

СОЗДАНИЕ СОРТОВ РИСА, УСТОЙЧИВЫХ К ПИРИКУЛЯРИОЗУ, НА ОСНОВЕ ПРИМЕНЕНИЯ ДНК-ТЕХНОЛОГИЙ

Дубина Е. В.¹, Шиловский В. Н., Костылев П. И.,
Рубан М. Г., Оглы А. М.

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт риса
350921, Россия, Краснодар, пос. Белозерный, 3
e-mail: lenakrug1@rambler.ru

Болезни сельскохозяйственных культур являются основной причиной снижения урожайности и качества продукции. Пирикулярриоз (возбудитель *Pyricularia oryzae* Cav.) самое опасное заболевание на рисовых полях. Экономический ущерб, наносимый патогеном, значителен во всех зонах мирового рисосеяния. Наиболее эффективной, экономически оправданной и экологически щадящей стратегией борьбы с ним является создание устойчивых сортов. Актуально в данном направлении применение ДНК-маркеров, сцепленных с локусами устойчивости к пирикулярриозу. Это существенно сокращает селекционный процесс и позволяет в короткие сроки создавать устойчивые к заболеванию формы риса. Цель работы заключалась в интрогрессии эффективного на юге России гена расоспецифической устойчивости к пирикулярриозу *Pi-ta* в генотип высокопродуктивного сорта риса отечественной селекции Флагман для получения на его основе новых, резистентных к *P. oryzae* форм. Для достижения поставленной цели в 2007 году проведена гибридизация сорта Флагман с устойчивым к пирикулярриозу сортом IR-36, который имеет период вегетации более 150 дней. Однако для местной зоны рекомендуется возделывать сорта с периодом вегетации не более 125 дней. В связи с этим было проведено три беккросса и получен селекционный материал, который изучался по хозяйственно-ценным признакам в селекционных питомниках. По результатам молекулярной идентификации доминантного и рецессивного аллелей гена устойчивости *Pi-ta*, а также по данным фитопатологического теста выделилось несколько образцов с высокими показателями по качеству крупы, устойчивости к пирикулярриозу, урожайности и другим хозяйственно ценным признакам. В 2017 году высокоурожайный образец риса КП-171-14 с геном *Pi-ta*, адаптированный к условиям выращивания на юге России, устойчивый к краснодарской популяции патогена, а также имеющий высокое качество крупы, передан в Государственное сортоиспытание (ГСИ) под названием Альянс. Сорта Ленарис (КП-30) и Капитан (КП-23) переданы на ГСИ в 2018 году. Возделывание таких сортов в производстве позволит сократить применение химических средств защиты и избежать загрязнения зерновых экосистем.

Ключевые слова: рис, ПЦР, ген *Pi-ta*, селекция, молекулярные маркеры

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания НИОКР по теме № 0685-2018-0068 «Создать новые линии риса, устойчивые к пирикулярриозу, с использованием методов маркерной селекции. Получить синтетическую популяцию патогена *Pyricularia oryzae* Cav. с высокой спорулирующей способностью, состоящую из штаммов, выделенных из рисосеющих районов Краснодарского края».

Прозрачность финансовой деятельности: автор не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Конфликт интересов отсутствует.

Дубина Е. В., Шиловский В. Н., Костылев П. И., Рубан М. Г., Оглы А. М. Создание сортов риса, устойчивых к пирикулярриозу, на основе применения ДНК-технологий. Биотехнология и селекция растений. 2019; 2(1): 16-23. DOI: 10.30901/2658-6266-2019-1-16-23

Dubina E. V., Shilovsky V. N., Kostylev P. I., Ruban M. G., Ogly A. M. Development of blast-resistant rice varieties based on application of DNA technologies. Plant Biotechnology and Breeding. 2019; 2(1): 16-23. DOI: 10.30901/2658-6266-2019-1-16-23

Дубина Е. В. orcid.org/0000-0002-8010-0137
Костылев П. И. orcid.org/0000-0002-4371-6848

DEVELOPMENT OF BLAST-RESISTANT RICE VARIETIES BASED ON APPLICATION OF DNA TECHNOLOGIES

Dubina E. V.¹, Shilovsky V. N., Kostylev P. I.,
Ruban M. G., Ogly A. M.

