

## ИНТРОГРЕССИЯ ДОМИНАНТНОГО ГЕНА УСТОЙЧИВОСТИ К МУЧНИСТОЙ РОСЕ ИЗ ГЕНОМА ДИКОГО ВИДА ГОРОХА *PISUM FULVUM*

С.В. БОБКОВ, кандидат сельскохозяйственных наук  
Т.Н. СЕЛИХОВА, кандидат биологических наук

ФГБНУ «ФНЦ ЗЕРНОБОБОВЫХ И КРУПЯНЫХ КУЛЬТУР»  
E-mail: svbobkov@gmail.com

В условиях тепличного бокса выделен образец дикого вида гороха *P. fulvum* и-609881 коллекции ФИЦ ВИГРП им Н.И. Вавилова, полностью устойчивый к возбудителю мучнистой росы *Erysiphe pisi* DC, и получены межвидовые гибриды Стабил × и-609881. В популяциях межвидовых гибридов в результате возвратных скрещиваний выделена линия BC<sub>2</sub>F<sub>3</sub> Стабил × и-609881, устойчивая к возбудителю мучнистой росы. Следующая генерация гибридов гороха получена в результате скрещивания растений указанной линии с восприимчивыми растениями сорта Темп. Все гибриды F<sub>1</sub> характеризовались устойчивостью к возбудителю мучнистой росы. Анализ расщепления в гибридной популяции F<sub>2</sub> по признаку устойчивости к мучнистой росе выявил 66 устойчивых растений и 20 пораженных, что соответствовало ожидаемому для моногенного наследования расщеплению 3 : 1 ( $\chi_{05}^2$  тест,  $p=0,7087438$ ). Изучение популяций гибридов F<sub>1</sub> и F<sub>2</sub> показало, что устойчивость к мучнистой росе является результатом интрогрессии генетического фактора устойчивости из генома образца *P. fulvum* и-609881 и кодируется доминантным аллелем одного гена.

**Ключевые слова:** горох, *P. fulvum*, межвидовой гибрид, мучнистая роса, ген устойчивости.

Мучнистая роса гороха (*Erysiphe pisi* DC, *Ascomycetes*) является специализированной формой *E. pisi* f. sp. *pisi* (Hammarl) Voerema, адаптированной к инфицированию только гороха [1]. Мучнистая роса является опасной болезнью, приводящей к снижению урожайности на 25-50% и заметному ухудшению качество зерна [2]. Мучнистая роса распространена во всем мире, особенно активно проявляется в климатических условиях, характеризующихся высокой температурой днем и низкой ночью [3]. Использование в сельскохозяйственном производстве сортов гороха, устойчивых к мучнистой росе, является наиболее эффективной, экономически и экологически обоснованной стратегией.

Впервые устойчивые к мучнистой росе источники были выделены из перуанских образцов гороха [4]. Устойчивость к мучнистой росе определялась рецессивным геном *er1*, который нашел широкое применение в селекции гороха. Если ген *er1* обеспечивает почти полную устойчивость к заболеванию, то второй рецессивный ген *er2* проявляет защитное действие только на листьях [5]. Использование гена *er2* проблематично вследствие того, что его протекторное действие проявляется в определенных условиях произрастания растений, а его экспрессия зависит от температуры и возраста листьев [6]. Оба гена локализованы в различных группах сцепления [7, 8]. Третий доминантный ген *Er3*, обеспечивающий устойчивость к возбудителю мучнистой росы, был идентифицирован в образце дикого вида гороха *P. fulvum* и в результате интрогрессии стал доступен для использования в селекционном процессе [3]. Устойчивость к мучнистой росе у гена *er1* основана на барьере для проникновения, созданном в результате потери функции у фактора восприимчивости – кодируемом этим геном белка PsMLO [9], а у генов *er2* и *Er3* – на эффекте гиперчувствительности после проникновения патогена в клетки [3]. Для гена *Er3* идентифицированы два RAPD маркера, локализованные в 2 альтернативных фазах на расстоянии от 0 до 2,8 см. Они были конвертированы в SCAR-маркеры, позволяющие с

высокой надежностью проводить маркерную селекцию [10]. Проведенные исследования выявили независимое моногенное наследование генов *er1*, *er2* и *Er3* [11].

