Индивидуальная работа

Генетические коллекции гороха

Выполнила:

Студентка 5 курса

Группы 8. 41295-1

Редька Татьяна Викторовна

Горох (лат. *Písum*) — род травянистых растений семейства Бобовые (*Fabaceae*).

Научная классификация

Домен: Эукариоты

Царство: Растения

Отдел: Цветковые

Класс: Двудольные

Порядок: Бобовоцветные

Семейство: Бобовые

Род: Горох

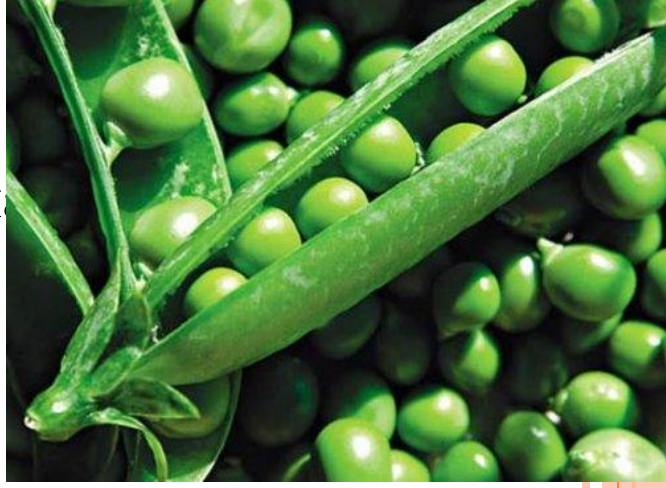
Род включает семь видов:

Pisum abyssinicum A.Braun
Pisum ensifolium (Lapeyr.) 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

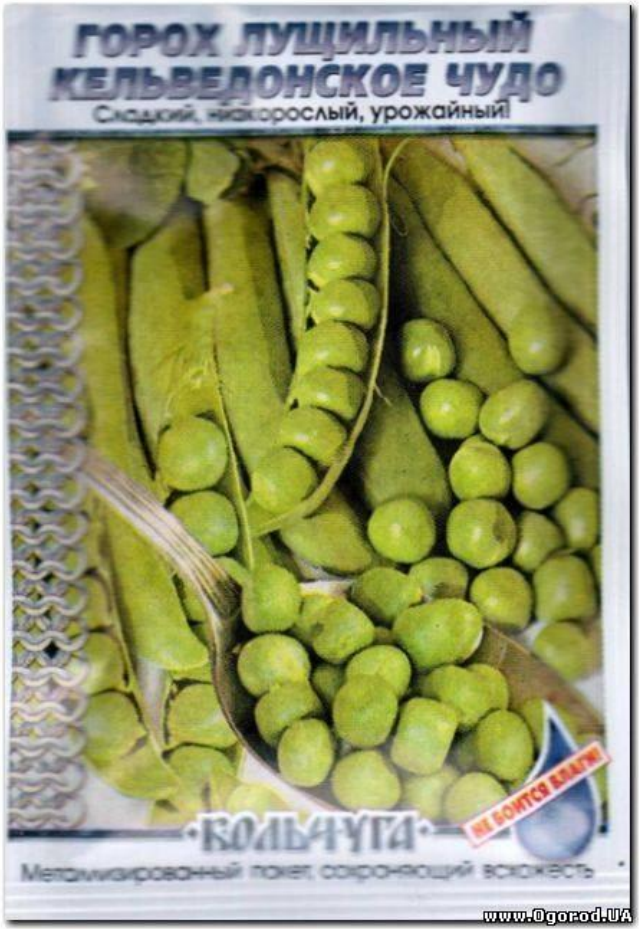
Ботаническое описание

- *Виды рода Горох* — однолетние травы со слаб 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: $\uparrow Ca_{(5)}\ Co_5\ A_{(5+4)+1}\ G_{(\underline{1})}$
- *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 лущильные. У сахарных - плоды на ранней стадии зрелости можно употреблять вместе со стручками (створками). У лущильных - 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°С 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°С 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.

