



ИНДИВИДУАЛЬНАЯ РАБОТА

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ КОЛЛЕКЦИИ ГОРОХА

Выполнила:

Студентка 5 курса

Группы 8. 41295-1

Редька Татьяна Викторовна

ГОРОХ (ЛАТ. *PISUM*) — РОД ТРАВЯНИСТЫХ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА БОБОВЫЕ (*ФАВАСЕАЕ*).

Научная классификация

Домен: Эукариоты

Царство: Растения

Отдел: Цветковые

Класс: Двудольные

Порядок: Бобовоцветные

Семейство: Бобовые

Род: Горох

Род включает семь видов:

Pisum abyssinicum A. BRAUN

Pisum ensifolium

(LAPÉYR.) E. H. L. KRAUSE

Pisum fulvum SIBTH. & SM.

Pisum heterophyllum (L.) E. H. L. KRAUSE

Pisum hirsutum (L.) E. H. L. KRAUSE

Pisum pumilio (MEIKLE) GREUTER

Pisum sativum L. — Горох посевной



БОТАНИЧЕСКОЕ ОПИСАНИЕ



- ▣ *Виды рода Горох* — однолетние травы со слабыми вьющимися стеблями.
- ▣ *Листья* перистые и заканчиваются ветвистыми усиками, с помощью которых они цепляются за другие растения. Прилистники особенно велики.
- ▣ *Цветки* с венчиком мотылькового типа. Родовым отличительным признаком в цветке служит трёхрёберный столбик с желобком внизу и пучком волосков вверху.
- ▣ *Формула цветка:* $\uparrow C_{a(5)} C_{o5} A_{(5+4)+1} G_{(\underline{1})}$
- ▣ *Плод* — плоский двустворчатый боб с семенами-горошинами. Горошины обычно сферической или несколько угловатой формы.



Горох – самый распространенный из всех бобовых. Все сорта делятся на две группы: сахарные и луцильные. У сахарных - плоды на ранней стадии зрелости можно употреблять вместе со стручками (створками). У луцильных - из-за имеющегося жесткого слоя (пергаментного) эти створки несъедобны.



Горох – очень древний продукт питания, что подтверждают постоянно археологи. На Руси этот овощ использовался повседневно еще «при царе Горохе». Считался необходимой и обыденной едой вплоть до момента, когда из Голландии (17 век) был привезен новый сорт – сахарный (зеленый горошек), который надолго стал едой для дворянства, а не для простолюдинов. На сегодняшний день этот сорт считается популярным и полезным лакомством.



- В настоящее время в мировых генбанках продовольственных зерновых бобовых культур сохраняется более 900 тыс. образцов или 15% от общего числа образцов по всем культурным растениям и их диким сородичам. В Европейских генбанках хранится следующее количество образцов гороха — 47450.
- Зерновые бобовые растения имеют толстую семенную кожуру, что препятствует излишней потере влаги и поддерживает хорошую жизнеспособность во время хранения и транспортировки. Семена бобовых хорошо хранятся при низких температурах и низкой влажности и их жизнеспособность может сохраняться в течение многих столетий при идеальных условиях хранения.
- Всего в Европе насчитывается 236 генбанков, в которых хранятся коллекции зерновых бобовых культур.



Различают 3 типа коллекций культурных растений и их диких сородичей

- **Базовые коллекции** - стратегические, длительно хранящиеся обычно при температуре $> -18^{\circ}\text{C}$ при предварительном высушивании до установленной влажности. Эти коллекции служат страховочным материалом для активной и рабочей коллекций.
- **Активные коллекции** в целом поддерживаются при умеренных сроках хранения при температуре $< 4^{\circ}\text{C}$ и относительной влажности 15%. Их принципиальная роль — удовлетворение спроса на материал, поступающий из базовой коллекции. Здесь проводится работа по характеристике образцов для удовлетворения требований селекционеров или научно-исследовательских групп. Эта работа требует междисциплинарного подхода; она охватывает изучение коллекции, интегрированную в фундаментальные и прикладные научные программы.
- **Рабочие коллекции** являются краткосрочными и создаются для специфических групп пользователей (селекционеры и специализированные исследовательские группы). Неспециализированный обычный спрос из нее не удовлетворяется.



