

СЕЛЕКЦИЯ И БИОТЕХНОЛОГИИ
НА БОБОВИ КУЛТУРИ



НЯКОИ РЕЗУЛТАТИ ОТ ИЗСЛЕДВАНИЯТА
ПО ГЕНЕТИЧНОТО ПОДОБРЯВАНЕ НА ГРАХА (*Pisum sativum* L.)

Атанас Механджиев¹, Михо Михов², Спаска Новева¹
Росица Родева¹, Георгина Костуркова¹

1-Институт по генетика "Акад. Д. Костов", София
2-Добруджански земеделски институт, Генерал Тошево

Резюме

*Механджиев, А., М. Михов, С. Новева, Р. Родева, Г. Костуркова, 2006. Някои резултати от изследванията по генетичното подобряване на граха (*Pisum sativum* L.)*

В резултат на дългогодишни изследвания по генетичното подобряване на граха е получена богата генплазма и са създадени нови сортове грах. Хибридизацията и експерименталния мутагенез са основните използвани методи. Изследванията на нашата група бяха насочени към повишаване на продуктивния потенциал, качеството и устойчивостта към биотичен и абиотичен стрес. Чрез използване на тип *afila* са създадени линии, устойчиви на полягане и на оронване. Получени са линии устойчиви на засушаване. Създадени са два оригинални сорта: "Кристал" – с нормални листа, висока продуктивност, повишено съдържание на протеин, с добра полска устойчивост към аскохитоза и брашнеста мана, и устойчивост към засушаване; "Дружба" – тип *afila*, по-ранозрял, с добра продуктивност, устойчивост на полягане, оронване и засушаване, с добра полска устойчивост към аскохитоза и брашнеста мана, подходящ за директно прибиране.

Ключови думи: Генетично подобряване – Добив – Мутации - Съдържание на протеин - Устойчивост на полягане - Устойчивост на болести

Abstract

*Mehandjiev, A., M. Mihov, S. Noveva, R. Rodeva, G. Kosturkova, 2006. Some results from the investigation on genetic improvement of pea (*Pisum sativum* L.)*

As a result from long-term studies on the genetic improvement of peas, rich genetic plasma was obtained and new varieties were developed. Hybridization and experimental mutagenesis were the main methods used. The investigations of our team were directed towards increasing the production potential, the quality, and the resistance to biotic and abiotic stress. Lodging resistance lines were developed by the use of the *afila* type, also with reduced shattering. Lines tolerant to drought were obtained. Two original cultivars were developed: "Kristal" – with normal leaves, highly productive, with high protein content, with field resistance to ascochyta blight and powdery mildew, and good drought resis-

tance; “Droujba” – *afila* type, with good productivity, resistant to lodging, shattering and drought, with good field resistance to ascochyta blight and powdery mildew, suitable for direct harvesting.

Key words: Genetic improvement – Yield – Mutations - Protein content - Lodging resistance - Disease resistance

Acknowledgements:

The financial support of the National Science Fund (project CC 1201) I gratefully acknowledge.

УВОД

Грахът е зърнено-бобова култура с важно значение за пълноценното хранене на човека и животните. Неговият принос за биологичния азот в системата на екологичното земеделие е безспорен и все повече ще се увеличава. Добивите от граха се влияят в значителна степен от условията на средата и генотипа. Поради това разработването на методи и търсенето на донори на отделни признаци имат приоритетно значение (Mihov et al., 1996, Mehandjiev et al., 2001). През последните години подобрителната работа с граха бележи значителен напредък. Разработени са нови генетични методи и селекционни технологии, в резултат на което са създадени ценни сортове градински и фуражен грах (Mehandjiev et al., 1998, Mehandjiev et al., 2001, Mihov et al., 1996, Mihov et al., 1998). Посредством експериментален мутагенез е повишено генетичното разнообразие по важни агрономически признаци. Някои от получените мутанти са източници на полска устойчивост към биотичен стрес (Rodeva et al., 2005).

Целта на нашата генетико-селекционна програма беше чрез използване на класическите генетични и новите биотехнологични методи да внесем някои съществени подобрения в генотипа на пролетния фуражен грах и да създадем нова генплазма за целите на селекцията.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Посредством методите на хибридизация и експериментален мутагенез бяха създадени нови генотипове с ценни агрономически качества, които бяха изпитани за устойчивост към биотичен и абиотичен стрес за целите на различни селекционни програми. От методите на отбор най-често е използвана процедурата Pedigree в различни модификации.

