

ИВАН КИРЯКОВ, МАГДАЛЕНА КОЛЕВА
Добруджански земеделски институт, Генерал Тошево

Устойчивост на сортове и линии грах (*Pisum sativum* L.) към *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*

Resistance of Pea Cultivars and Lines (*Pisum sativum* L.) to *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*

I. Kiryakov, M. Koleva

Dobrudzha Agricultural Institute, General Toshevo, Bulgaria

Abstract

Breeding and using of resistant cultivars is a main strategy for control of diseases in the legume crops. The aim of this investigation was to determine the disease response of pea accessions (*Pisum sativum*) to the cause agent of bacterial blight (*P. s. pv. pisi*) with a view of their using as donors of resistance in the breeding program. The investigation involved 70 accessions of spring fodder and garden pea. The accessions were inoculated twice: at phenophase budding (petioles) and at grain filling (pod) with bacterial suspension in concentration 10^8 CFU/ml from isolates Bz4 and NCPPB 2585, using 1 ml syringe. The response of the accessions was read 10 days after inoculation according to a 9-degree scale. The mean diseases index (MDI) was calculated and the accessions were divided into five groups: immune (I), resistant (R), moderately resistant (MR), susceptible (S) and very susceptible (VS). Variations were found in the response of the leaves and the pods of some of the accessions to both strains of *P. s. pv. pisi*. Five of the 70 investigated accessions had a resistant to moderately resistant phenotype after inoculation with strain Bz4. Thirty-eight accessions had immune to moderately resistant reaction of leaves and pods to strain NCPPB. Four of the investigated accessions had immune to moderately resistant reaction of leaves and pods to the two strains of *P. s. pv. pisi*; this allowed including them in the breeding program for resistance to bacterial blight on pea.

Key words: peas, *P. sativum*, bacterial blight, *P. s. pv. pisi*

Грахът (*Pisum sativum* L.) е основна зърнено-бобова култура за България, заемаща ежегодно около 4000 ha. Размерът на добивите при тази култура се определя от редица абиотични и биотични фактори, между които съществено значение имат болестите – вирусни, бактериални и гъбни. От бактериалните болести икономическо значение в световен мащаб има бактериеният пригор. Болестта е съобщена за първи път през 1915 г. (Sackett, 1916) в Северна Америка и през 1985 г. в Европа (Grondeau et al., 1996). Развитието и разпространението на заболяването се благо-

приятстват от есенна или ранна пролетна сеитба (Mansfield et al., 1997), чести превалявания, придружени от бури (Roberts, 1997). При епифитотийно развитие загубите на добива от грах могат да достигнат до 70% (Forbes and Bretag, 1991). Причинител на болестта е Грам-отрицателната аеробна фитопатогенна бактерия *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (Sackett, 1916). Болестта се развива в температурния интервал 7 – 37,5 °C, като оптимални са 27 – 28 °C (Sackett, 1916). Бактерията се запазва по семенната обвивка на граха от десет месеца до три години (Skoric, 1927; Lawyer

and Chun, 2001), в растителните остатъци – до 34 седмици след жътва (Grondeau et al., 1996) и в почвата – до 42 дни (Hollaway and Bretag, 1997). До момента са идентифицирани осем раси на *P. syringae* pv. *pisii* (Beaven et al., 1995; Elvira-Recuenco et al., 2001; Martin-Sanz et al., 2011) и шест расовоспецифични гени за устойчивост при граха (*Pisum sativum*) към патогена (Beaven et al., 1995). В България болестта има слабо стопанско значение, а проучванията относно нейната етиология и епидемиология са ограничени.

Използването на здрав посевен материал и създаването на устойчиви сортове са основни мероприятия за контрол на бактериения пригор по граха (Sackett, 1916; Hollaway et al., 2007). Издирването на източници на устойчивост е основополагаща стъпка в селекционна програма, насочена към създаване на сортове с комплексна устойчивост към икономически важни болести по граха в районите на неговото отглеждане. Поради това целта на настоящото проучване е да се установи реакцията на сортове и линии пролетен фуражен и градински грах към причинителя на бактериения пригор с оглед използването им като донори на устойчивост в селекцията.