¹ All-Russian Rice Research Institute
3, pos. Belozerny, Krasnodar, 350921, Russia
e-mail: lenakrug1@rambler.ru

Diseases of agricultural crops are the main reason for decreased yield and quality of product. Blast (causative agent: *Pyricularia oryzae* Cav.) is the most harmful disease on rice fields. Economic damage caused by the pathogen is significant in all areas of the world's rice cultivation. The most effective, economically justified and environmentally friendly strategy for combating it is development of resistant varieties. The application of DNA markers linked to loci of resistance to blast is relevant in this area. This makes it possible to significantly shorten the breeding process and promptly develop disease-resistant rice forms. In this regard, the aim of the work was to develop source material for breeding as well as highly productive rice varieties and lines with genes of resistance to blast based on the use of molecular marking method. To achieve this goal, we have launched a program since 2007 aimed at introduction of the blast resistance *Pi-ta* gene, effective for the south of Russia, into the domestic rice cultivar Flagman. After a number of recurrent crosses, the breeding material was obtained, which was studied for economically valuable traits in breeding nurseries. As a result of evaluation and rigorous discarding as well as according to the results of a phytopathological test for blast resistance, several lines were identified that have high indicators of milled rice quality, resistance to blast, yield and economically valuable traits. Rice accession KP-171-14 with the *Pi-ta* gene, adapted to growing conditions in the south of Russia, resistant to the Krasnodar population of *P. oryzae*, and having high yield and grain quality, in 2017 was submitted for State Variety Trials (SVT) under the name Alyans. Accessions KP-30 and KP-23 are tested for economically valuable traits and disease resistance in competitive variety trials. The best accession will be submitted to SVT. The introduction and cultivation of such varieties will reduce the use of chemical protection products, obtain environmentally friendly agricultural products and avoid contamination of grain ecosystems.

Keywords: rice, PCR, *Pi-ta*, breeding, molecular markers

УДК 18:632.488.42:575

Поступила в редакцию: 20.09.2018

Принята к публикации: 15.01.2019

Введение

В селекции растений, основанной на классических методах — гибридизации и отборе, в настоящее время широко используются методы молекулярного маркирования, которые позволяют идентифицировать целевые гены и отбирать желаемые генотипы, основываясь на ДНК-анализе (Cho et al., 1994; Jena et al., 2003). В мировой практике возникло такое направление, как маркер-опосредованная селекция (marker assisted selection — MAS). С ее помощью осуществляется молекулярно-генетическое сопровождение селекционного процесса, начиная с подбора исходного материала, наличия желательных генов и заканчивая паспортизацией нового сорта (Khavkin, 1997).

Для успеха MAS при идентификации целевых генов в гибридном материале важно свести к минимуму расстояние между маркером и геном, поэтому лучше использовать маркеры, расположенные в непосредственной близости к гену, в пределах 5 сМ (Ashkani et al., 2011). Кроме того, надежность маркерного отбора возрастает при использовании фланкирующих, окружающих ген с двух сторон, или внутригенных маркеров, напрямую идентифицирующих нужный аллель (Khavkin, 1997).

Маркеры, тесно сцепленные с целевым геном или локусом хромосомы, в котором такой ген находится, значительно облегчают селекционную работу и позволяют ускоренными темпами создавать генотипы, имеющие необходимые гены, в том числе гены резистентности к биотическим стрессовым факторам среды (Jena et al., 2003).

Пирикулярриоз считается одним из наиболее вредоносных заболеваний риса на всей территории возделывания данной культуры. В связи с этим создание устойчивых к пирикулярриозу сортов — важное направление селекции, наряду с повышением урожайности риса и качества зерна.

Гены устойчивости к заболеваниям защищают растения риса от грибной, бактериальной и вирусной угрозы, являясь первым уровнем сложной генетической защитной системы. Растения, несущие доминантный (или кодоминантный) ген устойчивости (R), реагируют на патогены, содержащие соответствующий ген авирулентности (AVR), запуская сигнальный трансдукционный путь, который активирует защитную систему (Frisch et al., 1999; Matsumura et al., 2003; Yu et al., 1996).

Идентификация генов устойчивости была начата еще в начале двадцатого века, когда Sasaki открыл физиологические расы *P. oryzae*, различающиеся по способности заражать сорта риса (Sasaki, 1922).

Первым изученным геном, придающим устойчивость к пирикулярриозу, был *Pi-a*, определенный Н. Shinoda (Shinoda et al., 1971). В дальнейшем широкое генетическое изучение привело к открытию 25 генов устойчивости к пирикулярриозу и подбору сортов риса, защищенных генами устойчивости, дифференциально взаимодействующими с изолятами патогена (George et al., 1998). К настоящему времени известно более 50 генов, контролирующих устойчивость. Среди них есть гены, имеющие более одного аллеля устойчивости. Например, пять аллелей известно в локусе *Pi-k* на 11 хромосоме, два — у *Pi-ta* локуса на хромосоме 12 (Kiyosawa, 1989) и два — в локусе *Pi-z* на хромосоме 6. В центромерном регионе шестой хромосомы также картированы такие гены устойчивости, как *Pi-9*, *Pi-40*, *Pi-13*, *Pi-z*, *Pi-zt* и др.; в одиннадцатой — *Pi-a*, *Pi-1*, *Pi-18*, *Pi-k*, *Pi-kh* и др.; в двенадцатой хромосоме идентифицированы гены *Pi-4a* (t), *Pi-4b* (t), *Pi-6* (t) и *Pi-12* (t) (Bonman et al., 1992).