Полските експерименти бяха проведени в Добруджански земеделски институт, Ген. Тошево, а оценката на материалите към биотичен стрес – Института по генетика, София през периода 2002-2005 година. Опитите залагахме по блоковия метод в 4 повторения с реколтна площ 10 m² и в оптимален срок на сеитба. Сеитбата извършвахме с 120 кълн. с./m² при междуредие 15 cm и дълбочина на засяване 5-7 cm.

От биохимичните показатели са извършени анализи за протеин по метода на Келдал и модифициран метод на Udy (Иванов и Стоянова, 1985), а определянето на танините по метода на Price & Butler (1980). Отчитането на устойчивостта към различните стресове прилягахме адаптираните скали на ICARDA (1984, 2002). Всички данни са статистически обработени, използвайки пакета “Биостат” (Пенчев, 1998).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Вегетационният период има важно значение за преодоляване на абиотичния и биотичан стрес – ранното пролетно засушаване, ниската атмосферна влажност на

въздуха, появата на различни болести и неприятели. Нашите проучвания показват, че изпитваните 10 генотипа се различават по продължителност на вегетационния период, както помежду им, така и между отделните години. При ранна сеитба и хладна пролет обикновено вегетационния период се удължава и обратно, при закъсняване в срока на сеитба и суха и топла пролет той силно се скъсява. Изпитваните материали се отнасят към групата на средно ранозрелите (табл. 1). Новите сортове грах “Кристал” (107 дни) и “Дружба” (104 дни) са с подходящ вегетационен период за реализиране на висок продуктивен потенциал при условията на страната.

Таблица 1. Вегетационен период на граха за периода 2002-2005 година
Table 1. Vegetation period of pea during 2002-2005

Сорт/линия Cultivar/line	Вегетационен период, дни Vegetation period, days					Вариране Variation
	2002	2003	2004	2005	Средно Average	
Плевен 4 – St ₁ , Pleven 4	125	86	111	105	107	86-125
Кристал – St ₂ , Kristal	128	83	112	104	107	83-128
Дружба (<i>afila</i>), Drujba	123	83	107	104	104	83-123
X92P42-2121	128	83	112	103	107	83-128
X94P5-411113 (<i>afila</i>)	123	86	102	105	104	86-123
X94P78-992	123	87	106	103	105	87-123
XM95P1-8721	122	83	107	104	105	83-122
M99PC8-Celeste x 40 Gy	121	85	104	104	104	85-121
M99PC9-Celeste x 80 Gy	121	85	104	104	104	85-121
M99PC12-Celeste x 40Gy + EMS 0.1%	121	85	104	104	104	85-121
Средно за годината Average for the year	123.5	84.6	106.9	104.0	105.1	84.6-123.5

Таблица 2. Височина на растенията и полягане на граха през периода 2002-2005 г.
Table 2. Plant height and lodging of pea during 2002-2005

Сорт/линия Cultivar/line	Височина на растенията, см Plant height, cm					Полягане (бал 0-9) Lodging (score 0-9)
	2002	2003	2004	2005	Средно Mean	
Плевен 4 – St ₁ , Pleven 4	94	83	200	112	122.2	0-9
Кристал – St ₂ , Kristal	51	40	95	84	67.5	0-9
Дружба (<i>afila</i>), Drujba	49	58	85	84	69.0	0-3
X92P42 (Flavanda/Masterman)	51	38	103	70	65.5	0-8
X94P5 (Alex/Rex)	63	44	125	67	74.7	0-3
X94P78 (M-40/Cham-pion)	58	43	92	66	64.7	0-9
XM95P1 (Pleven 4/ Celeste)	61	42	85	81	67.2	0-9
M99PC8-Celeste x 40 Gy	54	32	83	62	57.2	0-9
M99PC9-Celeste x 80 Gy	55	38	90	60	60.7	0-9
M99PC12-Celeste x 40Gy + EMS 0.1%	50	35	110	66	65.2	0-9
Средно за годината Averaged for the year	58.6	45.3	106.8	75.2	71.4	0-9

Във връзка с реализиране на по-висок продуктивен потенциал и механизираното прибиране на граха важна насока на селекцията на граха е височината на растенията и устойчивостта им към полягане. Счита се, че по-високите растения са по-

продуктивни, а неполягащите осигуряват производство с по-малко разпиляване при прибирането им.