Ко-коллекции

- ▣ **(core collections)** созданы для улучшенной оценки пользовательных коллекций, которые включают только ограниченное число образцов. В ко-коллекции инкорпорирован самый широкий круг генетического разнообразия внутри вида в ограниченном числе линий. В частности, в институте Джона Иннеса в Великобритании создана ко-коллекция образцов гороха — доноров генов устойчивости к различным болезням.
- ▣ Число образцов, входящих в специализированную группу ко-коллекции, зависит от их характеристик. Например, специализированная генетическая коллекция гороха в этом институте поддерживается внутри главной коллекции и включает в себя всего 330 генетических линий, регистрируемых в качестве доноров определенных аллелей с перечнем генов гороха. Таким образом, ко-коллекции являются надежным источником специфических аллелей для генетического анализа сцепления генов, тестов на аллелизм и других исследований.



С ТОЧКИ ЗРЕНИЯ СЕЛЕКЦИОНЕРА ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ МОЖНО РАЗБИТЬ НА 3 ТИПА:

- а) Ресурсы генбанков. Этот тип коллекции имеет самое большое генетическое разнообразие, но большинство гермплазмы, особенно, дикие образцы, очень далеки от возделываемых сортов. В силу этого, селекционные программы по интрогрессии такого материала в новые сорта слишком долговременные и неохотно финансируются, однако сроки могут быть сокращены за счет углубления и расширения информации об образцах генбанков.
- б) Коллекции селекционные включают все материалы, созданные селекционером путем гибридизации и полученные из генбанков. Они хорошо изучены, включают специфические признаки и более приближены к культурному типу. Этот тип коллекции в наибольшей степени используется селекционером и требует большой работы по ее созданию и поддержанию.
- в) Культурные сорта очень легко интегрировать в селекционные программы и на их основе в короткие сроки создавать сорта с улучшенными признаками, хотя при этом в сильной степени сужается генетическое разнообразие. Этот тип материала чаще всего используется селекционерами по экономическим причинам, т. к. краткосрочные селекционные программы финансируются в первую очередь.

СХЕМА ПЕРЕДАЧИ СЕЛЕКЦИОНЕРАМ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ГОРОХА ВО ФРАНЦИИ

- На схеме приведен пример организации помощи селекционерам по использованию генетической коллекции гороха во Франции, которая в настоящее время занимает в Европе и мире ведущее место по производству и экспорту зерна гороха.
- На схеме показана роль группы селекционеров гороха (GSP), цель которой заключается в передаче научных знаний практическим селекционерам. Для этого материал берут из генбанков, изучают в течение 1—2 лет и затем выдают селекционерам достоверную информацию.



- Ежегодно пополняется генофонд Национального центра генетических ресурсов растений Украины, созданный в 1995 году при институте растениеводства им. В. Я. Юрьева в г. Харькове. В контрастных погодных условиях 1997—1999 гг. предпринят системный подход к поиску исходного материала для селекции зерновых бобовых культур на устойчивость к массовым вредителям и болезням. Изучение и оценка новых образцов из генбанка осуществляется на жестком инвазионном фоне, состоящем из 7 вредителей (гороховая тля, гороховая и фасолевая зерновка, 2 вида клубеньковых долгоносиков, гороховая плодожорка, бобовая огневка и клещ) и 8 болезней (фузариоз — 5 видов, аскохитоз и бактериоз — 2 вида). Всего оценено на устойчивость к комплексу болезней и вредителей 16000 сортов и линий гороха, сои, фасоли, чечевицы и нута из 30 стран мира.