Для успешной селекции на устойчивость к данному заболеванию у селекционера в первую очередь должны быть информация об эффективных генах устойчивости для местной зоны возделывания культуры риса, а также сведения о биоразнообразии *P. oryzae* (Dubina et al., 2015).

Согласно нашим исследованиям, ген расоспецифической устойчивости к пирикулярриозу *Pi-ta* эффективен на юге России (Dubina et al., 2017; Kharchenko et al., 2017). Он хорошо изучен и секвенирован (Cho et al., 1994). Ген локализован в центромерном регионе двенадцатой хромосомы; он кодирует полипептид длиной 928 аминокислотных остатков и молекулярной массой 105 кДа (Jena et al., 2003). Сотрудниками нашей лаборатории разработана маркерная система, позволяющая идентифицировать ген *Pi-ta* в гибридных растениях (Myagkih, 2009). В 2016 году сотрудниками института сельскохозяйственной биотехнологии (г. Москва) был разработан внутригенный молекулярный маркер, напрямую идентифицирующий целевой ген, а также его аллельное состояние (Shilov et al., 2016).

Целью работы было введение эффективного на юге России гена расоспецифической устойчивости к пирикулярриозу *Pi-ta* в генотип высокопродуктивного сорта риса отечественной селекции Флагман для получения на его основе новых резистентных форм.

Материалы и методы

Донором для введения гена устойчивости к пирикулярриозу в сорт риса Флагман (материнская форма) стал сорт зарубежной селекции IR-36. В условиях Краснодарского края он показал себя как позднеспелый (период вегетации 155 дней). В местной зоне рисосеяния предпочтительно возделывание сортов, созревающих не более чем за 125 дней, поэтому материнская форма для гибридизации была высажена в три срока, с разницей в 10 дней, тем самым увеличивая вероятность совпадения периодов цветения родительских форм. При гибридизации растений использовали пневмокастрацию материнских форм и опыление «ТВЕЛЛ»-методом (Los, 1987). Растения выращивали в камерах искусственного климата.

Для контроля наличия, а также аллельного состояния гена *Pi-ta* в гибридных растениях использовали

кодминантный внутригенный молекулярный маркер, позволяющий идентифицировать доминантный и рецессивный аллели, размер ПЦР-продуктов которых отличается почти на 300 пар оснований, что позволяет визуально различать продукты ПЦР-реакции как в полиакриламидном,

так и в агарозном геле. Размер ПЦР-продукта у сортов с доминантным аллелем гена, детерминирующим устойчивость, составляет 270 п.о.; у сортов с рецессивным аллелем – 563 п.о. (Myagkih, 2009; Shilov et al., 2016; таблица 1).

Таблица 1. Последовательности праймеров для идентификации гена *Pi-ta*
Table 1. Sequences of primers for identification of the *Pi-ta* gene

Название / Name	Нуклеотидная последовательность / Nucleotide sequence
F1-N	GCC GTG GCT TCT ATC TTTA CAT G
R1	ATC CAA GTG TTA GGG CCA ACA TTC
F2	TTG ACA CTC TCA AAG GAC TGG GAT
R2-N	TCA AGT CAG GTT GAA GAT GCA TCG A

Экстракцию ДНК осуществляли методом СТАВ (Murray, Thompson, 1980). Метод заключается в использовании цетилтриметиламмония бромида (СТАВ) в качестве основного компонента буфера экстракции и преципитации.

ПЦР проводили в реакционной смеси, содержащей 40–50 нг ДНК, 0,1 mM dNTPs, 25 mM KCL, 60 mM Tris-HCL (pH 8,5), 0,1 % Тритон X-100, 10 mM 2-меркаптоэтанол, 1,5 mM MgCl₂, 1 е.а. Taq-полимеразы и по 0,3 мкМ прямого и обратного праймеров в конечном объеме 25 мкл. Нуклеотидные последовательности праймеров приведены в таблице 1.

Для проведения амплификации нами были оптимизированы условия и составлен протокол условий ПЦР: начальная денатурация 5 мин при 94 °C – 1 цикл. Следующие 35 циклов: денатурация – 35 сек при 94 °C; отжиг праймеров 45 сек при 60 °C; синтез 30 сек при 72 °C. Финальная элонгация 5 мин при 72 °C.

