценны тем, что они видны на самых ранних этапах развития (антоцианы) или чуть позднее (нектарник), но в любом случае до цветения, когда визуализируется известный маркер низкого содержания танинов – отсутствие пигментации лепестков.

Выявленные маркеры отражают особенности синтеза фенольных соединений, к которым относятся танины и антоцианы, у разных генотипов.

Мутации *zt-1* и *zt-2* прерывают биосинтез антоцианов на разных стадиях, что, по данным ряда исследователей, приводит к практически полному отсутствию танинов в семенной оболочке и белоцветковому фенотипу (Bond, 1976; Cabrera, Martin, 1986). В нашем исследовании не отмечено образцов с полным отсутствием танинов – их небольшое количество присутствует даже у светлосемянных форм из категории *albus*. В литературе имеются сведения, что у идентифицированных генотипов *zt-1* и *zt-2* также зафиксировано небольшое количество танинов (Oomah et al., 2011).

Нужно заметить, что окраска семенной кожуры бобов определяется целым набором флавоноидов, а именно флавоноидных агликонов. Мирицетин преобладает над кверцетином в бежевых, черных, коричневых, зеленых, красных и фиолетовых семенах. Белые семена со-

держат только следовые количества кверцетина и кемпферола и являются единственными, в которых нет проантоцианидинов, определяющих последующее потемнение семенной оболочки у бобовых. Антоцианы присутствуют только в фиолетовых семенах и, очевидно, определяют эту окраску. Темные цвета черных, коричневых и красных семян, по-видимому, являются результатом неидентифицированных полимеров (Nozzolillo et al., 1989). Последнее обстоятельство, то есть возможное наличие других пигментов-фитомеланинов помимо антоцианов в темной (*pigum*) семенной кожуре бобов, возможно, и объясняет факт невысокого содержания танинов в образцах ‘Русские черные’ по сравнению с сортом ‘Вировские овощные’ с темно-бежевой окраской (*lateritius* темный) (0,60 vs 0,78 танины и 21,99 vs 23,85 антоцианы).

Отсутствие темной окраски в железистых волосках экстрафлоральных нектарников низкотаниновых образцов бобов, как показано в исследовании D. J. Weins (2016), не влияет на качество нектара и на аттракцию тех видов насекомых, которые им питаются.

Таким образом, сочетание светлой семенной оболочки, отсутствия пигментации на лепестках, антоцианов на проростках, пигментированного прилистникового нектарника и низкого содержания фенольных соединений – танинов и антоцианов в растениях бобов конских свидетельствует о возможности использовать перечисленные фенотипические характеристики в качестве морфологических маркеров низкотаниновых генотипов.

Отмеченное нами отсутствие связи между размером семян и содержанием танинов согласуется с данными ученых A. Cabrega и A. Martin (1986). И крупносемянные, и мелкосемянные образцы отличаются большой изменчивостью по содержанию танинов.

Проанализированные нами признаки позволяют распознавать низкотаниновые генотипы уже на стадии проростков по отсутствию в них антоцианов, по отсутствию темноокрашенного экстрафлорального нектарника на прилистниках при формировании 3-4-го узлов. Кроме того, наличие связи светлой оболочки семян и низкого содержания в таких семенах танинов дает основание считать, что этот признак также может быть изначальным ориентиром для подбора низкотаниновых генотипов в течение довольно длительного времени после уборки при адекватном хранении семян. Хорошо известно, что семена многих зернобобовых (бобы, фасоль, чечевица, вигна) темнеют со временем. Полагают, что происходят полимеризация фенольных соединений в нерастворимые высокомолекулярные коричневые соединения и окислительная дегградация некоторых из них (Marquardt et al., 1978; Nozzolillo, de Beza, 1984). Скорость этого процесса очень зависима от таких факторов хранения, как высокая температура (выше 25°C), высокая влажность семян (выше 8%), высокая освещенность (Nasar-Abbasa et al., 2009). При хранении при 5°C в темноте и влажности семян ниже 12% послеуборочная окраска оболочки сохраняется даже через 12 месяцев. Сохранению светлой окраски способствует и низкая концентрация кислорода в хранилищах (Black, Brouwer, 1998). Однако при наличии в оболочке минимального количества танинов семена не темнеют. Поэтому в качестве исходного материала для селекции низкотаниновых генотипов бобов можно ориентироваться на образцы со светлой (особенно *albus*) окраской семян.



