

УДК 633.18:632.938.1

В.Н. Шиловский, доктор сельскохозяйственных наук, главный научный сотрудник,
И.И. Супрун, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник,
А.М. Оглы, научный сотрудник, зав. отделом селекции
ФГБНУ «ВНИИ риса»
(350921, г. Краснодар, п. Белозёрный, 3; 8 (861) 229-41-98; artri_kub@mail.ru)

Этапы создания сорта риса Партнёр с геном устойчивости к пирикулярриозу Pi-b.

Пирикулярриоз является наиболее распространённым и вредоносным заболеванием культуры риса. Самым верным способом борьбы с ним является создание устойчивых сортов. В настоящей статье представлены этапы создания нового сорта риса Партнёр с повышенной устойчивостью к пирикулярриозу. Показано, что на основе использования методов ДНК-маркирования был создан селекционный материал, несущий ген устойчивости к пирикулярриозу Pi-b. В качестве донора гена Pi-b использовался позднеспелый японский сорт BL-1. В качестве реципиента послужил возделываемый в Краснодарском крае сорт Янтарь. Из полученного материала выделено и изучено в селекционном питомнике 20 линий. По результатам оценки в селекционном питомнике, пять лучших линий были включены в контрольный питомник, в котором по комплексу хозяйственных признаков выделились только два сортообразца (КП 117-09 и КП 126-09). Интенсивность развития пирикулярриоза при искусственном заражении, составила у КП 117-09 – 24,9 %, у КП 126-09 – 27,7 %. Остальные сортообразцы, в том числе сорт-стандарт Рапан, имели более высокий процент поражения органов растений (42,7 %). 2011 по 2013 гг. выделившиеся номера контрольного питомника проходили конкурсное испытание и по его результатам лучшим, для передачи на Государственное испытание, оказался сортообразец КП 117-09, которому было присвоено название Партнёр. В среднем за годы изучения сорт Партнёр показал более высокую урожайность, чем стандарт Рапан (8,54 и 7,93 т/га соответственно), а также превосходил его по массе 1000 зёрен (32,3 г против 28,0 г) и устойчивости к пирикулярриозу (ИРБ 22,6 % против 48,7 %). По остальным признакам сравниваемые сорта имели близкие значения.

В 2013 году новый сорт Партнёр был передан на Государственное испытание. По результатам двух лет изучения, включён в реестр селекционных достижений, и с 2016 года допущен к использованию по Краснодарскому краю.

Ключевые слова: рис, селекционный питомник, контрольный питомник, конкурсное сортоиспытание, Государственное сортоиспытание, сорт, сортообразец, ДНК-маркирование, донор, ген, отбор, пирикулярриоз, урожайность, качество зерна.

В.Н. Шиловский, доктор сельскохозяйственных наук, главный научный сотрудник,
И.И. Супрун, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник,
А.М. Оглы, научный сотрудник, зав. отделом селекции
ФГБНУ «ВНИИ риса»
(350921, г. Краснодар, п. Белозёрный, 3; 8 (861) 229-41-98; arrri_kub@mail.ru)

Этапы создания сорта риса Партнёр с геном устойчивости к пирикулярриозу Pi-b.

Пирикулярриоз является наиболее распространённым и вредоносным заболеванием культуры риса. Самым верным способом борьбы с ним является создание устойчивых сортов. В настоящей статье представлены этапы создания нового сорта риса Партнёр с повышенной устойчивостью к пирикулярриозу. Показано, что на основе использования методов ДНК-маркирования был создан селекционный материал, несущий ген устойчивости к пирикулярриозу Pi-b. В качестве донора гена Pi-b использовался позднеспелый японский сорт BL-1. В качестве реципиента послужил возделываемый в Краснодарском крае сорт Янтарь. Из полученного материала выделено и изучено в селекционном питомнике 20 линий. По результатам оценки в селекционном питомнике, пять лучших линий были включены в контрольный питомник, в котором по комплексу хозяйственных признаков выделились только два сортообразца (КП 117-09 и КП 126-09). Интенсивность развития пирикулярриоза при искусственном заражении, составила у КП 117-09 – 24,9 %, у КП 126-09 – 27,7 %. Остальные сортообразцы, в том числе сорт-стандарт Рапан, имели более высокий процент поражения органов растений (42,7 %). 2011 по 2013 гг. выделившиеся номера контрольного питомника проходили конкурсное испытание и по его результатам лучшим, для передачи на Государственное испытание, оказался сортообразец КП 117-09, которому было присвоено название Партнёр. В среднем за годы изучения сорт Партнёр показал более высокую урожайность, чем стандарт Рапан (8,54 и 7,93 т/га соответственно), а также превосходил его по массе 1000 зёрен (32,3 г против 28,0 г) и устойчивости к пирикулярриозу (ИРБ 22,6 % против 48,7 %). По остальным признакам сравниваемые сорта имели близкие значения.

