

Генетика, цитогенетика

УДК 633.18:631.522/.524:577.2

doi: 10.15389/agrobiol.2025.5.810rus

ИЗУЧЕНИЕ ОБРАЗЦОВ *Oryza sativa* L. В КОЛЛЕКЦИОННОМ ПИТОМНИКЕ В УСЛОВИЯХ ПРИМОРСКОГО КРАЯ И СКРИНИНГ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К ПИРИКУЛЯРИОЗУ

М.В. ИЛЮШКО✉, М.В. РОМАШОВА, С.С. ГУЧЕНКО

На юге Дальнего Востока рис *Oryza sativa* L. выращивается в северном пределе ареала, для которого характерны возвратные холода в начальные периоды роста и развития риса. Почвенно-климатические условия позволяют получать урожай зерна до 6,0 т/га с использованием скороспелых сортов. Регион всегда характеризовался значительной фитопатологической напряженностью. Здесь отмечается значительное разнообразие рас *Pyricularia oryzae* Cav., поскольку в муссонном климате создаются благоприятные влажные условия для их развития. В настоящей работе в условиях Приморского края впервые выделены продуктивные образцы из 159 образцов коллекции риса *O. sativa*; выявлены коллекционные образцы с аллелями устойчивости генов *Pi*; идентифицированы полиморфные, гетерозиготные образцы и образцы с пирамидой генов *Pi*. Целью исследования стал отбор наиболее продуктивных и скороспелых форм в обновленной коллекции риса в условиях Приморского края и определение аллельного состояния ряда генов устойчивости (*Pi-ta*, *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-b*, *Pi-zt*, *Pi-ta2*, *Pi-9*) к *P. oryzae* с помощью молекулярных маркеров. В работе было изучено 159 коллекционных образцов риса *O. sativa* из 22 стран. Семена были собраны в 2018-2021 годах и хранились в холодильнике при 4 °С. Исследования проводили на вегетационной площадке ФГБНУ ФНЦ агробιοтехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки (Приморский край, г. Уссурийск, пос. Тимирязевский) в 2022-2023 годах. Рис высевали в рекомендованные сроки: 25 мая в 2022 году и 19 мая в 2023 году. Для эксперимента использовали пластиковые сосуды объемом 460 л, наполненные почвой, характерной для рисовых полей, — лугово-бурой с тяжелым механическим составом. Режим орошения — укороченное затопление. Погодные условия вегетационного периода соответствовали биологическим требованиям культуры, превышая среднеголетние данные региона по месяцам на 0,2-0,8 °С в 2022 году и на 1,4-2,4 °С в 2023 году. Сбор растений проводили до 30 сентября. Позднеспелые образцы в 2022 году пересадили в пластиковые сосуды и поместили в тепличные условия при температуре 18-20 °С для дозревания. В 2023 году все растения созрели до уборки на вегетационной площадке. Проводили ручной уход за посевами. Фиксировали дату всходов и созревания (не менее трех растений в повторности в нужной фазе), усредняя для каждого образца. Измеряли следующие биометрические показатели: кушение (шт.), высота растения (см), длина метелки (см), число зерен в главной метелке (шт.), пустозерность (%), масса зерна главной метелки и растения (г); массу 1000 зерен получали посредством пересчета (г). Всего в работе проанализировали 4804 растения. Сравнительную оценку коллекционных образцов с контролем проводили методом дисперсионного анализа. Для выделения ДНК использовали листья трех-четырёх растений одного образца, проанализировано 598 растений. В случае обнаружения полиморфизма образца дополнительно выращивали 26-30 растений для определения доли аллелей устойчивости. ПЦР-реакцию проводили в 25 мкл реакционной смеси по общепринятой методике. В результате работы были выделены образцы (Таврический, б/н (4764) и УкрНИС 3455), превышающие по продуктивности контрольный сорт Приморский 29. Выделено 15 образцов с аллелем устойчивости гена *Pi-ta*, 9 — *Pi-b*, 2 — *Pi-zt*, 12 — *Pi-ta2*, 8 — *Pi-1*, 52 — *Pi-2*. Сортообразцов с аллелем устойчивости *Pi-9* не выявлено. Полученные результаты могут быть включены в базы данных, характеризующие коллекции риса *O. sativa*, и использованы в селекции на устойчивость к пирикуляриозу. Среди 15 сортообразцов выявлен полиморфизм по генам устойчивости к *P. oryzae*. Доля образцов с аллелем восприимчивости колебалась от 3,6 до 96,4 %. По двум генам оказались полиморфными образцы Long Jing 15, Sui Jing 4, Mu 07-1233 и Дубрава; по трем генам — Лон-до-6. Образец LD-122 был полиморфен по четырем генам. Гетерозиготные растения детектированы в трех образцах, их доля достигала 21,4 %. У сортообразца LD-122 гетерозиготы выявили по генам *Pi-b*, *Pi-2* и *Pi-1*. Эти образцы могут быть использованы в селекции на гетерозис в северной части ареала культурного вида *O. sativa*, поскольку способны в таких условиях к аллогамии. Пирамида из двух-трех наиболее ценных генов устойчивости риса к *P. oryzae* для Приморского края определена у пяти образцов: LD-122, X-н-20-09, Long Jing 19, Оху 2х, Long Jing 14. Все они уступали по продуктивности и скороспелости контрольному сорту Приморский 29 и пригодны для интрогрессии комплекса целевых генов в селекции на устойчивость к *P. oryzae* с молекулярно-генетическим сопровождением.

Ключевые слова: *Oryza sativa*, сортообразцы, коллекция, продуктивность, скороспелость, гены устойчивости к пирикуляриозу *Pi*.

Рис *Oryza sativa* L. — одна из ведущих культур мирового земледелия

(1, 2). В Российской Федерации она возделывается в южных регионах и относится к стратегическим сельскохозяйственным культурам (3). Юг Дальнего Востока, главным образом Приморский край, в отдельные периоды истории становился вторым рисосеющим регионом страны после Краснодарского края (4). Рис здесь выращивается в северном пределе ареала, который характеризуется возвратными холодами в начальные периоды роста и развития культуры. Почвенно-климатические условия позволяют получать урожай зерна до 6,0 т/га с использованием скороспелых сортов (4).

Обновленная коллекция *O. sativa* ФГБНУ ФНЦ агробιοтехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки создана для выявления источников продуктивности и скороспелости в селекционных целях региона. Разработана модель сорта риса для условий Приморского края (5).

Pyricularia oryzae Cav. входит в десятку наиболее вредоносных грибных заболеваний сельскохозяйственных культур и наносит ущерб рису по всему миру (3, 6, 7). В этой связи стоит задача повсеместного выведения устойчивых сортов к пирикулярриозу (8). Поскольку в каждом регионе существует расоспецифичность патогена, выявлено более 100 генов устойчивости риса к *P. oryzae* (3, 7).

Приморский край всегда отличался значительной фитопатологической напряженностью. Здесь отмечается значительное разнообразие рас пирикуляррии, в муссонном климате создаются благоприятные влажные условия для их развития (9). Неоднократно определялись наиболее эффективные гены для селекции на устойчивость к пирикулярриозу. Однако в связи с частым использованием завозных несортных семян в Приморском крае за последние пятнадцать лет произошла полная смена актуальных генов авирулентности. Так, в 2009 году эффективными генами против пирикуляррии считались *Pi-b*, *Pi-ta2*, *Pi-zt*, в 2017 году — *Pi-ta2*, *Pi-zt*, *Pi-9*, *Pi-12(t)*, в 2023 году — *Pi-m*, *Pi-kh*, *Pi-7(t)* и *Pi-12(t)* (10).

Пирамидирование генов в процессе маркер ориентированной селекции приносит позитивный результат в отборах на устойчивость к пирикулярриозу, обеспечивая высокую резистентность сортов *O. sativa* к патогену (2, 7, 11, 12). За счет этого снижается пестицидная нагрузка на рисовые поля, повышаются урожайность и рентабельность производства зерна (12). Для интрогрессии целевых генов устойчивости к *P. oryzae* в родительские формы необходимо иметь информацию о наличии генов и их аллелей устойчивости в коллекционных образцах для составления схем скрещиваний и последующих отборов из гибридов резистентных растений (7).

В настоящей работе в условиях Приморского края впервые выделены продуктивные образцы из 159 образцов коллекции риса *O. sativa*; выявлены коллекционные образцы с аллелями устойчивости генов *Pi*; идентифицированы полиморфные, гетерозиготные образцы и образцы с пирамидой генов *Pi*.

Целью исследования стал отбор наиболее продуктивных и скороспелых форм в обновленной коллекции риса в условиях Приморского края и определение аллельного состояния ряда генов устойчивости (*Pi-ta*, *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-b*, *Pi-zt*, *Pi-ta2*, *Pi-9*) к *Pyricularia oryzae* с помощью молекулярных маркеров.

