

Изучение устойчивости сортов гороха к возбудителю бактериального ожога гороха *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*

* ИГНАТЬЕВА И.М.¹, БАКАЕВА А.С.²

^{1,2} Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»), р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия, 140150

¹ ORCID 0000-0003-1047-0105, e-mail: babiraignirmi@ya.ru

² e-mail: asyaasya.asya214@gmail.com

АННОТАЦИЯ

Возбудитель бактериального ожога гороха является основным фитопатогеном гороха посевного и распространяется через семенной материал. В ряде стран, включая страны – импортеры гороха из России, возбудитель *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, вызывающий бактериоз некоторых зернобобовых культур, включен в карантинные перечни. Внедрение методов выявления и идентификации возбудителя болезни и поиск резистентных сортов стали актуальными в стратегии сохранения уровня экспорта гороха из России. С этой целью в ходе проведенной работы выбраны и проверены сорта гороха на устойчивость к фитопатогену. Для исследования был произведен посев пяти сортов гороха. После того как произошло прорастание в фазе 2–3 листьев, по 10 растений каждого сорта инокулировали бактериальной суспензией в концентрации 10⁶ КОЕ/мл. Одно растение оставляли в качестве отрицательного контрольного образца, используя для инокуляции стерильную дистиллированную воду. В процессе развития проростков выполнялось сравнение зараженных растений с контрольным образцом, проводилась регистрация проявления симптомов заболевания. На 22-й день после заражения отобрали образцы вегетативных частей растений и провели контроль наличия клеток патогена, используя ПЦР-анализ с праймерами AN7F/AN7R. Согласно полученным результатам ПЦР-анализа, во всех пробах растений (в том числе и бессимптомных) подтверждено наличие специфического для возбудителя бактериального ожога гороха продукта амплификации размером 272 пары оснований (п. о.). В результате исследования выявлена восприимчивость сортов гороха к бактериозу у сортов гороха Варяг, Алтайский усатый, Астронавт. В ходе исследования установлено, что наиболее подходящим кандидатом для селекции сорта, резистентного к *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, стал сорт Амброзия. Также подтверждена необходимость оценки развития симптомов заражения фитопатогеном в совокупности с молекулярно-генетическими методами выявления ДНК бактерии в растительных клетках для

Study of pea cultivars resistance to pea bacterial blight *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*

* IRINA M. IGNATIEVA¹, ALEKSANDRA S. BAKAEVA²

^{1,2} Federal State Budgetary Institution “All-Russian Plant Quarantine Center” (FGBU “VNIICR”), Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia, 140150

¹ ORCID 0000-0003-1047-0105, e-mail: babiraignirmi@ya.ru

² e-mail: asyaasya.asya214@gmail.com

ABSTRACT

Bacterial blight of pea is a main pea phytopathogen and is spread through seeds. In some countries, including those importing peas from Russia, *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* causing bacteriosis of some leguminous crops is included in quarantine lists. Introducing detection and identification methods of the pathogen and determining resistant cultivars have become important in strategies for maintaining the level of pea exports from Russia. For this purpose, during this work, pea cultivars were selected and tested for their resistance to the phytopathogen. Five pea cultivars were planted for research. After germination occurred in the 2–3 leaf phase, 10 plants of each cultivar were inoculated with a bacterial suspension at a concentration of 10⁶ CFU/ml. One plant was left as a negative control using sterile distilled water for inoculation. During the development of seedlings, infected plants were compared with a control sample, and the manifestation of disease symptoms was recorded. On the 22nd day after inoculation, samples of vegetative parts of the plants were taken and the presence of pathogen cells was monitored using PCR with primers AN7F/AN7R. According to the PCR results, in all plant samples (including asymptomatic ones), the presence of an amplification product with a size of 272 base pairs specific to the bacterial blight of peas pathogen was confirmed. As a result of the study, the susceptibility of pea cultivars to bacteriosis was revealed in the pea cultivars of Varyag, Altaisky Usatiy, Astronavt. The study determined that the most suitable cultivar for breeding, resistant to *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, was Ambrosia. The necessity of evaluating the development of phytopathogen infection symptoms together with molecular genetic methods for identifying bacterial DNA in plant

подтверждения резистентности сорта к бактериальному ожогу гороха.

Ключевые слова. Амплификация, инокуляция, ПЦР, резистентность, экспорт, фитопатогенная бактерия.

ВВЕДЕНИЕ



Pseudomonas syringae pv. *pisi* (Sackett) Young et al. – широко распространенный в РФ патоген гороха посевного (*Pisum sativum* L.), вызывает бактериальный ожог растений и передается через семена, ветром, дождевой водой, вредителями и при культивации посевов сельскохозяйственным оборудованием (Benlioglu et al., 2010; Hollaway, Bretag, 1995; Hollaway, Bretag, 1997; Hollaway et al., 2007; Masuda, Nishiyama, 2001). Изученное ранее влияние патогена на снижение урожайности зараженных растений гороха показало, что потери составляют от 24 до 47% (Roberts et al., 1996).

Зараженные растительные остатки гороха служат источником сохранения фитопатогена в поле в зимний период (Benlioglu et al., 2010; Hollaway, Bretag, 1995; Hollaway, Bretag, 1997; Hollaway et al., 2007; Masuda, Nishiyama, 2001). Зараженные бактерией семена гороха являются важным способом распространения и сохранения фитопатогена (Alfered, 2005; Grondeau et al., 1993; Grondeau et al., 1996; Lawyer, Chun, 2001).

Распространяясь с посевным материалом, зараженным фитопатогеном в латентном состоянии, бактериоз значительно расширил свой ареал за последние годы. В регионе Евразийского экономического союза (ЕАЭС) отмечены неоднократные выявления фитопатогена в подкарантинном материале, импортированном из других стран (Сирия, Венгрия, Италия) (Игнатьева и др., 2021; CAB International. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (bacterial: pea blight), 2022). Бактериальный ожог гороха – угроза стабильному производству продовольственной сельскохозяйственной культуры, значимой во всем мире.

Фитопатоген включен в перечни карантинных объектов ряда стран – импортеров гороха из РФ (Бангладеш, Иран, Китай, Пакистан, Сирия, Турция) (АБ Центр, 2021; ФГБУ «Центр Агроаналитики», 2022; Benlioglu et al., 2010; EPPO Global Database; EPPO Global Database. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (PSDMPI); CAB International. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (bacterial: pea blight), 2022). По результатам анализа данных о распространении возбудителя бактериального ожога в Ленинградской, Московской, Ярославской, Кировской, Воронежской, Курской, Ростовской, Самарской областях, в Краснодарском, Алтайском и Красноярском краях, в Республике Алтай, в Республике Тыва экспортный потенциал регионов может быть ограничен (Лазарев и др., 2015; Лазарев и др., 2017).

cells to confirm the resistance of a cultivar to pea bacterial blight was also confirmed.

Key words. Amplification, inoculation, PCR, resistance, export, phytopathogenic bacterium.