За оценка на тези признаци от особена важност са условията на изпитване. През периода на изследване имаше много благоприятни условия на тези два признака (табл. 2). С най-голяма височина на тревостоя е сорт “Плевен 4” (122.2 cm), а новите сортове “Кристал” (67.5 cm) и “Дружба” (69 cm) и перспективните линии са средно високи. За първи път е регистриран сорт “Дружба”, който практически не поляга. Това си ценно качество той показва както в опитни така и при производствени условия през дъждовните 2004 и 2005 г. С подобна устойчивост е и линия X94P5-411113. Всички останали генотипове полягат в различна степен.

Устойчивостта към биотичен стрес заема централно място в системата на екологичното земеделие. От болестите по граха важно икономическо значение имат брашнестата мана (*Erysiphe poligoni*) и аскохитозата (*Ascochyta pisi*). У нас аскохитозата се причинява от 3 сходни патогенни гъби (Rodeva et al., 2001). За съжаление генофондът е ограничен по отношение на естествените източници на устойчивост, което налага създаването и проучването на такива чрез класически селекционни методи или растителни биотехнологии (Rodeva et al., 2001).

През периода на изследване добри условия за полска оценка на устойчивостта към брашнестата мана, аскохитоза и вирусни болести имаше през 2004 и 2005 г. (Табл. 3). С най-добра устойчивост на брашнестата мана са сорт Дружба и линия X94P78-992 с бал 0-3, с добра устойчивост е линия X94P5-411113 (0-5), а всички останали показват чувствителна реакция в подходящи за патогена години.

Таблица 3. Полска оценка на устойчивостта към болести на граха (скала 0-9) през периода 2002-2005

Table 3. Estimation of field resistance to diseases on pea (score 0-9) during 2002-2005

Сорт/линия Cultivar/line	Устойчивост към Resistance to					
	<i>Erysiphe poligoni</i>					<i>Ascochyta pisi</i>
	2002	2003	2004	2005	Вариране Variation	Вариране Variation
Плевен 4 – St ₁ , Pleven 4	0	0	7	5	0-7	0-3
Кристал – St ₂ , Kristal	0	0	5	7	0-7	0-3
Дружба (<i>afila</i>), Drujba	0	0	3	1	0-3	0-3
X92P42-2121	0	0	3	7	0-7	0-3
X94P5-411113 (<i>afila</i>)	0	0	5	0	0-5	0-3
X94P78-992	0	0	3	0	0-3	0-3
ХМ95Р1-8721	0	0	9	5	0-9	0-3
M99PC8-Celeste x 40 Gy	0	0	9	7	0-9	0-5
M99PC9-Celeste x 80 Gy	0	0	9	7	0-9	0-5
M99PC12-Celeste x 40Gy + EMS 0.1%	0	0	7	7	0-7	0-3
Средно за годината Averaged for the year	0	0	6.0	4.6	0-9	0-5

Реакцията към аскохитоза също беше оценявана при полски условия по 9 – бална скала. Условията за този патоген през изследвания период очевидно не са били от най-благоприятните. През 2004 и 2005 г. имаше относително благоприятни за този патоген условия. Направените оценки показват, че има сортови различия. С най-ниски оценки (1-3) са сорт “Дружба” и линиите X92P42-2121 и X95P1-87-21. За това линиите показали устойчивост, представляват интерес с оглед тяхното използване в селекцията

(Rodeva et al., 2005).

Посредством приложението на хибридна и мутационна изменчивост бяха създадени линии с изменена архитектура на растенията. На базата на мутантният ген *afila*, който трансформира листенцата в мустачки, са получени форми с висока устойчивост към полягане, а някои от тях са и с висок продуктивен потенциал. Според някои автори генотипове с тип *afila* са по-ниско продуктивни (Ali et al., 1994), докато в материали получени от Вашингтонския държавен университет и наши хибридни и мутантни популации тип *afila* има и високопродуктивни форми. Чрез отбор в наши и чужди материали (основно мутантни популации) бяха създадени много линии (*afila* тип) с повишена продуктивност (Mehandjiev et al., 2001). От изпитваните материали тип *afila* с висок продуктивен потенциал са сорт “Дружба” и линия X94P78-992.

Селекцията по качество има важно значение при генетичното подобряване на граха. Основната цел е да се увеличи съдържанието на протеин и се намали антихранителния компонент танин в семената, като се запазва нивото на продуктивност (Stoyanova et al., 1998). С най-високо съдържание на протеин е сорт “Плевен 4” (28.7%), следван от сорт “Кристал” (28.0 %) (табл. 4). По добив на протеин от декар първо място заема линия M99PC8 (117.1 kg/da). Най-ниско съдържание на танин има в семената на сорт “Дружба” (0.092 mg/g), което е добро постижение за българската селекция.