Методика. В работе изучили 159 коллекционных образцов риса *O. sativa* из 22 стран. Семена были собраны в 2018-2021 годах и хранились в холодильнике при 4 °С. Исследования проводили на вегетационной площадке ФГБНУ ФНЦ агробιοтехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки (Приморский край, г. Уссурийск, пос. Тимирязевский) в 2022-2023 годах.

Были испытаны 39 образцов краснодарской селекции: Новатор,

Метелица, КТ-3, Серпантин, Марс, Соната, Хазар, Кумир, № 24, Атлант, Привольный 4, Виола, Мавр, Аметист, с. 585 р.2 (47), К.-с. 903 (262) Л-2, Нф 39 (ВНИИР 3223), Лиман, Ренар, Диамант, Гамма, Регул, 242-01, К.-с. 900 р.4, с. 924 р.4, с. 926 р.6, 9167, Л-3, К. 1859 Л-1, с. 925 р.5, с. 900 р.4, 206-01, с. 603 Л-3, № 39 (д.1292/08 г.), 229-01, № 11 (д. 1285/08), Дублер, Азовский, Краснозерный сорнополевой; 9 образцов зерноградской (Ростовская обл.) селекции: ДОН 10-01 (4237), Вирасан, ДОН 7790, Боярин, Контакт, Раздольный, Светлый, Южанин, Донской 402; 10 образцов из Приморского края: Алмаз, Уссур, Дубрава, 719, Садко, Дальневосточный, Каскад, Дарий 8, Дарий 122, Долинный; 21 образец из Китая: Лан-дау-5, Sui Jing 7, Sui Jing 10, Mu 07-1233, Mu 07-980, Mu 07-1055, Хейлудзян-1-06, Sui Jing 4, Sui Jing 28, Long Jing 8, Long Jing 12, Long Jing 20, Long Jing 22, Heige-16, Long Jing 14, Long Jing 15, Long Jing 16, Long Jing 18, Long Jing 19, X-n-20-09, Лон-до-6; 15 японских образцов: Ischikari, Kuro-mochi, He Jiang 19, Jemisi wase, Long Nuo 2, Saraiku, Hayakaze, Hejiang 20, Sakigake, Jachimitori, Дети Ветра, Onne Mochi, Лебедь, Hashirimochi, Kitokogane; 3 образца из Кореи: Shinei, Унги № 9, КJ-205; 14 украинских образцов: Зеравшаника, Херсонский 1, к-3666, Таврический, УкрНИС 571, УкрНИС 6168, УкрНИС 3390, УкрНИС 9706, УкрНИС3455, 6295, Местный, УкрНИС 9291/2, Украина 96, Урожайный ОСХИ; 14 венгерских образцов: Aguszta, Arpa Shali rizs, Sr257, Ayklerisa, Sz381, Szarvasi 70, Sr816, Паллачи 77, Паллачи 67, Agostano, 4516, Korastai-333, Mutashali, Csan Taj; 2 образца из Италии: Bertone, Balosso; 2 образца из Индии: Nica Zulanzon, Savia; 10 образцов из Узбекистана: б/н (к-10), Узрос 17-24, Бугдай-шала, б/н (к-325), Кырмызы, Узрос 24-24, б/н (1773), Хи-муке, б/н (1776), Узрос 89-43; 6 образцов из Азербайджана: Шестрест, б/н (1299), б/н (580), б/н (1405), б/н (1537), б/н (634); 3 образца из Казахстана: Хоккайдо, б/н (1898), Лалаза Лоуду; по одному образцу из Вьетнама (LD 122), Маньчжурии (Дунган-Шала), США (Оху 2х), Колумбии (Н-404-85), Чили (56-414), Бразилии — б/н (476), Турции (Суходольный), Франции (Maratelli 5А), Португалии (Romanico), Бельгии — б/н (1075), Норвегии — б/н (1021). Контролем служил сорт Приморский 29, используемый как стандарт в государственном сортоиспытании.

Рис высевали в рекомендованные сроки: 25 мая в 2022 году и 19 мая в 2023 году. Для эксперимента использовали пластиковые сосуды объемом 460 л, наполненные почвой; длина сосуда — 199 см, ширина — 78 см, глубина — 39 см. Каждый образец размещали в рядках с междурядьями 15 см, по 10-12 растений в половине рядка рандомизированно в 2-кратной повторности. В одном сосуде размещалось 12 рядков, что соответствовало 24 образцам одной повторности. Для проведения вегетационных опытов использовали почву, характерную для рисовых полей, — лугово-бурую с тяжелым механическим составом.

Режим орошения — укороченное затопление. Погодные условия вегетационного периода соответствовали биологическим требованиям культуры, превышая среднемноголетние данные региона по месяцам на 0,2-0,8 °С в 2022 году и на 1,4-2,4 °С в 2023 году. Сбор растений проводили до 30 сентября. Позднеспелые образцы в 2022 году пересадили в пластиковые сосуды и поместили в тепличные условия при температуре 18-20 °С для дозревания. В 2023 году все растения созрели до уборки на вегетационной площадке. Проводили ручной уход за посевами. Фиксировали дату всходов и созревания (не менее трех растений в повторности в нужной фазе), усредняя для каждого образца.

Объем выборки каждого образца составил 5-10 растений в повтор-

ности в зависимости от всхожести семян. Измеряли следующие биометрические показатели: кушение (шт.), высота растения (см), длина метелки (см), число зерен главной метелки (шт.), пустозерность (%), масса зерна главной метелки и растения (г); массу 1000 зерен получали посредством пересчета (г). Всего в работе проанализировали 4804 растения.

Для выделения ДНК использовали зеленые листья трех-четырех растений одного образца. Всего было проанализировано 598 растений. В случае обнаружения полиморфизма у образца дополнительно выращивали 26-30 растений для определения доли аллелей устойчивости. Применяли солевую методику выделения ДНК из свежих листьев (13). Концентрацию ДНК определяли в объеме 1 мкл на спектрофотометре BioSpec-nano («Shimadzu», Япония).

Последовательность нуклеотидов, температура отжига праймеров и размер целевого продукта изученных генов были следующими:

Ген	Маркер	Сиквенс праймера (5'→3')	Аллель устойчивости, п.н.	Температура отжига праймера, °С	Ссылка	Контрольный сорт
<i>Pi-1</i>	Rm224	F: ATCGATCGATCTTCACGAGG R: TGCTATAAAAGGCATTTCGGG	137	56	(12, 14)	Магнат
<i>Pi-2</i>	Rm527	F: GGCTCGATCTAGAAAATCCG R: TTGCACAGGTTGCGATAGAG	239	56	(12, 14)	Магнат
<i>Pi-b</i>	Pi-b	F: CATCAACGAAGTCCAGCTCA R: CCGCGSTATCTTGTACATTC R: CTCAGCATATGTGGCAGCTC	490	60	(14)	Оху 2х
<i>Pi-ta</i>	Pi-ta	F: СААСААТТТААТСАТАСАСГ R: АТГАСАСССТГССГАТГСАА	500	60	(15)	Yashito-mochi
<i>Pi-ta2</i>	ta5	F: CAGCGAACTCCTTCGATACGCA R: CGAAAGGTGTATGCACTATAGTATCC	515	60	(16)	Дифференциатор CD 8 Pi № 4
<i>Pi-zt</i>	Zt56591	F: TTGCTGAGCCATTGTAAACA R: ATCTCTCATATATATGAAGGCCAC	257	60	(17)	Дифференциатор CD 9 Toride 1
<i>Pi-9</i>	Pi-9	F: TGGTGCCACTCAGAAAGAA R: GCAGTGTATCTTGTCTCC	480	58	(15)	Дифференциатор CD 19 WHD-1S-75-1-127
<i>Pi-12(t)</i>	P286-350	F: GCTCCGCATTAACGGGAAG R: AGCCGGCTCCGGAGGTGA	350	56	(18)	CD 20 RiL 10

Реакцию проводили в 25 мкл реакционной смеси, содержащей 10× ПЦР буфер, 2,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP, по 0,5 мкл прямого и обратного праймеров, 1 ед. Taq ДНК-полимеразы (НПК «Синтол», Россия) и по 70-120 нг ДНК исследуемых образцов.