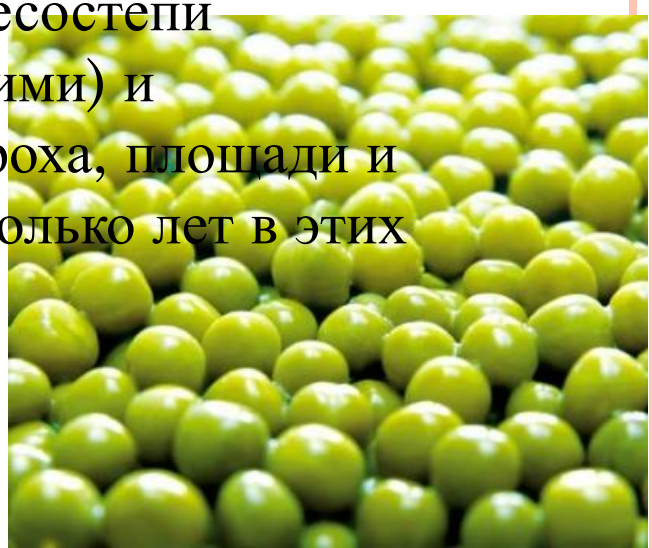
в) Культурные сорта очень легко интегрировать в селекционные программы и на их основе в короткие сроки создавать сорта с улучшенными признаками, хотя при этом в сильной степени сужается генетическое разнообразие. Этот тип материала чаще всего используется селекционерами по экономическим причинам, т. 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 насоящее 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.