Материал и методи

Проучването е проведено през периода 2011 – 2012 г. при полски условия в Добруджанския земеделски институт – Генерал Тошево. В изследването са включени 70 сорта и линии пролетен фуражен и градински грах. Образците са засети в редове с дължина 1 m и междуредово разстояние 0,5 m по 10 растения в ред. За инокулум са използвани два щамове на *P. syringae* pv. *pisii* (Bz4 и NCPPB 2585) с произход Р. Турция (Benlioglu et al., 2010). Щамовете са култивирани върху хранителната среда YDC и съхранявани при 4 °C до тяхното използване. Растенията са инокулирани двукратно: във фенофаза бутонизация (листни дръжки) и наливане на зърното (бобове) с бактериална суспензия с концентрация 10⁸ CFU/ml посредством убождане с 1 ml спринцовка. Като чувствителна контрола е използван сорт Kelvedon Wonder (Elvira-Recuenco et al., 2003). Реакцията на образците е отчетена 10 дни след инокулиране по следните девет бални скали (фиг. 1): **Листа** – 1, липсват симп-

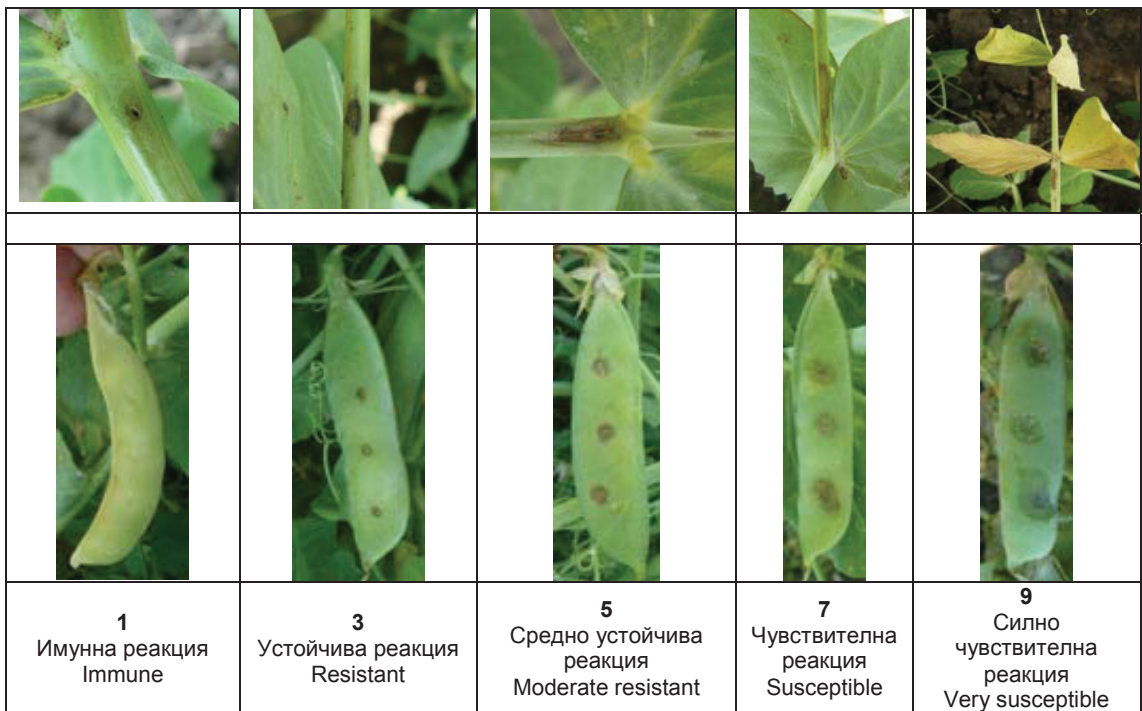
томи; 3, некроза около мястото на убождане; 5, некроза с оводняване на периферията на петното; 7, воднисто петно в мястото на убождане и листната петура; 9, загиване на листа. **Бобове** – 1, липсват симптоми; 3, малки воднисти петна с размер до 1,0 mm; 5, воднисти петна с размер от 1,1 до 3,0 mm; 7, воднистите петна с размер от 3,1 до 5,0 mm; 9, воднистите петна над 5,0 mm. Изчислен е среден индекс на нападение (MDI) по формулата $MDI = \sum(n \times DI)/N$, където n е броят растения, DI - бална оценка, N - общ брой растения. На основата на MDI образците са категоризирани както следва: MDI = 1.0 – имунен (I); MDI = 1.1-3.0 – устойчив (R); MDI = 3.1-5.0 – средно устойчив (MR); MDI = 5.1-7.0 – чувствителен (S) и MDI = над 7.0 – високочувствителен (VS).

