

ПОВЫШЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ РИСА К ПИРИКУЛЯРИИ ПУТЕМ ПИРАМИДИРОВАНИЯ НЕСКОЛЬКИХ ГЕНОВ С МАРКЕРНЫМ КОНТРОЛЕМ

П.И. Костылев¹, Е.В. Краснова¹, А.А. Редькин¹, Ж.М. Мухина², Е.В. Дубина²

¹Всероссийский НИИ зерновых культур им. И.Г. Калининко, Зеленоград, Россия, vnizk30@mail.ru

²Всероссийский НИИ риса, Краснодар, Россия

Рис может значительно снизить урожайность зерна при поражении опасным заболеванием – пирикуляриозом. Поэтому актуальным является создание урожайных резистентных сортов риса, имеющих в одном генотипе несколько генов со своим вкладом. Использование молекулярных маркеров, сцепленных с генами устойчивости, облегчает селекционную работу. Цель работы – создание линий риса с пятью генами устойчивости к пирикуляриозу. Донорами генов устойчивости послужили линии зарубежной селекции, реципиентов – отечественные сорта. В работе использованы микросателлитные маркеры. На первом этапе работы получены 6 гибридов от скрещивания сортов Боярин и Вираз с донорами генов Pi-1, Pi-2, Pi-33. На втором этапе работы в процессе пирамидирования получены формы с тремя генами вместе. На третьем этапе добавлены гены Pi-ta и Pi-b. В результате с помощью маркерной селекции и ПЦР-анализа получены линии риса, совмещающие в своем генотипе пять эффективных генов устойчивости к этому патогену.

Ключевые слова: рис, донор, гибрид, пирикуляриоз, резистентность, селекция, ПЦР-анализ, маркер.

Болезни могут значительно снизить производство риса. Самой опасной из них является пирикуляриоз, вызывающий потери урожая в годы эпифитотий до 100%. Поэтому нужно выводить устойчивые сорта, имеющих в общем генотипе несколько генов со своим вкладом. Линии, совмещающие в себе несколько генов Pi, показывают значительное увеличение степени устойчивости к пирикуляриозу и представляют большую ценность при создании сортов. Резистентность к патогену представляет собой классическую систему ген-на-ген, где главный ген устойчивости эффективен против штаммов *Magnaporthe grisea*, содержащих соответствующий ген авирулентности [Silue et al., 1992]. Генетическими исследованиями было идентифицировано много генов устойчивости [Mackill, Vonman et al., 1992; Inukai et al., 1994]. Использование молекулярных маркеров, сцепленных с генами, обеспечивающими устойчивость растений к этому патогену, значительно облегчает селекционную работу в данном направлении. Методы ДНК-генотипирования и молекулярного маркерования позволяют ускорить перенос хозяйственно ценных генов в процессе селекции и обеспечить создание новых сортов с комплексом заданных свойств [Jena et al., 2003]. Поэтому актуальным является создание с помощью молекулярного маркирования урожайных сортов риса, резистентных к пирикуляриозу.

Целью работы являлось создание линий риса с 5-ю генами устойчивости к пирикуляриозу: Pi-1, Pi-2, Pi-33, Pi-ta, Pi-b с помощью метода молекулярного маркирования.

Материал и методы. В качестве доноров генов устойчивости (материнская форма) использовали линии зарубежной селекции C104-Lac (Pi-1), C101-A-51 (Pi-2), C101-Lac

(Pi-1, Pi-33), IR-58 (Pi-ta), Мороберекан (Pi-b), реципиентов – отечественные сорта Боярин и Вираз. В работе использованы микросателлитные маркеры генов устойчивости.

Результаты. В процессе исследований на первом этапе работы в 2005 году были получены шесть гибридных комбинаций от скрещивания сортов Боярин и Вираз с тремя донорами устойчивости к пирикуляриозу, несущими гены Pi-1, Pi-2, Pi-33. Гибриды первого поколения были позднеспелыми и в значительной степени стерильными (90–95%), что указывает на большие генетические различия родительских форм из разных подвидов: индика и японика.

Во втором поколении из огромного спектра расщепления по многим признакам было отобрано по 22–30 растений, совмещающих в себе скороспелость, низкорослость, неосыпаемость и фертильность колосков. После ДНК-анализа среди 62 лучших линий во ВНИИ риса выделены гомозиготные формы по доминантным аллелям устойчивости. В третьем поколении гибридов удалось отобрать значительное количество гомозиготных образцов с доминантными генами устойчивости, в том числе и совмещающие два гена. На втором этапе работы (2008 г.) после скрещивания между собой гибридов (Pi-1+33 x Боярин) и (Pi-2 x Боярин) удалось получить формы с тремя пирамидированными генами одновременно: Pi-1, Pi-2, Pi-33 в гомозиготном состоянии. Это линии Ил.13, Ил.14 и Ил.28. Однако они не были пригодны для использования в качестве сортов, т.к. были позднеспелыми и недостаточно продуктивными. Их использовали для дальнейших скрещиваний. На третьем этапе работы (2010 г.), когда появились доноры генов Pi-ta (IR58 x Кубань 3) и Pi-b (Аметист x Мороберекан), проведена гибридизация с ними для объединения 5 генов.