INTRODUCTION



Pseudomonas syringae pv. *pisi* (Sackett) Young et al. is a widely spread in the Russian Federation pea pathogen (*Pisum sativum* L.), causing bacterial blight and transmitted through seeds, with wind, rain water, pests and agricultural equipment when cultivating crops (Benlioglu et al., 2010; Hollaway, Bretag, 1995; Hollaway, Bretag, 1997; Hollaway et al., 2007; Masuda, Nishiyama, 2001). The previously studied effect of the pathogen on reducing the yield of infected pea plants showed that losses range from 24 to 47% (Roberts et al., 1996).

Infected pea plant remains serve as a source of persistence of the phytopathogen in the field during the winter period (Benlioglu et al., 2010; Hollaway, Bretag, 1995; Hollaway, Bretag, 1997; Hollaway et al., 2007; Masuda, Nishiyama, 2001). Bacteria-infected pea seeds are an important way of spreading and maintaining the phytopathogen (Alfered, 2005; Grondeau et al., 1993; Grondeau et al., 1996; Lawyer, Chun, 2001).

Spreading with seeds infected with a latent phytopathogen, bacteriosis has significantly expanded its range in recent years. In the region of the Eurasian Economic Union (EAEU), repeated phytopathogen detections were noted in regulated material imported from other countries (Syria, Hungary, Italy) (Ignatieva et al., 2021; CAB International. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (bacterial: pea blight), 2022). Bacterial blight of pea is a threat to the sustainable production of the globally important food crop.

The phytopathogen is included in the quarantine pest lists of some countries importing peas from the Russian Federation (Bangladesh, Iran, China, Pakistan, Syria, Turkey) (AB Center, 2021; Federal State Budgetary Institution “Agroanalytics Center”, 2022; Benlioglu et al., 2010; EPPO Global Database; EPPO Global Database. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (PSDMPI); CAB International. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (bacterial: pea blight), 2022). According to the results of the data analysis on the spread of bacterial blight of pea pathogen in Leningrad Oblast, Moscow Oblast, Yaroslavl Oblast, Kirov Oblast, Voronezh Oblast, Kursk Oblast, Rostov Oblast, Samara Oblast, in Krasnodar Krai, Altai Krai and Krasnoyarsk Krai, in the Altai Republic, in the Tyva Republic, the export potential of the regions may be limited (Lazarev et al., 2015; Lazarev et al., 2017).

В настоящее время нет эффективных химических средств защиты вегетирующих растений или обеззараживания семян. Уровень зараженности семян гороха данным патогеном, выше которого заболевание начинает распространяться, составляет всего 0,02%, поэтому использование здорового посевного материала является важным аспектом стратегии борьбы с распространением бактериоза (ISHI-Veg, 2020a; ISHI-Veg, 2020b; Grondeau et al., 1996; Roberts, 1992; Roberts et al., 1996). Важную роль в системе борьбы с данной бактерией играет проведение посева только здоровыми (без скрытой бактериальной инфекции) и качественными (полноценными, крупными, выровненными) семенами апробированных сортов, характеризующихся высокой устойчивостью или толерантностью к заболеванию (Лазарев и др., 2015).

Хотя иммунных к опасным патогенам и фитофагам сортов гороха пока не существует, выращивание устойчивых и толерантных к вредителям и болезням сортов, приспособленных к местным почвенно-климатическим условиям, позволяет снизить применение химических средств защиты и сохранить полезную биоту в агроценозах (Зотиков, 2015). Целью исследования стало изучение устойчивости среднеспелых сортов гороха к патогену. В дальнейшем результаты этой работы могут быть использованы в качестве альтернативной стратегии борьбы с фитопатогеном.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Список официально зарегистрированных сортов гороха (Государственный реестр селекционных достижений, 2021), отобранных для изучения устойчивости к *P. syringae* pv. *pisi*, приведен в табл. 1.

Семена гороха были получены от оригинаторов сортов и предварительно были протестированы на зараженность фитопатогенами в ходе контрольного высева в провокационных условиях (данные не приведены). Семена гороха предварительно замачивали в дистиллированной воде в течение суток, после чего проводили посев. Каждое семя помещали в отдельную ячейку кассеты для рассады емкостью 90 мл, в качестве грунта использовали готовую смесь из верхового и низинного торфа, речного песка, известняковой доломитовой муки и нитроаммофосфата в качестве комплексного удобрения. Грунт также был предварительно протестирован на отсутствие фитопатогенов, вредителей и токсичных веществ путем пробного посева тест-культуры салата.

На протяжении всего опыта растения находились в постоянных условиях: продолжительность освещения – 16 ч, температура – 25–27 °C, относительная влажность воздуха – 55–70%.

Заражение растений проводили в фазе 2–3 настоящих листьев 24-часовой культурой штамма CFBP 2105 *P. syringae* pv. *pisi*, выращенной на питательном агаре Кинга Б (Методические рекомендации, 2022) при 28 °C. Для заражения каждого растения использовали 10 мкл бактериальной суспензии в концентрации 10⁶ КОЕ/мл (Игнатьева и др., 2021; ОФС.1.7.2.0008.15, 2018). Метод заражения заключался в несквозном прокалывании основания листа и нанесении с помощью дозатора капли суспензии на место прокола (Martín-Sanz et al.,

Currently, there are no effective chemical means of protecting vegetative plants or disinfecting seeds. The level of pea seeds contamination with this pathogen, above which the disease begins to spread, is only 0.02%, so the use of healthy seed material is an important aspect of the strategy to control the bacteriosis spreading (ISHI-Veg, 2020a; ISHI-Veg, 2020b; Grondeau et al., 1996; Roberts, 1992; Roberts et al., 1996). An important role in the system of controlling this bacterium is played by sowing only healthy (without hidden bacterial infection) and high-quality (full-fledged, large, aligned) seeds of proven cultivars, characterized by high resistance or tolerance to the disease (Lazarev et al., 2015).

Although there are no pea cultivars immune to dangerous pathogens and phytophages, the cultivation of resistant and tolerant cultivars to pests and diseases, adapted to local soil and climatic conditions, makes it possible to reduce the use of chemical protection means and preserve beneficial biota in agroecosystems (Zotikov, 2015). The purpose of the work was to study the resistance of mid-season pea cultivars to the pathogen. In the future, the results can be used as an alternative strategy for controlling the phytopathogen.

MATERIALS AND METHODS

The list of officially registered pea cultivars (State Register of Breeding Achievements, 2021), selected for studying resistance to *P. syringae* pv. *pisi*, is given in Table 1.

Pea seeds were obtained from the cultivar originators and were previously tested for infection with phytopathogens during control sowing under provocative conditions (data not shown). Pea seeds were pre-soaked in distilled water for 24 hours and then sown. Each seed was placed in a separate 90 ml seedling container cell; a ready-made mixture of high-moor and low-lying peat, river sand, limestone dolomite flour and nitroammophosphate as a complex fertilizer was used as soil. The soil was also pre-tested for the absence of phytopathogens, pests and toxic substances by test sowing of a lettuce test culture.