Резултати и обсъждане

Използваният като контрола сорт Kelvedon Wonder реагира с чувствителна реакция на листата и бобовете към включените в изследването щамове на *P. s.* pv. *pisii*. Петдесет и три от проучваните образци показват чувствителна или високо чувствителна реакция на листата към щам Bz4 (фиг. 2). Два образца реагират с устойчива, а 15 – със средно устойчива реакция на листата към този щам. Чувствителна до високочувствителна реакция на бобовете към щам Bz4 показват 58 образци. Устойчивост на бобовете показват два, а средна устойчивост – 10 от проучваните образци. Сходство в реакцията на листата и бобовете показват 34 образци, като един притежава комплексна устойчивост на двата органа, четири – средна устойчивост и 29 – чувствителност. При останалите 36 образци се наблюдават различия в реакцията на двата растителни органа.

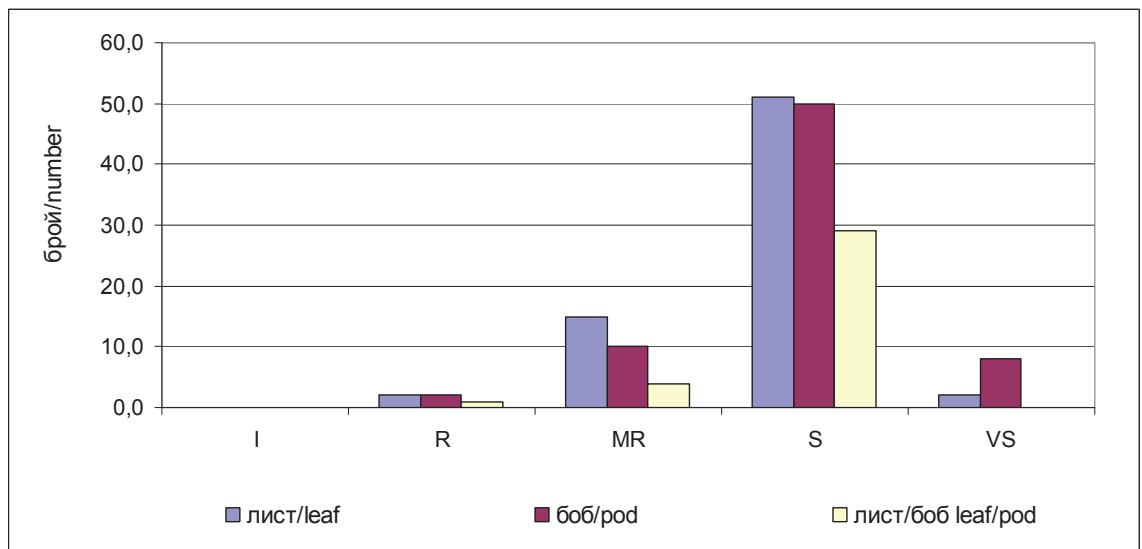
Имунна реакция към щам NCPPB 2585 показват по три образци съответно за листата и бобовете (фиг. 3). С устойчив фенотип на листата реагират 13, а на бобовете 15 образци. Средна устойчивост на листата показват 35, а на бобовете – 37 от проучваните образци. Комплексната устойчивост на двата органа към този щам е както следва: имунни – 2, устойчиви – 8 и средно устойчиви – 28 образци. Осем от образците комбинират различна степен на устойчивост на двата органа.