Температурные профили реакций для разных генов различались. Условия ПЦР для генов *Pi-1*, *Pi-2* и *Pi-12(t)*: 5 мин при 94 °С (начальная денатурация); 30 с при 94 °С (денатурация), 30 с при 56 °С (отжиг), 35 с при 72 °С (элонгация) (35 циклов); 3 мин при 72 °С (заключительная элонгация). Условия ПЦР для генов *Pi-b*, *Pi-zt*, *Pi-ta*, *Pi-ta2*: 1 мин при 96 °С (начальная денатурация); 15 с при 94 °С (денатурация), 30 с при 60 °С (отжиг), 2 мин при 72 °С (элонгация) (35 циклов); 5 мин при 72 °С (заключительная элонгация). Условия ПЦР для гена *Pi-9*: 6 мин при 96 °С (начальная денатурация); 30 с при 94 °С (денатурация), 30 с при 58 °С (отжиг), 35 с при 72 °С (элонгация) (35 циклов); 3 мин при 72 °С (заключительная элонгация). Амплификацию проводили в двухкратной повторности в термоциклере MJ Mini («Bio-Rad», США). В качестве контроля использовали растения сортов-дифференциаторов и известных сортов с аллелями устойчивости целевых генов.

Продукты амплификации разделяли электрофоретически в 1,4 % агарозном геле на основе 0,5× ТВЕ буфера для генов *Pi-b*, *Pi-ta*, *Pi-ta2*, *Pi-9* и *Pi-12(t)* с использованием камеры для электрофореза SE-1 («Хеликон»,

Россия) и источника питания Эльф-4 (ООО «ДНК-технологии», Россия»). Для генов *Pi-1* и *Pi-2* электрофорез проводили в камере Sub Cell Model 192 («Bio-Rad», США) с применением источника питания PowerPac Basic 300 («Bio-Rad», США) для большей разрешающей способности. Визуализировали в ультрафиолетовом свете с использованием системы гель-документирования Gel Doc XR+ («Bio-Rad», США), предварительно окрашивая 1,0 % раствором бромистого этидия.

Сравнительную оценку коллекционных образцов с контролем проводили методом дисперсионного анализа, используя программу Statistica 10 («StatSoft, Inc.», США). Превышение значений биометрических показателей образцов над контролем определяли с помощью LDS-теста при $p < 0,05$.

Результаты. В результате дисперсионного анализа выявлены высокозначимые различия ($p < 0,000001$) между повторностями ($F = 8,9$), годами исследований ($F = 324,9$) и коллекционным образцами *O. sativa* ($F = 19,6$).

Пять образцов превзошли контроль (сорт Приморский 29) по массе зерна с главной метелки и/или массе зерна с растения: Таврический, УкрНИС 3455, Украина 96, Атлант и б/н (4764) (табл. 1). У двух из них (Украина 96 и Атлант) в условиях Приморского края выявили предельно допустимую для сорта массу 1000 зерен — 26,1-26,6 г. Следовательно, три образца Таврический, УкрНИС 3455 и б/н (4764) можно рекомендовать для производственного испытания в условиях Приморского края.

Длина вегетационного периода в среднем за два года изменялась от 94 до 127 сут (рис. 1). В группу до 110 сут вошла большая часть образцов. Позднеспелость проявили в основном образцы краснодарской и зерноградской селекции, отдельные образцы из Венгрии (Паллачи 67 — 113 сут), Украины (б/н (к 3666) — 114 сут, УкрНИС 3455 — 112 сут), Узбекистана (Бугдай Шала — 112 сут), Индии (Nika Zulanzon — 111 сут), Вьетнама (LD — 122 сут), Казахстана (б/н (1898) — 127 сут), Азербайджана (б/н (1537) — 117 сут), Кореи (KJ-205 — 124 сут), Китая (X-н-20-09 — 124 сут) и Приморского края (Дубрава — 113 сут, б/н (719) — 112 сут). В 2023 году, который оказался более теплым, большинство сортообразцов созрело либо раньше, либо в те же сроки, что и в 2022 году (разница не более 2 сут). У восьми образцов созревание в 2023 году настало позже на 3-9 сут, чем в 2022 году: Shinei, Sui Jing 10, Mu 07-1055, с. 585 p.2 (47), ДОН 7790, ВНИИР 3223, Узрос 89-43, Long Jing 18.

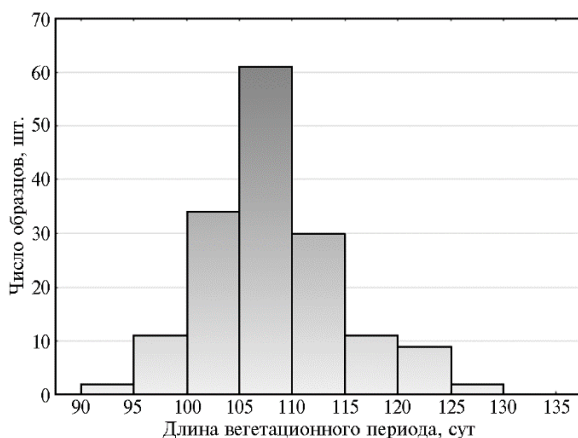


Рис. 1. Распределение коллекционных образцов *Oryza sativa* L. по длине периода вегетации в условиях Приморского края (г. Уссурийск, пос. Тимирязевский, 2022-2023 годы).

1. Характеристика продуктивных коллекционных образцов *Oryza sativa* L. в условиях Приморского края (г. Уссурийск, пос. Тимирязевский)

Образец	Вегетационный период, сут		Число растений, шт.	Общее кушение, шт.	Высота растения, см	Длина метелки, см	Число зерен в главной метелке, шт.	Пустозерность, %	Масса зерна, г		
	2022 год	2023 год							с главной метелки	с растения	1000 шт.
Таврический	107	96	23	<u>1-5</u> 2,2*	<u>52-99</u> 81,0*	<u>15-23</u> 18,4*	<u>0-97</u> 60,4	<u>0-100</u> 11,5	<u>0-3,5</u> 1,82	<u>0-6,4</u> 3,35*	<u>26,3-36,1</u> 30,0*
УкрНИС 3455	113	111	23	<u>1-3</u> 1,7	<u>5-81</u> 71,9	<u>10-16</u> 13,3	<u>48-152</u> 95,8	<u>3,0-16,3</u> 11,0	<u>1,5-3,5</u> 2,55*	<u>1,5-5,6</u> 3,17	<u>21,7-31,3</u> 28,2
Украина 96	113	119	27	<u>1-2</u> 1,0	<u>65-96</u> 82,2*	<u>11-19</u> 14,6	<u>33-172</u> 101,3*	<u>3,0-50,8</u> 16,4*	<u>0,5-5,4</u> 2,74*	<u>0,5-7,1</u> 2,82	<u>15,2-39,1</u> 26,1
Атлант	122	118	21	<u>1-3</u> 1,3	<u>66-102</u> 79,2*	<u>11-16</u> 14,0	<u>35-193</u> 104,1*	<u>0-26,9</u> 12,5	<u>1,0-5,0</u> 2,73*	<u>1,0-5,9</u> 2,94	<u>18,3-38,5</u> 26,6
б/н (4764)	111	103	23	<u>1-3</u> 1,9	<u>54-85</u> 72,6*	<u>9-16</u> 13,4	<u>27-106</u> 72,2	<u>0-15,5</u> 6,6	<u>0,6-3,7</u> 2,50*	<u>0,6-6,4</u> 3,44*	<u>22,2-40,6</u> 34,6*
Приморский 29 (контроль)	109	98	40	<u>1-3</u> 1,6	<u>56-79</u> 67,9	<u>12-18</u> 14,3	<u>31-114</u> 73,9	<u>0-20,5</u> 7,9	<u>0,9-3,3</u> 2,10	<u>1,1-5,7</u> 2,76	<u>24,1-32,7</u> 28,4

Примечание. Над чертой — минимальное и максимальное значение признака в эксперименте, под чертой — среднее значение признака по результатам LDS-теста.

* Статистически значимо превосходит сорт Приморский 29 ($p < 0,05$).

2. Характеристика скороспелых коллекционных образцов *Oryza sativa* L. в условиях Приморского края (г. Уссурийск, пос. Тимирязевский)

Образец	Вегетационный период, сут		Число рас-тений, шт.	Общее ку-щение, шт.	Высота рас-тения, см	Длина ме-телки, см	Число зерен в глав-ной метелке, шт.	Пустозер-ность, %	Масса зерна, г		
	2022 год	2023 год							с главной метелки	с растения	1000 шт.
Таврический	107	96	23	<u>1-5</u> 2,2*	<u>52-99</u> 81,0*	<u>15-23</u> 18,4*	<u>0-97</u> 60,4	<u>0-100</u> 11,5	<u>0-3,5</u> 1,82	<u>0-6,4</u> 3,35*	<u>26,3-36,1</u> 30,0*
№ 24	107	106	29	<u>1-3</u> 1,3	<u>56-83</u> 70,2	<u>10-18</u> 14,1	<u>25-136</u> 68,0	<u>0-37,3</u> 11,3	<u>0,7-3,9</u> 2,03	<u>0,7-6,5</u> 2,30	<u>22,0-34,6</u> 29,6
Дублер	107	104	33	<u>1-2</u> 1,1	<u>58-86</u> 73,6*	<u>12-19</u> 15,4*	<u>17-123</u> 67,7	<u>1,9-72,1</u> 11,6*	<u>0,5-3,6</u> 1,91	<u>0,5-4,8</u> 2,01	<u>19,2-35,6</u> 28,3
Дальневосточный	109	98	31	<u>1-3</u> 1,4	<u>64-105</u> 83,5*	<u>12-21</u> 16,1*	<u>30-87</u> 56,8	<u>0-24,7</u> 9,5	<u>0,9-2,5</u> 1,71	<u>0,9-4,1</u> 2,49	<u>23,9-34,6</u> 30,2*
Валоссо	110	94	29	<u>1-4</u> 1,8	<u>51-91</u> 67,7	<u>9-19</u> 13,2	<u>12-138</u> 42	<u>0-40,0</u> 8,4	<u>0,4-6,4</u> 1,36	<u>0,4-6,4</u> 2,75	<u>21,1-35,2</u> 31,7*
Приморский 29 (контроль)	109	98	40	<u>1-3</u> 1,6	<u>56-79</u> 67,9	<u>12-18</u> 14,3	<u>31-114</u> 73,9	<u>0-20,5</u> 7,9	<u>0,9-3,3</u> 2,10	<u>1,1-5,7</u> 2,76	<u>24,1-32,7</u> 28,4