Для пополнения генофонда культурного гороха новыми генами хозяйственно-ценных признаков в нашей лаборатории получена серия межвидовых гибридов гороха *P. sativum* × *P. fulvum* [12, 13, 14]. Исследование формообразовательного процесса в условиях инфекционного фона тепличного бокса в беккроссируемой популяции межвидовых гибридов Стабил × и-609881 позволило выделить линии гибридов BC<sub>1-2</sub>F<sub>3-5</sub>, устойчивые к возбудителю мучнистой росы [15]. Цель настоящего исследований состояла в изучении наследования признака устойчивости к мучнистой росе, полученного от образца *P. fulvum* и-609881, для использования в фундаментальных исследованиях и селекции гороха.

### Материалы и методы

Межвидовые гибриды гороха для интрогрессии устойчивости к мучнистой росе получены в комбинации Стабил × и-609881. Родительский сорт Стабил поражен мучнистой росой, а образец *P. fulvum* и-609881 коллекции ФИЦ ВИГРР им Н.И. Вавилова был полностью устойчивым к патогену. Межвидовые гибриды в течение нескольких лет выращивали в тепличном боксе, где проводили возвратные скрещивания с родительским сортом Стабил. Растения выращивали в условиях высокой температуры в летнее время и низких температур – в осенний период вегетации. В процессе вегетации растений наблюдались значительные перепады температуры днем и ночью, что создавало благоприятные условия для поражения растений мучнистой росой. В этих условиях в результате возвратных скрещиваний и отбора устойчивых растений была получена устойчивая к мучнистой росе линия гороха BC<sub>2</sub>F<sub>3</sub> Стабил × и-609881 с долей генома *P. fulvum* 12,5%.

Устойчивые к мучнистой росе растения указанной линии гороха безлисточкового морфотипа (*af*) скрещивали с восприимчивыми к патогену растениями листочкового (*Af*) сорта Темп. Гибриды F<sub>1</sub> и F<sub>2</sub> выращивали в тепличном боксе и анализировали по признакам устойчивости к мучнистой росе и морфологии листа. Соответствие фактического и ожидаемого расщепления гибридов F<sub>2</sub> оценивали по критерию  $\chi^2$  с использованием компьютерной программы EXCEL 2010.

### Результаты и обсуждение

В тепличном боксе культурные и дикие растения гороха выращивали в течение 10 лет. Каждый год растения гороха поражались мучнистой росой, создавая локальный инфекционный фон. Мучнистой росой поражались как культурный, так и дикий горох, включая образцы *P. fulvum* (рис. а). Однако среди образцов дикого вида гороха был обнаружен образец и-609881 с абсолютной устойчивостью к возбудителю мучнистой росы (рис. б). Для получения межвидовых гибридов растения образца и-609881 скрещивали с растениями сорта гороха Стабил. Формообразовательный процесс изучали в беккроссируемых популяциях межвидовых гибридов гороха в условиях локального инфекционного фона тепличного бокса.

Отбор растений межвидовых гибридов гороха на инфекционном фоне в течение нескольких генераций позволил выделить линию BC<sub>2</sub>F<sub>3</sub> Стабил × и-609881, растения которой были полностью устойчивыми к патогену *Erysiphe pisi* DC. В результате гибридизации устойчивых растений линии безлисточкового морфотипа (*af*) BC<sub>2</sub>F<sub>3</sub> Стабил × И609881 с растениями листочкового (*Af*) восприимчивого сорта гороха Темп все полученные гибриды F<sub>1</sub> отличались устойчивостью к мучнистой росе, что указывало на доминантный характер признака устойчивости.