Throughout the experiment, the plants were kept under constant conditions: lighting duration – 16 hours, temperature – 25–27 °C, relative air humidity – 55–70%.

Plants were infected in the phase of 2–3 true leaves with a 24-hour culture of *P. syringae* pv. *pisi* strain CFBP 2105, grown on King B nutrient agar (Guidelines, 2022) at 28 °C. To infect each plant, 10 µl of a bacterial suspension was used at a concentration of 10⁶ CFU/ml (Ignatieva et al., 2021; OFS.1.7.2.0008.15, 2018). The infection method consisted of a blind piercing of the leaf base and applying a drop of suspension to the puncture using a dispenser (Martín-Sanz et al., 2012; Ignatieva et al., 2021; Ignatieva et al., 2022). Sterile distilled water was used as a negative control. Plants infected with *P. syringae* pv. *pisi* were spatially isolated from negative control plants. Observations of plants were carried out daily for 21 days from the moment

Табл. 1. Сорты гороха, использованные в работе

№ п/п	Сорт гороха	Код сорта	Год регистрации	Оригинатор	Характеристика сорта
1	Варяг	9703799	2001	ФГБНУ «Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий», Россия	среднеспелый, неосыпающийся, безлисточковый
2	Алтайский усатый	9154537	2012	ФГБНУ «Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий», Россия	среднеспелый, детерминантный, неосыпающийся, безлисточковый
3	Астронавт	8853989	2015	Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG, Германия	среднеспелый, безлисточковый
4	Амброзия	9463673	2009	Научно-производственная фирма «Поиск», Россия	среднеспелый, сахарный, садово-огородный
5	Алтайский изумруд	9810093	2003	ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства», Россия	среднеспелый, консервный, для товарного производства

Table 1. Pea cultivars used in this study

№	Pea cultivar	Cultivar code	Record year	Originator	Cultivar characteristics
1	Varyag	9703799	2001	Federal State Budgetary Institution "Federal Altai Scientific Center of Agrobiotechnologies", Russia	mid-season, non-shattering, leafless
2	Altaysky Usatiy	9154537	2012	Federal State Budgetary Institution "Federal Altai Scientific Center of Agrobiotechnologies", Russia	mid-season, determinate, non-shattering, leafless
3	Astronavt	8853989	2015	Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG, Germany	mid-season, leafless
4	Ambrosia	9463673	2009	Research and production company "Poisk", Russia	mid-season, sugar, garden
5	Altaysky izumrud	9810093	2003	Federal State Budgetary Institution "Federal Scientific Center for Vegetable Growing", Russia	mid-season, can, for commercial production

2012; Игнатьева и др., 2021; Игнатьева и др., 2022). В качестве отрицательного контроля использовали стерильную дистиллированную воду. Растения, зараженные *P. syringae* pv. *pisi*, пространственно изолировали от растений отрицательного контроля. Наблюдения за растениями проводили ежедневно в течение 21 дня с момента их инокуляции суспензией возбудителя бактериоза.

Для подтверждения факта заражения проводили отбор и подготовку аналитических проб для ПЦР-анализа на 11-й день после инокуляции. Пробы брали от каждого из 10 зараженных растений и от растения, представляющего собой отрицательный контроль.

В случае появления типичных симптомов болезни для подтверждающего анализа отбирали с помощью скальпеля или ножниц фрагменты ткани, расположенные на стыке здорового и пораженного участков. При отсутствии симптомов отбор фрагментов проводили не менее чем из 10 разных участков образца (стебля, черешков листьев и центральных жилок). Для установления оптимальной массы навески брали аналитические пробы весом от 2,0 до 3,0 граммов и помещали в контейнер для сбора биологического материала с крышкой. К пробе добавляли от 30 до 45 мл фосфатного буфера. Мацерацию растительной ткани осуществляли на орбитальном шейкере при 200 об/мин в течение 40 мин. Полученный мацерат фильтровали через бумажный фильтр «Синяя лента» в центрифужную пробирку объемом 50 мл. Концентрацию фильтрата проводили путем центрифугирования в течение 10 мин при 10 000 об/мин при температуре от 4 до 10 °C (Ignatyeva et al., 2021). Супернатант осторожно удаляли, а осадок ресуспендировали в 1 мл фосфатно-солевого буфера. Полученный

of their inoculation with a suspension of the bacteriosis pathogen.

To confirm the fact of infection, analytical samples were collected and prepared for PCR on the 11th day after inoculation. Samples were taken from each of the 10 infected plants and from a negative control plant.

If typical disease symptoms appeared, tissue fragments located at the junction of the healthy and affected areas were selected for confirmatory analysis using a scalpel or scissors. In the absence of symptoms, fragments were collected from at least 10 different parts of the sample (stem, leaf petioles, and central veins). To establish the optimal weight of the sample, analytical samples from 2.0 to 3.0 grams were taken and placed in a container for collecting biological material with a lid. From 30 to 45 ml of phosphate buffer was added to the sample. Maceration of plant tissue was carried out on an orbital shaker at 200 rpm for 40 minutes. The resulting macerate was filtered through a Blue Ribbon filter paper into a 50 ml centrifuge tube. The concentration of the filtrate was carried out by centrifugation for 10 min at 10,000 rpm at a temperature of 4 to 10 °C (Ignatyeva et al., 2021). The supernatant was carefully removed, and the pellet was resuspended in 1 ml of phosphate-buffered saline. The resulting plant extract was transferred into a sterile Eppendorf microtube with a volume of 2 ml (Methodological guidelines, 2022).

From each sample of the obtained plant extract and from a suspension of pure *P. syringae* pv. *pisi* culture



Рис. 1. Стадия развития гороха в момент заражения штаммом CFBP 2105 *P. syringae* pv. *pisi*: 1 – сорт Варяг; 2 – сорт Алтайский усатый; 3 – сорт Астронавт; 4 – сорт Амброзия; 5 – сорт Алтайский изумруд (фото И.М. Игнатевой)

Fig. 1. Stage of pea development at the time of *P. syringae* pv. *pisi* strain CFBP 2105 infection: 1 – Varyag cultivar; 2 – Altaisky Usatiy cultivar; 3 – Astronavi cultivar; 4 – Ambrosia cultivar; 5 – Altaisky izumrud cultivar (photos by I.M. Ignatieva)

растительный экстракт переносили в стерильную микропробирку типа Eppendorf объемом 2 мл (Методические рекомендации, 2022).