Примечание. Над чертой — минимальное и максимальное значение признака в эксперименте, под чертой — среднее значение признака по результатам LDS-теста.

* Статистически значимо превосходит сорт Приморский 29 ($p < 0,05$).

Мы проанализировали продуктивность скороспелых сортообразцов с периодом вегетации 106 и менее сут в среднем за два года. Всего в эту группу вошло 56 образцов: 10 японских, 9 китайских, по 8 из Приморского из Краснодарского краев, 6 из Украины, по 4 из Венгрии и Узбекистана, по одному из Ростовской области, Италии, Норвегии, Бельгии, Кореи, Чили, Казахстана и Индии. Образец Таврический превысил по массе зерна с растения контроль. Еще четыре образца (№ 24, Дублер, Дальневосточный, Валоссо) по продуктивности оказались сопоставимы с Приморским 29. Три из пяти образцов превышали по массе 1000 зерен контрольный образец (табл. 2)

Была проведена идентификация восьми генов устойчивости риса к пирикулярриозу в коллекционных образцах *O. sativa*. Аллели устойчивости гена *Pi-2* встречались у трети образцов (табл. 3). Наиболее эффективные гены для Приморского края (*Pi-b*, *Pi-zt*, *Pi-ta2*) — в единичных случаях. Аллель устойчивости гена *Pi-9* в эксперименте выявили только у сорта-дифференциатора. Аллель гена *Pi-12(t)* детектировался постоянно в контроле и ряде образцов, поэтому был исключен из дальнейшего анализа как неэффективный.

3. Коллекционные образцы *Oryza sativa* L. с аллелями устойчивости генов *Pi*

Ген	Образцы с аллелями устойчивости	Число образцов, шт.
<i>Pi-ta</i>	Mu 07-1233, Дубрава, Долинный, УкрНИС 9291/2, Мавр, LD-122, Дарий 122, Long Jing 12, Long Jing 15, Long Jing 18, Long Jing 19, X-н-20-09, Лон-до-6, Оху 2х, Sui Jing 4	15
<i>Pi-b</i>	Long Nuo 2, LD-122, Long Jing 14, Long Jing 16, Long Jing 19, Long Jing 22, KJ-205, X-н-20-09, Оху 2х	9
<i>Pi-zt</i>	Long Jing 14, Long Jing 20	2
<i>Pi-9</i>	—	0
<i>Pi-ta2</i>	Mu 07-1233, Дубрава, Долинный, УкрНИС 9291/2, Дарий 122, Sui Jing 4, Long Jing 12, Long Jing 15, Long Jing 18, X-н-20-09, Long Jing 19, Лон-до-6	12
<i>Pi-1</i>	Таврический, б/н (к-10), Диамант, Sui Jing 28, LD-122, 242-01, б/н (9167), № 39	8
<i>Pi-2</i>	Sr 381, Agostano, Sr 816, Паллачи 67, Mutashali, Херсонский 1, УкрНИС 571, УкрНИС 6168, УкрНИС 3455, Донской 402, Новатор, Метелица, Серпантин, Марс, Ischikari, Jiang 19, Long Nuo 2, Onne Mochi, Sui Jing 7, Дубрава, Хазар, № 24, Кумир, Привольный 4, Аметист, ДОН 7790, Дублер, Боярин, Контакт, Раздольный, Южанин, Лиман, Ренар, Sui Jing 28, Nika Zulanzon, LD-122, Узрос 89-43, б/н (1898), б/н (4764), KJ-205, Гамма, Регул, № 11 (д. 1285/08), к.-с. 900 р.4, с. 924 р.4, с. 926 р.6, Л-3, к. 1859 Л-1, с. 925 р.5, с. 900 р.4, с. 603 Л-3, № 39 (д. 1292/08 г.) 229-01, Лон-до-6	52

Примечание. Прочерк означает отсутствие образцов с аллелем устойчивости по гену.

У 15 сортообразцов был выявлен полиморфизм по генам устойчивости к *P. oryzae* (табл. 4).

4. Полиморфные коллекционные образцы *Oryza sativa* L. по генам устойчивости к пирикулярриозу *Pi*

Ген	Полиморфные образцы по генам устойчивости	Число образцов, шт.
<i>Pi-ta</i>	Лон-до-6, Long Jing 15, LD-122, Sui Jing 4, Mu 07-1233, Дубрава	6
<i>Pi-b</i>	LD-122	1
<i>Pi-zt</i>	Long Jing 20	1
<i>Pi-9</i>	—	0
<i>Pi-ta2</i>	Лон-до-6, Long Jing 15, Sui Jing 4, Mu 07-1233, Дубрава	5
<i>Pi-1</i>	Диамант, LD-122	2
<i>Pi-2</i>	Ischikari, He Jiang 19, Long Nuo 2, Кумир, LD-122, Гамма, с. 926 р.6, б/н 4764, Лон-до-6	9

Примечание. Прочерк означает отсутствие образцов с аллелем устойчивости по гену.

Доля образцов с аллелем восприимчивости колебалась от 3,6 до 96,4 %. Четыре образца оказались полиморфными по двум генам — Long

Jing 15, Sui Jing 4, Mu 07-1233 и Дубрава; по трем генам один — Лон-до-6. Образец LD-122 был полиморфен по четырем генам, два из них (*Pi-b* и *Pi-l*) представлены на рисунках 2 и 3.

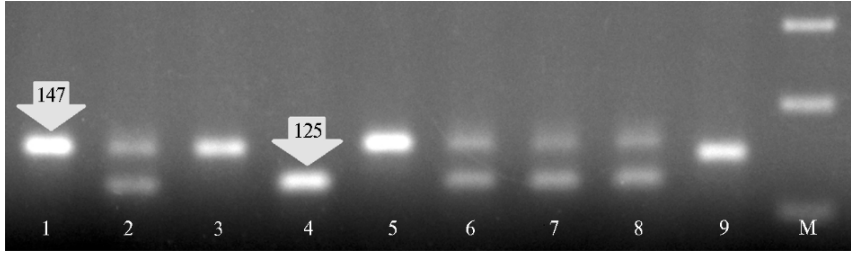


Рис. 2. Электрофоретическое разделение ПЦР-продуктов, полученных при выявлении гена устойчивости к пирикулярриозу *Pi-1* у сортообразца риса *Oryza sativa* L. LD-122: 1, 3, 5 — гомозиготы по аллелю 147 п.н., 4 — гомозигота по аллелю 125 п.н., 2, 6-8 — гетерозиготы, 9 — сорт Магнат (контроль) 137 п.н., 10 — маркер молекулярных масс М-100-2 (НПК «Синтол», Россия).

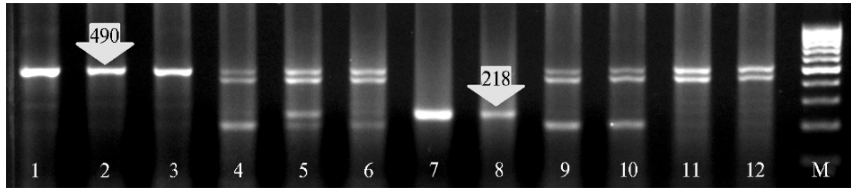


Рис. 3. Электрофоретическое разделение ПЦР-продуктов, полученных при выявлении гена устойчивости к пирикулярриозу *Pi-b* у сортообразцов риса *Oryza sativa* L. Long Nuo 2 (1-3) и LD-122 (4-11): 1-4, 6, 9-11 — гомозиготы по аллелю 490 п.н., 7-8 — гомозиготы по аллелю 218 п.н., 5 — гетерозигота, 12 — сорт Оху 2х (контроль) 490 п.н., 13 — маркер молекулярных масс М-100-2 (НПК «Синтол», Россия).