Для определения числа генов, кодирующих устойчивость к возбудителю мучнистой росы, проведено изучение расщепления по признаку устойчивости в гибридной популяции F<sub>2</sub>. В опыте анализировали 86 гибридов F<sub>2</sub>. Для оценки качества расщепляющейся популяции, провели тестовый анализ расщепления по признаку «тип листа» с известным моногенным наследованием (*af*). Фактическое расщепление по контрольному признаку «тип

листа» соответствовало ожидаемому 3 : 1 ( $\chi_{05}^2$  тест,  $p=0,5335653$ ), что свидетельствовало о высоком качестве расщепляющейся популяции (таблица).



а б  
Рис. Образцы гороха *P. fulvum*: а) очаги поражения мучнистой росой листьев растений образца *P. fulvum* к-2523, б) устойчивый к мучнистой росе образец и-608881

Таблица

**Расщепление гибридов F<sub>2</sub> по устойчивости к мучнистой росе и типу листа**

Устойчивость к мучнистой росе	Устойчивые	Восприимчивые	Всего	$\chi_{05}^2$ тест, p
Фактическое расщепление	66	20	86	0,7087438
Ожидаемое расщепление (3 : 1)	64,5	21,5		
Морфотип растений	Листочковый ( $\sum AfAf, Afaf$ )	Безлисточковый ( <i>afaf</i> )	Всего	$\chi_{05}^2$ тест, p
Фактическое расщепление	62	24	86	0,5335653
Ожидаемой расщепление (3 : 1)	64,5	21,5		

В результате исследования расщепления по признаку устойчивости к возбудителю мучнистой росы выявлено 66 устойчивых растений и 20 пораженных, что соответствовало ожидаемому для моногенного наследования расщеплению 3 : 1 ( $\chi_{05}^2$  тест,  $p=0,7087438$ ). Анализ популяций гибридов F<sub>1</sub> и F<sub>2</sub> показал, что устойчивость к мучнистой росе является результатом интрогрессии доминантного аллеля одного локуса из генома образца *P. fulvum* и-609881 коллекции ФИЦ ВИГРР им Н.И. Вавилова. Для решения вопроса, определяется ли устойчивость ранее описанным геном *Er3* [3, 10] или это новый ген (аллель), необходимо провести тест на аллелизм путём скрещивания наших линий с устойчивыми к мучнистой росе линиями, отобранными в лаборатории Диего Рубиалеса (Institute of Sustainable Agriculture, Madrid, Spain). По меньшей мере, образцы дикого вида гороха могут иметь разные аллели гена *Er3*, обеспечивающие различную степень устойчивости к возбудителю мучнистой росы.

В отличие от гена *er1*, который является результатом мутации, приведшей к синтезу aberrантного белка - фактора восприимчивости PsMLO, создающего барьер для

проникновения патогена [9], доминантный характер нового гена открывает новые перспективы для исследования альтернативных молекулярных механизмов устойчивости растений к болезням.

Длительное использование гена *er1* для предотвращения поражения растений гороха мучнистой росой может привести к преодолению устойчивости вследствие эволюции патогена. Идентификация новых генов устойчивости повышает конкурентные преимущества гороха перед возбудителем мучнистой росы в процессе перманентной коэволюции геномов. В перспективе пирамидирование различных генов позволит повысить устойчивость растений гороха к возбудителю мучнистой росы (*Erysiphe pisi* DC) и выиграть время у эволюции патогена, необходимое для преодоления устойчивости. Известно, что для описанных ранее генов устойчивости к мучнистой росе *er1*, *er2* и *Er3* разработаны генетические маркеры [10], позволяющие легко с помощью маркерной селекции совмещать указанные гены в одном геноме.