От каждой пробы полученного растительного экстракта и от суспензии чистой культуры *P. syringae* pv. *pisi*, взятой в качестве внутреннего положительного контроля, отбирали по 200 мкл и использовали их для выделения ДНК с помощью набора «Проба-ГС» согласно инструкции производителя (ООО «АгроДиагностика», Россия). Выделенную ДНК доводили с помощью спектрофотометра NanoDrop ND-2000 (Thermo Fisher Scientific, США) до примерно равной концентрации (2–20 нг/мкл), оптимальной для проведения ПЦР (Игнатьева и др., 2022), и выполняли амплификацию со специфичными для *P. syringae* pv. *pisi* праймерами AN7F/AN7R (Arnold et al., 1997). В исследовании использовали олигонуклеотиды и ПЦР-буферы («5X ScreenMix-HS», синтезированные в ООО «Евроген» (Россия), или «5X Mas^{DD}TaqMIX-2025», синтезированные в ЗАО «Диалат Лтд.» (Россия)), в соотношениях согласно оптимизированному протоколу, описанному ранее (Arnold et al., 2011; Martín-Sanz et al., 2011; Qing et al., 2016; Игнатьева, Словарева, 2021).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Состояние растений гороха в фазе 2–3 листьев на момент заражения *P. syringae* pv. *pisi* представлено на рис. 1.

Первые симптомы заболевания были отмечены на 7-е сутки после заражения на сорте Варяг на нижних листьях в виде увядания. На 9-е сутки после заражения были отмечены симптомы заболевания на сортах Алтайский усатый и Алтайский изумруд в виде изменения окраски нижних листьев. На 11-е сутки после заражения симптомы заболевания были отмечены на сорте Астронавт на нижних листьях в виде увядания. На растениях гороха сорта Амброзия на эту дату внешних проявлений признаков болезни отмечено не было (см. рис. 2).

На растениях, инокулированных стерильной дистиллированной водой, отсутствовали признаки заболевания (см. рис. 3).

taken as an internal positive control, 200 µl were taken and used for DNA extraction using the Proba-GS kit according to the manufacturer's instructions (AgroDiagnostics, Russia). The isolated DNA was adjusted using a NanoDrop ND-2000 spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, USA) to approximately equal concentration (2–20 ng/µl), optimal for PCR (Ignatieva et al., 2022), and amplification was carried out with specific for *S. syringae* pv. *pisi* primers AN7F/AN7R (Arnold et al., 1997). The study used oligonucleotides and PCR buffers (5X ScreenMix-HS, synthesized at Evrogen (Russia), or 5X Mas^{DD}TaqMIX-2025, synthesized at Dialat Ltd. (Russia)), in proportions according to the optimized protocol described previously (Arnold et al., 2011; Martín-Sanz et al., 2011; Qing et al., 2016; Ignatieva, Slovareva, 2021).

RESULTS AND DISCUSSION

The state of pea plants in the 2–3 leaf phase at the time of infection with *P. syringae* pv. *pisi* is presented in Fig. 1.

The first disease symptoms were noted on the 7th day after infection on the Varyag cultivar on the lower leaves in the form of wilting. On the 9th day after infection, disease symptoms were noted on the Altaisky Usatiy and Altaisky izumrud cultivars in the form of a color change of the lower leaves. On the 11th day after infection, disease symptoms were noted on the Astronavi cultivar on the lower leaves in the form of wilting. On the Ambrosia cultivar plants, no external disease symptoms were noted until now (see Fig. 2).

No disease symptoms were recorded on plants inoculated with sterile distilled water (see Fig. 3).

As a result of PCR with primers AN7F/AN7R for DNA samples isolated from inoculated plants, products with a length of 272 base pairs (bp) were obtained, which corresponded to the positive amplification control, for which was used *P. syringae* pv. *pisi*



Рис. 2. Симптомы на листьях гороха через 7–11 суток после заражения штаммом CFBP 2105 *P. syringae* pv. *pisii*: 1 – сорт Варяг; 2 – сорт Алтайский усатый; 3 – сорт Астронавт; 4 – сорт Амброзия; 5 – сорт Алтайский изумруд (фото А.С. Бакаевой)

Fig. 2. Symptoms on pea leaves after 7–11 days after infection with the *P. syringae* pv. *pisii* strain CFBP 2105: 1 – Varyag cultivar; 2 – Altaisky Usatiy cultivar; 3 – Astronavt cultivar; 4 – Ambrosia cultivar; 5 – Altaisky izumrud cultivar (photos by A.S. Bakaeva)



Рис. 3. Контрольные растения гороха, инокулированные стерильной дистиллированной водой: 1 – сорт Варяг; 2 – сорт Алтайский усатый; 3 – сорт Астронавт; 4 – сорт Амброзия; 5 – сорт Алтайский изумруд (фото И.М. Игнатевой)

Fig. 3. Control pea plants inoculated with sterile distilled water: 1 – Varyag cultivar; 2 – Altaisky Usatiy cultivar; 3 – Astronavt cultivar; 4 – Ambrosia cultivar; 5 – Altaisky izumrud cultivar (photos by I.M. Ignatieva)

В результате проведенной ПЦР с праймерами AN7F/AN7R для образцов ДНК, выделенных из инокулированных растений, получены продукты длиной 272 п. о., что соответствовало положительному контролю амплификации, в качестве которого использовали ДНК *P. syringae* pv. *pisii*. Для всех образцов и внутреннего положительного контроля в результате проведения ПЦР были получены продукты амплификации длиной 714 п. о. (см. рис. 4).

Полученные результаты ПЦР позволяют сделать вывод о том, что возбудитель бактериального ожога гороха через 11 суток после заражения присутствовал во всех сортах гороха, инокулированных бактериальной суспензией, несмотря на то, что растения сорта Амброзия не проявляли внешних признаков заражения фитопатогеном.

В течение последующих 10 суток после подтверждения заражения методом ПЦР отмечали развитие заболевания на инокулированных растениях гороха. На 21-е сутки на зараженных растениях сорта Амброзия наблюдали наличие симптомов в виде увядания нижних листьев, хлорозов и краевых ожогов белого цвета (см. рис. 5).

DNA. For all samples and internal positive control, PCR resulted in amplification products of 714 bp (see Fig. 4).

The PCR results obtained allow to conclude that the pathogen of bacterial blight of pea was present in all pea cultivars inoculated with a bacterial suspension 11 days after infection, despite the fact that Ambrosia cultivar plants did not show external signs of infection with the phytopathogen.

Over the next 10 days after PCR-confirmed infection, the disease on inoculated pea plants was noted to develop. On the 21st day, the symptom in the form of lower leaves wilting, chlorosis and white marginal burns was observed on the infected Ambrosia cultivar plants (see Fig. 5).

Wilting of 30 plants was recorded, which led to the death of 18 plants; 20 plants out of 50 infected did not show symptoms (see Table 2).