У двух образцов — Бугдай-Шала и ДОН 7790 с помощью выбранного праймера *Pi-b* кодоминантного типа никаких аллелей не выявлено вовсе, что может свидетельствовать об отсутствии в них соответствующего гена.

Гетерозиготные растения были детектированы в трех образцах, их доля достигала 21,4 % (табл. 5). У сортообразца LD-122 гетерозиготы выявили по генам *Pi-b*, *Pi-2* и *Pi-1*.

5. Коллекционные образцы *Oryza sativa* L. с гетерозиготами по генам устойчивости к пирикулярриозу *Pi*

Ген	Гетерозиготные образцы по генам устойчивости	Доля растений, %	Число образцов, шт.
<i>Pi-b</i>	LD-122	10,3	1
<i>Pi-1</i>	LD-122	21,4	1
<i>Pi-2</i>	Ischikari, LD-122, Лон-до-6	13,3; 6,9; 19,2	3

6. Коллекционные образцы *Oryza sativa* L. с пирамидой наиболее эффективных аллелей устойчивости генов *Pi*

Гены	Образцы	Период вегетации, сут
<i>Pi-b</i> , <i>Pi-ta</i> , <i>Pi-1</i>	LD-122	113
<i>Pi-b</i> , <i>Pi-ta2</i>	Х-н-20-09, Long Jing 19	123; 110
<i>Pi-b</i> , <i>Pi-ta</i>	Оху 2х	114
<i>Pi-b</i> , <i>Pi-zf</i>	Long Jing 14	111

Пирамида из двух-трех наиболее ценных генов устойчивости риса к *P. oryzae* для Приморского края была определена у пяти образцов (табл. 6). Все они уступали по продуктивности и скороспелости контрольному сорту Приморский 29 (табл. 7).

7. Характеристика коллекционных образцов *Oryza sativa* L. с пирамидой наиболее эффективных аллелей устойчивости генов *Pi* в условиях Приморского края (г. Уссурийск, пос. Тимирязевский)

Образец	Вегетационный период, сут		Число растений, шт.	Общее кущение, шт.	Высота растения, см	Длина метелки, см	Число зерен в главной метелке, шт.	Пустозерность, %	Масса зерна, г		
	2022 год	2023 год							с главной метелки	с растения	1000 шт.
LD-122	113	113	24	<u>1-5</u> 2,2*	<u>36-89</u> 59,0	<u>11-21</u> 16,0*	<u>0-112</u> 44,5	<u>4,0-100</u> 32,3*	<u>0-3,1</u> 1,15	<u>0-6,8</u> 1,78	<u>20,0-31,7</u> 25,2
X-н-20-09	128	120	27	<u>1-1</u> 1,0	<u>49-82</u> 61,7	<u>9-16</u> 12,7	<u>17-100</u> 55,0	<u>2,4-34,9</u> 12,7	<u>0,4-2,0</u> 1,13	<u>0,4-2,0</u> 1,13	<u>18,4-23,5</u> 20,8
Long Jing 19	112	107	29	<u>1-2</u> 1,2	<u>31-77</u> 56,6	<u>6-17</u> 12,6	<u>3-61</u> 28,1	<u>0-85</u> 16,7*	<u>0,1-1,8</u> 0,73	<u>0,1-2,2</u> 0,75	<u>12,5-36,4</u> 24,7
Oxy 2x	111	111	39	<u>1-3</u> 1,3	<u>33-66</u> 49,2	<u>11-20</u> 15,6*	<u>1-77</u> 43,6	<u>2,1-98,7</u> 20,7*	<u>0-2,0</u> 1,00	<u>0-2,0</u> 1,02	<u>0-27,9</u> 21,7
Long Jing 14	122	109	36	<u>1-3</u> 1,6	<u>38-68</u> 52,9	<u>9-18</u> 13,5	<u>15-64</u> 35,3	<u>0-23,8</u> 6,6	<u>0,3-1,7</u> 0,85	<u>0,3-1,8</u> 0,90	<u>15,8-29,7</u> 24,1
Приморский 29 (контроль)	109	98	40	<u>1-3</u> 1,6	<u>56-79</u> 67,9	<u>12-18</u> 14,3	<u>31-114</u> 73,9	<u>0-20,5</u> 7,9	<u>0,9-3,3</u> 2,10	<u>1,1-5,7</u> 2,76	<u>24,1-32,7</u> 28,4

Примечание. Над чертой — минимальное и максимальное значение признака в эксперименте, под чертой — среднее значение признака по результатам LDS-теста.

* Статистически значимо превосходит сорт Приморский 29 ($p < 0,05$).

Продолжительность периода вегетации — главный лимитирующий фактор дальневосточной зоны рисосеяния. Поэтому в селекционной практике особая ценность придается сортам, сохраняющим признак продолжительности периода вегетации до 110 сут в разных агроклиматических условиях (19). В нашем эксперименте большая часть образцов риса созрела за этот период (см. рис. 3). Тем не менее только два из них (Таврический и 4764) оказались значимо продуктивнее, с более высокой массой 1000 зерен, чем контрольный сорт Приморский 29 (см. табл. 1). Еще один сортообразец (УкрНИС 3455) с высокими показателями продуктивности созрел на 2 сут позже. Эти три сорта можно рекомендовать к изучению урожайности в производственных испытаниях в условиях Приморского края.

При селекции риса необходимо совмещать в гибридах признаки продуктивности и скороспелости — до 106 сут в условиях Приморского края (19). Только 4 образца риса из этой группы по продуктивности оказались сопоставимы с контролем с тенденцией к уменьшению (см. табл. 2), один сорт (Таврический) превысил по продуктивности и массе 1000 зерен Приморский 29. Самым коротким периодом вегетации характеризовались образцы из Японии, Китая и Приморского края. Однако подтвердились ранее полученные выводы о низкой урожайности скороспелых сортов (19, 20).

Возможности селекционного повышения продуктивности сортов риса в Приморском крае не полностью использованы. Отдельные признаки учтены зарубежными селекционерами, но не совершенствовались в Приморье (5). В частности, повышению урожайности будет способствовать кремнефильность генотипов с высокопрочным стеблем до 90 см и эректоидность листьев, сохраняющих зеленый цвет до созревания метелок, высокая устойчивость к болезням и вредителям при отличном качестве зерна (5, 19, 20). Именно такой тип растения может нести крупную метелку с большой озерненностью, которая не должна сильно уменьшаться при использовании посевной технологии возделывания риса, принятой в крае (20).

В целом, современная селекция риса позволяет не только проводить совмещение элементов продуктивности в гибридах с последующим выделение лучших генотипов. Произошла смена представлений о фенотипе сортов риса. Растениям с генами «зеленой революции» (полукарликовости) противопоставляются высокорослые прочностебельные образцы, способные при одинаковом минеральном питании давать большую продуктивность (20–22); уделяется внимание развитию и поглощающей способности корневой системы, обеспечивающей устойчивость к полеганию (23); фотосинтетический потенциал наращивается за счет увеличения числа хлоропластов и длительного (до созревания) фотосинтеза листьев и метелки (24). За эти и многие другие признаки отвечают отдельные гены, либо локусы количественных признаков, для которых созданы молекулярные маркеры. Одной из возможностей увеличения продуктивности риса считается выращивание устойчивых к заболеваниям сортов (2, 20, 25). В нашей работе выделен ряд образцов с эффективными для Приморского края генами устойчивости к пирикулярриозу (см. табл. 3). Сорта дальневосточной селекции последнего поколения (Луговой, Алмаз, Долинный) несут по одному гену устойчивости к пирикулярриозу (*Pi-ta2* или *Pi-z*) (26). Это открывает возможность интрогрессии в них новых генов семейства *Pi* и создания генотипов с пирамидой генов, которые обеспечивают очень высокую степень устойчивости к пирикулярриозу (11, 12, 15).

По отдельным генам необходимы дополнительные исследования. Так, ген широкого спектра действия *Pi-2* обладает минимум пятью аллелями (14). Используемый нами в качестве стандарта сорт Магнат несет

аллель 239 п.н. Он не дает преимущества сортам и удвоенным гаплоидам в отношении дальневосточных рас *P. oryzae* (27). Это позволяет вести негативный отбор в селекционных линиях, тем более что аллель 239 п.н. часто встречается в исходных сортообразцах (см. табл. 3). Для выявления аллеля устойчивости гена *Pi-2* необходим подбор моногенных коллекционных образцов (без пирамиды генов) семейства *Pi* с последующей оценкой на инфекционном фоне.