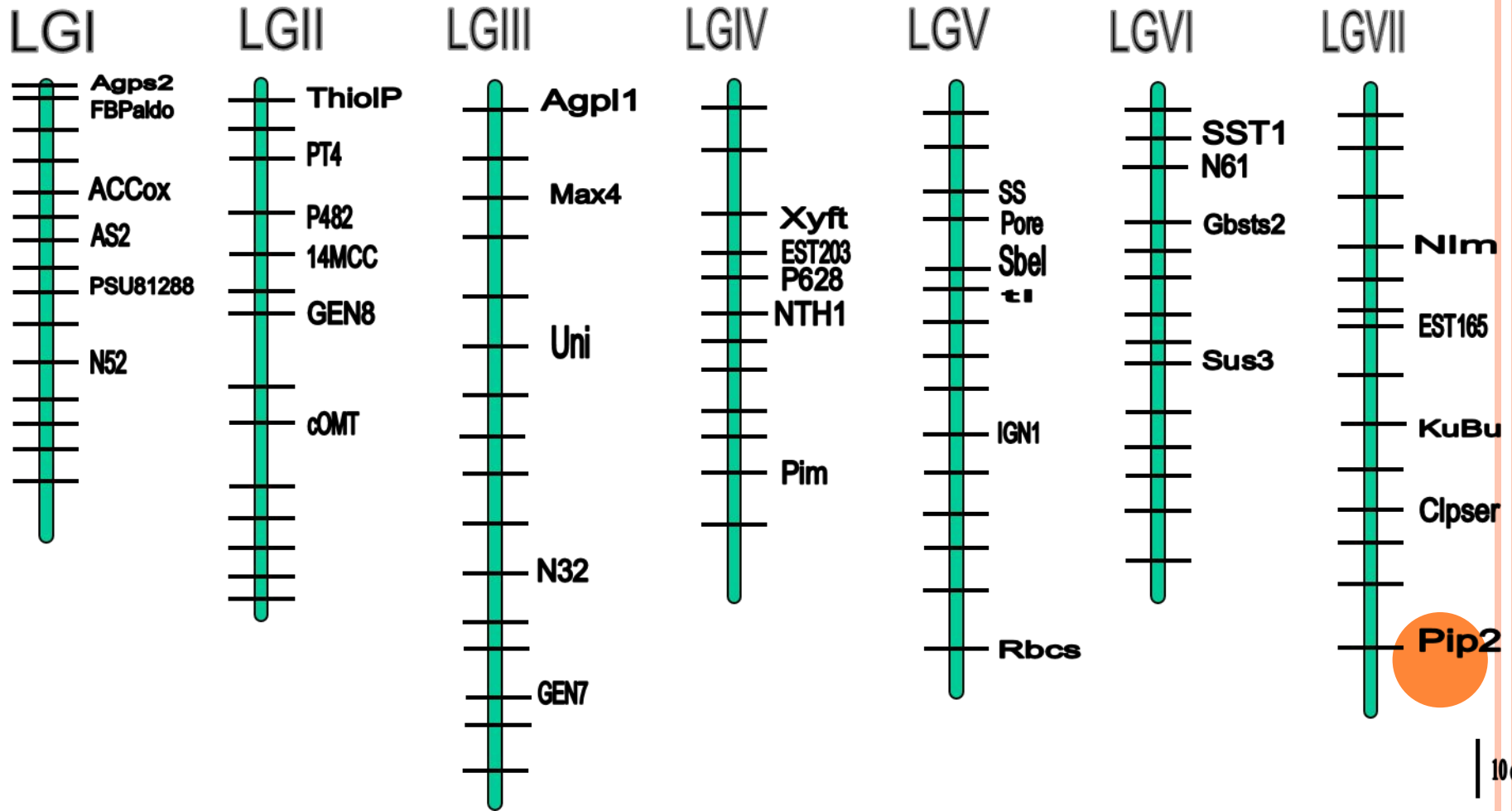


- Производство гороха в мире постоянно растет. "Горохова революция", которая состоялась в ряде стран Европейского Союза, в первую очередь во Франции, за последние 20 лет в большей степени обязана достижениям селекции высокоурожайных сортов с новыми морфотипами - безлисточкового, с детерминантный типом роста и др., Обеспечивающих использование высоких технологий при их выращивании. Так, безлисточкови сорта в странах ЕС занимают 80% всей площади выращивания зернового гороха.
- Следует отметить, что в связи с глобальным потеплением климата, зоны Степи и Левобережной Лесостепи Украины возникают более аридных (сухими) и неблагоприятными для выращивания гороха, площади и производство которого в последние несколько лет в этих регионах резко сократились.



ГЕНЕТИЧЕСКАЯ КАРТА ГОРОХА

Для генетической локализации генов гороха и их последующего клонирования был создан набор ген-специфичных молекулярных ДНК-маркеров. Использование данного типа маркеров позволяет картировать гены гороха и выявлять гены-кандидаты в гомологичных районах геномов модельных бобовых растений люцерны слабоусеченной (*Medicago truncatula* Gaertn.) и лядвенца японского (*Lotus japonicus* (Regel.) Larsen). Созданный набор маркеров может быть использован для локализации любых мутаций в геноме гороха, поиска генов-кандидатов и секвенирования генов интереса, затронутых мутациями.