В 2013 году новый сорт Партнёр был передан на Государственное испытание. По результатам двух лет изучения, включён в реестр селекционных достижений, и с 2016 года допущен к использованию по Краснодарскому краю.

Ключевые слова: рис, селекционный питомник, контрольный питомник, конкурсное сортоиспытание, Государственное сортоиспытание, сорт, сортообразец, ДНК-маркирование, донор, ген, отбор, пирикулярриоз, урожайность, качество зерна.

Получение высокого и экономически оправданного урожая хорошего качества, является основной целью рисоводческих предприятий. Достижение этой цели во многом зависит от создания и внедрения в производство новых высокоурожайных сортов риса с высоким качеством зерна и крупы, устойчивых к различным стресс-факторам. Особенно важна в условиях современного рисоводства, устойчивость сортов к пирикулярриозу, так как в годы эпифитотий теряется до 30 % урожая, а дополнительные затраты на обработку посевов фунгицидами ведут к увеличению себестоимости единицы продукции [1]. В связи с этим создание сортов риса с повышенной устойчивостью к пирикулярриозу, на фоне острой необходимости биологизации земледелия, является актуальным направлением в селекции данной культуры.

Эту задачу позволяют решить современные достижения в технологии ДНК-маркирования, которые дают возможность проводить оценку и отбор исходного селекционного материала по генотипу на основе молекулярного анализа.

Целью работы являлось создание нового сорта риса с геном устойчивости к пирикулярриозу *Pi-b* на основе сорта риса Янтарь.

Материал и методы. В работе использовали ген устойчивости к пирикулярриозу *Pi-b*. Он хорошо изучен и биотехнологами ВНИИ риса разработана его внутригенная маркерная система, апробированная на практике [2]. Донором гена *Pi-b* послужил позднеспелый японский сорт *BL-1*. В качестве реципиента использовали возделываемый в Краснодарском крае сорт Янтарь. Идентификацию гена *Pi-b* осуществляли с помощью созданного ранее кодоминантного ДНК-маркера к нему [3]. Экстракцию ДНК проводили ЦТАБ методом [4], ПЦР-анализ – по стандартным методикам [5], используя наборы производства ООО «СибЭнзим», Россия. Продукты амплификации анализировали путём электрофореза в 2-% агарозном геле на основе 0,5xТрис боратного буфера, визуализировали бромистым этидием и фотографировали в ультрафиолете.

Гибридизацию растений осуществляли твел-методом с применением пневмокастрации.

Полевые опыты проводились на рисовой оросительной системе опытно-производственного участка «ВНИИ риса».

Селекционный питомник закладывался кассетной сеялкой *WINTERSTEIGER «Rowseed»* однорядковыми деланками длиной 2,5 м с нормой высева 100 зерен в рядок и междурядьями 22 см [6].

Контрольный питомник высевался сеялкой с центральным высевающим аппаратом *WINTERSTEIGER «Plotseed XL»* парностандартным дактиль методом [7]. Площадь

делянки 6,75 м². Норма высева – 400 всхожих зерен на 1 м².

Посев конкурсного сортоиспытания осуществлялся сеялкой с центральным высевающим аппаратом *WINTERSTEIGER «Plotseed XL»*, деланками площадью 20,25 м² и нормой высева – 700 всхожих зерен на 1 м². Повторность 4-кратная с рендомизированным способом размещения деланок [8]. Учёт урожая проводили методом сплошного обмолота малогабаритным комбайном *DKC-515*, с пересчётом на стандартную влажность.