Ген *Pi-12(t)* актуален в борьбе с пирикуляриозом на Дальнем Востоке России (10) и сопредельных территориях Китая (28, 29). Разработан молекулярный маркер для его идентификации (18). Несмотря на длительность существования маркера и интенсивность работ по маркер ориентированной селекции риса на устойчивость к пирикуляриозу во всем мире, мы не нашли в научной литературе упоминаний о сортах или хотя бы линиях *O. sativa* с этим геном. По нашим собственным данным, праймер демонстрирует исключительно положительный результат во множестве исследованных образцов и не может быть использован для селекции риса на наличие гена устойчивости *Pi-12(t)*.

Pi-ta и *Pi-ta2* — это парные гены, с накопившимися эволюционными различиями в пределах рода *Oryza* L. и вида *O. sativa* (30, 31). Иногда их рассматривают как аналогичные, и для идентификации этих генов при молекулярном маркировании рекомендуют одинаковые пары праймеров (16, 17). Однако использование моногенных сортов-дифференциаторов позволяет получить различное фенотипическое проявление по этим двум генам (28, 29, 32). Ранее мы выявили несоответствия по аллелям этих генов среди удвоенных гаплоидов *O. sativa*: в андрогегнезе *in vitro* сформировались образцы с аллелем устойчивости гена *Pi-ta2* в отсутствие аллеля устойчивости гена *Pi-ta* (33). Это свидетельствует о продолжающейся эволюционно-генетической дивергенции селекционных образцов по двум исследованным генам.

Изучая коллекцию риса, мы обнаружили три варианта представленности аллелей: аллель устойчивости *Pi-ta* полностью соответствовал аллелю устойчивости *Pi-ta2* в растениях даже при полиморфизме сортов по этим генам (Лон-до-6, Long Jing 15); при наличии аллеля устойчивости *Pi-ta* отсутствовал аллель устойчивости *Pi-ta2* (LD-122, Оху 2х, Мавр, Дубрава — 88,5 % растений, Му 07-12 — 4,8 % растений); при наличии аллеля устойчивости *Pi-ta2* отсутствовал аллель устойчивости *Pi-ta* (Sui Jing 4 — 4,0 % растений, Му 07-12 — 9,5 % растений). Большая часть образцов относилась к полиморфным. Образец Му 07-1233 характеризовался всеми комбинациями аллелей парных генов: аллели устойчивости обоих генов, аллели восприимчивости обоих генов, по одному из аллелей устойчивости. То есть в части образцов возникли эволюционные преобразования, приведшие к несоответствию аллелей генов *Pi-ta2* и *Pi-ta*, детектируемых с помощью использованных праймеров.

Дальнейшее повышение производства риса в мире связывают с применением гибридных семян (20, 24). Несмотря на дороговизну, в некоторых рисосеющих странах они допущены к использованию и применяются. Подвид риса *japonica*, который занимает северную часть ареала культурного вида *O. sativa*, в меньшей степени задействован в программах создания гибридного риса вследствие экономической неоправданности (24). Для селекции на гетерозис необходимо в первую очередь выделить сортообразцы с открытым типом цветения, с возможностью перекрестного опыления.

Вид *O. sativa* относится к строгим самоопылителям с низким процентом аллогамии — в среднем 0,12-0,40 % (34, 35), достигающим в типичных

местах ареала 8,0 % перекрестного пыления с диким рисом (34, 36). Тем не менее отдельные российские сорта способны к естественному переопылению в производственных условиях (37). В нашей работе использованы праймеры кодоминантного типа, выявляющие аллельное состояние трех генов — *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-b*. В трех образцах обнаружено 6,9–21,4 % гетерозиготных растений (см. табл. 5). Они могут стать основой для изучения гетерозисного эффекта в дальневосточных условиях. Краснозерный сорнополевой образец, отобранный в Краснодарском крае от свободных скрещиваний с культурными видами, в нашем эксперименте был мономорфен по всем генам. Возможно, этот позднеспелый сортообразец (121 сут) оказался полностью изолирован временными рамками от других растений риса, и семена завязались посредством самоопыления с высокой долей пустозерности в 2022 году — 64 %, в 2023 году — 8 %.

В целом, границы ареалов способствуют интенсивным микроэволюционным изменениям видов (38, 39), в том числе посредством смены механизмов системы размножения (40, 41). В условиях юга Дальнего Востока *O. sativa* находится на северной периферии распространения, поэтому ряд аллогамных образцов риса может расширяться с применением маркеров кодоминантного типа по другим целевым генам. Для гибридной селекции свободно переопыляющегося риса важно найти синхронно цветущие образцы (24).

Природа полиморфизма части сортообразцов вполне объяснима (см. табл. 4). Например, LD-122, Ischikari и Лон-до-6, как обсуждалось выше, вероятно, способны к перекрестному опылению, что стало причиной их изменчивости. Сорт риса Дубрава выведен посредством отбора из китайской сортосмеси. В год районирования 30 % растений несли аллель устойчивости гена *Pi-ta2* (42). Сейчас доля таких растений сократилась до 10 %. Первичное семеноводство полиморфных сортов по целевым генам необходимо вести с использованием молекулярных маркеров. Причина возникновения изменчивости остальных сортов по изученным генам остается неясной, может быть и той, и другой.

Таким образом, мы охарактеризовали 159 коллекционных образцов риса *Oryza sativa* различного эколого-географического происхождения по продуктивности и скороспелости в условиях Приморского края. Выделены сортообразцы (Таврический, б/н (4764) и УкрНИС 3455), превышающие контрольный сорт Приморский 29 по продуктивности, они могут быть рекомендованы к производственным испытаниям в дальневосточной зоне рисосеяния. Выделено 15 образцов с аллелем устойчивости гена *Pi-ta*, 9 — *Pi-b*, 2 — *Pi-zt*, 12 — *Pi-ta2*, 8 — *Pi-1*, 52 — *Pi-2*. Сортообразцов с аллелем устойчивости *Pi-9* не выявлено. Эти результаты могут быть включены в базы данных, характеризующие коллекции риса *O. sativa*, и использованы в селекции на устойчивость к пирикулярриозу. Среди 15 сортообразцов выявлен полиморфизм по генам устойчивости к *P. oryzae*. Доля образцов с аллелем восприимчивости колебалась от 3,6 до 96,4 %. По двум генам оказались полиморфными образцы Long Jing 15, Sui Jing 4, Mu 07-1233 и Дубрава; по трем генам — Лон-до-6. Образец LD-122 полиморфен по четырем генам. Гетерозиготные растения были детектированы в трех образцах, их доля достигала 21,4 %. У сортообразца LD-122 гетерозиготы выявили по генам *Pi-b*, *Pi-2* и *Pi-1*. Образцы могут быть использованы в селекции на гетерозис в северной части ареала культурного вида *O. sativa*, поскольку способны в таких условиях к аллогамии. Пирамида из двух-трех наиболее ценных генов устойчивости риса к *P. oryzae* для Приморского края определена у пяти образцов: LD-122, X-н-20-09, Long Jing 19, Оху 2х, Long Jing 14. Все они

уступали по продуктивности и скороспелости контрольному сорту Приморский 29 и пригодны для интрогрессии комплекса целевых генов в селекции на устойчивость к *P. oryzae*.