Комплексна устойчивост на двата растителни органа към включените в изследването ща-



Фиг. 1. Скала за определяне реакцията на образци грах след инокулиране на лист и бобове с *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*

Fig. 1. Scale for estimation reaction of pea accessions (*Pisum sativum*) after inoculation of leaves and pods with *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*



Фиг. 2. Разпределение на 70 образци *P. sativum* в зависимост от реакцията на листата и бобовете към щам Bz4 на *P. s.* pv. *pisi*

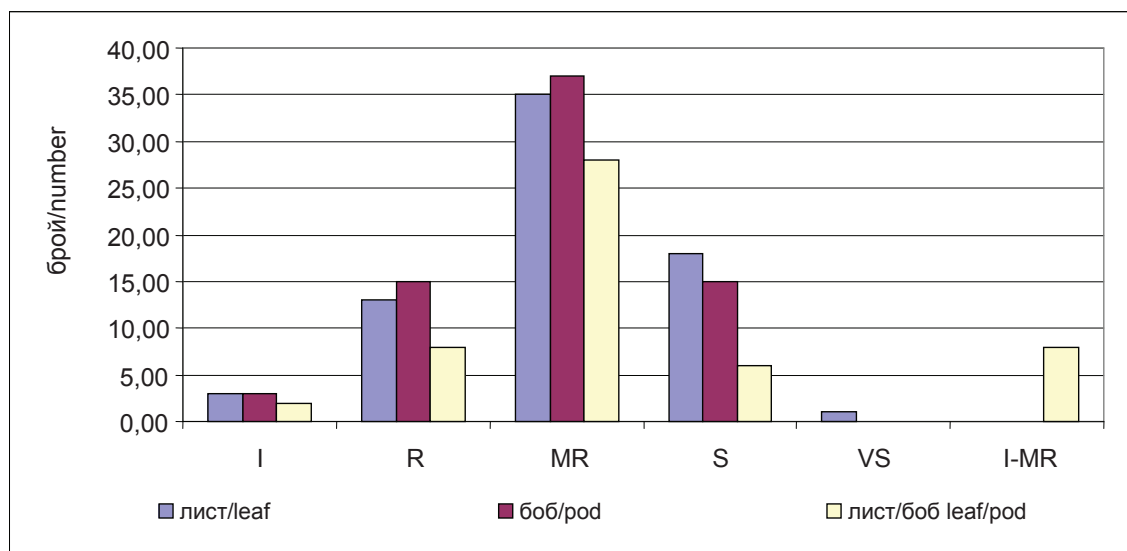
(лист/боб – отразява броя образци със сходна реакция на растителните органи)

Fig. 2. Distribution of 70 *P. sativum* accessions according to the reaction of leaves and pods to strain Bz4 of *P. s.* pv. *pisi*

(leaf/pod expresses the number of accessions with similar response of the plant organs)

може показват четири от проучваните образци (табл. 1). Образци X02P38-61B32 и Celeste * 80Gu реагират с устойчива реакция на листата и бобовете и към двата щам. Образец

X03KP171-0-0 притежава средна устойчивост на листата и бобовете към щам Bz4 и устойчивост към щам NCPPB 2585. Сорт Fortune реагира с устойчива реакция на листата и бо-



Фиг. 3. Разпределение на 70 образци *P. sativum* в зависимост от реакцията на листата и бобовете към щам NCPPB 2585 на *P. s. pv. pisi*

(лист/боб – отразява броя образци със сходна реакция на растителните органи; I-MR – отразява броя на образците, при които единият или и двата растителни органа реагират с имунна до средно устойчива реакция)