Для разделения ПЦР-продуктов использовали 8 %-ный полиакриламидный гель. Электрофорез проводили при напряжении 250 V в течение трех часов. После электрофореза гелевые пластины помещали на 20–30 мин в раствор бромистого этидия и затем фотографировали в ультрафиолетовом свете.

Устойчивость донорной линии риса IR-36 и сорта Флагман к местной популяции *P. oryzae* оценивали в полевых условиях инфекционного питомника рисовой оросительной системы Всероссийского научно-исследовательского института риса (ВНИИ риса) в соответствии с методическими указаниями (Averyanov et al., 1990; Frolova et al., 1983). В качестве восприимчивого контроля использовали сорт Победа 65, устойчивого – сорт Авангард.

Инокуляцию растений проводили культурой гриба, выделенной из гербарного материала, собранного на полях Краснодарского края. Суспензию конидий для заражения

приготавливали путем смыва с поверхности колоний спорово-мицелиальной массы. Инокуляцию осуществляли суспензией концентрацией 10⁵ конидий/мл. Растения заражали в фазы кущения, выметывания-цветения из расчета 0,5 мл на одно растение. При обработке использовали опрыскиватель. В суспензию для лучшей адгезии добавляли Tween 80 из расчета 1 капля на литр воды.

Учет степени поражения растений проводили на 14-й день после инокуляции, согласно экспресс-методу оценки устойчивости риса к пирикулярриозу.

Оценку осуществляли, учитывая два показателя: тип реакции (в баллах) и степень поражения (в процентах), используя при этом десятибалльную шкалу Международного института риса (Kolomiets, 1990):

- **устойчивые:** 0–1 балла – отсутствие поражения, мелкие коричневые пятна, покрывающие менее 25% общей поверхности листьев;
- **среднеустойчивые:** 2–5 баллов – типичные пирикулярриозные пятна эллиптической формы, 1–2 см длиной, покрывающие 26–50% общей поверхности листьев;
- **неустойчивые:** 6–10 баллов – типичные пирикулярриозные пятна эллиптической формы, 1–2 см длиной, покрывающие 51% и более общей поверхности листьев.

Интенсивность развития болезни (ИРБ, %) рассчитывали по формуле:

$$\text{ИРБ} = \frac{\sum(a \times b)}{N \times k} \times 100$$

где N – число учетных растений, а – количество больных растений, b – соответствующий балл поражения, k – высшее значение балла по шкале.

В зависимости от балла поражения все сорта делили на 4 группы: устойчивый тип, промежуточный, восприимчивый, сильновосприимчивый.

Для оценки по хозяйственно ценным признакам исследуемые образцы высевали в ФГУЭСП «Красное» ВНИИ риса на рисовой оросительной системе по предшественнику многолетние травы. Все агротехнические работы выполнялись по общепринятой методике ВНИИ риса (Dospekhov, 1979; Smetanin et al., 1972).

Посев опытных образцов проводили 9 мая 2018 года сеялкой центрального высева по схеме конкурсного сортоиспытания на делянках площадью 20 м². Расположение делянок рендомизированное в четырехкратной повторности, с нормой высева 7 млн всхожих семян на гектар. В качестве стандартов использовали сорт Флагман. Залив опытного полигона проводился 10 мая 2018 года. Всходы наблюдали 24–26 мая.

В течение вегетации проводили фенологические наблюдения по принятой во ВНИИ риса методике. Учитывали сроки фаз вегетации до цветения и полной спелости. В фазе полной спелости проводили оценку полеглости и осыпаемости согласно рекомендациям «Практического руководства по интенсивной технологии возделывания риса в Краснодарском крае» (1986).

Перед уборкой проводили сортовую прополку с удалением нетипичных растений в делянках. Уборка проведена комбайном ДКС-685 с очесывающим молотильным аппаратом. Семена высушивали и очищали на лабораторных семяочистительных машинах СМ-1,5 и Петкус К-531 Гигант.

Статистическую обработку полученных данных проводили по Б. А. Доспехову (Dospekhov, 1979).

Результаты и обсуждение

Для получения новых резистентных форм к *P. oryzae* в 2007 году на основе использования технологии MAS нами проведена гибридизация сорта IR-36 – донора гена устойчивости к пирикулярриозу *Pi-ta* с сортом Флагман, в результате получено поколение F₁, растения которого имели высокую степень стерильности (до 95%). После проведения первой серии беккроссов в 2008 году в камерах искусственного климата получены поколения BC₁ и BC₂. В популяциях BC₁ фертильность возросла и в среднем составляла около 50%. Начиная с первого возвратного скрещивания, проводили маркерный контроль присутствия переносимых донорных аллелей в гибридном потомстве. Отбирали растения, которые по результатам ДНК-анализа несли донорный доминантный аллель гена устойчивости к патогену, а также отмечали те растения, которые имели наименьший период вегетации до цветения. Растения, в генотипе которых доминантные аллели не были обнаружены, выбраковывали.