### Литература

1. Ondřej M., Dostálová R., Hýbl M., Odstrčilová L., Tyllér R., Trojan R. Utilization of afile types of pea (*Pisum sativum* L.) resistant to powdery mildew (*Erysiphe pisi* DC.) in the breeding programs // Plant Soil and Environment. – 2003. – V. 49 (11). – P. 481-485.
2. Warkentin, T.D., Rashid K.Y., Xue A.G. Fungicidal control of powdery mildew in field pea // Canadian Journal of Plant Science. – 1996. – V. 76. – P. 933-935.
3. Fondevilla S., Torres A.M., Moreno M.T., Rubiales D. Identification of a new gene for resistance to powdery mildew in *Pisum fulvum*, a wild relative of pea // Breeding Science. – 2007. – V. 57. – P. 181-184.
4. Harland S.C. Inheritance of immunity to mildew in Peruvian forms of *Pisum sativum* // Heredity. – 1948. – V. 2. – P. 263-269.
5. Tiwari K.R., Panner G.A., Warkentin T.D., Rashid K.Y. Pathogenic variation in *Erysiphe pisi* the causal organism of powdery mildew in pea // Can. J. Plant Pathol. – 1997. – V. 19. – P. 267-271.
6. Fondevilla S., Carver T.L.W., Moreno M.T., Rubiales D. Macroscopic and histological characterisation of genes *er1* and *er2* for powdery mildew resistance in pea // European Journal of Plant Pathology. – 2006. – V. 115. – P. 309-321.
7. Timmerman G.M., Frew T.J., Weeden N.F. Linkage analysis of *er1*, a recessive *Pisum sativum* gene for resistance to powdery mildew fungus (*Erysiphe pisi* D.C.) // Theoretical and Applied Genetics. - 1994. - V. 88. - P. 1050-1055.
8. Katoch V., Sharma S., Pathania S., Banayal D. K., Sharma S. K., Rathour R. Molecular mapping of pea powdery mildew resistance gene *er2* to pea linkage group III // Mol. Breeding. - 2010. - V. 25. - P. 229-237.
9. Pavan S., Schiavulli A., Appiano M., Marcotrigiano A.R., Cillo F., Visser R.G.F., Bai Y., Lotti C., Ricciardi L. Pea powdery mildew *er1* resistance is associated to loss-of-function mutations at a MLO homologous locus // Theoretical Applied Genetics. – 2011. – V. 123. – P. 1425-1431.
10. Fondevilla S., Rubiales D., Moreno M.T., Torres A.M. Identification and validation of RAPD and SCAR markers linked to the gene *Er3* conferring resistance to *Erysiphe pisi* DC in pea // Molecular Breeding. – 2008. – V. 22. – P. 193-200.
11. Fondevilla S., Cubero J.I., Rubiales D. Confirmation that the *Er3* gene, conferring resistance to *Erysiphe pisi* in pea, is a different gene from *er1* and *er2* genes // Plant Breed. - 2011. - V. 130. - P. 281-282.
12. Бобков С.В., Лазарева Т.Н. Компонентный состав электрофоретических спектров запасных белков межвидовых гибридов гороха // Генетика. - 2012. - Т. 48. - № 1. - С. 56-61.
13. Бобков С.В., Селихова Т.Н. Получение межвидовых гибридов для интрогрессивной селекции гороха // Экологическая генетика. - 2015. - Т. XIII. - № 3. - 2015. - С. 40-49.
14. Bobkov S.V., Selikhova T.N. Obtaining interspecific hybrids for introgressive pea breeding // Russian Journal of Genetics: Applied Research. - 2017. - Vol. 7. - № 2. - P. 145-152.
15. Бобков С.В., Селихова Т.Н., Бычков И.А. Хозяйственно-ценные признаки образцов дикого вида гороха *Pisum fulvum* // Зернобобовые и крупяные культуры. - 2016. - № 4 (20). - С. 41-46.

## INTROGRESSION OF A DOMINANT GENE CONFERRING RESISTANCE TO POWDERY MILDEW FROM GENOME OF PEA WILD SPECIES *PISUM FULVUM*

S.V. Bobkov, T.N. Selikhova

FSBSI «FEDERAL SCIENTIFIC CENTER OF LEGUMES AND GROAT CROPS»

E-mail: svbobkov@gmail.com

**Abstract:** Accession of wild pea species *P. fulvum* i-609881 (collection of the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources) was tested in greenhouse as completely resistant to powdery mildew (*Erysiphe pisi* DC). Interspecific hybrids were obtained as a result of its cross with variety *Stabil*. Interspecific hybrids BC<sub>2</sub>F<sub>3</sub> *Стабил* × i-609881, homozygous for powdery mildew resistance, were crossed with plants of susceptible variety *Temp*. All hybrids F<sub>1</sub> were resistant to