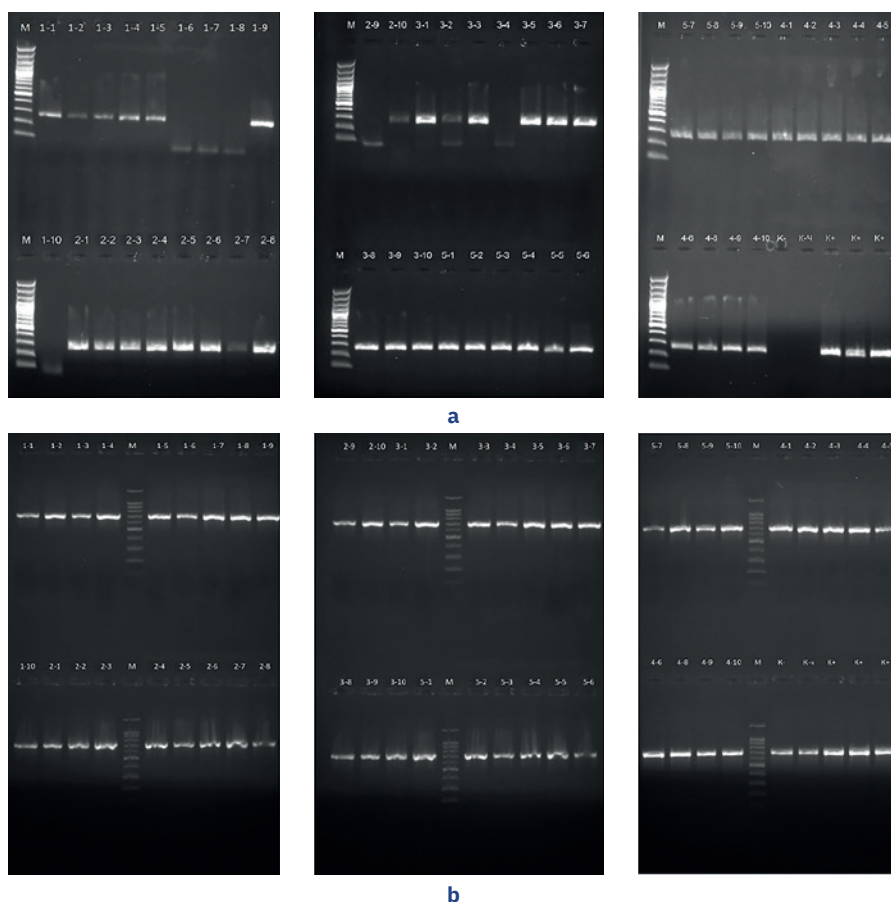


Рис. 4. Электрофореграмма, демонстрирующая результат ПЦР с праймерами AN7F/AN7R (а) и внутренний положительный контроль (б). 1 – сорт Варяг; 2 – сорт Алтайский усатый; 3 – сорт Астронавт; 4 – сорт Амброзия; 5 – сорт Алтайский изумруд; K+ – положительный контроль амплификации; K- – отрицательный контроль амплификации; K-ч – отрицательный контроль чистой зоны. 1 деление маркера генетического веса GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder ready-to-use (Thermo Fisher Scientific, США) (M) = 100 п. о.

Fig. 4. Electropherogram showing the PCR result with primers AN7F/AN7R (a) and internal positive control (b). 1 – Varyag cultivar; 2 – Altaisky Usatiy cultivar; 3 – Astronavt cultivar; 4 – Ambrosia cultivar; 5 – Altaisky izumrud cultivar; K+ – positive amplification control; K- – negative amplification control; K-ч – negative clean zone control. 1 genetic weight marker division GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder ready-to-use (Thermo Fisher Scientific, США) (M) = 100 bp

Отмечено увядание 30 растений, которое привело к гибели 18 растений, у 20 растений из 50 зараженных симптомы не проявлялись (см. табл. 2).

В результате исследования выявлена повышенная восприимчивость к бактериальной инфекции у сортов гороха Варяг, Алтайский усатый, Астронавт. Растения имели выраженные симптомы заболевания, приводящие к снижению вегетативной массы, увяданию и гибели растения. Данные сорта могут быть рекомендованы в качестве растений для инокуляции при подтверждении вирулентности изолятов *P. syringae* pv. *pisi* в ходе бактериологических исследований с помощью теста на патогенность.

На сорте Амброзия не проявлялись симптомы заболевания через 11 суток после инокуляции, и ни одно растение этого сорта не погибло через 21 день после заражения несмотря на то, что гибель растений других сортов составила от 30 до 50%. В дальнейшем сорт Амброзия предлагается к применению в селекции в качестве донора устойчивости при селекции новых сортов и для выявления генов устойчивости к этому фитопатогену.

The study revealed increased susceptibility to bacterial infection in the pea cultivars Varyag, Altaisky Usatiy, and Astronavt. The plants had pronounced disease symptoms leading to a decrease in vegetative mass, wilting and death. These cultivars can be recommended as plants for inoculation should the virulence of *P. syringae* pv. *pisi* isolates be confirmed during bacteriological studies using a pathogenicity test.

The Ambrosia cultivar did not show disease symptoms for 11 days after inoculation, and not a single plant of this cultivar died 21 days after the infection, despite the fact that the death rate of other cultivars ranged from 30 to 50%. In the future, the Ambrosia cultivar is proposed for use in breeding as a donor of resistance in the selection of new cultivars and for identifying genes for resistance to this phytopathogen.

CONCLUSION

The disease symptoms were determined on inoculated plants of five mid-season pea cultivars. The presence of the phytopathogen in infected plants was confirmed using PCR. The size of DNA fragments specific for the bacterial blight of pea pathogen when using PCR with primers AN7F/AN7R was 272 bp. The cultivars most susceptible to the phytopathogen (Varyag, Altaisky Usatiy and Astronavt) are recommended

for use when confirming the virulence of bacterial blight of pea isolates. Based on the results of the disease development analysis on infected plants and PCR tests, the Ambrosia cultivar was identified as promising for use in breeding for resistance to bacterial blight of pea.

REFERENCES

1. Area and harmfulness zones of bacterial blight of pea (scientific and analytical review) [Areal i zony vredenosti bakterialnogo ozhoga gorokha (nauchno-analiticheskiy obzor)] / Lazarev A.M., Korobov V.A., Nadtochiy I.N., Mysnik E.N. // Scientific bulletins. Series "Natural Sciences". 2015; 15 (212): 29–35. (in Russ.)
2. Areas and zones of harmfulness of main plant bacterioses of plants on territory of Russia and neighboring countries [Areal i zony vredenosti



Рис. 5. Симптомы на листьях гороха на 21-е сутки после заражения штаммом CFBP 2105 *P. syringae* pv. *lisi*: 1 – сорт Варяг; 2 – сорт Алтайский усатый; 3 – сорт Астронавт; 4 – сорт Амброзия; 5 – сорт Алтайский изумруд (фото А.С. Бакаевой)

Fig. 5. Symptoms on pea leaves on the 21st day after infection with the *P. syringae* pv. *lisi* strain CFBP 2105: 1 – Varyag cultivar; 2 – Altaisky Usatiy cultivar; 3 – Astronavt cultivar; 4 – Ambrosia cultivar; 5 – Altaisky izumrud cultivar (photos by A.S. Bakaeva)

Табл. 2. Проявление симптомов бактериального ожога гороха после заражения штаммом CFBP 2105 *P. syringae* pv. *lisi* на 21-й день после заражения

Сорт	Номер растения											Проявление симптомов, %	Гибель, %
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	К-		
Варяг	ур, г	ур	б/с	ур, г	ур, г	б/с	б/с	б/с	ур, г	ур, г	б/с	60,0	50,0
Алтайский усатый	ур, г	ур, г	ур, г	ур, г	ур, г	ур	б/с	ур	б/с	б/с	б/с	70,0	50,0
Астронавт	ур	б/с	ур	б/с	ур	ур, г	ур, г	ур, г	ур, г	ур, г	б/с	80,0	50,0
Амброзия	ур	б/с	б/с	б/с	ур	б/с	б/с	б/с	б/с	ур	б/с	30,0	–
Алтайский изумруд	б/с	ур	б/с	ур, г	ур, г	ур, г	б/с	б/с	ур	ур	б/с	60,0	30,0

Примечание: ур – увядание растений; г – гибель растений; б/с – растения без симптомов.