КОЛЛЕКЦИИ МУТАНТОВ ГОРОХА

#	Генотип	Ген	Фенотип
1.	SGE	дикий тип	
2.	SGENod-1	<i>sym35</i>	Nod ⁻
3.	SGENod-2	<i>sym14</i>	Nod ⁻
4.	SGENod-3	<i>sym35</i>	Nod ⁻
5.	SGENod-4	<i>sym38</i>	Nod ⁻
6.	SGENod-6	<i>sym7</i>	Nod ⁻
7.	SGENod-7	-	Nod ^{+/-}
8.	SGENod-8	<i>sym38</i>	Nod ⁻
9.	SGENod-9	-	Nod ⁻
10.	SGENod-10		Nod ⁻
11.	SGENod-11		Nod ⁻
12.	SGENod-12		Nod ⁻
13.	SGENod-13		Nod ⁻
14.	SGENod-14		Nod ⁻
15.	SGEFix-1	<i>sym40</i>	Fix ⁻

16.	SGEFix-2	<i>sym33</i>	Fix ⁻
17.	SGEFix-3	<i>sym26</i>	Fix ⁻
18.	SGEFix-4	-	Fix ⁻
19.	SGEFix-5	<i>sym33</i>	Fix ⁻
20.	SGEFix-6	<i>sym40</i>	Fix ⁻
21.	SGEFix-7	<i>sym27</i>	Fix ⁻
22.	SGEFix-8	<i>sym25</i>	Fix ⁻
23.	SGEFix-9	-	Fix ⁻
24.	SGEFix-10	-	Fix ⁻
25.	SGEFix-11	-	Fix ⁻
26.	SGEFix-12	-	Fix ⁻
27.	SGEFix-13	-	Fix ⁻
28.	Finale		
29.	RisNod1	<i>sym34</i>	Nod ⁻
30.	RisNod2	<i>sym19</i>	Nod ⁻

31.	RisNod4	<i>sym37</i>	Nod ⁻
32.	RisNod8	<i>sym35</i>	Nod ⁻
33.	RisNod9	<i>sym30</i>	Nod ⁻
34.	RisNod10	<i>sym8</i>	Nod ⁻
35.	RisNod12		Nod ⁻
36.	RisNod13	<i>sym8</i>	Nod ⁻
37.	RisNod14	<i>sym7</i>	Nod ⁻
38.	RisNod17		
39.	RisNod19	<i>sym8</i>	Nod ⁻
40.	RisNod20	<i>sym19</i>	Nod ⁻
41.	RisNod21	<i>sym8</i>	Nod ⁻
42.	RisNod22	<i>sym30</i>	Nod ⁻
43.	RisNod23	<i>sym34</i>	Nod ⁻
44.	RisNod24	<i>sym36</i>	Nod ⁻
45.	RisNod25	<i>sym8</i>	Nod ⁻

51.	RisFixD		Fix ⁻
52.	RisFixF	<i>sym38</i>	Nod ⁻
53.	RisFixK		Fix ⁻
54.	RisFixL	<i>sym32</i>	Fix ⁻
55.	RisFixM	<i>sym26</i>	Fix ⁻
56.	RisFixN		Fix ⁻
57.	RisFixO	<i>sym32</i>	Fix ⁻
58.	RisFixQ	<i>sym27</i>	Fix ⁻
59.	RisFixT	<i>sym26</i>	Fix ⁻
60.	RisFixV	<i>sym42</i>	Fix ⁻
61.	Sparkle		
62.	E2	<i>sym5</i>	Nod ^{+/-}
63.	E54	<i>sym18</i>	Nod ^{+/-}
64.	E69	<i>sym7</i>	Nod ⁻
65.	E77	<i>sym5</i>	Nod ^{+/-}
66.	E132	<i>sym21</i>	Nod ^{+/-}
67.	E135f	<i>sym13</i>	Fix ⁻
68.	E135n	<i>sym14</i>	Nod ⁻
69.	E143	<i>sym5</i>	Nod ^{+/-}
70.	E151	<i>sym15</i>	Fix ⁻