### Заключение

Впервые в коллекции бобов конских ВИР осуществлена попытка биохимической валидации морфологического маркера низкого содержания танинов в семенах – отсутствия пигментации на лепестках, а также поиска связей между концентрацией этих антипитательных веществ и другими проявлениями присутствия фенольных соединений в органах растения. Выявлена высокая положительная корреляция между содержанием танинов и антоцианов. На основании этого предполагается, что морфологическими маркерами низкого содержания танинов в растениях бобов могут также служить: отсутствие антоцианов в проростках, отсутствие темноокрашенного экстрафлорального нектарника на прилистниках, светлая окраска семенной кожуры. У растений с такими фенотипами содержание танинов в 2-3 раза ниже, чем при альтернативном проявлении этих признаков. Ценность подобного рода маркеров – в проявлении признака до цветения, а именно на стадии проростков или развития 3-4-го узлов. Это позволит вести поиск нужного материала в поле, к примеру, как компонента скрещивания. Тем не менее при соответствующем хранении семян (низкие значения температуры, влажности семян, освещенности, концентрации кислорода в хранилищах) их светлая оболочка в течение длительного времени тоже может служить признаком низкотаниновых генотипов.

### References/Литература

- Biddle A.J. Peas and beans. Wallingford: CAB International; 2017.
- Black R.G., Brouwer J.B. Effect of storage conditions over 12 months on the 437 colour of faba beans (*Vicia faba* L.). In: *Opportunities for High Quality, Healthy and Added 438 Value Crops to Meet European Demands. Proceedings of the 3rd European Conference on Grain Legumes; Valladolid, Spain; 14–19 Nov. 1998*. Valladolid; 1998. p.112-123.
- Bond D.A. *In vitro* digestibility of the testa in tannin-free field beans (*Vicia faba* L.). *The Journal of Agricultural Science*. 1976;86(3):561-566. DOI: 10.1017/S0021859600061104
- Bond D.A., Smith D.B. Possibilities for the reduction of antinutritional factors in grain legumes by breeding. In: *Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds*. Wageningen: Pudoc; 1989. p.285-296.
- Cabrera A., Martin A. Variation in tannin content in *Vicia faba* L. *The Journal of Agricultural Science*. 1986;106(2):377-382. DOI: 10.1017/S0021859600063978
- Chesnokov Y.V., Kosolapov I.V., Savtchenko I.V. Morphological genetic markers in plants. *Russian Journal of Genetics*. 2020;56(12):1406-1415. DOI: 10.1134/S1022795420120042
- Crofts H.J., Evans L.E., McVetty P.B. Inheritance, characterization and selection of tannin-free fababeans (*Vicia faba* L.). *Canadian Journal of Plant Science*. 1980;60(4):1135-1140. DOI: 10.4141/cjps80-165
- Duc G., Marget P., Esnault R., Le Guen J., Bastianelli D. Genetic variability for feeding value of faba bean seeds (*Vicia faba*): Comparative chemical composition of isogenics involving zero-tannin and zero-vicine genes. *The Journal of Agricultural Science*. 1999;133(2):185-196. DOI: 10.1017/S0021859699006905
- Duranti M. Grain legume proteins and nutraceutical properties. *Fitoterapia*. 2006;77(2):67-82. DOI: 10.1016/j.fitote.2005.11.008
- Ermakov A.I., Arasimovich V.V., Yarosh N.P., Peruanskiy Yu.V., Lukovnikova G.A., Ikonnikova M.I. Methods of biochemical research in plants (Metody biokhimičeskogo issledovaniya rasteniy). A.I. Ermakov (ed.). 3rd ed. Leningrad: Agropromizdat; 1987. [in Russian] (Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П., Перуанский Ю.В., Луковникова Г.А., Иконникова М.И. Методы биохимического исследования растений / под ред. А.И. Ермакова. 3-е изд. Ленинград: Агропромиздат; 1987).
- Goyal R.D. Breeding behaviour of anthocyanin pigmentation in flower and stem of broad beans (*Vicia faba* L.). *Science and Culture*. 1965;31:147-148.
- Gutierrez N., Torres A.M. Characterization and diagnostic marker for *TtG1* regulating tannin and anthocyanin biosynthesis in faba bean. *Scientific Reports*. 2019;9(1):16174. DOI: 10.1038/s41598-019-52575-x
- Heneidak S., Hassan A.E. Morphological and anatomical studies of floral and extrafloral nectaries in some *Vicia* taxa (Fabaceae). *International Journal of Botany*. 2007;3(4):329-341. DOI: 10.3923/ijb.2007.329.341
- Jenson A. Fodder beans – a valuable forage crop. In: *Fodder Beans Abroad: Collection of Translations*. N.A. Maysuryan (ed.). Moscow: Selkhozizdat; 1962. p.9-13. [in Russian] (Енсон А. Кормовые бобы – ценная кормовая культура. В кн.: *Кормовые бобы за рубежом: Сборник переводов* / под ред. Н.А. Майсурына. Москва: Сельхозиздат; 1962. С.9-13).
- Marquardt R.R., Ward A.T., Evans L.E. Comparative properties of tannin-free and tannin-containing cultivars of faba beans (*Vicia faba*). *Canadian Journal of Plant Science*. 1978;473(58):753-760. DOI: 10.4141/cjps78-111
- Metz P.L.J., Buiel A.A.M., van Norel A. Rate and inheritance of cross-fertilization in faba bean (*Vicia faba* L.). *Euphytica*. 1992;66:127-133. DOI: 10.1007/BF00023517
- Mishchenko P.I. Scale of colors. A manual for botanists and zoologists in scientific and applied research. In: P.A. Saccardo. *Chromotaxia seu nomenclator colorum polyglottus additis speciminibus coloratis ad usum botanicorum et zoologorum. Proceedings of the Bureau of Applied Botany of the Scientific Committee of the Ministry of Agriculture*. 1915; Suppl 15. [in Russian] (Мищенко П.И. Шкала цветов. Пособие для ботаников и зоологов при научных и научно-прикладных работах. В кн.: Саккардо П.А. *Chromotaxia seu nomenclator colorum polyglottus additis speciminibus coloratis ad usum botanicorum et zoologorum. Труды Бюро по прикладной ботанике Ученого комитета Министерства земледелия*. 1915; Приложение 15).
- Muratova V.S., Common beans (*Vicia faba* L.). *Bulletin of Applied Botany, of Genetics and Plant Breeding*. 1931; Suppl 50:1-298.
- Nasar-Abbas S.M., Siddique K.H.M., Plummera J.A., Whitee P.F., Harrisf D., Dods K. et al. Faba bean (*Vicia faba* L.) seeds darken rapidly and phenolic content falls when stored at higher temperature, moisture and light intensity. *LWT – Food Science and Technology*. 2009;42(10):1703-1711. DOI: 10.1016/j.lwt.2009.05.013
- Nozzolillo C., de Bezada M. Browning of lentil seeds, concomitant loss of viability, and the possible role of soluble tannins in both phenomena. *Canadian Journal of Plant Science*. 1984;64(4):815-824. DOI: 10.4141/cjps84-113
- Nozzolillo C., Ricciardi L., Lattanzio V. Flavonoid constituents of seed coats of *Vicia faba* (Fabaceae) in relation to genetic control of their color. *Canadian Journal of Botany*. 1989;67(5):1600-1604. DOI: 10.1139/b89-200
- Oomah B.D., Luc G., Leprelle C., Drover J.C.G., Harrison J.E., Olson M. Phenolics, phytic acid, and phytase in