В популяции BC₂ по данным ДНК-анализа отбирали растения, несущие донорные аллели, которые вовлекали в

следующий беккросс, предварительно выбраковав формы с нежелательным морфотипом.

Известно, что восстановление генома рекуррентного родителя при возвратных скрещиваниях в BC₃ составляет 93,75 % (Openshaw, 1994), поэтому было проведено три беккросса.

В 2009 году получено поколение BC₃. Среди растений BC₃ отобрали формы с наименьшим вегетационным периодом и наибольшей фертильностью метёлки. Семена этих растений высадили для получения сегрегирующей популяции F₂BC₃. Самоопыление растений риса, гетерозиготных по селективируемым генам, дает возможность перевести приоритетный аллель в гомозиготное состояние. Маркерный анализ полученной популяции выявил образцы, несущие вводимый доминантный аллель гена устойчивости *Pi-ta* в гомозиготном состоянии (рис. 1).



Рис. 1. Идентификация гена устойчивости к пирикулярриозу *Pi-ta* с помощью ПЦР-анализа; 1 – сорт Флагман (материнская форма), 2 – сорт-донор IR-36 (отцовская форма), 3–8 – гибридные растения F₂BC₃, маркер мол. веса – маркер молекулярного веса pBR322/BsuRI. Указаны размеры диагностических фрагментов гена устойчивости

Fig. 1. Identification of the *Pi-ta* gene determining resistance to *Pyricularia oryzae* with the use of PCR analysis; 1 – the variety Flagman (maternal form); 2 – the donor variety IR-36 (paternal form); 3–8 – F₂BC₃ hybrid plants; маркер мол. веса – molecular weight marker pBR322/BsuRI. The sizes of the resistance gene diagnostic fragments are indicated

В селекции риса желательным является низкорослый тип растений, с высокой интенсивностью первоначального роста, устойчивый к полеганию, с продуктивной метелкой и неосыпающимися в фазу полной спелости колосками. Среди растений, которые по результатам ДНК-анализа несли доминантный аллель гена *Pi-ta* в гомозиготном состоянии, удалось отобрать несколько форм, совмещающих в себе скороспелость, низкорослость, неосыпаемость и фертильность колосков. Семена этих растений были высеяны, и в потомстве отобрали лучшие экземпляры, кото-

рые в 2010 году были переданы в селекционный процесс для оценки по хозяйственно-ценным признакам. Растения, не удовлетворявшие таким требованиям, выбраковывали. Далее в 2010–2013 гг переданные нами в селекционный процесс линии риса с интродуцированным геном устойчивости к пирикулярриозу *Pi-ta* проходили оценку по комплексу хозяйственно-ценных признаков в селек-

ционном питомнике. После оценки и жесткой браковки для контрольного питомника отобрано 23 линии, из которых в 2014 году по комплексу признаков были выделены три устойчивые к пирикулярриозу линии риса с хорошим качеством крупы и высокой урожайностью, содержащие ген *Pi-ta*: КП-171-14 (Альянс), КП-30 (Ленарис) и КП-23 (Капитан). Результаты их оценки приведены в таблице 2.

Таблица 2. Характеристика сортов и линий риса конкурсного сортоиспытания

Table 2. Characteristics of rice varieties and lines in competitive variety trials

Линия/сорт Name of line /variety	Урожайность, т/га Productivity, t/ha	Вегетационный период, дни Vegetative period, days	Высота растения, см The height of the plant, cm	Масса 1000 зерен, г Weight 1000 grains, g	l/b	Выход крупы, % Cereals yield, %	ИРБ, % Disease development index, %
КП-171-14/ Альянс КР-171-14/ Alyans)	9,2	120	85,3	29,1	2,6	73,2	32,3
КП-30/Ленарис КР-300/Lenaris	10,6	115	77,8	30,4	2,6	72,3	16,7
КП-23/Капитан КР-23/Kapitan	9,9	115	75,6	30,2	2,4	71,2	21,3
Флагман/ Flagman (Ref)	7,1	116	91,0	26,7	1,9	71,6	59,1
НСР ₀₅	0,5	2,0	6,7	2,3	0,3	1,4	3,5

Примечание: l/b – отношение длины к ширине зерновки; ИРБ – индекс развития болезни;
Ref – стандарт

Note: l/b – the length-to-width ratio of the grain; IRB – index of disease development;
Ref – reference variety

Данные таблицы показывают, что растения изученных селекционных линий и сортов адаптированы к условиям выращивания на юге России. Они имеют оптимальный вегетационный период (115–120 дней), высокую фертильность колосков метелки, короткостебельны (77–85 см), устойчивы к полеганию, а также к краснодарской популяции *P. oryzae*. Метелка у них слегка пониклая, компактная, длиной 16–19 см. Зерно удлиненное ($l/b = 2,4–2,6$), масса 1000 зерен около 30 и более граммов.