71.	N24	<i>sym11</i>	Nod ⁻
72.	NEU5	<i>sym19</i>	Nod ⁻
73.	R19	<i>sym8</i>	Nod ⁻
74.	R25	<i>sym8</i>	Nod ⁻
75.	R50	<i>sym16</i>	Fix ⁻
76.	R72	<i>sym9</i>	Nod ⁻
77.	R80	<i>sym8</i>	Nod ⁻
78.	R82	<i>sym17</i>	Nod ^{+/-}
79.	R88	<i>sym5</i>	Nod ^{+/-}
80.	Frisson		
81.	P2	<i>sym30</i>	Nod ⁻
82.	P6	<i>sym19</i>	Nod ⁻
83.	P54	<i>sym9</i>	Nod ⁻
84.	P57	<i>sym39</i>	Nod ^{+/-}
85.	P59	<i>sym23</i>	Fix ⁻
86.	P60	<i>sym24</i>	Fix ⁻
87.	P61	<i>sym25</i>	Fix ⁻
88.	P62	-	
89.	P63	<i>sym26</i>	Fix ⁻
90.	P64	<i>sym28</i>	Nod ⁺⁺

46.	RisNod26	<i>sym36</i>	Nod ⁻
47.	RisNod27		
48.	RisNod30	<i>sym34</i>	Nod ⁻
49.	RisFixA	<i>sym41</i>	Fix ⁻
50.	RisFixC		Nod ⁺⁺

91.	P88	<i>sym29</i>	Nod ⁺⁺
92.	Rondo		
93.	K5	<i>sym12</i>	Nod ^{+/-}
94.	K24	<i>sym37</i>	Nod ⁻
95.	FN1		Nod ⁺⁺ Fix ⁻
96.	nod3	<i>nod3</i>	Nod ⁺⁺



РОЛЬ ГЕНА PSSYM40 В РЕГУЛЯЦИИ РАЗВИТИЯ АРБУСКУЛЯРНОЙ МИКОРИЗЫ И ЕГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ДРУГИМИ РЕГУЛЯТОРНЫМИ ГЕНАМИ ГОРОХА ПОСЕВНОГО.

- Мутанты гороха по генам Pssym33 и Pssym40 имеют нарушения образования азотфиксирующих клубеньков, а растения линий SGEFix"-2 (Pssym33) и SGEFix"-1 (Pssym40), кроме того, характеризуются нарушениями развития, но не функционирования арбускулярной микоризы (АМ). Выяснено, что гены гороха Pssym33 и Pssym40 контролируют две последовательные стадии образования бобово-ризобияльного симбиоза, причем мутация в гене Pssym33 блокирует этот процесс на более ранней стадии. Взаимодействие симбиотических генов гороха Pssym33 и Pssym40 в ходе развития АМ симбиоза было охарактеризовано с использованием двойного симбиотического мутанта RBT3 (Pssym33, Pssym40).



- Проведены скрещивания новой серии симбиотических мутантов с исходной линией SGE и проанализированы по фенотипу потомство F1 и F2. На основе проведенного гибридологического анализа была выяснена генетическая детерминация 4 Nod- (неспособных к клубенькообразованию) и 6 Fix- (формирующих неэффективные клубеньки) мутантных фенотипов. Было показано, что Fix- мутанты RisFixA и RisFixV принадлежат к 2 новым группам комлементации: sym41 и sym42, соответственно. Был проведен морфологический анализ серии симбиотических мутантов гороха, неспособных к клубенькообразованию (Nod- фенотип) и выявлены стадии инфекции и развития тканей клубенька, блокированные изученными мутациями:
- 1) блоки кортикальных клеточных делений (Ccd-) и колонизации скрученных корневых волосков (Crh-) у мутантов RisNod14 (sym7) и SGENod--6 (sym7),
- 2) блоки кортикальных клеточных делений (Ccd-) и инициации роста инфекционных нитей (Iti-) у мутантов SGENod--1 (sym35), SGENod--2 (sym14), SGENod--3 (sym35), RisNod8 (sym35),
- 3) блоки роста инфекционной нити в клетке корневого волоска (Ith-) и развития клубеньковой меристемы у мутантов RisNod4 (sym37), SGENod--4 (sym38), SGENod--8 (sym38), RisFixF (sym38),
- 4) блоки роста инфекционной нити в кортексе корня (Itr-) и развития клубенькового примордия (Npd-) у мутантов RisNod1 (sym34), RisNod23 (sym34).