- Canadian-grown low-tannin baba bean (*Vicia faba* L.) genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011;59(8):3763-3771. DOI: 10.1021/jf200338b
- Picard J. Aperçu sur l'héritage du caractère absence de tanins dans les graines de féverole (*Vicia faba* L.). *Annales de l'Amélioration des Plantes*. 1976;26:101-106. [in French]
- Razarenova K.N., Zhokhova E.V. Comparative assessment of the content of tannins in some species of the genus *Geranium* L. in the flora of the Northwest (Sравnitelnaya otsenka soderzhaniya dubilnykh veshchestv v nekotorykh vidakh roda *Geranium* L. flory Severo-Zapada). *Chemistry of Plant Raw Materials*. 2011;(4):187-192. [in Russian] (Разарёнова К.Н., Жохова Е.В. Сравнительная оценка содержания дубильных веществ в некоторых видах рода *Geranium* L. флоры Северо-Запада. *Химия растительного сырья*. 2011;(4):187-192).
- Smirnova-Ikonnikova M. I. Protein content and quality in grain legume crops (Soderzhaniye i kachestvo belka u zernovykh bobovykh kultur). *Vestnik selskokhozyaystvennoy nauki = Bulletin of Agricultural Science*. 1962;(7):40-52. [in Russian] (Смирнова-Иконникова М.И. Содержание и качество белка у зерновых бобовых культур. *Вестник сельскохозяйственной науки*. 1962;(7):40-52).
- Vishnyakova M.A., Seferova I.V., Buravtseva T.V., Burlayeva M.O., Semenova E.V., Filipenko G.I., Aleksandrova T.G., Egorova G.P., Yankov I.I., Bulyntsev S.V., Gerasimova T.V., Drugova E.V. VIR global collection of grain legume crop genetic resources: replenishment, conservation and studying: (guidelines). 2nd ed. M.A. Vishnyakova (ed.). St. Petersburg: VIR; 2018. [in Russian] (Вишнякова М.А., Сеферова И.В., Буравцева Т.В., Бурляева М.О., Семёнова Е.В., Филипенко Г.И., Александрова Т.Г., Егорова Г.П., Янков И.И., Булынтцев С.В., Герасимова Т.В., Другова Е.В. Коллекция мировых генетических ресурсов зерновых бобовых ВИР: пополнение, сохранение и изучение: (методические указания). 2-е изд. / под ред. М.А. Вишняковой. Санкт-Петербург: ВИР; 2018). DOI: 10.30901/978-5-905954-79-5
- Weins D.J. The influence of tannins on the extrafloral nectar characteristics and insect mutualists in *Vicia faba* [dissertation]. Saskatoon: University of Saskatchewan; 2016.
- Woyengo T.A., Nyachoti C.M. Ileal digestibility of amino acids for zero-tannin faba bean (*Vicia faba* L.) fed to broiler chicks. *Poultry Science*. 2012;91(2):439-443. DOI:10.3382/ps.2011-01678
- Wu X., Beecher G.R., Holden J.M., Haytowitz D.B., Gebhardt S.E., Prior R.L. Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006;54(11):4069-4075. DOI: 10.1021/jf060300l