Выход крупы – 71–73 %. При пересчете на 1 га формируют урожайность 9,0–12,0 т зерна (рис. 2, 3).

Сорт риса Альянс в 2017 году передан на Государственное сортоиспытание. Сорта риса Ленарис и Капитан в 2018 году переданы на государственное сортоиспытание. Кроме того, на разных этапах селекционного процесса продолжается изучение новых линий риса с геном устойчивости к пирикулярриозу *Pi-ta*.



А - растение сорта Ленарис



Б - метёлка сорта Ленарис



В - зерно сорта Ленарис



Г - крупа сорта Ленарис

Рис. 2. Сорт риса Ленарис с геном устойчивости к пирикулярриозу *Pi-ta*
Fig. 2. Rice variety Lenaris with the *Pi-ta* gene determining resistance to blast



Рис. 3. Делянка сорта Ленарис, ФГУЭСП «Красное» ВНИИ риса, 2017 г.
Fig. 3. Variety Lenaris, FSE E «Krasnoe» ARRI, 2017

Заключение

Проведена интрогрессия эффективного на юге России гена расоспецифической устойчивости к пирикулярриозу *Pi-ta* в генотип отечественного сорта риса Флагман методом возвратных скрещиваний при контроле донорных аллелей с помощью ДНК-маркеров. Среди гибридных растений отобраны формы с оптимальным вегетационным периодом и наибольшей фертильностью колосков метелки. Маркерный анализ, а также фитопатологическое тестирование полученных популяций выявили устойчивые к пирикулярриозу образцы риса, несущие целевые гены в гомозиготном состоянии. Сорт риса Альянс (КП-171-14) в 2017 году передан на государственное сортоиспытание. Сорта Ленарис (КП-30) и Капитан (КП-23) в 2018 году изучались в КСИ (конкурсное сортоиспытание) третьего

года. Они переданы на государственное сортоиспытание. Все три сорта устойчивы к краснодарской популяции патогена и адаптированы к условиям выращивания на юге России, имеют высокую урожайность и качество крупы.

Созданные с помощью маркерной селекции линии и сорта риса могут служить донорами устойчивости к заболению и выступать в качестве родительских форм.

Устойчивые к пирикулярриозу сорта риса необходимы в производстве, а также для повышения конкурентоспособности и импортозамещения. Они позволят увеличить урожайность и валовые сборы зерна, а также избежать эпифитотий. При этом сократится применение химических средств защиты, что снизит фунгицидную нагрузку на экосистему и будет препятствовать загрязнению зерновых экосистем, а также позволит получать экологически чистую сельхозпродукцию.