Таблица 4. Съдържание на протеин и танин в семената на граха за периода 2002-2005 г

Table 4. Content of protein and tannin in the seeds of pea during 2002-2005

Сорт, линия Cultivar, line	Съдържание на протеин, % Protein content, %	Добив протеин kg/da Protein yield, kg/da	Съдържание на танини, mg/g Tannin content, mg/g
Плевен 4 – St ₁	28.7	83.8	0.230
Кристал – St ₂	28.0	111.2	0.175
Дружба (<i>afila</i>)	25.2	89.0	0.092
X92P42-2121	27.6	102.9	0.144
X94P5-411113 (<i>afila</i>)	24.3	105.5	0.173
X94P78-992	24.6	108.2	0.171
XM95P1-8721	25.2	104.8	0.183
M99PC8-Celeste x 40 Gy	26.5	117.1	0.115
M99PC9-Celeste x 80 Gy	25.8	109.4	0.112
M99PC12-Celeste x 40Gy + EMS 0.1%	25.6	104.7	0.110
Граница на вариране Variation range	24.3-28.7	83.8-117.1	0.092-0.230

При селекцията на продуктивност, усилията са насочени към величината на добива и неговата стабилност. Размерът на добива се определя от броя на продуктивните възли, брой бобове, брой семена и теглото на семената от растение. Стабилността му зависи от адаптивността и пластичността на генотипа. От извършеният двуфакторен дисперсионен анализ се вижда, че самостоятелното влияние на условията на годината, изразено чрез F-критерия за фактор А е с висока степен на достоверност ($F=86.22^{***}$). Самостоятелното влияние на генотипа, изразено чрез F-критерия на фактор В е също силно изразено ($F=433.83^{***}$). Поради това, че през една от годините (2003) неблагоприятните условия причиниха получаването на ниски добиви от пролетен фуражен грах, респективно заличаване на разликите между отделните генотипове, съвместното влияние на двата проучени фактора също е с висока степен на достоверност ($F=37.88^{***}$).

Някои резултати от изследванията по генетичното подобряване на граха (*Pisum sativum* L.)

Посредством ефективни методи на селекция бяха създадени и признати от ИАСАС два нови сорта грах (“**Кристал**” – 397 kg/da и “**Дружба**” 353 kg/da), които значително превишават стандартния сорт “**Плевен 4**” – 292 kg/da (табл. 5). С висок продуктивен потенциал се отличават още и линиите от хибриден произход: ХМ 95Р1-8122 – 416 kg/da, Х94Р5-411113 – 434 kg/da, Х94Р78-992 – 440 kg/da, а така също и от мутантен произход: М99РС-12 – 409 kg/da, М99РС-9 – 424 kg/da и М99РС-8 – 442 kg/da.

Таблица 5. Добив зърно от сортове и линии грах за периода 2002-2005 г.
Table 5. Seed yield of pea cultivars and lines for the period 2002-2005

Сорт, линия Cultivar, line	Добив по години, kg/da Yield by year				Среден добив Mean yield		
	2002	2003	2004	2005	kg/da	%-от St ₁	%-от St ₁ + St ₂
Плевен 4 – St ₁	368	210	302	290	292	100.0	84.6
Кристал – St ₂	460 ^c	233	521 ^c	373 ^c	397 ^c	136.0	115.1
Дружба (<i>afila</i>)	436 ^c	217	469 ^c	291	353 ^c	120.9	102.3
Х92Р42-2121	387	228	492 ^c	386 ^c	373 ^c	127.7	108.1
Х94Р5-411113 (<i>afila</i>)	495 ^c	220	621 ^c	402 ^c	434 ^c	148.6	125.8
Х94Р78-992	545 ^c	215	646 ^c	355 ^b	440 ^c	150.7	127.5
ХМ95Р1-8721	448 ^c	212	612 ^c	392 ^c	416 ^c	142.5	120.6
М99РС8-Celeste x 40 Gy	491 ^c	228	626 ^c	422 ^c	442 ^c	151.4	128.1
М99РС9-Celeste x 80 Gy	492 ^c	219	579 ^c	408 ^c	424 ^c	145.2	122.9
М99РС12-Celeste x 40Gy + EMS 0.1%	443 ^c	207	597 ^c	390 ^c	409 ^c	140.1	118.5
<i>Средно за годината</i> <i>Average for the year</i>	456.5	219.0	546.5	371.0	398.0		
<i>Граници на вариране</i> <i>Variation range</i>	368- 545	210- 233	302- 646	290- 422	292- 442		
GD 5%	28.7	24.2	41.4	37.9	16.6		
GD 1%	38.8	32.7	56.0	51.2	21.9		
GD 0.1%	51.7	43.6	74.5	68.2	28.2		