Авторы считают приятным долгом выразить благодарность заведующему лабораторией селекционно-генетических исследований полевых культур ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки канд. биол. наук П.В. Фисенко за консультацию при проведении молекулярно-генетического анализа ДНК риса по отдельным генам. Весьма признательны рецензентам за внимательное отношение к статье, ценные советы и всестороннюю помощь.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cheng F., Quan X., Zhengjin X., Wenfu C. Effect of rice breeding process on improvement of yield and quality in China. *Rice Science*, 2020, 27(5): 363-367 (doi: 10.1016/j.rsci.2019.12.009).
2. Wang X., Guo X., Ma X., Luo L., Fang Y., Zhao N., Han Y., Wei Z., Liu F., Qin B., Li R. Development of new rice (*Oryza sativa* L.) breeding lines through marker-assisted introgression and pyramiding of brown planthopper, blast, bacterial leaf blight resistance, and aroma genes. *Agronomy*, 2021, 11(12): 2525 (doi: 10.3390/agronomy11122525).
3. Коротенко Т.Л., Брагина О.А., Супрун И.И., Мухина Ж.М., Епифанович Ю.В., Петрухненко А.А., Хорина Т.А. Резистентность к возбудителю пирикулярноза и морфобиологические особенности генотипов коллекции *Oryza sativa* L. из различных эколого-географических групп в условиях Кубанской зоны рисосеяния. *Вавиловский журнал генетики и селекции*, 2018, 22(1): 69-78 (doi: 10.18699/VJ18.333).
4. Сухомиров Г.И. Рисоводство на Дальнем Востоке России: развитие, проблемы, перспективы. *Регионалистика*, 2018, 5(5): 45-57 (doi: 10.14530/reg.2018.5.45).
5. Холупенко И.П., Бурундукова О.Л. Модели интенсивных сортов риса для условий дальневосточной зоны рисосеяния. *Вестник КрасГАУ*, 2013, 12: 96-100.
6. Dean R., Kan J.A.L., Pretorius Z.A., Hammond-Kosack K.E., Pietro A., Spanu P.D., Rudd J.J., Dichman M., Kahmann R., Ellis J., Foster G.D. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 2012, 13(4): 414-430 (doi: 10.1111/J.1364-3703.2011.00783.X).
7. Srivastava D., Shamim M., Kumar M., Mishra A., Pandey P., Kumar d., Yadav P., Siddiqui H., Singh K.N. Current status of conventional and molecular interventions for blast resistance in rice. *Rice Science*, 2017, 24(6): 299-321 (doi: 10.1016/j.rsci.2017.08.001).
8. Korinsak S., Tangphatsornruang S., Pootakham W., Wanchana S., Plabpla A., Jantasuriyarat C., Patarapuwadol S., Vanavichit A., Toojinda T. Genome-wide association mapping of virulence gene in rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* using a genotyping by sequencing approach. *Genomics*, 2019, 111(4): 661-668 (doi: 10.1016/j.ygeno.2018.05.011).
9. Bezmutko S., Vyborova T., Lelyavskaya V. Evaluation of the effectiveness of the fungicide comissar against rice *Pyricularia*. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 2021, 937: 022135 (doi: 10.1088/1755-1315/937/2/022135).
10. Илюшко М.В., Ромашова М.В., Гученко С.С., Емельянов А.Н. Продуктивность образцов риса *Oryza sativa* L. краснодарской и зерноградской селекции в коллекционном питомнике в условиях Приморского края. *Аграрная Россия*, 2024, 5: 8-13 (doi: 10.30906/1999-5636-2024-5-8-13).
11. Wu Y., Xiao N., Chen Y., Yu L., Pan C., Li Y., Zhang X., Huang N., Ji H., Dai Z., Chen X., Li A. Comprehensive evaluation of resistance effects of pyramiding lines with different broad-spectrum resistance genes against *Magnaporthe oryzae* in rice (*Oryza sativa* L.). *Rice*, 2019, 12: 11 (doi: 10.1186/s12284-019-0264-3).
12. Dubina E.V., Kostylev P.I., Garkusha S.V., Ruban M.G. Development of blast-resistant rice varieties based on application of DNA technologies. *Euphytica*, 2020, 216: 162 (doi: 10.1007/s10681-020-02698-4).
13. Aljanabi S.M., Martinez I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genome DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acid Research*, 1997, 25(22): 4692-4693 (doi: 10.1093/nar/25.22.4692).
14. Шилов И.А., Анискина Ю.В., Велишаева Н.С., Колобова О.С., Шалаева Т.В., Костылев П.И., Дубина Е.В. Технология массового скрининга риса на наличие генов устойчивости к пирикулярнозу *Pi-1*, *Pi-2* и *Pi-33* на основе мультиплексного микросателлитного анализа. *Достижения науки и техники АПК*, 2018, 32(11): 21-25 (doi: 10.24411/0235-2451-2018-11105).
15. Wang J.C., Correll J.C., Jia Y. Characterization of rice blast resistance genes in rice germplasm with monogenic lines and pathogenic assays. *Crop Protection*, 2015, 72: 132-138 (doi: 10.1016/j.cropro.2015.03.014).

16. Hayashi K., Yoshida H., Ashikawa I. Development of PCR-based allele-specific and InDel marker set for nine rice blast resistance genes. *Theor. Appl. Genet.*, 2006, 113: 251-260 (doi: 10.1007/s00122-006-0290-6).
17. Liang Y., Yan B., Peng Y., Ji Z., Zeng Y., Wu H. Molecular Screening of blast resistance genes in rice germplasm resistant to *Magnaporthe oryzae*. *Rice Science*, 2017, 24(1): 41-47 (doi: 10.1016/j.rsci.2016.07.004).
18. Zhuang J.Y., Lu J., Qian H.R., Lin H.X., Zheng K.L. Tagging of blast resistance gene(s) to DNA markers and marker-assisted selection (MAS) in rice improvement. In: *Application of DNA based marker mutations for improvement of cereals and other sexually reproduced crop plants. Proceedings of a final research co-ordination meeting organized by the joint FAO/IAED division of nuclear techniques in food and agriculture and held in Vienna, 4-8 November 1996*. IAEA-TECDOC: 1010. International Atomic Energy Agency (IAEA), Vienna, 1998: 55-61.
19. Ковалевская В.А. Селекция риса в дальневосточной зоне рисосеяния. *Достижения науки и техники АПК*, 2008, 6: 8-10.
20. Зеленский Г.Л., Зеленская О.В. Селекция риса на повышение его продуктивности (обзор). *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*, 2024, 185(1): 212-223 (doi: 10.30901/2227-8834-2024-1-212-223).
21. Yano K., Ookawa T., Aya K., Ochiai Y., Hirasawa T., Ebitani T., Takarada T., Yano M., Yamamoto T., Fukuoka S., Wu J., Ando T., Ordonio R., Hirano K., Matsuoka M. Isolation of a novel lodging resistance QTL gene involved in strigolactone signaling and its pyramiding with a QTL gene involved in another mechanism. *Molecular Plant*, 2015, 8(2): 303-314 (doi: 10.1016/j.molp.2014.10.009).
22. Lu Z., Yu H., Xiong G., Wang J., Jiao Y., Liu G., Jing Y., Meng X., Hu X., Qian Q., Fu X., Wang Y., Li J. Genome-wide binding analysis of the transcription activator ideal plant architecture 1 reveals a complex network regulating rice plant architecture. *The Plant Cell*, 2013, 25(10): 3743-3759 (doi: 10.1105/tpc.113.113639).
23. Arai-Sanoh Y., Takai T., Yoshinaga S., Nakano H., Kojima M., Sakakibara H., Kondo M., Uga Y. Deep rooting conferred by deeper rooting 1 enhances rice yield in paddy fields. *Science Reports*, 2014, 4: 5563 (doi: 10.1038/srep05563).
24. Гончарова Ю.К., Харитонов Е.М. *Генетические основы повышения продуктивности риса*. Краснодар, 2015.
25. Dubina E., Kostylev P., Ruban M., Lesnyak S., Krasnova E., Azarin K. Rice breeding in Russia using genetic markers. *Plants*, 2020, 9: 1580 (doi: 10.3390/plants9111580).
26. Илюшко М.В., Ромашова М.В., Гученко С.С. Молекулярное маркирование генов устойчивости к пирикулярриозу в сортах риса дальневосточной селекции. *Аграрная Россия*, 2020, 10: 30-33 (doi: 10.30906/1999-5636-2020-10-30-33).
27. Ilyushko M.V., Guchenko S.S., Lelyavskaya V.N., Bezmutko S.V., Romashova M.V. Resistance of Far Eastern rice *Oryza sativa* L. varieties and competitive testing samples to *Pyricularia oryzae* Cav. *Russian Agricultural Sciences*, 2022, 48(1): 8-12 (doi: 10.3103/S1068367422020057).
28. Wang J.C., Jia Y., Wen J.W., Liu W.P., Liu X.M., Li L., Jiang Z.Y., Zhang J.H., Guo X.I., Ren J.P. Identification of rice blast resistance genes using international monogenic differentials. *Crop Protection*, 2013, 45: 109-116 (doi: 10.1016/j.cropro.2012.11.020).
29. Ma J.T., Zhang G.M., Xin A.H., Zhang L.Y., Deng L.W., Wang Y.L., Wang Y., Ren Y., Gong X.J., Ge X.L., Yang X.F. Comparison of pathogenicity of *Pyricularia oryzae* under different genetic backgrounds. *Acta Agronomica Sinica*, 2015, 41(12): 1791-1801 (doi: 10.3724/SP.J.1006.2015.01791).
30. Ramkumar G., Madhav M.S., Rama Devi S.J.S., Manimaran P., Mohan K.M., Prasad M.S., Balachandran S.M., Neeraja C.N., Sundaram R.M., Viraktamath B.C. Nucleotide diversity of *Pita*, a major blast resistance gene and identification of its minimal promoter. *Gene*, 2014, 546(2): 250-256 (doi: 10.1016/j.gene.2014.06.001).
31. Stein J.C., Yu Y., Copetti D. et al. Genome of 13 domesticated and wild rice relatives highlight genetic conservation, turnover and innovation across the genus *Oryza*. *Nature Genetics*, 2018, 50: 285-296 (doi: 10.1038/s41588-018-0040-0).
32. Выборова Т.А., Безмутко С.В., Леявская В.Н. Эффективные гены устойчивости риса к приморской популяции *Pyricularia oryzae*. *Защита и карантин растений*, 2023, 4: 43-44.
33. Ilyushko M.V., Romashova M.V., Zhang J.M., Deng L.W., Liu D.J., Zhang R., Guchenko S.S. Intra-callus variability of rice doubled haploids generated through *in vitro* androgenesis. *Agricultural biology*, 2020, 55(3): 533-543 (doi: 10.15389/agrobiol.2020.3.533rus).
34. *Weedy rices — origin, biology, ecology and control*. FAO Plant Production and Protection Paper 188 /J.C. Delouche, N.R. Burgos, D.R. Gealy, G. Zorrilla, De San Martine, R. Labrada (eds.). FAO, Rome, 2007.
35. Messeguer J., Marfà V., Català M.M., Guiderdoni E., Melé E. A field study of pollen-mediated gene flow from Mediterranean GM rice to conventional rice and the red rice weed. *Molecular Breeding*, 2004, 13: 103-112 (doi: 10.1023/B:MOLB.0000012285.39859.9d).
36. Ока Н.И. *Origin of cultivated rice*. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, 1988.
37. Зеленская О.В., Зеленский Г.Л. К вопросу о гибридизации сортов риса и сорно-полевых