References/Литература

- Ashkani S, Rafii M, Sariah M, Siti NAA, Rusli I, Harun A, Latif M (2011) Analysis of simple sequence linked with blast disease resistance genes in a segregating repeat markers population of rice (*Oryza sativa*). *Genet. Mol. Biol.*; 10: 1345–1355
- Averyanov AA, Lapikova VP, Petelina GG (1990) Rapid laboratory method for assessing varietal resistance of rice to blast (Laboratornyj ehkspress-metod ocenki sortovoj ustojchivosti risa k pirikulyariozu). *Bol'shie Vyazemy: VNIIF*; 12 p. [in Russian] (Аверьянов А. А., Латикова В. П., Петелина Г. Г. Лабораторный экспресс-метод оценки сортовой устойчивости риса к пирикулярриозу. Большие Вяземы : ВНИИФ, 1990. 12 с.).
- Bonman J, Khush G, Nelson R (1992) Breeding rice for resistance to pest. *Annu. Rev. Phytopathol.* 30: 507–528.
- Cho YG, Eun MY, McCouch SR, Chae YA (1994) The semidwarf gene, *sd-1*, of rice (*Oryza sativa* L.). II. Molecular mapping and marker-assisted selection. *Theor. Appl. Genet.*; 89: 54–59.
- Correa-Victoria FJ, Tharreau D, Martinez C, Vales M (2003) Gene combinations in rice for the development of durable resistance to *Pyricularia grisea* in Colombia. *Proc. 3rd Int. Temperate Rice Conference*. Punta del Este.
- Dospekhov BA (1979) Methods of the Field Experiments (Basis of Statistical Processing of the Research Results) (Metodika polevogo opyta (s osnovami statisticheskoy obrabotki rezul'tatov issledovaniy)). M.: Kolos. 416 p. [in Russian] (Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). Изд. 4-е, перераб. и доп. М.: Колос. 1979. 416 с.).
- Dubina EV, Mukhina ZM, Kharitonov EM, Shilovskiy VN, Kharchenko ES, Esaulova LV, Korkina NN, Maximenko EP, Nikitina IB (2015) Creation of blast disease-resistant rice varieties with modern DNA markers. *Russian Journal of Genetics*; 51(8): 881–886 [in Russian] (Дубина Е. В., Мухина Ж. М., Харитонов Е. М., Шиловский В. Н., Харченко Е. С., Есаулова Л. В., Коркина Н. Н., Максименко Е. П., Никитина И. Б. Создание устойчивой к пирикулярриозу генплазмы риса с использованием технологий ДНК-маркирования // Генетика. 2015. Т. 51 № 8. С. 881–886).
- Dubina EV, Kostylev PI, Ruban MG, Aniskina YuV, Shilov IA, Velishaeva NS, Esaulova LV (2017) The study of biodiversity of *Pyricularia oryzae* Cav. in rice-growing zones of the south of Russia on the basis of the methods of PCR. *Grain economy of Russia*; 54(6): 29–35 [in Russian] (Дубина Е. В., Костылев П. И., Рубан М. Г., Анискина Ю. В., Шилов И. А., Велишаева Н. С., Есаулова Л. В. Изучение биоразнообразия *Pyricularia oryzae* Cav. в рисосеющих зонах юга России на основе метода ПЦР // Зерновое хозяйство России. 2017. Т. 54, № 6. С. 29–35).
- Frisch M, Bohm M, Melchinger AE (1999) Minimum sample size and optimal positioning of flanking markers in marker-assisted backcrossing for transfer of a target gene. *Crop Science*; 39: 967–975.
- Frolova VS, Kovalenko ED, Naskidashvili ZhG, Silicheva TM et al. (1983) Guidelines for assessing the resistance of rice varieties to blast in an infectious nursery (Metodicheskiye ukazaniya po otsenke ustoychivosti sortoobraztsov risa k pirikulyariozu v infektsionnom pitomnike). M. VASKHNIL. 14 p. [in Russian] (Фролова В. С., Коваленко Е. Д., Наскидашвили Ж. Г., Силичева Т. М. и др. Методические указания по оценке устойчивости сортообразцов риса к пирикулярриозу в инфекционном питомнике. М.: ВАСХНИЛ. 1983. 14 с.).
- Girish Kumar K, Hittalmani S, Srinivasachary K (2000) Marker assisted backcross gene introgression of major genes for blast resistance in rice. *Advances in Rice Blast Research*: 43–53.
- Hittalmani S, Parco A, Mew TV, Zeigler RS, Huang N (2000) Fine mapping and DNA marker-assisted pyramiding of the three major genes for blast resistance in rice. *Theor. Appl. Genet.*; 100: 1121–1128.
- Jena KK, Moon HP, Mackill DJ (2003) Marker assisted selection – a new paradigm in plant breeding. *Korean J. Breed.*; 35: 133–140.
- Kharchenko ES, Dubina EV, Garkusha SV, Ruban MG, Esaulova LV, Avakyan ER, Balyasny IV (2017) A study of the biodiversity of the causative agent *Pyricularia oryzae* Cav. in the south of Russia (Izuchenie bioraznoobraziya populyacii vzbuditelya *Pyricularia oryzae* Cav. na yuge Rossii). *Science of the Kuban*; 1: 20–27 [in Russian] (Харченко Е. С., Дубина Е. В., Гаркуша С. В., Рубан М. Г., Есаулова Л. В., Авакян Э. Р., Бальасный И. В. Изучение биоразнообразия популяции возбудителя *Pyricularia oryzae* Cav. на юге России // Наука Кубани. № 1. С. 20–27).
- Khavkin EE (1997) Molecular markers in plant breeding (Molekulyarnyye markery v rasteniyevodstve). *Agricultural Biology*; 5: 3–21 [in Russian] (Хавкин Э. Е. Молекулярные маркеры в растениеводстве // Сельскохозяйственная биология. № 5. С. 3–21).
- Kiyosawa S (1989) Breakdown of blast resistance in rice in relation to general strategies of resistance gene deployment to prolong effectiveness of disease resistance in plants. Pages 251–283 in: *Plant Disease Epidemiology*. K. J. Leonard and W. E. Fry, eds. McGraw-Hill Publishing Company, New York: 251–283.
- Kolomiets TM (1990) The selection of the source material of rice for breeding for immunity to blast (Otbor iskhodnogo materiala risa dlya selekcii na immunitet k pirikulyariozu). Avtoref. dis. kand. biol. nauk.–Summary of PhD thesis. Golicyno: 21 c.
- Los GD (1987) A promising method of rice hybridization. *Agricultural Biology*; 12: 15–17 [in Russian] (Лось Г. Д. Перспективный способ гибридизации риса // Сельскохозяйственная биология. 1987. Т. 12. С. 15–17).
- Matsumura H, Nirasawa S, Kiba A, Urasaki N, Saitoh H, Ito M, Kawai-Yamada M, Uchimiya H, Terauchi R (2003) Overexpression of Bax inhibitor suppresses the fungal elicitor-induced cell death in rice (*Oryza sativa* L.) cells. *Plant J.*; 33: 425–434.