*Erysiphe pisi* DC. Analysis of plant segregation on resistance to powdery mildew pathogen in hybrid population  $F_2$  revealed 66 resistant and 20 susceptible from total 86 plants. This segregation was fitted to expected ratio 3: 1 for monogenic inheritance ( $\chi_05^2$  test,  $p=0.7087438$ ). Study of hybrid populations  $F_1$  and  $F_2$  proved introgression of resistance from genome of *P. fulvum* accession i-609881 which was determined by a dominant allele of a single gene.

**Keywords:** pea, *P. fulvum*, interspecific hybrid, powdery mildew, resistant gene.

**DOI:** 10.24411/2309-348X-2018-11045

**УДК** 635.652./654:581.19

## СКРИНИНГ КОЛЛЕКЦИИ ОВОЩНОЙ ФАСОЛИ ПО БИОХИМИЧЕСКИМ ПРИЗНАКАМ БОБОВ В ФАЗУ «ЛОПАТКИ»

**О.Н. БЕЗУГЛАЯ**, кандидат сельскохозяйственных наук  
**Л.Н. КОБЫЗЕВА**, доктор сельскохозяйственных наук  
**О.Ю. ДЕРЕБИЗОВА, Н.К. ИЛЬЧЕНКО,**  
**Л.И. РЕЛИНА**, кандидат биологических наук

ИНСТИТУТ РАСТЕНИЕВОДСТВА имени В.Я. ЮРЬЕВА НААН, УКРАИНА  
E-mail: ncpgru@gmail.com

Проведен скрининг 49 коллекционных образцов фасоли Национального центра генетических ресурсов Украины, происхождением из 12 европейских стран, которые отличаются по гидротермическому режиму. Анализ биохимических признаков качества технически зрелых бобов (содержание сухого вещества, редуцирующих моносахаридов, сахарозы, аскорбиновой кислоты) позволил выделить источники, которые рекомендуется использовать в качестве исходного материала при создании высококачественных сортов овощной фасоли. Четыре образца были выделены по комплексу признаков. Высокое содержание сухого вещества в технически зрелых бобах в комплексе с высоким содержанием сахарозы имели украинский сорт Росилка и молдавский Эпиранто. Высокое содержание сухого вещества и водорастворимых углеводов (редуцирующие моносахариды и сахароза) было у российского сорта Дарина. Высокое содержание сахарозы и аскорбиновой кислоты имел российский сорт Рашель. Выделены образцы с низким коэффициентом вариации по отдельным признакам, которые рекомендуются использовать в селекционном процессе как слабо реагирующие на изменение гидротермического режима. Особого внимания заслуживают образцы происхождения из Франции, Германии, Польши, Нидерландов, России, Молдовы и Украины. Установлены взаимосвязи между содержанием аскорбиновой кислоты и редуцирующих моносахаридов (коэффициент корреляции – 0,49); между содержанием сухого вещества и водорастворимых углеводов (редуцирующие моносахариды – 0,28, сахароза – 0,31), при 5 – % уровне значимости  $r=0,27$ .

Анализ связи погодных условий с признаками качества технически зрелых бобов показал, что сильную зависимость от температуры воздуха имеют все биохимические признаки (коэффициент корреляции: сухое вещество – 0,96, редуцирующие моносахариды – 0,70, сахароза – 0,99, аскорбиновая кислота – 0,78). От суммы осадков сильная зависимость сохраняется с содержанием сахарозы (0,89). У остальных признаков зависимость слабее (содержание сухого вещества – 0,67, содержание аскорбиновой кислоты – 0,32, содержание редуцирующих моносахаридов – не наблюдается) и проявляется в комплексе с температурой воздуха.

**Ключевые слова:** фасоль овощная, сухое вещество, редуцирующие моносахариды, сахароза, аскорбиновая кислота.