Table 2. Manifestation of bacterial blight of pea symptoms after infection with the *P. syringae* pv. *lisi* strain CFBP 2105 on the 21st day after infection

Cultivar	Plant number											Symptoms manifestation, %	Death, %
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	K-		
Varyag	pw, d	pw	w/s	pw, d	pw, d	w/s	w/s	w/s	pw, d	pw, d	w/s	60.0	50.0
Altaisky Usatiy	pw, d	pw, d	pw, d	pw, d	pw, d	pw	w/s	pw	w/s	w/s	w/s	70.0	50.0
Astronavt	pw	w/s	pw	w/s	pw	pw, d	pw, d	pw, d	pw, d	pw, d	w/s	80.0	50.0
Ambrosia	pw	w/s	w/s	w/s	pw	w/s	w/s	w/s	w/s	pw	w/s	30.0	–
Altaisky izumrud	w/s	pw	w/s	pw, d	pw, d	pw, d	w/s	w/s	pw	pw	w/s	60.0	30.0

Note: pw – plant wilting; d – death; w/s – plants without symptoms.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Определены симптомы заболевания на инокулированных растениях пяти среднеспелых сортов гороха. Наличие фитопатогена в зараженных растениях подтверждено с помощью ПЦР-анализа. Размер специфичных для возбудителя бактериального ожога гороха фрагментов ДНК при применении ПЦР с праймерами AN7F/AN7R составил 272 п. о. Сорта, наиболее восприимчивые к фитопатогену (Варяг, Алтайский усатый и Астронавт), рекомендованы к использованию при подтверждении вирулентности изолятов бактериального ожога гороха. По результатам анализа развития болезни на зараженных растениях и проведения ПЦР-тестов сорт Амброзия определен как перспективный для использования в селекции на устойчивость к бактериальному ожогу гороха.

osnovnykh bakteriozov rasteniy na territorii Rossii i sopredelnykh stran] / Lazarev A.M., Mysnik E.N., Varitsev Yu.A., Zaitsev I.A., Kozhemyakov A.P., Popov F.A., Volgarev S.A., Chebotar V.K. // Plant Protection News. Supplements. 2017: 24 p. (in Russ.)

3. State register of selection achievements approved for use. V. 1 “Plant cultivars” (official publication). M: FGBNU “Rosinformagrotekh”, 2021. 719 p. (in Russ.)

4. Zotikov V.I., Budarina G.A. Diseases of peas and the basic techniques of protecting the crop in Central Russia [Bolezni gorokha i osnovnyye priyemy

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ареал и зоны вредоносности бактериального ожога гороха (научно-аналитический обзор) / Лазарев А.М., Коробов В.А., Надточий И.Н., Мысник Е.Н. // Научные ведомости. Серия «Естественные науки». 2015. № 15 (212). С. 29–35.
2. Ареалы и зоны вредоносности основных бактериозов растений на территории России и сопредельных стран / Лазарев А.М., Мысник Е.Н., Варицев Ю.А., Зайцев И.А., Кожемяков А.П., Попов Ф.А., Волгарев С.А., Чеботарь В.К. // Вестник защиты растений. Приложения. 2017. 24 с.
3. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1 «Сорта растений» (официальное издание). М: ФГБНУ «Росинформагротех», 2021. 719 с.
4. Зотиков В.И., Бударина Г.А. Болезни гороха и основные приемы защиты культуры в условиях средней полосы России // Защита и карантин растений. 2015. № 5. С. 11–15.
5. Игнатьева И.М., Кононова Е.П., Доморацкая Д.А. Применение методов диагностики растительных экстрактов зернобобовых культур на наличие возбудителя бактериального ожога гороха // VIII Пущинская конференция «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов», Школа-конференция молодых ученых, аспирантов и студентов «Генетические технологии в микробиологии и микробное разнообразие»: Сборник тезисов докладов. Посвящается памяти выдающегося ученого-микробиолога Льва Владимировича Калакуцкого, Пущино, 06–08 декабря 2022 года / Под редакцией Т.А. Решетиловой. М: ООО «Издательство ГЕОС», 2022. С. 140–141. URL: <https://doi.org/10.34756/GEOS.2022.17.38328>.
6. Игнатьева И.М., Словарева О.Ю., Башкирова И.Г. Применение теста на патогенность в диагностике возбудителя бактериального ожога гороха // Фитосанитария. Карантин растений. 2021. № 3 (7). С. 40–46.
7. Игнатьева И.М., Словарева О.Ю. Применение метода ПЦР для идентификации возбудителя бактериального ожога гороха *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* в семенном и растительном материале зернобобовых культур // Сборник материалов 11-й Всероссийской конференции молодых ученых и специалистов «Актуальные вопросы биологии, селекции, технологии возделывания и переработки сельскохозяйственных культур». 2021. С. 182–186.
8. Методические рекомендации по выявлению и идентификации возбудителя бактериального ожога гороха *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (Sackett) Young et al. Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»). Быково, 2022. 47 с. Инв. № 60-2022 МР ВНИИКР.
9. ОФС.1.7.2.0008.15. Определение концентрации микробных клеток // Государственная фармакопея Российской Федерации: в 4 т. XIV издание. Москва, 2018. Т. 1.
10. Alfered S. Diseases of vegetable crops // Root rots, wilts, blights of peas. Schroeder W.T. (ed.). Bio- tech. Books. 2005. P. 25–26.
11. Benlioglu K., Özyilmaz Ü., Ertan D. First report of bacterial blight caused by *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* on pea in Turkey // Plant Disease. 2010. Vol. 94 (7). P. 923.
12. Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* from imported Canadian pea seeds / Qing Ch., Jun-ting Q., Zhen-ji L., Zhi-peng F., Fu-rong L., Hong-yun C., Jian-ping Y. // Acta Phytopathologica Sinica. 2016. Vol. 46 (2). P. 169–175.
13. Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* on Pea Seed. ISHI-Veg International Technical Group. 2020 a, b.
- zashchity kultury v usloviyakh sredney polosy Ros- sii) // Plant Protection and Quarantine. 2015; 5: 11–15. (in Russ.)
5. Ignatieva I.M., Kononova E.P., Domorat- skaya D.A. Application of methods for diagnosing plant extracts of leguminous crops for the presence of the causative agent of bacterial blight of pea [Primeneni- ye metodov diagnostiki rastitelnykh ekstraktov zer- nobobovykh kultur na nalichiey vozбудitelya bakteri- al'nogo ozhoga gorokha] // VIII Pushchino Conference “Biochemistry, Physiology and Biosphere Role of Mi- croorganisms”, School-Conference of Young Scientists, Postgraduates and Students “Genetic Technologies in Microbiology and Microbial Diversity”: Collection of Abstracts. Dedicated to the memory of the outstanding microbiologist Lev Vladimirovich Kalakutsky, Pushchi- no, December 06–08, 2022 / Edited by T.A. Reshetilo- va. M: LLC Publishing House GEOS, 2022. P. 140–141. URL: <https://doi.org/10.34756/GEOS.2022.17.38328>. (in Russ.)
6. Ignatieva I.M., Slovarova O.Yu., Bashkirova I.G. Using a pathogenicity test for the diagnosis of the bac- terial pea blight agent // Plant Health and Quarantine. 2021; 3 (7): 40–46.
7. Ignatieva I.M., Slovarova O.Yu. Application of the PCR method to identify the causative agent of bac- terial blight of peas *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* in seed and plant material of leguminous crops [Primeneniye metoda PTSR dlya identifikatsii vozбудitelya bakte- rialnogo ozhoga gorokha *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* v semennom i rastitelnom materiale zernobobovykh kultur] // Collection of materials of the 11th All-Russian Conference of Young Scientists and Specialists “To- pical Issues of Biology, Breeding, Technology of Cul- tivation and Processing of Agricultural Crops”. 2021: 182–186. (in Russ.)
8. Methodological recommendations for detect- ing and identifying the pathogen of bacterial blight of pea *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (Sackett) Young et al. Federal State Budgetary Institution “All-Russian Center for Plant Quarantine” (FGBU “VNIIEK”). Bykovo, 2022. 47 p. Inv. No. 60-2022 MR VNIIEK.
9. OFS.1.7.2.0008.15. Determination of the mi- crobial cell concentration / State Pharmacopoeia of the Russian Federation: in 4 volumes. XIV edition. Moscow, 2018. V. 1.
10. Alfered S. Diseases of vegetable crops // Root rots, wilts, blights of peas. Schroeder W.T. (ed.). Bio- tech. Books. 2005. P. 25–26.
11. Benlioglu K., Özyilmaz Ü., Ertan D. First re- port of bacterial blight caused by *Pseudomonas syrin- gae* pv. *pisi* on pea in Turkey // Plant Disease. 2010. Vol. 94 (7). P. 923.
12. Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* from imported Canadian pea seeds / Qing Ch., Jun- ting Q., Zhen-ji L., Zhi-peng F., Fu-rong L., Hong-yun C., Jian-ping Y. // Acta Phytopathologica Sinica. 2016. Vol. 46 (2). P. 169–175.
13. Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* on Pea Seed. ISHI-Veg International Technical Group. 2020 a, b.

12. Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* from imported Canadian pea seeds / Qing Ch., Junting Q., Zhen-ji L., Zhi-peng F., Fu-rong L., Hong-yun C., Jian-ping Y. // Acta Phytopathologica Sinica. 2016. Vol. 46 (2). P. 169–175.
13. Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* on Pea Seed. ISHI-Veg International Technical Group. 2020 a, b.
14. Epiphytic life is the main characteristic of the life cycle of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, pea bacterial blight agent / Grondeau C., Mabiala A., Ait-Oumeziane R., Samson R. // European Journal of Plant Pathology. 1996. Vol. 102 (4). P. 353–363.
15. Genetic, biochemical and pathogenic diversity of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* strains / Martín-Sanz A., Pérez de la Vega M., Murillo J., Caminero C. // Plant Pathology. 2012. Vol. 61. P. 1063–1072.
16. Grondeau C., Olivier V., Samson R. Detection de *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* dans les semences de pois: Méthodes, limites et controverses // Phytoma. 1993. Vol. 455. P. 45–47.
17. Hollaway G.J., Bretag T.W. Occurrence and distribution of races of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* in Australia and their specificity towards various field pea (*Pisum sativum*) cultivars // Australian Journal of Experimental Agriculture. 1995. Vol. 35. P. 629–632.
18. Hollaway G.J., Bretag T.W. Survival of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* in soil and on pea trash and their importance as a source of inoculum for a following field pea crop // Australian Journal of Experimental Agriculture. 1997. Vol. 37 (3). P. 369–375.
19. Hollaway G.J., Bretag T.W., Price T.V. The epidemiology and management of bacterial blight (*Pseudomonas syringae* pv. *pisi*) of field pea (*Pisum sativum*) in Australia: a review // Aust. J. Agric. Res. 2007. Vol. 58. P. 1086–1099.
20. Identification of pathovars and races of *Pseudomonas syringae*, the main causal agent of bacterial diseases in pea in North-Central Spain, and the search for resistance / Martín-Sanz A., Palomo J., Pérez de la Vega M., Caminero C. // European Journal of Plant Pathology. 2011. Vol. 129. P. 57–69.
21. Ignatyeva I.M., Karimova E.V., Prikhodko S.I. Diagnostics of the bacterial blight pathogen of bean *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* in plant and seed material of grain legumes using molecular genetics methods // Modern Synthetic Methodologies for Creating Drugs and Functional Materials (MOSM2020): Proceedings of the IV International Conference. Yekaterinburg, Russia, 2021. P. 030014. URL: <https://doi.org/10.1063/5.0068504>.
22. Lawyer A.S., Chun W. Foliar diseases caused by bacteria // Compendium of pea diseases. Kraft J.M., Pfleger F.L. (ed). St. Paul, M.N. USA, APS Press. 2001. P. 22–24.
23. Masuda Y., Nishiyama K. Occurrence of bacterial blight of pea caused by *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* // Journal of Phytopathology. 2001. Vol. 67. P. 206–207.
24. *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*: from 'has bean' to supermodel / Arnold D.L., Lovell H.C., Jackson R.W., Mansfield J.W. // Molecular Plant Pathology. 2011. Vol. 17. P. 617–627.
25. Roberts S.J. Effect of soil moisture on the transmission of pea bacterial blight (*Pseudomonas syringae* pv. *pisi*) from seed to seedling // Plant Pathology. 1992. Vol. 41. P. 136–140.
26. Specific oligonucleotide primers for the identification of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* yield one of
14. Epiphytic life is the main characteristic of the life cycle of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, pea bacterial blight agent / Grondeau C., Mabiala A., Ait-Oumeziane R., Samson R. // European Journal of Plant Pathology. 1996. Vol. 102 (4). P. 353–363.
15. Genetic, biochemical and pathogenic diversity of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* strains / Martín-Sanz A., Pérez de la Vega M., Murillo J., Caminero C. // Plant Pathology. 2012. Vol. 61. P. 1063–1072.
16. Grondeau C., Olivier V., Samson R. Detection de *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* dans les semences de pois: Méthodes, limites et controverses // Phytoma. 1993. Vol. 455. P. 45–47.
17. Hollaway G.J., Bretag T.W. Occurrence and distribution of races of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* in Australia and their specificity towards various field pea (*Pisum sativum*) cultivars // Australian Journal of Experimental Agriculture. 1995. Vol. 35. P. 629–632.
18. Hollaway G.J., Bretag T.W. Survival of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* in soil and on pea trash and their importance as a source of inoculum for a following field pea crop // Australian Journal of Experimental Agriculture. 1997. Vol. 37 (3). P. 369–375.
19. Hollaway G.J., Bretag T.W., Price T.V. The epidemiology and management of bacterial blight (*Pseudomonas syringae* pv. *pisi*) of field pea (*Pisum sativum*) in Australia: a review // Aust. J. Agric. Res. 2007. Vol. 58. P. 1086–1099.
20. Identification of pathovars and races of *Pseudomonas syringae*, the main causal agent of bacterial diseases in pea in North-Central Spain, and the search for resistance / Martín-Sanz A., Palomo J., Pérez de la Vega M., Caminero C. // European Journal of Plant Pathology. 2011. Vol. 129. P. 57–69.
21. Ignatyeva I.M., Karimova E.V., Prikhodko S.I. Diagnostics of the bacterial blight pathogen of bean *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* in plant and seed material of grain legumes using molecular genetics methods // Modern Synthetic Methodologies for Creating Drugs and Functional Materials (MOSM2020): Proceedings of the IV International Conference. Yekaterinburg, Russia, 2021. P. 030014. URL: <https://doi.org/10.1063/5.0068504>.
22. Lawyer A.S., Chun W. Foliar diseases caused by bacteria // Compendium of pea diseases. Kraft J.M., Pfleger F.L. (ed). St. Paul, M.N. USA, APS Press. 2001. P. 22–24.
23. Masuda Y., Nishiyama K. Occurrence of bacterial blight of pea caused by *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* // Journal of Phytopathology. 2001. Vol. 67. P. 206–207.
24. *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*: from 'has bean' to supermodel / Arnold D.L., Lovell H.C., Jackson R.W., Mansfield J.W. // Molecular Plant Pathology. 2011. Vol. 17. P. 617–627.
25. Roberts S.J. Effect of soil moisture on the transmission of pea bacterial blight (*Pseudomonas syringae* pv. *pisi*) from seed to seedling // Plant Pathology. 1992. Vol. 41. P. 136–140.
26. Specific oligonucleotide primers for the identification of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* yield one of