- Murray MG, Thompson WF (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*; 8(10): 4321–4325.
- Myagkih YuA (2009) The use of molecular marking to improve the efficiency of rice selection (Primenenie molekulyarnogo markirovaniya dlya povysheniya ehffektivnosti selektsii risa). Dissertatsiya na soiskanie uchenoj stepeni kandidata biologicheskikh nauk - Thesis for the degree of candidate of biological sciences. Krasnodar, 2009: 100 p. [in Russian] (Мягих Ю. А. Применение молекулярного маркирования для повышения эффективности селекции риса. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Краснодар, 2009: 100 с.).
- Openshaw SJ, Jarboe SJ, Bears WD (1994) Marker assisted selection in backcross breeding. In: Analysis of molecular marker data. Joint Plant Breed. Symp. Ser., Corvallis, Oregon, USA: 41–43.
- Osterman LA (1981) Methods for studying nucleic acids (Metody issledovaniya nukleinovyykh kislot). M.: Nauka Publ. 288 p. [in Russian] (Остерман Л.А. Методы исследования нуклеиновых кислот. М.: Наука, 1981. 288 с.).
- Practical Guide to Intensive Rice Cultivation Technology in the Krasnodar Territory (reference edition) (Prakticheskoe rukovodstvo po intensivnoy tekhnologii vozdelvaniya risa v Krasnodarskom krae (spravochno-metodicheskoe izdanie). Krasnodar. 1986: 38 p. [in Russian] (Практическое руководство по интенсивной технологии возделывания риса в Краснодарском крае (справочно-методическое издание). Краснодар, 1986. 38 с.).
- Smetanin AP, Dzyuba VA, Aprod AI (1972) Methods of experimental work on breeding, genetics, seed production, seed science and quality control of rice seeds (Metodiki opytnykh rabot po selektsii, genetike, semenovodstvu, semenovedeniyu i kontrolyu za kachestvom semyan risa). Krasnodar: 156 p. [in Russian] (Сметанин А. П., Дзюба В. А., Апрод А. И. Методики опытных работ по селекции, генетике, семеноводству, семеноведению и контролю за качеством семян риса. Краснодар, 1972. 156 с.).
- Shilov LA, Kolobova OS, Aniskina YuV, Shalaeva TV, Velishaeva NS, Kostylev PN, Dubina EV (2016) Improvement of the identification method of the genes *Pi-ta*, *Pi-b* for resistance to rice blast (Usovershenstvovaniye metoda identifikatsii genov ustoychivosti k pirikulyariozu risa *Pi-ta*, *Pi-b*). *Achievements of science and technology of agroindustrial complex*, 30(8): 45–48 [in Russian] (Шилов Л. А., Колобова О. С., Анискина Ю. В., Шалаева Т. В., Велишаева Н. С., Костылев П. Н., Дубина Е. В. Усовершенствование метода идентификации генов устойчивости к пирикулярриозу риса *Pi-ta*, *Pi-b* // Достижения Науки и Техники АПК. № 8. С. 45–48).
- Sasaki R (1922) Inheritance of rice blast resistance. *Japan. J. Genet.*; 1: 81–85.
- Tabien RE, Li Z, Paterson AH, Marchetti MA, Stansel JW, Pinson SRM (2000) Mapping of four major blast resistance genes from “Lemont” and “Teqing” and evaluation of their combination effect for field resistance. *Theor. Appl. Genet.*; 101(8): 1215–1225.
- Witcombe JR, Hash CT (2000) Resistance gene deployment strategies in cereal hybrids using marker-assisted selection: gene pyramiding, three-way hybrids, and synthetic parent population. *Euphytica*; 112(2): 175–186.
- Yu ZH, Mackill DJ, Bonman JM, McCouch SR, Guiderdoni E (1996) Molecular mapping of genes for resistance to rice blast. *Theor. Appl. Genet.*; 93: 859–863.