В результате анализа была предположена относительная независимость выполнения генетических программ инфекции и развития тканей клубенька при наличии взаимного контроля развития каждой программы, а также выявлены гены, участвующие в развитии обеих программ. Также были изучены ранние стадии инфекции у симбиотических мутантов, блокированных на поздних стадиях развития симбиотических клубеньков: SGEFix--1 (sym40), SGEFix--2 (sym33), RBT3 (sym33, sym40). Было показано, что у мутанта SGEFix--1 количество инфекционных нитей было увеличено по сравнению с исходной линией, а у мутанта SGEFix--2 снижено, также как и у двойной линии RBT3, что свидетельствует об эпистатировании мутации в гене sym33 над мутацией в гене sym40 в отношении числа инфекционных нитей на начальных стадиях инфекции. Симбиотический локус sym38 (мутант SGENod--4) был локализован в 5 группе сцепления гороха. Был проведен анализ развития микоризы у симбиотического мутанта RisFixA (sym41). В результате было выявлено, что ген Sym41 вовлечен как в развитие симбиотических клубеньков, так и в развитие микоризы.

У гороха посевного описан мутант SGE Cdt (*cdt*), характеризующийся повышенным уровнем накопления кадмия и устойчивостью к данному тяжелому металлу, по сравнению с исходной линией. Проведенный ранее SSAP анализ позволил локализовать локус *cdt* в VI группе сцепления гороха. Для более подробного картирования локуса *cdt* были разработаны молекулярные маркеры, основанные на известных последовательностях генов гороха, выявленных с помощью анализа геномной микросинтезии между горохом посевным и модельным бобовым *Medicago truncatula*. Было выявлено тесное сцепление локуса *cdt* и маркеров, разработанных на основе генов *Pentatricopeptide repeat* и *Exosome complex exonuclease RRP45*. Таким образом, были созданы условия для дальнейшего позиционного клонирования гена *cdt*.

Проведен химический мутагенез лабораторной линии гороха SGE с использованием этилметансульфоната. При анализе 425 семей (2069 растений) поколения M2 было отобрано 45 потенциальных симбиотических мутантов, из них 30 мутантов, формирующих неэффективные клубеньки (фенотип Fix-), 13 мутантов, неспособных формировать клубеньки (фенотип Nod-) и 2 мутанта, формирующих единичные клубеньки (фенотип Nod+/-). Для 1 Nod- и 5 Fix- мутантов было показано моногенное наследование и рецессивное проявление мутантных признаков. Для Fix- мутанта SGE Fix--9 показано присутствие дополнительной мутации, приводящей к фенотипу Nod+/-.

Комплементационный анализ показал, что мутантный фенотип линии SGE Fix--5 определяется мутацией в гене *sym33*, линии SGE Fix--6 - в гене *sym40*, линии SGE Fix--7 - в гене *sym27*, и линии SGE Fix--8 - в гене *sym25*.



Мутация у гороха *PISUM L.* в локусе *Tl*

- Получен новый мутант гороха с многократно непарноперистым типом листьев. Сложный лист мутанта отличается от листьев ранее известных образцов с многократно непарноперистым типом листьев тем, что листовые пластинки мутанта очень узкие, удлиненные и склонны к сплетению. Установлено, что появление новой формы многократно непарноперистых листьев обусловлено мутацией в локусе *Tl* (хромосома 7), которая не аналогична мутации «акация Уайта» tl^w или «акация Ламма» tl^{pet} . Установлена рецессивная природа нового мутантного гена относительно аллеля tl^w . Для нового мутантного гена предложено обозначение tl^{UL} . Получены генотипы с новым типом акациевидных листьев ($tl^{UL} tl^{UL} Af-$).



Фенотип растений гороха, гомозиготных по рецессивной мутации *af* (слева) и *tl* (справа)



Фенотип двойной гомозиготы *af af tl tl*



Фенотип растений гороха, гомозиготных по рецессивной мутации *af* (слева) и *uni^{taс}* (справа)



ФЕНОТИП ДВОЙНОЙ ГОМОЗИГОТЫ $af\ af\ uni^{tac}\ uni^{tac}$



Фенотип тройной гомозиготы $af\ af\ uni^{tac}\ uni^{tac}\ tl\ tl$



Фенотип листа гороха, гомозиготного по рецессивной мутации *ins2* (слева) и *tl* (справа), в центре дикий тип



Фенотип растений гороха, гомозиготных по рецессивной мутации *ins2* (слева) и *tl* (справа)



Фенотип двойной гомозиготы *ins2 ins2* и *tl tl*





СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!