#### Информация об авторах

**Сейдханым Мирмагомедовна Мамедова**, ведущий специалист, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, s.mamedova@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2238-4714>

**Виталий Сергеевич Попов**, кандидат технических наук, старший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, porovitaly@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3274-7662>

**Алла Евгеньевна Соловьёва**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, alsol64@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6201-4294>

**Ирина Николаевна Перчук**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, i.perchuk@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6568-5248>

**Леонид Леонидович Малышев**, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, l.malyshev@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8595-1336>

**Маргарита Афанасьевна Вишнякова**, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, m.vishnyakova@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2808-7745>

#### Information about the authors

**Seidkhanym M. Mamedova**, Leading Specialist, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, s.mamedova@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2238-4714>

**Vitaly S. Popov**, Cand. Sci. (Engineering), Senior Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, popovitaly@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3274-7662>

**Alla E. Solovyeva**, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, alsol64@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6201-4294>

**Irina N. Perchuk**, Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, i.perchuk@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6568-5248>

**Leonid L. Malyshev**, Cand. Sci. (Agriculture), Leading Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, l.malyshev@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8595-1336>

**Margarita A. Vishnyakova**, Dr. Sci. (Biology), Chief Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, m.vishnyakova@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2808-7745>

**Вклад авторов:** Мамедова С.М. – идея, постановка эксперимента, участие в биохимическом анализе, анализ литературы по теме исследования, подготовка черного варианта рукописи; Попов В.С. – постановка биохимического эксперимента по определению танинов в семенах; Соловьева А.Е. – постановка биохимического эксперимента по определению антоцианов в вегетативной массе; Перчук И.Н. – определение белка в семенах; Малышев Л.Л. – статистическая обработка полученных данных; Вишнякова М.А. – концепция, анализ литературы по теме исследования, анализ экспериментальных данных, подготовка чистового варианта рукописи, обсуждения и выводов, подготовка рукописи после рецензирования.

**Contribution of the authors:** Mamedova S.M. – idea, experimental design, participation in biochemical analysis, analysis of the literature on the research topic, preparation of a draft version of the manuscript; Popov V.S. – biochemical experiment to determine tannins in seeds; Solovyeva A.E. – biochemical experiment to determine anthocyanins in the vegetative biomass; Perchuk I.N. – determination of protein in seeds; Malyshev L.L. – statistical processing of the data obtained; Vishnyakova M.A. – concept, analysis of the literature on the research topic, analysis of experimental data, preparation of the final version of the manuscript, discussion and conclusions, preparation of the manuscript after peer review.

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interests:** the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 15.08.2022; одобрена после рецензирования 10.10.2022; принята к публикации 02.03.2023.  
The article was submitted on 15.08.2022; approved after reviewing on 10.10.2022; accepted for publication on 02.03.2023.