В резултат на проведената генетико-селекционна работа са създадени два нови сорта пролетен фуражен грах:

сорт “**Кристал**”, който се характеризира с висока продуктивност, средна ранозрялост, добра екологична пластичност, високо съдържание на протеин (28.0%) и относително ниско на танини (0.174 mg/g). Той показва добра полска устойчивост към аскохитоза и брашнеста мана.

- сорт “**Дружба**”, тип *afila*, средно ранозрял, с добра продуктивност, съдържание на протеин 25.2% и много ниско на танин – 0.092 mg/g. Има много добра устойчивост на полягане, ронливост, толерантен към засушаване, с добра полска устойчивост към болестите – аскохитоза и брашнеста мана.

- линии с изменена архитектурата на растенията, която е свързана с продуктивността и механизираното прибиране.

- линии с висока устойчивост на брашнеста мана и добра към аскохитоза.

ЛИТЕРАТУРА

Иванов, П., М. Стоянова, 1985. Определяне на съдържанието на протеин чрез отчитане на количеството свързано багило кисел оранж 7 с помощта на Спекол 10. Растениевъдни науки 10: 12-16.

Механджиев, А., М. Михов, Г. Костуркова, Р. Родева, 2001. Проблеми и постижения при генетичното подобряване на граха. “Селекция и агротехника на полските

- култури – Материали от Юбилейната научна сесия “50 години Добруджански земеделски институт, Ген. Тошево (31 май-1 юни 2001), 1: 287-299.
- Пенчев, Е., 1998.** Оценка на продуктивността и показателите на качество при пшеницата с математически модели. Дисертация, Dr.Ph.
- Ali, S. M., B. Sharma, and M. Ambrose, 1994.** Current status and future strategy in breeding pea for resistance to biotic and abiotic stresses. In: Expanding the Production and Use Cool Season Food Legume Crops. Muehlbauer F., W. Kaiser (eds); 540-558.
- ICARDA. 1984.** Annual report, Germplasm Program. ICARDA, Aleppo, Syria.
- ICARDA. 2002.** Annual report, Germplasm Program. ICARDA, Aleppo, Syria.
- Mehandjiev, A., M. Mihov, M. Stoyanova, and J. Todorova, 1998.** Enrichment of *P. sativum* genetic variation through experimental mutagenesis. Plant Science (Bg), 35: 180-182.
- Mehandjiev, A., G. Kosturkova, and M. Mihov, 2001.** Enrichment of *Pisum sativum* gene resources through combined use of physical and chemical mutagens. Israel Plant Science, 49: 279-284.
- Mihov, M., A. Mehandjiev, and M. Stoyanova, 1996.** Opportunities for enlarging of germplasm in spring pea. Proc. of Balkan Symposium on Vegetables and Potatoes, Novi Sad, 2: 809-811.
- Mihov, M., and M. Stoyanova, 1998.** Agrobiological and economic characterization of some introduced pea varieties. Proc. of Balkan Symposium on Vegetables and Potatoes, Novi Sad, 1: 531-534.
- Price and Butler, 1980.** Tannins and nutritions, Purdue Univ. Agric., Exp. Bull. 272.
- Rodeva, R., G. Kosturkova, I. Georgieva, and A. Mehandjiev, 2001.** Evaluation of pea genotypes for ascochyta blight resistance *in vivo* and *in vitro*. Beitrage zur Zuchtungsforchung, 7 (1): 47-51.
- Rodeva R., G. Kosturkova, and A. Mehandjiev, 2005.** Searching for resistance to ascochyta blight in pea (*Pisum sativum*) by conventional and biotechnological methods and approaches. Plant Science (Bg), 42 (3): 226-230.
- Styanova, M., E. Penchev, and M. Mihov, 1998.** Protein content in pea collection. Proc. of Balkan Symposium on Vegetables and Potatoes, Novi Sad, 1: 523-525.

Някои резултати от изследванията по генетичното подобряване на граха (*Pisum sativum* L.)