Оценка устойчивости номеров контрольного питомника и конкурсного испытания к пирикулярнозу в условиях искусственного заражения проводилась сотрудниками лаборатории защиты риса («ВНИИ риса»), оценка на технологические качества зерна – сотрудниками лаборатории качества («ВНИИ риса»).

Статистическая оценка результатов научных исследований проводилась по Б.А. Доспехову [9] и А.Х. Шеуджену [10].

Результаты. После гибридизации, полученные растения F₁ анализировали на наличие гена с помощью ДНК-маркирования. В популяции F₂ проводился отбор растений с продолжительностью вегетационного периода близкой к сорту – реципиенту Янтарь, которые использовали в качестве отцовской формы для скрещивания с ним. В дальнейшем путём самоопыления гибридных растений BC₁F₁ получена популяция BC₁F₃, из которой методом ДНК-маркирования выделились растения несущие доминантный аллель гена Pi-b в гомозиготном состоянии.

После дальнейших двух циклов самоопыления в условиях вегетационного опыта, были отобраны 20 лучших линий BC₁F₄ для селекционного питомника. Из них, после визуальной оценки по комплексу признаков, включены в контрольный питомник (КП) 5 линий. Результаты оценки линий в контрольном питомнике сведены в таблицы 1 и 2.

Таблица 1. Урожайность и технологические качества зерна линий контрольного питомника (2010 г.).

Номер делянки КП	Урожай- ность, т/га	Вегета- ционный период, дней	Стекло- видность, %	Плёнча- тость, %	Масса 1000 зёрен, г	Индекс зерновки (l/b)	Выход крупы, %
Рапан (st)	6,25	116	95,0	20,0	28,5	2,1	67,5
117-09	7,11	117	93,0	19,8	32,1	2,4	66,3
120-09	6,31	115	86,0	19,7	31,5	2,2	67,6

123-09	5,63	112	92,0	19,7	31,0	2,3	68,2
126-09	6,51	116	90,0	20,8	30,9	2,3	66,2
129-09	7,02	114	83,0	19,0	32,3	2,3	69,7
НСР ₀₅	0,28	-	-	-	-	-	-

Таблица 2. Биометрические характеристики линий контрольного питомника (2010 г.).

Номер делянки КП	Кустис- тость	Высота растений, см	Длина метёлки, см	Коли- чество колосков в метёлке, шт	Стериль- ность метёлки, %	Плот-ность метёлки, шт/см	Масса зерна с метёлки, г
Рапан (st)	1,9	87,7	17,6	153,4	10,0	8,7	4,09
117-09	1,8	84,6	17,2	150,6	7,9	8,8	4,58
120-09	2,2	85,6	16,9	138,6	7,1	8,2	4,13
123-09	1,9	82,1	17,1	133,4	7,6	7,8	3,54
126-09	2,3	86,1	18,3	154,9	9,2	8,5	4,58
129-09	1,6	85,1	18,4	132,1	7,6	7,2	4,06

Как видно из представленных таблиц, выделенные формы продуктивны и имеют короткую соломину, что благоприятно сказывается на устойчивости растений к полеганию. По урожайности выделяются номера КП 117-09, КП 126-09 и КП 129-09, но последний имеет пониженное качество зерна (низкая стекловидность). Поэтому для дальнейшего изучения были оставлены КП 117-09 и КП 126-09. При этом окончательную оценку сортообразцам даёт их устойчивость к пирикулярриозу. При искусственном заражении интенсивность развития болезни (ИРБ) у КП 117-09 составила 24,9 %, у КП 126-09 – 27,7 %. Остальные сортообразцы, включая сорт-стандарт Рапан, имели более высокий процент поражения листовой поверхности (42,7 %).

В ходе конкурсного испытания, с 2011 по 2013 годы, выделился по комплексу хозяйственно-ценных признаков сортообразец КП 117-09 и под названием Партнёр был передан для изучения в Государственное сортоиспытание. Его характеристика, в

сравнении со стандартом Рапан, приведена в таблице 3.

Таблица 3. Характеристика сорта Партнёр в сравнении со стандартом Рапан (ср. за 2011-2013 гг.).