Скращения были двух типов: [(Pi-1+2+33) x Pi-ta] x Pi-b и Pi-1+2+33 x (Pi-ta x Pi-b). Гибриды, показавшие гетерозиготность по всем пяти аллелям, были высеяны на F₂ в 2012 году и с лучших растений отобрали листья для анализа ДНК с использованием одного маркера по каждому из 5 генов [Костылев и др., 2014]. У всех гибридов расщепление по маркерам не укладывалось в рамки менделевского соотношения 1:2:1. Это связано с влиянием отбора, так как для анализа отбирали лучшие в селекционном отношении растения с безостыми фертильными колосками и хорошо вызревшим зерном.

По результатам анализа удалось выделить два образца риса (1225/13 и 1396/13), которые были гомозиготными по всем пяти доминантным аллелям. Повторные анализы листьев этих образцов в 2014–2015 гг. подтвердили эти результаты, т.е. гомозиготность по доминантным аллелям всех пяти локусов Pi-1+2+33+ta+b. Первая линия 1225/13 низкорослая (80 см), с небольшой метелкой (15 см), скороспелая – созревает за 110 дней. Вторая линия 1396/13

– более высокорослая (100 см), с крупной длинной метелкой (22 см), среднеспелая, период до созревания 120 дней. Кроме них, выделены 12 линий, имеющих все 5 генов, но некоторые из них в гетерозиготном состоянии. Из этих гибридов в последующие годы отобраны полные гомозиготные по доминантным аллелям устойчивости формы. Эти линии изучены в селекционном питомнике 2014–2015 гг. на урожайность, качество и устойчивость к пирикулярриозу. Проведен очередной цикл отборов лучших форм и их ПЦР-анализ. Перспективная линия 1396/13 размножена в 2015 году, получено 200 кг семян, которые будут высеяны в 2016 году на зараженных фонах для изучения устойчивости, продуктивности и качества.

Выводы. В результате многолетней работы по интрогрессии генов устойчивости к пирикулярриозу с помощью маркерной селекции и ПЦР-анализа получены пирамидированные линии риса, совмещающие в себе пять эффективных генов устойчивости к опасному патогену Pi-l, Pi-2, Pi-33, Pi-ta, Pi-b.

Библиографический список (References)

Костылев, П.И., Краснова Е.В., Редькин А.А., Мухина Ж.М., Дубина Е.В. Объединение в одном генотипе риса пяти генов устойчивости к пирикулярриозу с помощью ДНК-маркеров // 8-я Междунар. научно-практ. конф. «Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем», г. Краснодар, 2014. С. 25–28.
Костылев, П.И., Шилов И.А., Мухина Ж.М. Перенос пяти генов устойчивости риса к пирикулярриозу с помощью ДНК-маркеров // Вестник РАСХН, 2014. 1. С. 33–35.

Inukai, T., Nelson R.J., Zeigler R.S., Sarkarung S., Mackill D.J., Bonman J.M., Takamura T., Kinoshita, T. Allelism of blast resistance genes in near-isogenic lines of rice // *Phytopathology*, 1994. 84. P. 1278–1283.
Jena K.K., Moon H.P., Mackill D.J. Marker assisted selection – a new paradigm in plant breeding // *Korean J. Breed.*, 2003. V.35. P. 133–140.
Mackill, D.J., Bonman J.M. Inheritance of blast resistance in near-isogenic lines of rice // *Phytopathology*, 1992. 82. P. 746–749.
Silue, D., Nottoghem J.L., Tharreau D. Evidence for a gene-for-gene relationship in the *Oryza sativa* – *Magnaporthe grisea* pathosystem // *Phytopathology*, 1992. 82. P. 577–580.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 86–87

INCREASE RESISTANCE TO RICE BY BLAST PYRAMIDING OF SEVERAL GENES WITH MARKER CONTROL

P.I. Kostylev¹, E.V. Krasnova¹, A.A. Redkin¹, Zh.M. Mukhina², E.V. Dubina²

¹All-Russian Research Institute of Grain Crops named after I.G. Kalinenko

²All-Russian Research Institute of Rice

Rice can significantly reduce grain yield in the defeat dangerous disease – blast. So urgent is the creation of yielding resistant varieties of rice with one genotype of several genes with their contribution. The use of molecular markers linked to resistance genes facilitates the selection work. Purpose – to create lines of rice with five resistance genes to blast. The donors of resistance genes were the lines of foreign selection, recipients – the Russian variety. We used microsatellite markers. In the first stage of the 6 hybrids obtained by crossing varieties of Boyarin and Virage with donor genes Pi-l, Pi-2, Pi-33. The second stage of the process obtained pyramiding shape with three genes together. In the third stage added genes Pi-ta and Pi-b. As a result, using the marker selection and PCR lines received rice, combining five effective resistance genes to this pathogen.