26. Specific oligonucleotide primers for the identification of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* yield one of two possible DNA fragments by PCR amplification: evidence of the phylogenetic divergence / Arnold D.L., Athey-Pollard A., Gibbon M.J., Taylor J.D., Vivian A. // Physiological and Molecular Plant Pathology. 1997. Vol. 51 (3). P. 213.

27. Transmission of pea bacterial blight (*Pseudomonas syringae* pv. *pisi*) from seed to seedling: effects of inoculum dose, inoculation method, temperature and soil moisture / Roberts S.J., Rzzidout M.S., Peach L., Brough J. // Journal of Applied Bacteriology. 1996. Vol. 81 (1). P. 65–72.

28. АБ Центр. Об экспорте гороха из России в 2001–2021 гг. [Электронный ресурс]. 2021. URL: <https://ab-centre.ru/news/ob-eksporte-goroha-iz-rossii-v-2001-2021-gg> (дата обращения: 15.02.2023).

29. ФГБУ «Центр Агроаналитики». Зерновые и зернобобовые, экспорт и импорт. Экспорт гороха из России в сезоне 2021/22 составил рекордные 1,4 млн т [Электронный ресурс]. 2022. URL: <https://specagro.ru/news/202208/eksport-gorokha-iz-rossii-v-2021-2022-selkhozgodu-sostavil-rekordnye-14-mln-t> (дата обращения: 15.02.2023).

30. EPPO Global Database [Электронный ресурс]. URL: <https://gd.eppo.int> (дата обращения: 10.05.2023).

31. EPPO Global Database. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (PSDMPI) [Электронный ресурс]. URL: <https://gd.eppo.int/taxon/PSDMPI/categorization> (дата обращения: 25.08.2023).

32. UK, CAB International. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (bacterial: pea blight) [Электронный ресурс]. 2022. URL: <https://doi.org/10.1079/cabicompendium.44988> (дата обращения: 25.08.2023).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Игнатьева Ирина Михайловна, научный сотрудник – заведующая лабораторией бактериологии и анализа ГМО ИЛЦ ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0003-1047-0105, e-mail: babiraignirmi@ya.ru.

Бакаева Александра Сергеевна, агроном лаборатории бактериологии и анализа ГМО ИЛЦ ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия; e-mail: asyaasya.asya214@gmail.com.

two possible DNA fragments by PCR amplification: evidence of the phylogenetic divergence / Arnold D.L., Athey-Pollard A., Gibbon M.J., Taylor J.D., Vivian A. // Physiological and Molecular Plant Pathology. 1997. Vol. 51 (3). P. 213.

27. Transmission of pea bacterial blight (*Pseudomonas syringae* pv. *pisi*) from seed to seedling: effects of inoculum dose, inoculation method, temperature and soil moisture / Roberts S.J., Ridout M.S., Peach L., Brough J. // Journal of Applied Bacteriology. 1996. Vol. 81 (1). P. 65–72.

28. AB Center. On the export of peas from Russia in 2001–2021 [Electronic resource]. 2021. URL: <https://ab-centre.ru/news/ob-eksporte-goroha-iz-rossii-v-2001-2021-gg> (last accessed: 15.02.2023).

29. Federal State Budgetary Institution “Agro-analytics Center”. Cereals and legumes, export and import. Pea exports from Russia in the 2021/22 season amounted to a record 1.4 million tons [Electronic resource]. 2022. URL: <https://specagro.ru/news/202208/eksport-gorokha-iz-rossii-v-2021-2022-selkhozgodu-sostavil-rekordnye-14-mln-t> (last accessed: 15.02.2023).

30. EPPO Global Database [Electronic resource]. URL: <https://gd.eppo.int> (last accessed: 10.05.2023).

31. EPPO Global Database. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (PSDMPI) [Electronic resource]. URL: <https://gd.eppo.int/taxon/PSDMPI/categorization> (last accessed: 25.08.2023).

32. UK, CAB International. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (bacterial: pea blight) [Electronic resource]. 2022. URL: <https://doi.org/10.1079/cabicompendium.44988> (last accessed: 25.08.2023).

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Irina Ignatieva, Researcher, Head of Bacteriology and GMO Analysis Laboratory, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0003-1047-0105, e-mail: babiraignirmi@ya.ru.

Aleksandra Bakaeva, Agronomist, Bacteriology and GMO Analysis Laboratory, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia; e-mail: asyaasya.asya214@gmail.com.