Признаки	Партнёр	Рапан (st)
Урожайность, т/га	8,54	7,93
Вегетационный период, дней	115,7	112,7
Кустистость, стеблей	1,8	1,7
Высота растений, см	87,3	91,0
Длина метёлки, см	15,1	15,0
Колосков в метёлке, шт	96,6	113,6
Стерильность метёлки, %	12,7	5,3
Плотность метёлки, шт/см	6,8	8,0
Масса зерна с метёлки, г	2,69	3,12
Масса 1000 зёрен, г	32,3	28,0
Плёнчатость, %	18,7	19,0
Стекловидность, %	97,0	94,0
Трещиноватость, %	20,3	19,0
Отношение длины зерновки к ширине (l/b)	2,4	2,1
Общий выход крупы, %	70,3	70,3
Целого ядра в крупе, %	85,5	86,4
Устойчивость к пирикулярриозу, ИРБ*, %	22,6	48,7

*- интенсивность развития болезни.

По приведённым в таблице данным видно, что сравниваемые сорта имеют близкие характеристики по многим признакам. Однако преимущество сорта Партнёр наблюдается по урожайности, кустистости и индексу зерновки (l/b), а также по устойчивости к пирикулярриозу.

По результатам изучения в 2014-2015 гг. на Госсортоучастках Краснодарского края сорт был внесён в государственный реестр и допущен к использованию по данному региону с 2016 года. Урожайность сорта Партнёр в среднем за годы изучения составила 8,74 т/га, при урожайности сортов стандартов Рапан, Флагман 7,23 и 8,14 т/га соответственно.

Таким образом, в результате проведённой работы, был создан селекционный материал с интрогрессированным геном устойчивости к пирикулярриозу *Pi-b*. Используемая схема, включающая два цикла возвратных скрещиваний с последующим получением самоопылённых популяций и их оценкой в звеньях селекционного процесса, позволила создать новый сорт риса Партнёр с геном устойчивости к пирикулярриозу *Pi-b* и

комплексом хозяйственно-ценных признаков, пригодный для возделывания в рисосеющих хозяйствах Краснодарского края. Новизна сорта риса Партнёр подтверждена патентом РФ № 8288 с приоритетом от 25.11.13 г. и датой регистрации 01.03.16 г.

Литература.

1. Зеленский, Г.Л. Борьба с пирикуляриозом риса путём создания устойчивых сортов / Г.Л. Зеленский. – Краснодар: КубГАУ, 2013. – 92 с.
 2. Супрун, И.И. Селекционные и молекулярно-генетические методы в создании устойчивых к пирикуляриозу линий риса / И.И. Супрун, В.Н. Шиловский, В.Я. Рубан // Вестник РАСХН, 2012. – № 1. – С. 60-62.
 3. Супрун, И.И. Создание внутригенного ДНК-маркера гена устойчивости к пирикуляриозу риса Pi-b и его использования в практической селекции / И.И. Супрун, Е.Т. Ильницкая, Ж.М. Мухина // Сельскохозяйственная биология, 2007. – № 5. – С. 63-66.
 4. Murray, M.G. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA / M.G. Murray, W.F. Thompson // Nucleic Acids Research, 1980. – V 80. – P. 4321-4325.
 5. Шибата Д.К., Полимеразная цепная реакция и молекулярно-генетический анализ биоптатов // Молекулярная клиническая диагностика. – М.: Мир, 1999. – С. 395-427.
 6. Сметанин, А.П. Методики опытных работ по селекции, семеноводству и контролю за качеством семян риса / А.П. Сметанин, В.А. Дзюба, А.И. АPROD – Краснодар, 1972. – 186 с.
 7. Сазанов, В. И. Сельскохозяйственное опытное дело в растениеводстве и его методика / В. И. Сазанов. – Сельхозиздат, 1962. – С. 69-81.
 8. Ковалёв, В.С. Совершенствование методики и техники закладки конкурсного сортоиспытания риса/В.С. Ковалёв, Н.В. Остапенко // Тезисы докладов конф. молодых учёных и специалистов. – Краснодар, 1987. – С. 10-12.
 9. Доспехов, Б. А. Методика полевого опыта / Б. А. Доспехов. – Москва: Колос, 1979. – 416 с.
- Шеуджен, А. Х. Агрохимия. Ч. 2. Методика агрохимических исследований / А. Х. Шеуджен, Т.Н. Бондарева. – Краснодар: Куб ГАУ, 2015. – 702 с.