Fig. 3. Distribution of 70 *P. sativum* accessions according to the reaction of leaves and pods to strain NCPPB 2585 of *P. s. pv. pisi*

(leaf/pod – expresses the number of accessions with similar response of the plant organs; I-MR – expresses the number of accessions in which one or both plant organs have immune to moderately resistant reaction)

бобовете към щам Vz4, но реакцията на листата към щам NCPPB 2585 е имунна, а на бобовете – устойчива. Сорт Fortune е включен в диференциращия ключ на *P. s. pv. pisi* и притежава расовоспецифични гени *R2*, *R3* и *R4*, осигуряващи устойчивост към шест от установените седем раси на патогена (Elvira-Recuenco et al., 2003).

Резултатите от настоящото проучване показват наличието на различия в реакцията на листата и бобовете при голяма част от проучваните образци (фиг. 2 и 3). Различия в реакцията на стъблото, листата и бобовете е установено

и от Elvira-Recuenco et al. (2003) при тестиране устойчивостта на образци *P. sativum* към шест раси на *P. s. pv. pisi*. Резултатите от тяхното изследване показват, че сорт Fortune реагира с устойчива реакция на стъблата към изолати на раса 3 и раса 4, но реакцията на листата и бобовете към раса 3 е варираща – от устойчива до чувствителна, а към раса 4 устойчива/чувствителна и чувствителна съответно за двата растителни органа. Сходни резултати се наблюдават и при други образци, включени в това изследване. Според авторите устойчивостта на стъблото невинаги е свързана с устойчивост на

Таблица 1. Стопански качества на четири образеца *P. sativum* с устойчива реакция на листата и бобовете към два щамна на *P. s. pv. pisi*

Table 1. Economic properties of four *P. sativum* accessions with resistant reaction of leaves and pods to the two strains of *P. s. pv. pisi*

Accessions	Disease response to strain				Vegetation period (number of days)	1000 seed weight (g)	Plant height (cm)	Yield, kg/ha
	Bz4		NCPPB 2585					
	leaf	pod	leaf	pod				
Celeste * 80Gy	MR	MR	MR	MR	104	248	60	4575
X02P38-61B32	MR	MR	MR	MR	97	257	66	4676
X03KP171-0-0	MR	MR	R	R	102	386	72	3800
Fortune	R	R	I	R	95	367	35	-

листата и бобовите и тези различия вероятно се дължат на специфични комбинации на гените за устойчивост в гостоприемника и гените за авирулентност в патогена. Резултатите от настоящото проучване показват, че наблюдаваните различия в реакцията на листата и бобовите е и щамова (расова) особеност, тъй като броят на образците с различен MDI на всеки един от двата растителни органа е по-висок при щам Vz4 в сравнение с щам NCPPV 2585 (съответно 36 и 18).

Селекцията на сортове с комплексна устойчивост към болести е основна стратегия за продължителен контрол на биотичните стресови фактори при бобовите култури. Успоредно с това тя трябва да е съчетана с редица стопански признаци като висока продуктивност, високо качество на продукцията, ранозрялост и др., отговарящи на условията на отглеждане и изискванията на пазара (Singh

and Schwartz, 2010). Три от отбраните образци грах се отличават с висок продуктивен потенциал (3800-4575 kg/ha) (табл. 1), средно едри (X02P38-61B32 и Celeste * 80Gy) и едри (X03KP171-0-0) зърна и по своя вегетационен период принадлежат към групата на средно ранозрелите сортове. Към настоящия момент липсват данни за продуктивността на сорт Fortune, но ниската височина на растенията (35 cm) е предпоставка за използването му в селекцията за устойчивост към полягане при граха.

Получените в настоящото изследване резултати показват, че в колекцията на Добруджански земеделски институт има образци грах, които успешно могат да бъдат включени към селекционна програма, насочена към създаване на сортове грах с ценни стопански качества и комплексна устойчивост към икономически важни болести по граха.