- краснозерных форм. *Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета*, 2020, 159(05): 133-146 (doi: 10.21515/1990-4665-159-009).
38. Fedorenko O.M., Gritskikh M.V. Diversity of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Natural populations at the northern limits of the species range: RAPD analysis. *Russian Journal of Genetics*, 2008, 44(4): 425-428 (doi: 10.1134/S1022795408040078).
 39. Федоренко О.М., Зарецкая М.В. Генетические механизмы процессов адаптации природных популяций *Arabidopsis thaliana*. *Евразийский союз ученых*, 2015, 4-10(13): 22-25.
 40. Runions C.J., Geber M.A. Evolution of the self-pollinating flower in *Clarkia xantiana* (*Onagraceae*). I. Size and development of floral organs. *American Journal of Botany*, 2000, 87(10): 1439-1451 (doi: 10.2307/2656870).
 41. Юдакова О.И., Тырнов В.С., Кунах В.А., Козерецкая И.А., Парникова И.Ю. Специфика адаптации системы семенного размножения *Deschampsia antarctica* E. Desv. в условиях прибрежной Антарктики. *Онтогенез*, 2016, 47(3): 170-180 (doi: 10.7868/S0475145016030071).
 42. Илюшко М.В., Ромашова М.В., Фисенко П.В., Суницкая Т.В., Гученко С.С., Лелявская В.Н. Идентификация гена устойчивости риса к пирикулярриозу *Pi-ta2* в коллекционных образцах и дальневосточных сортах риса методом молекулярного маркирования. *Вестник защиты растений*, 2019, 1(99): 36-39 (doi: 10.31993/2308-6459-2019-1(99)-36-39).

ФГБНУ ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока

им. А.К. Чайки,

692539 Россия, Приморский край, г. Уссурийск, пос. Тимирязевский,
ул. Воложенина, 30, e-mail: ilyushkoiris@mail.ru ✉,
romashova_1969@mail.ru, ana_svet8@mail.ru

Поступила в редакцию

20 декабря 2024 года

Принята к публикации
22 марта 2025 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2025, V. 60, № 5, pp. 810-826

STUDY OF *Oryza sativa* L. SAMPLES AT A COLLECTION NURSERY IN PRIMORSKY KRAI AND SCREENING FOR OF BLAST RESISTANCE GENES

M.V. Ilyushko✉, M.V. Romashova, S.S. Guchenko

Chaika Federal Research Center of Agricultural Biotechnology of the Far East, 30, ul. Volozhenina, pos. Timiryazevskii, Ussuriysk, Primorsky Krai, 692539 Russia, e-mail ilyushkoiris@mail.ru (✉ corresponding author), romashova_1969@mail.ru, ana_svet8@mail.ru

ORCID:

Ilyushko M.V. orcid.org/0000-0001-7042-8641

Romashova M.V. orcid.org/0000-0002-7426-8523

Guchenko S.S. orcid.org/0000-0003-3492-8934

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

The authors are pleased to express their gratitude to P.V. Fisenko, PhD, Head of the Laboratory of Field Crops Breeding and Genetic Research at the A.K. Chaika Federal Research Center of Agricultural Biotechnology of the Far East, for consultations during the molecular genetic analysis of rice DNA for individual genes. They are also grateful to the reviewers for their attentive attention to the article, valuable advice, and comprehensive assistance.

Final revision received December 20, 2024

doi: 10.15389/agrobiology.2025.5.810eng

Accepted March 22, 2025

Abstract

In the south of the Far East, *Oryza sativa* L. rice is grown at the northern limit of its range, which is characterized by recurrent cold weather during the initial periods of rice growth and development. Soil and climatic conditions allow obtaining grain yields of up to 6.0 t/ha using early maturing varieties. The region has always been characterized by significant phytopathological stress. A wide variety of *Pyricularia oryzae* Cav. races is noted here, since the monsoon climate creates favorable humid conditions for their development. In this study, productive accessions were isolated for the first time from 159 accessions of the *O. sativa* rice collection in the conditions of Primorsky Territory; collection accessions with resistance alleles of the *Pi* genes were highlighted; polymorphic, heterozygous accessions and accessions with a pyramid of the *Pi* genes were identified. The aim of the study was to select the most productive and early maturing forms in an updated rice collection under the conditions of Primorsky Territory and determine the allelic state of seven blast resistance genes (*Pi-ta*, *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-b*, *Pi-zf*, *Pi-ta2*, *Pi-9*) to *P. oryzae* using molecular markers. A total of 159 collection accessions of *O. sativa* rice from 22 countries were examined. Seeds were collected in 2018-2021 and stored in a refrigerator at 4 °C. The studies were conducted at the vegetation site of the A.K. Chaika Federal Scientific Center of Agrobiotechnology of the Far East (Primorsky Territory, Ussuriysk, Timiryazevsky settlement) in 2022-2023. Rice was sown at the recommended dates: May 25, 2022 and May 19, 2023. The experiment was conducted in 460 l pots filled with soil typical of rice fields – meadow-brown with a heavy mechanical composition. The irrigation regime was shortened flooding.

Weather conditions during the growing season met the biological requirements of the crop, exceeding the long-term regional average by month by 0.2-0.8 °C in 2022 and by 1.4-2.4 °C in 2023. Plants were harvested before September 30. Late-ripening samples in 2022 were transplanted into plastic containers and placed in a greenhouse at a temperature of 18-20 °C for ripening. In 2023, all plants ripened before harvesting in the growing site. Manual tending of crops was carried out. The date of germination and ripening (at least three plants per replicate at the required phase) was recorded, averaging for each sample. The following biometric parameters were measured: tillering (pcs.), plant height (cm), panicle length (cm), number of grains in the main panicle (pcs.), empty grain content (%), weight of grains in the main panicle and plant (g), the weight of 1000 grains was obtained by recounting (g). A total of 4804 plants were analyzed in the work. A comparative assessment of the collection samples with the control was performed using LDS-test. To isolate DNA, we used the leaves of three to four plants of the same sample; 598 plants were analyzed. If sample polymorphism was detected, an additional 26-30 plants were grown to determine the proportion of resistance alleles. The PCR reaction was carried out in 25 µl of the reaction mixture according to the generally accepted technique. As a result of the work, variety samples (Tavrishesky, (4764) and UkrNIS 3455) exceeding the control variety Primorsky 29 in productivity were isolated. Fifteen samples with the resistance allele of the *Pi-ta* gene, 9 with *Pi-b*, 2 with *Pi-zt*, 12 with *Pi-ta2*, 8 with *Pi-1*, 52 with *Pi-2* were isolated. Samples with the *Pi-9* resistance allele were not identified. The obtained results can be included in the databases characterizing *O. sativa* rice collections and used in breeding for resistance to blast. Polymorphism for the genes of resistance to *P. oryzae* was revealed among 15 variety samples. The proportion of samples with the susceptibility allele varied from 3.6 to 96.4 %. Samples Long Jing 15, Sui Jing 4, Mu 07-1233 and Dubrava turned out to be polymorphic for two genes; Lon-do-6 for three genes. Sample LD-122 was polymorphic for four genes. Heterozygous plants were detected in three samples, reaching 21.4 %. In the sample LD-122, heterozygotes were detected for three genes *Pi-b*, *Pi-2* and *Pi-1*. The samples can be used in breeding for heterosis in the northern part of the range of the cultivated species *O. sativa*, since they are capable of allogamy under such conditions. A pyramid of two or three most valuable genes of rice resistance to *P. oryzae* for Primorsky Territory was determined in five samples: LD-122, X-H-20-09, Long Jing 19, Oxy 2x, Long Jing 14. All of them are inferior in productivity and early maturity to the control variety Primorsky 29 and are suitable for introgression of target genes a complex in selection for resistance to *P. oryzae* with molecular genetic support.

Keywords: *Oryza sativa*, varieties, collection, productivity, early maturity, blast resistance genes *Pi*.