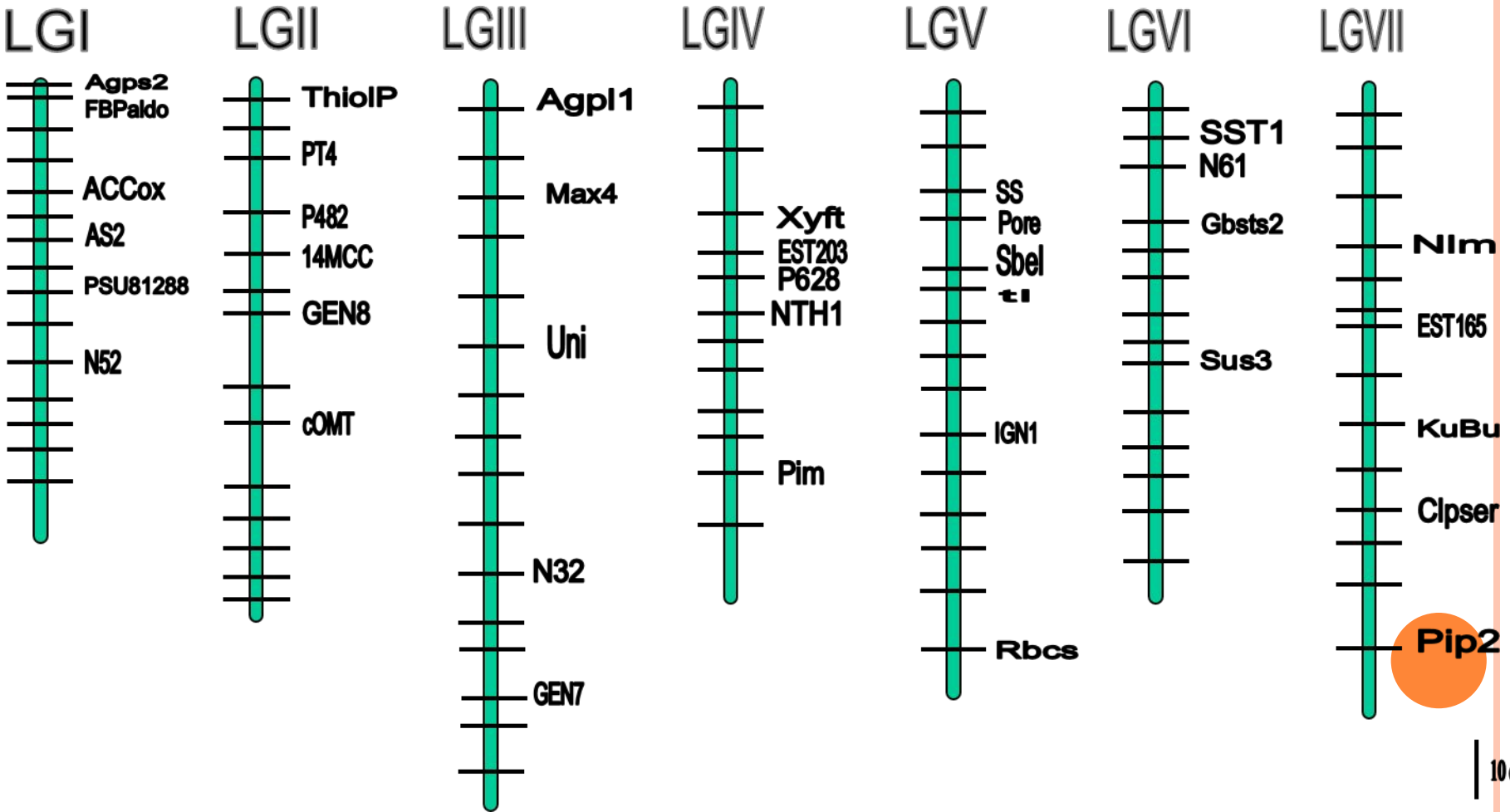
- Ежегодно пополняется генофонд Национального центра генетических ресурсов растений Украины, созданный в 1995 году при институте растениеводства им. В. Я. Юрьева в г. Харькове. В контрастных погодных условиях 1997—1999 гг. предпринят системный подход к поиску исходного материала для селекции зерновых 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	*sym35*	Nod$^-$
3.	SGENod$^-$-2	*sym14*	Nod$^-$
4.	SGENod$^-$-3	*sym35*	Nod$^-$
5.	SGENod$^-$-4	*sym38*	Nod$^-$
6.	SGENod$^-$-6	*sym7*	Nod$^-$
7.	SGENod$^-$-7	-	Nod$^{+/-}$
8.	SGENod$^-$-8	*sym38*	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	*sym40*	Fix$^-$
16.	SGEFix$^-$-2	*sym33*	Fix$^-$
17.	SGEFix$^-$-3	*sym26*	Fix$^-$
18.	SGEFix$^-$-4	-	Fix$^-$
19.	SGEFix$^-$-5	*sym33*	Fix$^-$
20.	SGEFix$^-$-6	*sym40*	Fix$^-$
21.	SGEFix$^-$-7	*sym27*	Fix$^-$
22.	SGEFix$^-$-8	*sym25*	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	*sym34*	Nod$^-$
30.	RisNod2	*sym19*	Nod$^-$

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

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

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

46.	RisNod26	*sym36*	Nod^{-}
47.	RisNod27		
48.	RisNod30	*sym34*	Nod^{-}
49.	RisFixA	*sym41*	Fix^{-}
50.	RisFixC		Nod^{++}

91.	P88	*sym29*	Nod^{++}
92.	Rondo		
93.	K5	*sym12*	Nod$^{+/-}$
94.	K24	*sym37*	Nod^{-}
95.	FN1		Nod^{++} Fix^{-}
96.	nod3	*nod3*	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"-l (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-ризобиального 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 клу беньков: 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 SGECdt (*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 микросинтении 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 SGEFix--9 показано присутствие дополнительной мутации, приводящей к фенотипу Nod+/-. Комплементационный анализ показал, что мутантный фенотип линии SGEFix--5 определяется мутацией в гене *sym33*, линии SGEFix--6 - в гене *sym40*, линии SGEFix--7 - в гене *sym27*, и линии SGEFix--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^{pe}t. 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* ^{tac} (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

MyShared

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

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

Спасибо за внимание!