Изводи

Установени са различия в реакцията на листата и бобовите и към двата щамата на *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* при част от образците *Pisum sativum*.

Пет от проучваните 70 образци реагират с устойчив до средно устойчив фенотип при инокулиране с щам Vz4. Към щам NCPPV имунна до средно устойчива реакция показват 38 образци.

Четири от проучваните образци реагират с имунна до средно устойчива реакция на листата и бобовите към двата щамата на *P. s.* pv. *pisi*, което дава възможност за включването им в селекционната програма за устойчивост към бактериения пригор по граха.

Литература

- Benlioglu, K., U. Ozyilmaz, D. Ertan.** 2010. First report of bacterial blight caused by *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* on pea in Turkey. *Plant Disease*, 7: 923
- Bevan, J. R., J. D. Taylor, I. R. Crute, P. J. Hunter, A. Vivian.** 1995. Genetics of specific resistance in pea (*Pisum sativum*) cultivars to seven races of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*. *Plant Pathology*, 44: 98-108
- Elvira-Recuenco, M., J. D. Taylor.** 2001. Resistance to bacterial blight (*Pseudomonas syringae* pv. *pisi*) in Spanish pea (*Pisum sativum*) landraces. *Euphytica*, 118: 305-311
- Elvira-Recuenco, M., J. R. Bevan, J. D. Taylor.** 2003. Differential responses to pea bacterial blight in stems, leaves and pods under glasshouse and field conditions. *European Journal of Plant Pathology*, 109: 555-564
- Forbes, C. J., T. W. Bretag.** 1991. Efficacy of foliar applied streptomycin for the control of bacterial blight of peas. *Australian Plant Pathology*, 20: 115-118
- Grondeau, C., A. Mabiala, R. Ait-Oumeziane and R. Samson.** 1996. Epiphytic life is the main characteristic of the life cycle of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, pea bacterial blight agent. *European Journal of Plant Pathology*, 102: 353-363
- Hollaway, G. J., T. W. Bretag.** 1997. Survival of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* in soil and pea trash and their importance as a source of inoculum for a following field pea crop. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 37: 369-375
- Hollaway, G. J., T. W. Bretag, T. V. Price.** 2007. The epidemiology and management of bacterial blight (of field pea (*Pisum sativum*) in Australia: a review. *Australian Journal of Agricultural Research*, 58: 1086-1099
- Lawyer, A. S. W. Chun.** 2001. Foliar diseases caused by bacteria; bacterial blight. In 'Compendium of pea diseases and pests'. (Eds J. M. Kraft, F. L. Pflieger), p. 22-23

Mansfield, P. J., D. W. Wilson, M. C. Heath, P. J. Saunders. 1997. Development of pea bacterial blight caused by *Pseudomonas syringae* pv. *pisii* in winter and spring cultivars of combing peas (*Pisum sativum*) with different sowing dates. *Annals of Applied Biology*, 131: 245-258

Martin-Sanz, A., J. L. Palomo, M. P. de la Vega, C. Caminero. 2011. Identification of pathovars and races of *Pseudomonas syringae* pv. *pisii*, the main causal agent of bacterial disease in pea in North-Central Spain, and the search for disease resistance. *European Journal of Plant Pathology*, 129: 57-69

Roberts, S. J. 1997. Effect of weather conditions on local spread and infection by pea bacterial blight

(*Pseudomonas syringae* pv. *pisii*). *European Journal of Plant Pathology*, 103: 711-719

Sackett, W. G. 1916. 'A bacterial stem af field and garden peas'. Colorado Agricultural Experiment Station Bulletin 218. (The Experiment Station: Fort Collins. CO).

Scoric, V. 1927. Bacterial blight of pea: overwintering, dissemination and pathological histology. *Phytopathology*, 17: 611-627

Singh, S. P. and H. F. Schwartz. 2010. Breeding common bean for resistance to diseases: A review. *Crop Science*, 50: 2199-2223